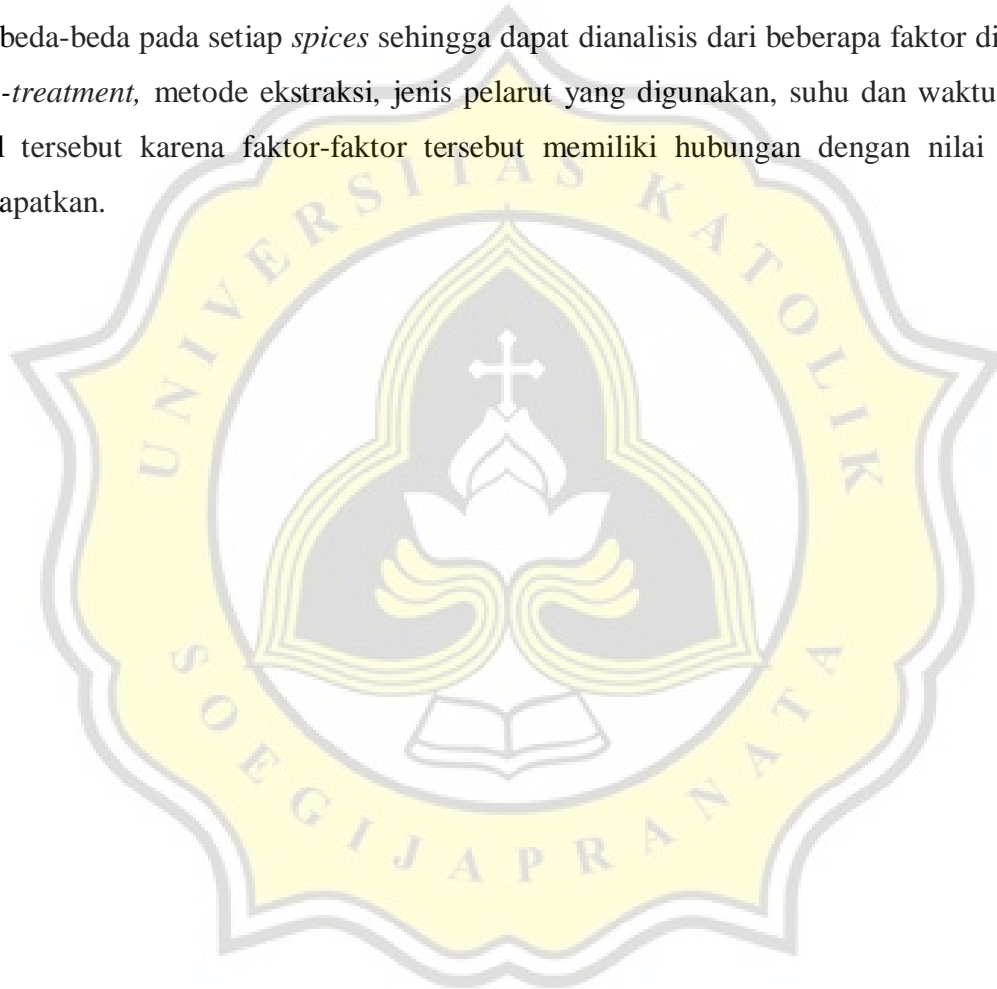


5. NILAI IC₅₀ PADA BERBAGAI SPICES

Spices seperti kunyit, kayu manis, bawang merah dan bawang putih memiliki peran sebagai antioksidan alami sehingga dilakukan pengujian aktivitas antioksidan. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode antara lain DPPH, ABTS, dan FRAP untuk menemukan nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ diperlukan untuk dapat mengetahui sifat antioksidan pada berbagai jenis *spices*. Pada Tabel 7, didapatkan sebanyak 15 jurnal penelitian terdahulu yang melakukan pengujian aktivitas antioksidan untuk mendapatkan nilai IC₅₀ yang memiliki hasil yang berbeda-beda pada setiap *spices* sehingga dapat dianalisis dari beberapa faktor dimulai dari *pre-treatment*, metode ekstraksi, jenis pelarut yang digunakan, suhu dan waktu ekstraksi. Hal tersebut karena faktor-faktor tersebut memiliki hubungan dengan nilai IC₅₀ yang didapatkan.



