

1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kacang-kacangan lokal di Indonesia merupakan potensi yang digunakan sebagai alternatif dari kacang kedelai (Marchianti *et al.*, 2017). Kacang-kacangan juga mengandung protein yang tinggi tergantung jenis kacang dan varietasnya (Djaafar *et al.*, 2012). Selain itu menurut (Primiani *et al.*, 2018) kacang-kacangan lokal adalah tumbuhan yang memiliki family *Leguminoceae/Fabaceae* yang terdiri dari kacang kedelai, kacang tanah, kacang kapri, kacang gude, kacang merah, kacang tolo, kacang tunggak, kacang koro pedang, kacang mete, kacang koro bengkok, dan lain sebagainya. Penelitian ini hanya digunakan beberapa kacang-kacangan yaitu kacang kedelai, kacang hijau, kacang merah, dan kacang koro pedang. Pemilihan jenis kacang tersebut didasarkan karena memiliki data yang lengkap terkait isoflavon sehingga dapat dibandingkan kacang satu dengan kacang lainnya.

Isoflavon banyak terdapat pada biji kedelai dan biasanya isoflavon di alam dalam bentuk bebas (aglikon) dan bentuk terkonjugasi (glukosa, asetil glukosa, dan malonil glukosa) (Luthria *et al.*, 2007). Isoflavon ditemukan dalam bentuk glikosida berupa daidzin, genistin, glistin, acetyl aidzin, acetyl genistein. Selain bentuk glikosida isoflavon juga ditemukan dalam bentuk aglikonnya yaitu daidzein, genistein, glisitein (Iswandari, 2006). Isoflavon berupa senyawa yang terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid yang terdapat dalam suatu tumbuhan sebagai campuran. Adanya gula yang terikat pada isoflavon maka akan menyebabkan isoflavon lebih mudah larut dalam air (Istiani *et al.*, 2015). Isoflavon relatif rentan terhadap panas tinggi. Kandungan isoflavon akan semakin turun dengan peningkatan proses pemasakan karena terjadi kerusakan atau pemindahan isoflavon dari bahan dasar (Utari & Riyadi, 2010).

Metode yang sering digunakan dalam analisis isoflavon adalah metode ekstraksi, yang dalam proses ekstraksi ini sering dibutuhkan waktu yang relatif lama supaya diperoleh hasil yang maksimal. Ekstraksi adalah penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Beberapa metode ekstraksi isoflavon diantaranya ekstraksi modern seperti MAE (*Microwave Assisted Extraction*), UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*), SFE (*Supercritical Fluid Extraction*), dan PLE (*Pressurized Liquid Extraction*), digunakan juga metode ekstraksi konvensional seperti maserasi dan *soxhlet*. Berbagai metode ini digunakan karena masing-masing metode memiliki kelemahan dan kelebihan. Metode ekstraksi modern lebih efektif dan efisien dibandingkan dengan

metode konvensional, tetapi tidak selalu mengungguli dari aspek waktu yang singkat, hasil ekstraksi yang maksimum, dan preparasi proses sederhana, sehingga metode ini masih digunakan hingga saat ini (Maleta et al., 2018). Pemilihan metode ekstraksi ini berdasarkan jurnal (Blicharski & Oniszczyk, 2017), yang membahas mengenai metode ekstraksi untuk isolasi isoflavon dari tanaman dan metode ekstraksi lebih efektif dalam penentuan kadar isoflavon dari beberapa tumbuhan termasuk kacang-kacangan, namun adanya beberapa kendala yaitu beberapa kacang-kacangan masih belum banyak data mengenai beberapa metode ekstraksi tersebut.

Salah satu bentuk olahan kacang-kacangan yang mengandung isoflavon adalah tempe. Tempe adalah pangan asli Indonesia yang biasanya terbuat dari kacang kedelai, selain kacang kedelai, tempe juga bisa terbuat dari kacang lainnya seperti, kacang hijau, kacang gude, kacang koro, kacang merah. Pembuatan tempe terdiri dari beberapa tahapan yaitu sortasi, perebusan, perendaman, pengupasan kulit, peragian dan fermentasi (Haliza *et al*, 2007). Proses fermentasi dalam pembuatan tempe dapat mengurangi senyawa anti nutrisi, salah satunya asam fitat. Asam fitat turun lebih dari 50% pada proses pembuatan tempe kedelai maupun tempe non kedelai. Hal ini disebabkan karena aktivitas fitase meningkat selama proses fermentasi. Fitase sendiri adalah enzim yang menghidrolisis fitat menjadi inositol dan asam fosfat (Haliza *et al*, 2007). Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan kajian dari berbagai ekstraksi isoflavon menggunakan metode konvensional dan modern pada kacang kedelai, kacang hijau, kacang merah, kacang koro pedang, dan faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi.