Tabel 7. Metode Ekstraksi dan IC₅₀ Pada Berbagai *Spices*

Jenis	Pretreatment	Metode Ekstraksi	Jenis Pelarut	Waktu	Suhu	Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Sumber	Index Jurnal
Kunyit (<i>Curcuma domestica</i> Val.)	Pengeringan oven suhu 50°C (bubuk)	Maserasi	Etanol 96%	3x24 jam	Suhu kamar	DPPH	46,7686	Pratiwi & Wardaniati, 2019	S5
	Tanpa pengeringan	Maserasi	Etanol 96%	3x24 jam	Suhu kamar	DPPH	193,4367	Pratiwi & Wardaniati, 2019	S5
Kunyit (<i>Curcuma longa</i>)	Dijemur pada sinar matahari	Maserasi	Etanol	-	-	DPPH	31,79	Septiana & Simanjuntak, 2015	S3
	Dijemur pada sinar matahari	Maserasi	Etil asetat	-	-	DPPH	20,42	Septiana & Simanjuntak, 2015	S3
	Pengeringan selama 2 hari tanpa sinar matahari	Maserasi	Etanol 70%	3x24 jam	Suhu kamar	DPPH	1,08	Tanvir <i>et al.</i> , 2017	Q2
Kunyit (<i>Curcuma longa</i>)	Pengeringan selama 2 hari tanpa sinar matahari	Maserasi	Etanol 70%	3x24 jam	Suhu kamar	FRAP	42,04	Tanvir <i>et al.</i> , 2017	Q2
Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmanii</i>)	Pengeringan menjadi bubuk	Maserasi	Etanol 96%	3 hari (sebanyak 2x)	Suhu kamar	DPPH	1,939 ± 0,055	Antasionasti & Jayanto, 2021	S3
	Pengeringan menjadi bubuk	Maserasi	Etanol 96%	3 hari (sebanyak 2x)	Suhu kamar	ABTS	2,235 ± 0,014	Antasionasti & Jayanto, 2021	S3

Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmanii</i>)	-	Soxhlet	Etanol 96% + air (80:20)	5 jam	-	DPPH	221,0429	Tomagola <i>et al.</i> , 2016	S3
	-	Maserasi	Metanol	24 jam	Suhu ruang	DPPH	49	Latief <i>et al.</i> , 2013	-
Kayu Manis (<i>Cinnamomum cassia</i>)	Pengeringan lalu dihaluskan	<i>Supercritical fluid extraction</i>	-	10-20 menit	45°C	DPPH	1,772 ± 0,221	Yang <i>et al.</i> , 2012	Q1
	Pengeringan lalu dihaluskan	-	Etanol 95%	-	-	DPPH	0,072 ± 0,003	Yang <i>et al.</i> , 2012	Q1
Bawang merah (<i>Allium ascalonicum</i> L.)	Pengeringan matahari 2-3 hari dan di haluskan	Maserasi	Metanol	2x24 jam	Suhu ruang	DPPH	15,44	Mardiah <i>et al.</i> , 2017	S4
	Pengeringan dengan diangin- anginkan 7 hari dan di haluskan	Maserasi	Etanol 70%	24 jam	Suhu ruang	DPPH	173,68	Suwardi & Noer, 2020	-
Bawang merah (<i>Allium cepa</i> L)	Tanpa pengeringan	Maserasi	Heksana	-	-	DPPH	637,76	Martha, 2019	-
Bawang merah (<i>Allium cepa</i> L)	Tanpa pengeringan	Maserasi	Etil Asetat	-	-	DPPH ppm	166,97	Martha, 2019	-
	Tanpa pengeringan	Maserasi	Air	-	-	DPPH	272	Martha, 2019	-
	Pengeringan tanpa sinar matahari 2-3 hari lalu diblender	Sokletasi	Metanol	7 jam	65°C	DPPH	10,650	Tapalina <i>et al.</i> , 2022	S5

Bawang merah (<i>Allium cepa</i> L)	Pengeringan tanpa sinar matahari 2-3 hari lalu diblender	Refluks	Metanol	1 jam	65°C	DPPH	7,953	Tapalina <i>et al.</i> , 2022	S5
	Pengeringan tanpa sinar matahari dan dihaluskan	Maserasi	Metanol	-	-	ABTS	39,22	Rahayu <i>et al.</i> , 2017	-
	Pengeringan dihaluskan	Maserasi	Etanol 96%	1x24 jam	Suhu ruang	DPPH	34,74	Wahyuni <i>et al.</i> , 2021	-
Bawang putih (<i>Allium sativum</i> L)	Tanpa pengeringan	Maserasi	Etanol 96%	24 jam	Suhu ruang	DPPH	875,65	Wahyudi <i>et al.</i> , 2018	S4

Keterangan

DPPH = 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil

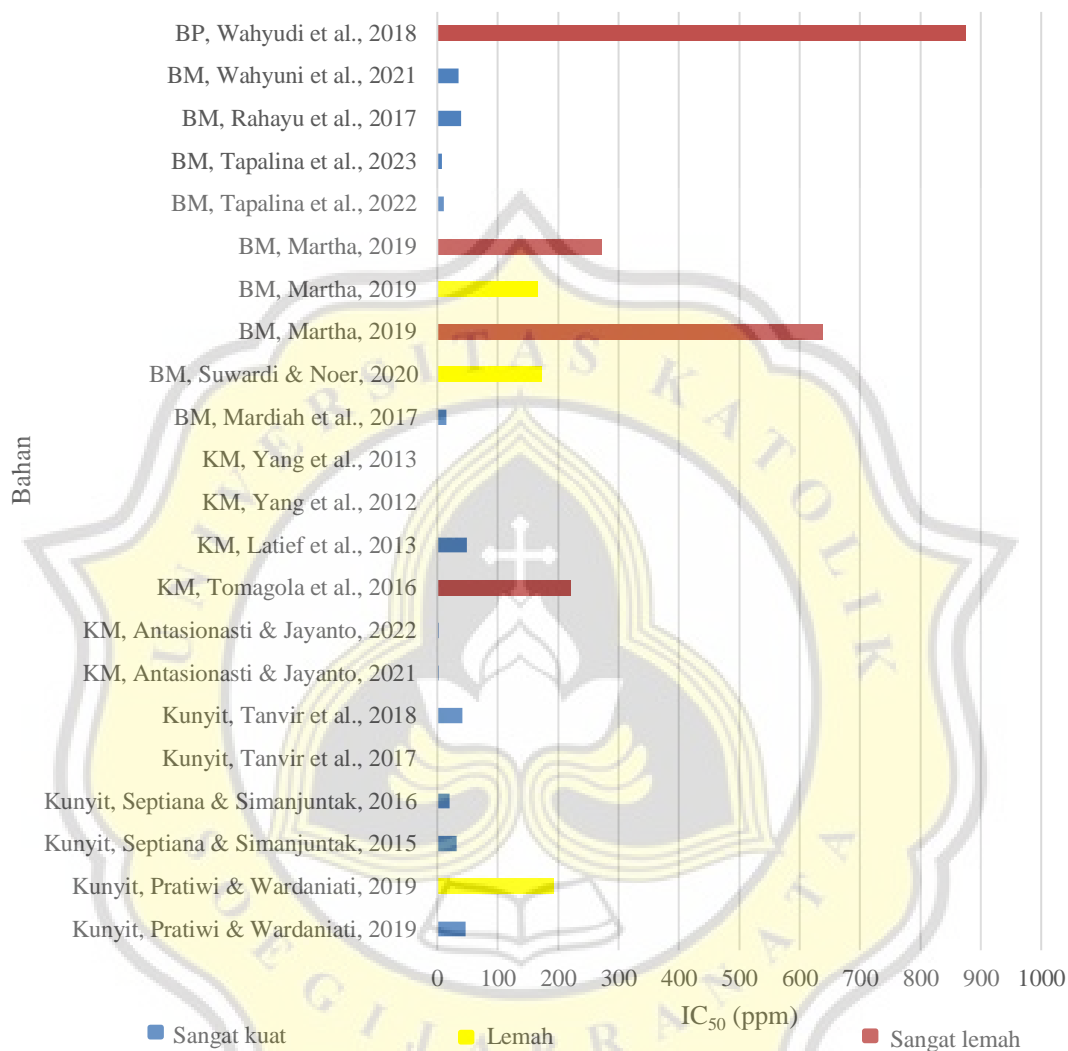
ABTS = 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

FRAP = Ferric Reducing Antioxidant Power

S= Sinta

Q= Quartile

Tabel 7 membahas tentang nilai IC_{50} pada kunyit, kayu manis, bawang merah dan bawang putih dengan adanya *pre-treatment* dan ekstraksi yang menggunakan jenis pelarut, suhu dan waktu yang berbeda.