1.2. Tinjauan Pustaka

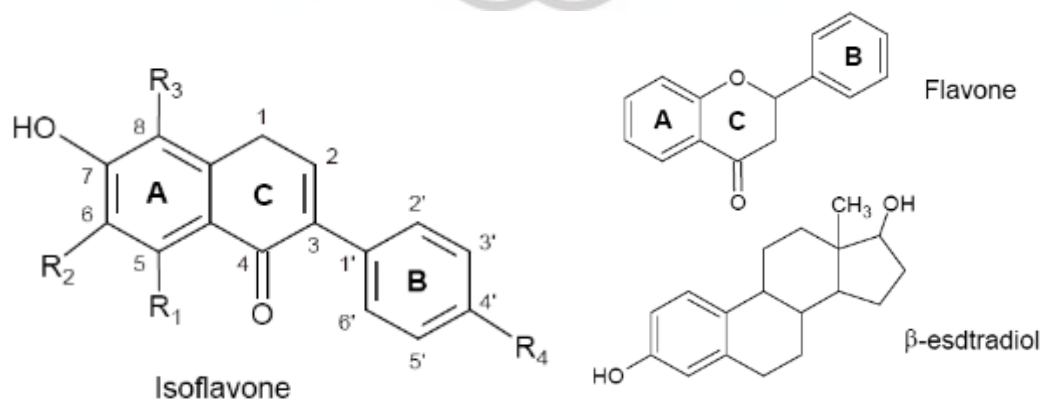
1.2.1. Kacang-kacangan

Tanaman kacang-kacangan atau *leguminoceae* yang memiliki ciri khas pada buahnya yang disebut polong. Terdapat 36 jenis kacang-kacangan yang tersebar dan dapat dikonsumsi di Indonesia. Kandungan protein kacang-kacangan berbeda-beda, tergantung jenis kacang dan varietasnya (Djaafar et al., 2012). Kandungan nilai gizi *Leguminoceae* sangat baik sebagai sumber nutrisi bermanfaat bidang kesehatan. Kacang-kacangan merupakan salah satu bahan makanan sumber protein dengan nilai gizi yang tinggi (20-25 g/100 g), vitamin B (tiamin, riboflavin, niasin, asam folat), mineral (Ca, Fe, P, K, Zn, Mg, dan sebagainya), dan juga serat (Dostálová et al., 2009). Kacang-kacangan juga memiliki keunggulan dari segi harga yang murah memiliki kandungan lemak yang umumnya baik bagi kesehatan dan mengandung berbagai mineral yang cukup banyak. Berbagai jenis kacang-kacangan telah dikenal seperti

kacang merah, kacang hijau, kacang tanah, kacang gude, kacang koro pedang, kacang koro benguk, kacang kedelai, kacang tolo, kacang tunggak, kacang mete dan lain sebagainya. Kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada *Leguminoceae* adalah isoflavon. Biasanya isoflavon di alam dalam bentuk bebas (aglikon) dan bentuk terkonjugasi (glukosa, asetil glukosa, dan malonil glukosa) (Dewi, 2015). Isoflavon pada tumbuhan atau produk olahan makanan biasanya berada sebagai bentuk derivat glikosida (Primiani et al., 2018).

1.2.2. Isoflavon

Beberapa golongan flavonoid yang bersifat polar merupakan senyawa yang larut air. Golongan jenis flavonoid dalam jaringan tumbuhan yang didasarkan pada sifat kelarutan salah satunya adalah isoflavon. Senyawa isoflavon merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak disintesis oleh tanaman. Salah satu manfaat isoflavon adalah sebagai antioksidan (Astuti et al., 2008). Namun, tidak sebagai layaknya senyawa metabolit sekunder karena senyawa ini tidak disintesis oleh mikroorganisme. Dari beberapa jenis tanaman, kandungan isoflavon yang lebih tinggi terdapat pada tanaman *Leguminoceae* (Sulistiani et al., 2014). Isoflavon adalah senyawa polifenol yang termasuk dalam golongan flavonoid yang banyak dijumpai secara alami terutama pada kacang-kacangan (Iswandari, 2006). Isoflavonoid mengandung 15 atom C yang menyusun konfigurasi *diphenylpropane skeleton* sebagai struktur dasarnya termasuk subkelas flavonoid. Isoflavon ditemukan dalam bentuk glikosida berupa daidzin, genistin, glisitin, acetyl daidzin, acetyl genistin. Selain bentuk glikosida isoflavon juga ditemukan dalam bentuk aglikonnya yaitu daidzein, genistein, glisitein (Iswandari, 2006). Isoflavon telah terbukti sebagai antioksidan yang dapat mencegah oksidasi dari LDL (Setyawan, 2017). Struktur kimia isoflavon dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Kimia Isoflavon (Ko, 2014)

Dalam studi *in vitro*, isoflavon kedelai dapat menghambat kerja enzim tirosin kinase, yang dapat menghambat tumbuhnya sel-sel kanker, salah satunya adalah kanker payudara, dan kanker prostat. Studi *in vitro* adalah studi yang dilakukan dalam laboratorium yang melibatkan studi mikroorganisme, sel hewan atau manusia dalam kultur. Genistein pada isoflavon memiliki manfaat untuk metabolisme lemak dan glukosa, memperbaiki sel, serta melindungi sel β -pankreas, dan dapat menurunkan obesitas sehingga genistein ini dapat mencegah diabetes dengan peningkatan daya tahan terhadap enzim diabetes, dan dapat mencegah penyakit jantung (Yulifianti et al., 2018).

1.2.3. Kacang Kedelai

Kacang kedelai (*Glycine max L. Merrill*) merupakan salah satu jenis yang banyak dikonsumsi masyarakat sebagai makanan fungsional dan sebagai bahan pangan sumber protein nabati utama bagi masyarakat, khususnya Indonesia. Kacang kedelai dapat dilihat pada Gambar 2. Selain memiliki kandungan gizi, kedelai juga memiliki kelebihan yaitu adanya polifenol yang sangat penting bagi kesehatan tubuh manusia. Salah satu fungsi polifenol adalah sebagai antioksidan alami yang berguna mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas. Tinggi rendahnya kisaran hasil isoflavon disebabkan karena beberapa faktor seperti varietas kedelai, tahap kematangan kedelai, iklim dan suhu tempat tumbuh kedelai, kondisi tanah, cara bertanam (Utari & Riyadi, 2010). Isoflavon memiliki sifat fitoestrogen non steroid dan antioksidan yang potensial untuk melindungi penyakit-penyakit yang tergantung pada hormon (Sartini et al., 2014). Komposisi kimia biji kacang kedelai dan tempe kacang kedelai dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 2. Kacang Kedelai (Dwinaningsih, 2010)

Isoflavon dalam kedelai pada umumnya dalam bentuk glikosida yaitu daidzin, genistin, dan glisitin yang berkonjugasi dengan mengikat satu molekul gula. Salah satu bentuk olahan kedelai yang telah mengalami proses fermentasi adalah tempe, proses ini memanfaatkan

kapang *Rhizopus*. Pembuatan tempe sering menggunakan kapang *Rhizopus microsporus* dan *Rhizopus oryzae* yang memiliki aktivitas enzim β -glukosidase yang berbeda. Aktivitas enzim β -glukosidase dari *R. microsporus* var. *chinensis* lebih kuat dari pada *R. oryzae* (Purwoko et al., 2001). Pada saat olahan kedelai dikonsumsi, glukosida isoflavon akan didegradasi menjadi senyawa aglikon seperti genistein, daidzein, dan glisitein dan dikatalis di usus halus oleh enzim glukosidase (Astuti et al., 2008). Isoflavon utama dalam kedelai juga dapat diklasifikasikan sebagai malonil atau asetil glikosida, tergantung pada gugus fungsi terkonjugasinya. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa aglikon dapat memberikan efek perlindungan terhadap kanker dan penyakit kardiovaskular (Kim et al., 2012).