Catatan : Metode & parameter ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 7

BP= Bawang putih ; KM= Kayu manis ; BM= Bawang merah

Gambar 7. Penggolongan Sifat Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC_{50}

Berdasarkan Gambar 7 menunjukkan berbagai nilai IC_{50} yang digolongkan berdasarkan sifat aktivitas antioksidannya. Berdasarkan 15 jurnal penelitian didapatkan 3 golongan yaitu sangat kuat, lemah dan sangat lemah. Menurut penelitian Tomagola *et al.*, (2016); Martha, (2019); Wahyudi *et al.*, (2018) kayu manis, bawang merah dan bawang putih memiliki aktivitas antioksidan yang bersifat sangat lemah karena memiliki IC_{50} lebih dari 200 ppm.

Penelitian Pratiwi & Wardaniati, (2019); Suwardi & Noer, (2020); Martha, (2019) kunyit dan bawang merah memiliki aktivitas antioksidan yang bersifat lemah karena memiliki IC_{50} berkisar 150-200 ppm. Aktivitas antioksidan bersifat sangat kuat karena memiliki nilai $IC_{50} > 50$ ppm seperti pada penelitian Pratiwi & Wardaniati, (2019); Septiana & Simanjuntak, (2015); Tanvir *et al.*, (2017); Antasionasti & Jayanto, (2021); Latief *et al.*, (2013); Yang *et al.*, (2012); Mardiah *et al.*, (2017); Tapalina *et al.*, (2022); Rahayu *et al.*, (2017); Wahyuni *et al.*, (2021) yang mengatakan bahwa kunyit, kayu manis, bawang merah dan bawang putih memiliki aktivitas antioksidan yang bersifat sangat kuat.

Penelitian Yang *et al.*, (2012) kayu manis dengan *pre-treatment* pengeringan dan menggunakan pelarut etanol 95% dalam ekstraksi memiliki nilai IC_{50} terendah yaitu $0,072 \pm 0,003$ ppm yang berarti memiliki sifat sangat kuat, sedangkan penelitian Wahyudi *et al.*, (2018) mengatakan bawang putih tanpa pengeringan yang diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% memiliki nilai IC_{50} tertinggi yaitu 875,65 ppm yang berarti memiliki sifat aktivitas antioksidan sangat lemah. Oleh karena itu, ada hubungan yang nyata antara *pre-treatment*, jenis metode ekstraksi, waktu, suhu dan jenis pelarut yang digunakan terhadap nilai IC_{50} yang didapatkan

Penelitian Martha, (2019) menyatakan bahwa bawang merah memiliki aktivitas antioksidan yang bersifat lemah dan sangat lemah. Hal tersebut berbeda dengan penelitian Mardiah *et al.*, (2017) bahwa bawang merah memiliki sifat antioksidan yang sangat kuat. Perbedaan itu disebabkan karena tanpa adanya *pre-treatment* pengeringan yang dilakukan sehingga senyawa antioksidan tidak dapat terekstrak secara sempurna saat ekstraksi, selain itu juga penelitian Martha, (2019) menggunakan pelarut etil asetat yang bersifat semipolar dan heksana yang bersifat nonpolar. Flavonoid yang bersifat polar banyak terkandung dalam bawang merah maka akan lebih baik pada proses ekstraksi menggunakan pelarut yang bersifat polar. Oleh karena itu, bawang merah tersebut memiliki sifat aktivitas antioksidan yang bersifat lemah hingga sangat lemah karena tidak semua senyawa dapat terekstrak secara sempurna. Penelitian Pratiwi & Wardaniati, (2019) menyatakan bahwa kunyit memiliki aktivitas antioksidan yang bersifat lemah sedangkan penelitian lain mengatakan kunyit memiliki aktivitas antioksidan yang bersifat sangat kuat. Perbedaan tersebut karena tanpa

adanya *pre-treatment* pengeringan. Penelitian Tomagola *et al.*, (2016) kayu manis memiliki sifat antioksidan yang sangat lemah sedangkan pada penelitian lainnya kayu manis memiliki sifat aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Hal tersebut karena proses ekstraksi yang berbeda, ada yang menggunakan soxhletasi dan maserasi. Ekstraksi menggunakan soxhletasi menyebabkan senyawa antioksidan tidak dapat terekstrak secara sempurna akibat lamanya waktu pelarut berkontak langsung dengan sampel kayu manis sehingga sangat membutuhkan waktu yang lama dalam proses ekstraksi dan ekstraksi menggunakan panas di atas 50°C serta waktu yang lama menyebabkan senyawa antioksidan menjadi rusak.

Berdasarkan Tabel 7 terdapat tahapan *pre-treatment spices* yang dilakukan dengan pengeringan dan tanpa pengeringan. Proses *pre-treatment* sangat penting dan dapat mempengaruhi hasil yang didapatkan dari suatu *spices* seperti penelitian Pratiwi & Wardaniati, (2019) yang memberikan 2 perlakuan berbeda pada kunyit, kunyit yang telah mengalami pengeringan memiliki IC_{50} 46,7686 ppm dibandingkan dengan kunyit yang masih segar 193,4367 ppm. Penelitian Wahyudi *et al.*, (2018) bawang merah segar memiliki IC_{50} : 875,65 ppm yang berarti aktivitas antioksidan bersifat sangat lemah. Hal tersebut dikarenakan pada kunyit segar senyawa metabolit sekunder yang sulit untuk keluar akibat dinding sel yang masih utuh sehingga saat proses ekstraksi tidak semua senyawa antioksidan dapat terekstrak didalamnya, selain itu pada kunyit segar terkandung banyak kadar air yang dapat membuat senyawa antioksidan menghilang karena terjadinya degradasi yang disebabkan oleh enzim. Adanya pengeringan membuat dinding sel hancur, kadar air berkurang dan enzim dapat terinaktivasi. Proses *pre-treatment* sebelum dilakukan pengeringan sebaiknya dipotong tipis-tipis agar air dapat menguap sempurna saat proses pengeringan. Proses blender untuk menjadi serbuk setelah dilakukan pengeringan bertujuan untuk meningkatkan luas permukaan dan menghancurkan dinding sel agar senyawa antioksidan dapat keluar saat proses ekstraksi (Mardiah *et al.*, 2017).

Pengeringan pada *spices* dapat dilakukan dengan sinar matahari, oven dan diangin-anginkan. Terdapat penelitian yang mengalami pengeringan menggunakan oven seperti penelitian Pratiwi & Wardaniati, (2019) menggunakan suhu 50°C. Penggunaan oven dapat mengontrol suhu yang digunakan karena jika menggunakan suhu yang terlalu tinggi maka akan

mengalami kerusakan komponen bioaktif, lebih cepat, tetapi membutuhkan biaya yang mahal (Widarta *et al.*, 2019). Menurut Yuliantari *et al.*, (2017) suhu yang digunakan untuk pengeringan harus diperhatikan tidak boleh melebihi 50°C karena banyak senyawa seperti fenol, flavonoid, dan tanin dapat mengalami kerusakan. Pengeringan menggunakan sinar matahari seperti penelitian Septiana & Simanjuntak, (2015); Mardiah *et al.*, (2017) selama 2 hingga 3 hari. Pengeringan sinar matahari menggunakan biaya yang murah, waktu yang cukup singkat dibandingkan dengan penganginan, bergantung cuaca dan senyawa antioksidan dapat terdegradasi oleh sinar matahari. Pengeringan dengan cara diangin-anginkan seperti pada penelitian Tapalina *et al.*, (2022) selama 2-3 hari dan Suwardi & Noer, (2020) selama 7 hari. Proses pengeringan hanya dengan diangin-anginkan saja membutuhkan waktu yang lama tetapi dapat mempertahankan senyawa biokatif, biaya murah, meminimalkan terjadinya perubahan kimia, dan meningkatkan umur simpan (Suwardi & Noer, 2020). Proses *pre-treatment* dengan cara diangin-anginkan dapat menjaga senyawa bioaktif yang memiliki sifat antioksidan karena tanpa adanya proses pemanasan pada rempah-rempah, hal tersebut akan menghasilkan aktivitas antioksidan yang bersifat semakin kuat dan nilai IC₅₀ semakin rendah. Didukung oleh jurnal penelitian Luliana *et al.*, (2016) yang membandingkan ketiga jenis pengeringan yaitu dengan diangin-anginkan yang memiliki antioksidan tertinggi dengan 54,60% inhibisi diikuti oleh oven 40°C dengan 52,76% inhibisi, dan dengan sinar matahari 38,06% inhibisi. Maka pengeringan dengan cara diangin-anginkan paling efektif karena memiliki % inhibisi tertinggi.