Klasifikasi tanaman kacang kedelai dapat digolongkan sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*
 Super Divisi : *Spermatophyta*
 Divisi : *Angiospermae*
 Kelas : *Dicotyledoneae*
 Sub Kelas : *Rosidae*
 Ordo : *Rosales*
 Famili : *Leguminoceae*
 Genus : *Glycine*
 Spesies : *Glycine max* (L.). Merr.

(Saraswati, 2017)

Tabel 1. Komposisi kimia pada biji kedelai dan tempe kedelai (*Glycine max* L. Merrill) dalam 100 g bahan (Haliza et al, 2007)

Zat Gizi (gram)	Bahan/Sampel	
	Biji Kedelai	Tempe Kedelai
Protein	41,2	17,8
Lemak	15,9	5,7
Karbohidrat	29,3	8,8
Air	9,1	67,0

Proses fermentasi menyebabkan peningkatan isoflavon total, sehingga kadar isoflavon tempe jauh lebih tinggi dibandingkan dengan kedelai. Isoflavon yang dominan pada tempe adalah aglikon, sedangkan produk olahan kedelai yang tidak difermentasi lebih dominan glukosida. Isoflavon relatif rentan terhadap panas tinggi. Kandungan isoflavon akan semakin turun dengan

peningkatan proses pemasakan isoflavon dari bahan dasar sehingga dibutuhkan pemasakan tempe yang tepat agar meminimalkan kehilangan isoflavon sehingga diperoleh manfaat kesehatan yang optimal (Utari & Riyadi, 2010).

1.2.4. Kacang Hijau

Kacang hijau (*Vigna radiata* L.) merupakan salah satu tanaman yang berumur pendek. Tanaman ini mudah tumbuh hampir di seluruh tempat baik didataran rendah maupun ketinggian 500 meter di atas permukaan laut. Permintaan terhadap komoditi kacang hijau termasuk stabil, karena penggunaannya kontinyu setiap hari dan sepanjang tahun. Kacang hijau merupakan tanaman yang dapat tumbuh hampir di semua tempat di Indonesia. Di Indonesia tanaman ini memiliki produktivitas rata-rata 10,72 Qu/Ha (Faradilla & Ekafitri, 2012). Komposisi kimia biji kacang hijau dan tempe kacang hijau dapat dilihat pada Tabel 2.



Gambar 3. Kacang Hijau ((Felania, 2017)

Klasifikasi tanaman kacang hijau dapat digolongkan sebagai berikut :

- Kingdom : *Plantae*
 - Divisi : *Spermatophyta*
 - Subdivisi : *Angiospermae*
 - Kelas : *Dicotylidnae*
 - Ordo : *Leguminales*
 - Famili : *Leguminoceae*
 - Genus : *Vigna*
 - Spesies : *Vigna radiata*
- (Adnan, 2019)

Kacang hijau mempunyai nilai gizi yang tinggi dan dapat digunakan sebagai sumber vitamin dan mineral. Kandungan protein kacang hijau cukup tinggi yaitu sekitar 19,04-25,37%. Kacang hijau mempunyai beberapa kelebihan dibanding dengan kacang-kacangan yang lain, yaitu kandungan tripsin inhibitor yang sangat rendah, paling mudah dicerna dan paling kecil memberi pengaruh flatulensi (Anggrahini, 2007). Isoflavon dari kacang hijau terutama daidzein, genistein, glikitin (Iswandari, 2006). Tempe adalah teknik pengolahan kacang hijau dengan fermentasi. Perbedaan kandungan isoflavon dalam tempe dipengaruhi oleh jenis kapang yang digunakan pada proses pengolahan tempe (Iswandari, 2006).

Tabel 2. Komposisi kimia pada biji kacang hijau dan tempe kacang hijau (*Vigna radiata L.*) dalam 100 g bahan (Iswandari, 2006).

Zat Gizi (gram)	Bahan/Sampel	
	Biji Kacang Hijau (Iswandari, 2006)	Tempe Kacang Hijau (Iswandari, 2006)
Protein	22,2	14,96
Lemak	1,2	0,20
Karbohidrat	62,9	20,27
Air	10	64,32

1.2.5. Kacang Koro Pedang

Kacang koro pedang (*Canavalia ensiformis*) merupakan salah satu jenis kacang-kacangan lokal yang biasa digunakan sebagai bahan baku pengganti kedelai dalam pembuatan tempe karena koro pedang memiliki protein yang cukup tinggi. Selain memiliki protein yang tinggi, kacang koro pedang mengandung asam amino, diketahui bahwa kandungan isoleusin, leusin dan tirosin dalam bijinya lebih tinggi daripada jenis koro-koroan yang lainnya. Biji koro pedang juga memiliki asam lemak linoleat dan asam linolenat yang cukup tinggi. Koro pedang diketahui juga dapat menghasilkan energi karena memiliki amilopektin dan amilosa yang tinggi (Sridhar & Seena, 2006). Komposisi kimia biji kacang koro pedang dan tempe kacang koro pedang dapat dilihat pada Tabel 3.



Gambar 4. Kacang Koro Pedang (Putri, 2018)

Klasifikasi tanaman kacang koro pedang sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*
 Divisi : *Magnoliophyta*
 Kelas : *Magnoliopsida*
 Ordo : *Fabales*
 Family : *Leguminoceae*
 Subfamily : *Papilionoideae*
 Genus : *Canavalia*
 Spesies : *Canavalia ensiformis*
 (Wijaya & Suarna, 2020)

Tabel 3. Komposisi kimia pada biji kacang koro pedang dan tempe kacang koro pedang (*Canavalia ensiformis*) dalam 100 g bahan

Zat Gizi (gram)	Bahan/Sampel	
	Biji Kacang Koro Pedang (Wahjuningsih, S.B. and Saddewisasi, 2013)	Tempe Kacang Koro Pedang (Pangesthi, L.T dan Kalaminasih, D, 2013).
Protein	30,36	15,23
Lemak	3,9	3,62
Karbohidrat	56,51	19,88
Air	8,96	56,80

Kacang koro pedang mengandung beberapa senyawa merugikan yaitu glukosianida yang bersifat toksik dan asam fitat yang merupakan senyawa antigizi. Senyawa antinutrisi yang sering terdapat pada kacang-kacangan antara lain enzim lipoksigenase tripsin, inhibitor, asam fitat, oligosakarida, senyawa glikosida dan sianida. Kacang koro pedang memiliki antioksidan

yang dapat menangkal radikal bebas maupun senyawa non radikal yang dapat menimbulkan oksidasi pada biomolekul seperti protein, karbohidrat, dan lipid.

1.2.6. Kacang Merah

Kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*) adalah salah satu komoditas kacang-kacangan atau kelompok *leguminosa* yang dikenal masyarakat Indonesia. Kacang merah memiliki manfaat yang sangat penting karena memiliki kandungan gizi yang cukup baik. Komposisi kimia pada biji kacang merah dan tempe kacang merah dapat dilihat pada Tabel 4. Kacang merah mengandung isoflavon tinggi sehingga dapat memperbaiki profil lipid serum pada tubuh (Orviyanti, 2012). Walaupun kandungan isoflavonnya kurang tinggi jika dibandingkan kacang kedelai, tetapi kandungan isoflavon kacang merah cukup untuk mencegah peningkatan radikal bebas (Indayanti, 2021). Kacang merah memiliki kandungan senyawa anti gizi yang sebagian besar didominasi oleh asam fitat (Astawan et al., 2013) serta bau langu yang tinggi sehingga mengakibatkan produk akhir menjadi kurang diterima oleh masyarakat.



Gambar 5. Kacang Merah (Suhaling, 2012)

Klasifikasi tanaman kacang merah sebagai berikut :

- Kingdom : *Plantae*
- Divisi : *Spermatophyta*
- Subdivisi : *Angiospermae*
- Kelas : *Dicotyledoneae*
- Ordo : *Leguminales*
- Family : *Leguminosae*
- Genus : *Phaseolus*
- Spesies : *Phaseolus vulgaris*

(Suknia & Rahmani, 2020)

Tabel 4. Komposisi kimia pada biji kacang merah dan tempe kacang merah (*Phaseolus vulgaris*) dalam 100 g bahan

Komposisi Kimia (%)	Bahan/Sampel	
	Biji Kacang Merah (gram) (Asfi <i>et al</i> , 2017)	Tempe Kacang Merah (Radiati, 2016)
Protein	22,10	23,1
Lemak	1,10	1,7
Karbohidrat	56,20	59,5
Air	17,70	59,42

Salah satu bentuk olahan kacang merah adalah fermentasi tempe. Proses fermentasi dapat meningkatkan total isoflavon, sehingga kadar isoflavon pada tempe akan lebih tinggi daripada isoflavon biji kacang-kacangan. Hal ini karena pada produk fermentasi, isoflavon dalam bentuk aglikon lebih dominan lagi. Tingginya kandungan isoflavon pada tempe disebabkan oleh adanya aktivitas kapang *Rhizopus sp.*

1.2.7. Tempe

Tempe merupakan contoh sumber protein nabati yang dikenal masyarakat Indonesia dari berbagai kalangan. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa kandungan utama dari tempe adalah isoflavon. Kandungan isoflavon dapat berubah karena proses pemasakan dan pembuatan tempe yaitu perendaman dalam air, perebusan dan fermentasi. Proses pengolahan tempe meliputi tahap pencucian, perendaman, perebusan, pengulitan, pengukusan, penirisan dan pendinginan, inokulasi, pengemasan, dan fermentasi kapang selama 2-3 hari (Rokhmah, 2008). Perendaman biji kacang mengakibatkan ukuran biji kacang menjadi lebih besar sehingga struktur kulit mengalami perubahan dan lebih mudah untuk dikupas. Perebusan dan pengukusan bertujuan untuk melunakkan biji serta membuat bakteri kontaminan pada kacang mati. Penirisan dan pengukusan bertujuan untuk mengurangi kadar air pada biji kacang serta menurunkan suhu. Kapang yang tumbuh pada tempe mampu menghasilkan beberapa enzim seperti enzim protease yang dapat mengurai protein menjadi peptida yang lebih pendek dan asam amino bebas, enzim lipase untuk mengurai lemak menjadi asam-asam lemak, dan enzim lipase untuk mengurai karbohidrat kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana.



Gambar 6. Tempe (Dwinaningsih, 2010)

Fungsi perendaman dalam air adalah untuk memisahkan kedelai dari kulitnya. Perendaman mempengaruhi kadar isoflavon dalam tempe. Kandungan isoflavon dalam tempe yang dalam proses pembuatannya melalui perendaman kacang dalam air hangat akan lebih tinggi daripada yang direndam dalam air dingin. Selain proses perendaman, kadar isoflavon juga dipengaruhi oleh proses perebusan. Menurut (Utari & Riyadi, 2010) kedelai yang direbus dua kali dalam pembuatan tempe mengandung isoflavon lebih banyak daripada kedelai yang hanya direbus satu kali. Dan untuk proses pengukusan dalam pembuatan tempe akan menurunkan kadar isoflavon. Sebaiknya pembuatan tempe digunakan proses perebusan dua kali untuk menjaga agar kadar isoflavon tetap tinggi (Handajani, 2001). Pada perebusan kacang yang pertama bertujuan agar kedelai dapat menyerap air sebanyak mungkin, sehingga dapat membuat kacang menjadi lunak dan akan memudahkan fermentasi.