Pada Tabel 7 dibahas mengenai tahapan ekstraksi setelah dilakukan *pre-treatment* yang sebagian besar menggunakan metode maserasi karena simple dan mudah dilakukan. Maserasi dapat menjaga agar senyawa antioksidan seperti flavonoid tidak rusak karena tidak menggunakan suhu tinggi (Suparmajid *et al.*, 2016). Ekstraksi dengan maserasi dapat dilakukan dengan berbagai tingkatan, tetapi umumnya dilakukan 1 tingkat saja. Tingkatan dalam melakukan maserasi dapat mempengaruhi jumlah ekstrak yang akan dihasilkan. Penelitian Pratiwi & Wardaniati, (2019); Tanvir *et al.*, (2017) melakukan 3 tingkatan maserasi agar menghasilkan rendemen yang optimal. Maserasi jika hanya dilakukan 1 kali saja menyebabkan banyak senyawa yang masih tertinggal di ampasnya, sehingga diperlukan adanya proses maserasi berulang karena akan menghasilkan ekstrak jauh lebih maksimal.

Maserasi berulang membuat sebagian besar senyawa yang terdapat dalam *spices* dapat larut ke dalam pelarut secara optimal.

Terdapat berbagai macam metode ekstraksi seperti *Supercritical Fluid Extraction* (SFE) yang menggunakan CO₂, tanpa pelarut dan suhu rendah. Menurut penelitian Yang *et al.*, (2012) yang membandingkan 2 jenis metode ekstraksi etanol dan *Supercritical Fluid Extraction* (SFE) dalam mengekstrak kayu manis. Kayu manis yang diekstraksi menggunakan metode SFE memiliki nilai IC₅₀ 1,772 ± 0,221 ppm dan ekstraksi etanol memiliki nilai IC₅₀ 0,072 ± 0,003 ppm. Hal tersebut karena metode SFE memiliki polaritas yang rendah karena tanpa menggunakan pelarut sehingga sulit untuk mengekstrak senyawa polar dan harga yang mahal. Pada ekstraksi dengan menggunakan pelarut memiliki kekurangan yaitu waktu tunggu lama tetapi mudah dalam melarutkan senyawa yang akan diekstrak. Terdapat 2 jenis ekstraksi dengan menggunakan panas yaitu soxhletasi dan refluks seperti pada penelitian Tapalina *et al.*, (2022). Penelitian tersebut membandingkan antara 2 jenis metode ekstraksi yang menggunakan panas yang lebih efektif dalam pengekstrakan bawang merah. Kedua metode ini biasanya digunakan jika terdapat senyawa yang tidak dapat larut dalam suhu ruang. Berdasarkan hasil dari penelitian di atas metode refluks menghasilkan nilai IC₅₀ lebih rendah dibandingkan dengan metode soxhletasi. Hal tersebut karena pada metode soxhletasi pelarut membutuhkan waktu yang sangat lama untuk berkontak langsung dengan sampel sehingga tidak semua senyawa antioksidan dapat terekstrak maksimal. Pada metode refluks pelarut dapat berkontak langsung dengan sampel sehingga lebih mudah dalam melarutkan senyawa antioksidan secara maksimal. Senyawa antioksidan dapat terekstrak secara sempurna maka aktivitas antioksidan akan semakin kuat untuk menghambat reaksi oksidasi sehingga nilai IC₅₀ yang didapatkan akan semakin rendah

Tabel 7 sebagian besar penelitian tersebut menggunakan pelarut etanol. Terdapat berbagai jenis pelarut seperti air, etanol, etil asetat, metanol, kloroform, dan n-heksana. Tetapi jenis pelarut etanol yang paling sering digunakan dalam ekstraksi hal ini dikarenakan harganya yang murah, bersifat universal, serta memiliki kemampuan yang baik dibandingkan dengan yang lain dalam mengekstrak senyawa antioksidan karena sifat polaritas yang tinggi dan memiliki titik didih yang rendah (Prasanto *et al.*, 2017). Konsentrasi pelarut sangat

mempengaruhi efektivitas dalam ekstraksi. Menurut penelitian Wahyuni *et al.*, (2021) yang menggunakan 3 konsentrasi etanol yaitu 96%, 80% dan 60% menghasilkan rendemen yang banyak dan memiliki aktivitas antioksidan yang bersifat sangat kuat pada konsentrasi pelarut 96%. Semakin tinggi konsentrasi pelarut maka komponen yang terekstrak akan semakin meningkat.