Perebusan di tahap pertama ini membuat perendaman cepat dan tidak akan muncul bau asam. Proses perebusan di tahap kedua untuk memastikan bahwa kacang dalam keadaan benar-benar matang serta membunuh bakteri kontaminan yang berkembang biak selama perendaman, yang akan menyebabkan timbulnya bakteri dan lendir sehingga menghalangi proses fermentasi akhir. Proses fermentasi akan meningkatkan kadar isoflavon total, sehingga kadar isoflavon tempe akan jauh lebih tinggi (Utari & Riyadi, 2010). Teknologi fermentasi adalah salah satu alternatif pengolahan kacang menjadi produk makanan yang berkualitas tinggi karena dapat meningkatkan nilai cerna dan gizi yang dimiliki dalam kacang tersebut (Maryam, 2015). Beberapa kacang-kacangan yang bisa dimanfaatkan sebagai tempe adalah kacang kedelai, kacang hijau, kacang merah, kacang koro pedang dan kacang koro benguk. Syarat mutu tempe kedelai dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Syarat Mutu Tempe Kedelai Menurut Standar Nasional Indonesia 3144:2015

Kriteria Uji	Persyaratan
Keadaan	
Bau	Bau khas tempe tanpa adanya bau amoniak
Warna	Putih merata pada seluruh permukaan
Tekstur	Kompak, jika diiris tetap utuh
Air (% b/b)	maks. 65
Lemak (% b/b)	maks. 7
Protein (% b/b)	maks. 15
Cemaran mikroba	
<i>Coliform</i>	maks. 10
<i>Salmonella sp.</i>	Negatif/25 g

Sumber : (Badan Standarisasi Nasional, 2015)

Beberapa nilai gizi kacang-kacangan terjadi penurunan setelah diolah menjadi tempe yaitu kadar lemak, kadar protein dan kadar karbohidrat. Kadar karbohidrat menurun setelah diolah menjadi tempe disebabkan karena selama fermentasi karbohidrat dirombak menjadi gula-gula yang lebih sederhana (Fitriasari, 2010). Menurut (Astawan et al., 2013) yang menyatakan bahwa penurunan kadar karbohidrat disebabkan karena selama fermentasi terjadi aktivitas enzimatis dari kapang, sehingga menghasilkan penurunan heksosa secara drastis serta menyebabkan hidrolisis lambat. Sedangkan kadar air pada tempe mengalami peningkatan dibandingkan dengan sebelum diolah, hal ini karena dalam fermentasi terdapat proses perendaman, sehingga mengalami proses hidrasi dan kadar air menjadi meningkat. Semakin tinggi kadar air, maka bahan makanan tersebut akan mudah tumbuh bakteri, kapang, dan khamir yang tidak diinginkan sehingga akan terjadi perubahan pada bahan pangan (Jayanti, 2019).

Kadar protein menurun setelah diolah menjadi tempe disebabkan karena adanya proses perendaman dan perebusan yang membuat penambahan berat air dan kapang yang tumbuh yang sehingga tidak padat dan berbeda saat berbentuk biji. Zat gizi yang ada dalam tempe lebih mudah diserap dan dicerna oleh tubuh, karena kapang yang tumbuh pada produk olahan tempe akan menghidrolisis senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana (Jayanti, 2019). Proses pemanasan mengakibatkan protein mengalami denaturasi yang akan membuat protein menjadi rusak, sehingga dapat menurunkan kadar protein. Pemanasan juga dapat meningkatkan daya cerna protein yang dihancurkan oleh enzim protease. Kadar lemak menurun setelah diolah menjadi tempe disebabkan karena selama fermentasi kapang akan mensintesis enzim lipase sehingga akan menghidrolisis triasilgliserol yang diubah menjadi

asam lemak bebas, dan asam lemak akan menjadi sumber energi untuk tumbuhnya kapang (Astawan et al., 2013)

1.3. Metode Ekstraksi Isoflavon

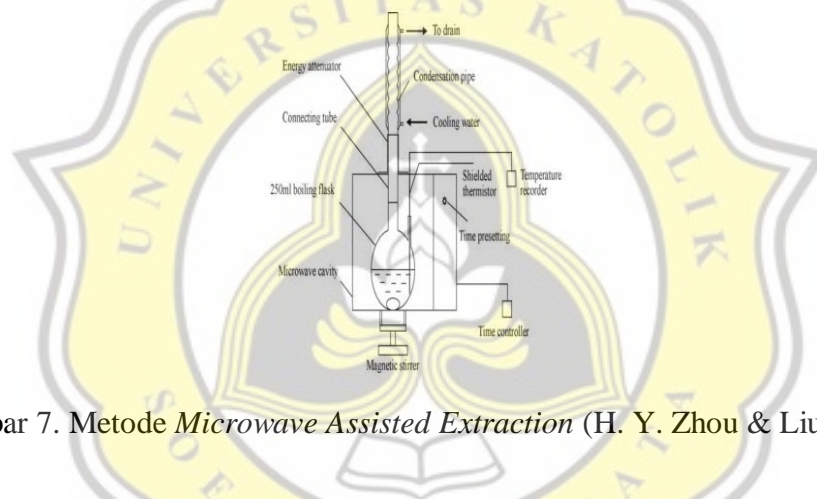
Metode yang sering digunakan untuk menganalisis isoflavon adalah ekstraksi. Ekstraksi adalah perpindahan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang sulit larut dari pelarut cair (Dewi, 2015). Metode ekstraksi padat-cair dilakukan apabila ada kontak antara padatan dan pelarut sehingga akan diperoleh larutan yang diinginkan, setelah itu akan dipisahkan dari padatan sisa. Saat terjadi kontak antara pelarut dan bahan terjadi peristiwa dan difusi. Untuk mendapatkan hasil isoflavon yang maksimal terdapat faktor-faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi yaitu jenis pelarut yang digunakan (etanol, metanol, aseton air, dan isopropanol), jenis pelarut, frekuensi, daya, tekanan, suhu, dan waktu. Dalam metode ekstraksi isoflavon biasanya memerlukan waktu yang lama dan dihasilkan jumlah isoflavon yang bermacam-macam. Faktor-faktor yang berpengaruh pada proses ekstraksi adalah ukuran partikel, pelarut, suhu, tekanan, dan waktu (Hernández et al., 2009). Total kadar isoflavon akan meningkat seiring dengan meningkatnya waktu ekstraksi, maka dari itu waktu ekstraksi yang semakin lama lebih disukai untuk mendapatkan kadar isoflavon yang maksimal (Agrawal et al., 2015).

Ekstraksi yang benar tergantung dari jenis senyawa, tekstur, dan kandungan air bahan tumbuhan yang diekstraksi (Putra et al, 2014). Terdapat beberapa jenis metode ekstraksi isoflavon diantaranya *Microwave Assisted Extraction* (MAE), *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE), *Supercritical Fluid Extraction* (SFE), *Pressurized Liquid Extraction* (PLE) yang merupakan metode ekstraksi modern, maserasi dan soxhlet yang merupakan metode ekstraksi konvensional (Blicharski & Oniszczuk, 2017). Metode tradisional tidak cukup untuk melakukan setiap pekerjaan di bidang ekstraksi karena metode ini menghabiskan banyak tenaga dan waktu serta membutuhkan banyak jumlah pelarut yang seringkali beracun, dan relatif tinggi jumlah bahan sampel. Sedangkan metode modern ini membawa banyak keuntungan, termasuk peningkatan hasil dan selektivitas, waktu ekstraksi yang dioptimalkan, dan peningkatan kualitas ekstrak, dan keramahan lingkungan (Blicharski & Oniszczuk, 2017). (Khoddami et al., 2013) juga menambahkan bahwa metode modern dapat mempersingkat waktu ekstraksi, mengurangi pelepasan polutan beracun melalui pengurangan konsumsi pelarut organik, dan relatif mudah dilakukan. Faktor-faktor yang berpengaruh pada proses ekstraksi adalah ukuran partikel, pelarut, suhu, tekanan, dan waktu (Restiana, 2018).

1.3.1. Metode Ekstraksi Modern

1.3.1.1. *Microwave Assisted Extraction (MAE)*

Microwave Assisted Extraction (MAE) adalah teknik ekstraksi yang relatif baru yang menggabungkan gelombang mikro dan ekstraksi pelarut tradisional. Salah satu manfaat utama dalam sistem MAE adalah aplikasi bebas pelarutnya yang menawarkan teknologi ekstraksi ramah lingkungan. Pelarut panas yang dihasilkan MAE menembus dengan mudah ke dalam matriks dan mengekstrak senyawa dari sel tumbuhan. Untuk sampel termolabil, pelarut transparan seperti heksana, kloroform dan toluena, atau campuran dengan pelarut non transparan, mencegah degradasi (Khoddami et al., 2013). Beberapa faktor yang mempengaruhi MAE yaitu, beberapa pengoptimalan statistik telah dilakukan untuk menentukan kondisi terbaik untuk mengekstrak fenolat yang berbeda.



Gambar 7. Metode *Microwave Assisted Extraction* (H. Y. Zhou & Liu, 2006)

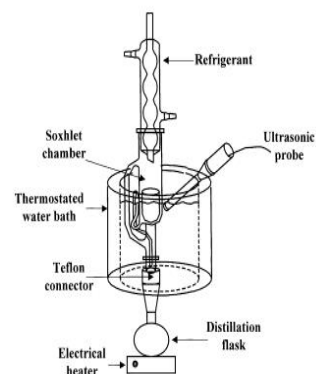
Kelebihan metode ini adalah pengurangan penggunaan pelarut organik, pengurangan waktu ekstraksi (umumnya kurang dari 30 menit) karena gelombang mikro memanaskan pelarut atau campuran pelarut secara langsung, sehingga mempercepat pemanasan. Selain kecepatan ekstraksi yang tinggi, MAE juga dapat meningkatkan hasil ekstraksi (Huie, 2002). Menurut (Delazar et al., 2012) juga MAE memiliki keunggulan yaitu waktu ekstraksi singkat, pelarut sedikit, laju ekstraksi lebih tinggi dan biaya lebih murah dibanding dengan metode ekstraksi senyawa tradisional dari berbagai matriks. Menurut (Jovanovic et al., 2017) kekurangan metode MAE adalah mudah menguap, efek gelombang mikro bergantung pada polaritas pelarut, kemungkinan ekstraksi sejumlah besar zat pemberat. Selain itu, kelemahan metode ini adalah pemanasan yang tidak merata selama ekstraksi (Zhao et al., 2011). Pelarut yang sering digunakan adalah etanol karena etanol merupakan pelarut yang memiliki kadar toksisitas rendah. Dengan menambahkan sejumlah air ke pelarut etanol maka akan meningkatkan

efisiensi ekstraksi. Adanya air akan meningkatkan perpindahan massa antar padatan dan cairan dengan meningkatkan efisiensi pemanasan (Chaves et al., 2020).

Selain pemilihan pelarut ekstraksi yang harus tepat, faktor-faktor berikut juga dapat mempengaruhi hasil ekstraksi yaitu waktu ekstraksi, daya microwave, ukuran partikel dan sifat bahan. Peningkatan waktu ekstraksi dapat meningkatkan hasil ekstraksi, tetapi dapat meningkatkan resiko degradasi komponen termolabil. Untuk mengoptimalkan MAE, kombinasi daya gelombang mikro rendah atau sedang dengan waktu ekstraksi yang lebih lama biasanya yang sering diinginkan. Jika semakin halus ukuran partikel sampel maka akan menghasilkan efisiensi ekstraksi yang lebih baik (Delazar et al., 2012). Ekstraksi yang dilakukan antara suhu 75°C-100°C mempengaruhi isoflavon malonil, antara 100°C-125°C juga mempengaruhi asetil isoflavon dan suhu yang lebih tinggi secara tajam meningkatkan degradasi glukosida (Rostagno et al., 2007).