Penggunaan jenis pelarut dapat mempengaruhi senyawa antioksidan yang terekstrak. Menurut penelitian Martha, (2019) mengenai ekstraksi bawang merah menggunakan 3 pelarut berbeda yaitu etil asetat, air, dan n-heksana didapatkan hasil bahwa pelarut etil asetat paling efektif sehingga mendapatkan nilai IC_{50} 166,97 ppm dan diikuti oleh air dan n-heksana. Hal tersebut karena pelarut etil asetat dapat melarutkan senyawa polar dan non-polar pada bawang merah. Memilih dan menggunakan jenis pelarut dengan polaritas dan tingkat kelarutan yang tepat dapat memaksimalkan dalam melakukan ekstraksi sehingga komponen bioaktif yang terdapat pada *spices* dapat terekstrak secara maksimal. Oleh karena itu, penting untuk mengetahui sifat senyawa pada masing-masing *spices* yang akan diekstrak sehingga senyawa tersebut dapat terekstrak dengan baik.

Pada proses ekstraksi waktu dan suhu wajib diperhatikan agar tidak terlalu tinggi karena dapat menyebabkan menurunnya senyawa bioaktif yang terekstrak. Beberapa senyawa antioksidan mudah mengalami kerusakan di atas suhu 50°C sehingga metode maserasi tepat digunakan karena tidak mencapai 50°C sehingga dapat mempertahankan senyawa antioksidan. Ekstraksi menggunakan panas dianggap lebih cepat karena panas dapat membuka pori-pori bahan sehingga mudah terekstrak. Penelitian Tapalina *et al.*, (2022) ekstraksi panas dengan menggunakan suhu 65°C selama 1 jam dengan metode refulks dan selama 7 jam dengan metode soxhlet. Ekstraksi optimal dilakukan menggunakan metode refluks dengan suhu 65°C selama 1 jam yang mendapatkan nilai IC_{50} 7,953 ppm lebih rendah dibandingkan dengan menggunakan metode soxhletasi, karena waktu ekstraksi terlalu lama menyebabkan penurunan senyawa yang dapat terekstrak. Ekstraksi dengan suhu 45-100°C akan mengalami peningkatan senyawa antioksidan yang akan terekstrak tetapi jika suhu telah melebihi 100°C akan terjadi penurunan jumlah ekstrak akibat kerusakan senyawa antioksidan pada suhu yang terlalu tinggi. Didukung juga oleh jurnal penelitian Wijaya *et*

al., (2019) mengenai ekstraksi jahe dengan metode soxhletasi menggunakan 5 waktu berbeda yaitu 30 menit, 60 menit, 90 menit dan 150 menit pada suhu 70°C dan 80°C. Didapatkan pada suhu 80°C dan 150 menit dapat meningkatkan kelarutan dan jumlah ekstrak yang larut. Hal tersebut karena jika pelarut kontak lama terhadap sampel maka pelarut dapat berdifusi ke dalam bahan dan mengekstrak senyawa didalamnya begitupula pada suhu semakin tinggi suhu yang digunakan maka pori-pori bahan akan semakin membesar dan tingkat kelarutan senyawa akan semakin besar. Penggunaan suhu yang rendah menyebabkan banyak komponen yang tidak dapat terekstrak sempurna.

Berdasarkan beberapa penelitian ekstraksi menggunakan metode maserasi yaitu dengan menggunakan suhu kamar tidak dapat mengekstrak senyawa antioksidan secara optimal oleh karena itu perlu adanya remaserasi yang dapat dilakukan dengan beberapa tingkat seperti penelitian Antasionasti & Jayanto, (2021) yang melakukan maserasi berulang sebanyak 2 tingkat selama 3 hari dan penelitian Pratiwi & Wardaniati, (2019); Tanvir *et al.*, (2017) yang melakukan maserasi berulang sebanyak 3 tingkat masing-masing tingkat selama 24 jam. Waktu yang lama saat melakukan ekstraksi dengan metode maserasi membuat senyawa bioaktif dapat terekstrak secara sempurna karena pelarut dapat memiliki kontak langsung yang lama dengan sampel, sehingga dapat melarutkan senyawa bioaktif dalam sampel secara maksimal.