1.3.1.2. *Ultrasound Assisted Extraction (UAE)*

Ultrasound Assisted Extraction (UAE) adalah salah satu metode ekstraksi yang paling efektif, dan merupakan metode yang sederhana, cepat dan murah. Teknik ini digunakan untuk mengekstrak senyawa dari tanaman karena gelombang ultrasonik frekuensi tinggi. Tingkat ekstraksi dan hasil UAE dipengaruhi oleh sejumlah faktor yaitu konsentrasi pelarut, rasio bahan, waktu, suhu, daya dan lain lain (Zhou, 2017). Maran (2013) juga menambahkan bahwa UAE memiliki beberapa faktor yaitu suhu ekstraksi, kekuatan ultrasound, waktu ekstraksi dan rasio padat cair pada UAE. Menurut (Zhou *et al*, 2017) suhu pada metode UAE yang optimal berkisar antara 50-150°C, karena suhu yang terlalu tinggi dapat menguraikan senyawa bioaktif dalam ekstrak kacang-kacangan, sehingga menurunkan hasil yang didapatkan.

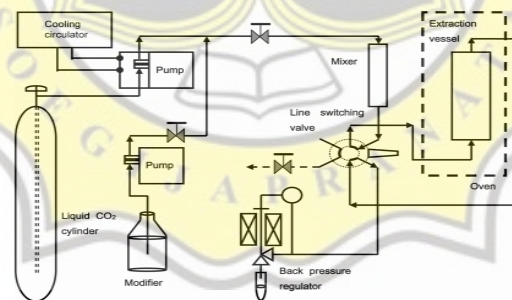


Gambar 8. Metode *Ultrasound Assisted Extraction* (Luque-García & Luque De Castro, 2004)

Ekstraksi isoflavon kedelai ditingkatkan dengan ultrasound, namun masih bergantung pada pelarut yang digunakan. UAE terbukti sebagai teknik cepat dan andal serta menghasilkan hasil yang lebih baik daripada teknik pengadukan campuran (Blicharski & Oniszcuk, 2017). Dibandingkan dengan metode konvensional, UAE adalah salah satu sistem ekstraksi yang paling sederhana dan murah dan dapat dioperasikan dengan cepat dalam berbagai pelarut untuk sediaan skala besar yang sesuai tujuan industri (Khoddami et al., 2013). (Jovanovic et al., 2017) menambahkan bahwa keuntungan metode UAE ini adalah hasil ekstraksi yang meningkat, peningkatan kualitas ekstrak, berbagai pelarut dapat digunakan untuk ekstraksi. (Rathod *et al*, 2013) juga menambahkan bahwa keuntungan metode UAE adalah meningkatkan hasil ekstraksi, waktu yang singkat, menggunakan suhu rendah, dan pelarut yang digunakan sedikit. Sedangkan kerugiannya yaitu degradasi senyawa, efek gelombang ultrasonik, adanya jumlah partikel yang lebih besar.

1.3.1.3. *Supercritical Fluid Extraction (SFE)*

Supercritical Fluid Extraction (SFE) adalah salah satu metode ekstraksi alternatif, metode ini menunjukkan dampak lingkungan yang menghasilkan sedikit limbah beracun (Blicharski & Oniszcuk, 2017). Suhu optimal yang digunakan pada metode SFE ini antara 40-70°C (Maurício A. Rostagno et al., 2002).



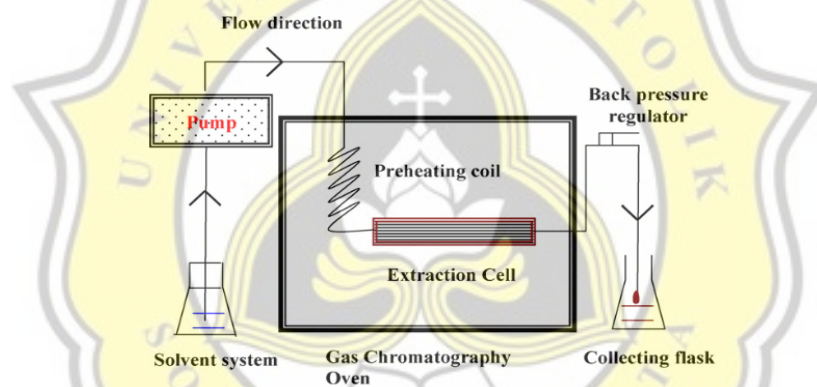
Gambar 9. Metode *Supercritical Fluid Extraction* (Pyo et al., 2009)

Khoddami (Khoddami et al., 2013) juga menambahkan bahwa teknik ini ramah lingkungan dan bisa menjadi alternatif yang baik untuk metode ekstraksi pelarut organik konvensional. Hal ini dapat menurunkan persyaratan untuk pelarut organik beracun, meningkatkan keamanan, waktu yang cepat, degradasi senyawa yang diekstrak dapat dihindari jika tidak ada udara dan cahaya dan kemungkinan kontaminasi sampel dengan pengotor jauh lebih rendah dibanding metode lain. Kelemahan SFE ini adalah mahal dan polaritasnya rendah (Chaves et al., 2020). Ekstraksi fluida superkritis memiliki keuntungan potensial termasuk kecepatan ekstraksi yang

cepat, ekstraksi yang lebih efisien, efektivitas yang meningkat. Keuntungan SFE ini diperoleh dari sifat pelarut tekanan dan tekanan di atas titik kritisnya (Pyo et al., 2009). (Chaves et al., 2020) menambahkan bahwa keuntungan metode ini adalah tidak beracun, tidak mudah terbakar, ramah lingkungan. Kekurangan metode SFE ini menurut (Khezeli et al., 2020) adalah biayanya mahal, polaritasnya rendah dari pelarut ekstraksi, tekanannya tinggi sehingga membutuhkan peralatan dan sistem keamanan yang memadai.

1.3.1.4. *Pressurized Liquid Extraction (PLE)*

Pressurized Liquid Extraction (PLE) adalah teknik yang melibatkan ekstraksi menggunakan pelarut cair pada suhu dan tekanan tinggi, yang meningkatkan kinerja ekstraksi dibandingkan dengan teknik yang dilakukan pada suhu kamar dan tekanan atmosfer. *Pressurized Liquid Extraction (PLE)* juga dikenal sebagai ekstraksi pelarut yang dipercepat dan ekstraksi pelarut yang ditingkatkan (Mustafa & Turner, 2011)



Gambar 10. Metode *Pressurized Liquid Extraction* (Teo et al., 2010)

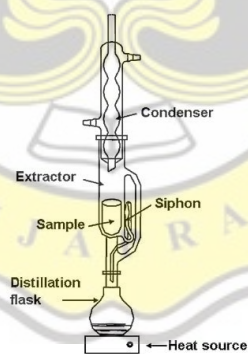
Dalam *pressurized liquid extraction (PLE)*, sampel padat atau semi padat ditempatkan dalam wadah tertutup. Pelarut kemudian ditambahkan ke sel pada awal siklus pemanasan. Selama siklus pemanasan, pelarut dipompa masuk dan keluar sel untuk mempertahankan tekanan dan untuk melakukan sejumlah siklus statis yang ditunjukkan oleh pengguna. Kelemahan PLE adalah sampel basah memerlukan langkah pengeringan sebelum analisis saat menggunakan pelarut ekstraksi nonpolar. Natrium sulfat atau hidro matriks biasa digunakan, tetapi jumlah zat pengering yang dapat digunakan dibatasi oleh volume sel ekstraksi. Sehingga sampel harus dikeringkan dahulu sebelum diekstraksi (Schantz, 2006). (Chaves et al., 2020) juga menambahkan bahwa kelemahan PLE adalah biaya mahal, dan kebutuhan untuk pengoptimalan variable secara menyeluruh untuk menghindari efisiensi yang bergantung pada matriks. (Wijngaard et al., 2012) menambahkan bahwa kekurangan PLE adalah menggunakan

suhu tinggi sehingga menghasilkan senyawa-senyawa yang tidak diinginkan. Dan keuntungannya adalah ekstraksi lebih cepat, pelarut dalam jumlah sedikit, tidak diperlukan filtrasi ekstrak.

1.3.2. Ekstraksi Konvensional

1.3.2.1. Ekstraksi *Soxhlet*

Ekstraksi *soxhlet* adalah metode ekstraksi yang menggunakan pelarut selalu baru umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi secara kontinyu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan karena adanya pendingin balik. Biomassa ditempatkan dalam wadah *soxhlet* yang dibuat dengan kertas saring, melalui alat ini pelarut akan terus direfluks (Dewi, 2015). Metode ekstraksi ini digunakan cara panas yang dapat menghasilkan ekstrak yang digunakan lebih cepat, sampel yang digunakan lebih sedikit, waktu yang digunakan lebih cepat, dan sampel diekstraksi secara sempurna karena dilakukan berulang-ulang. Kelemahan yaitu senyawa yang bersifat termolabil yang terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus menerus berada pada titik didih (Mukhriani, 2014). (Rasul, 2018) menambahkan bahwa kekurangan metode *soxhlet* adalah sampel dipanaskan pada suhu tinggi dan dalam waktu yang relatif lama, maka akan menyebabkan kerusakan pada beberapa senyawa, waktu ekstraksi yang lama, pelarut yang digunakan banyak.

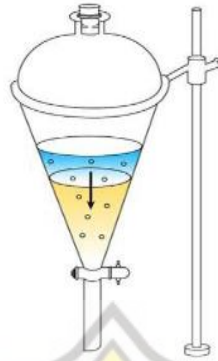


Gambar 11. Metode *Soxhlet* (Luque de Castro & Priego-Capote, 2010)

1.3.2.2. Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi maserasi merupakan proses perendaman sampel untuk menarik komponen yang diinginkan dengan kondisi dingin diskontinyu. Proses maserasi ini dilakukan dengan serbuk kasar yang diletakkan dalam sebuah wadah bersama dengan pelarut dan didiamkan dalam suhu ruang selama periode waktu tertentu hingga senyawa tertentu yang ingin diambil terlarut dalam pelarut tersebut melalui proses pengocokan atau pengadukan, campuran kemudian disaring untuk memisahkan padatan dan larutan dengan menggunakan alat shaker (Restiana, 2018).

Metode ini tidak memerlukan pemanasan sehingga kecil kemungkinan bahan alam menjadi rusak atau terurai. Pemilihan pelarut berdasarkan kelarutan dan polaritasnya memudahkan pemisahan bahan alam dalam sampel. Pelarut yang sering digunakan dalam metode ekstraksi ini adalah aseton dan etanol.



Gambar 12. Metode Maserasi (Rassem et al., 2016)

Ekstraksi maserasi memiliki kelemahan yaitu banyak memakan waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang, dan beberapa senyawa sulit diekstraksi pada suhu kamar (Mukhriani, 2014). (Chairunnisa et al., 2019) menambahkan bahwa kelemahan ekstraksi maserasi adalah kurang sempurnanya proses ekstraksi yang menyebabkan senyawa menjadi kurang terlarut dengan sempurna. Keuntungan metode ini adalah lebih praktis, tidak memerlukan pemanasan (Putra, 2014) dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil. Keuntungan lain adalah biaya yang murah dan metode yang digunakan sederhana (Ginting, 2013). Mukhriani (2014) juga menambahkan bahwa kelebihan metode ini adalah dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil. (Rasul, 2018) juga menambahkan bahwa kelebihan maserasi adalah metode yang sederhana dan memiliki kekurangan waktu ekstraksi yang lama dan menggunakan pelarut yang banyak. Kelemahan dan kelebihan metode ekstraksi isoflavon dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 6. Rangkuman Kelemahan dan Kelebihan dari Metode Ekstraksi

Metode	Kelebihan	Kekurangan
<i>Microwave Assisted Extraction</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Waktu ekstraksi singkat • Pelarut sedikit • Laju ekstraksi lebih tinggi • Biaya lebih murah • Ekstraksi sederhana 	<ul style="list-style-type: none"> • Mudah menguap • Efek gelombang mikro bergantung pada polaritas pelarut • Kemungkinan ekstraksi sejumlah besar zat pemberat • Pemanasan yang tidak merata selama ekstraksi
<i>Ultrasound Assisted Extraction</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Ekstraksi yang sederhana • Biayanya murah • Dapat dioperasikan dengan cepat dalam berbagai pelarut untuk skala besar • Hasil ekstraksi meningkat 	<ul style="list-style-type: none"> • Efek gelombang ultrasonik dan kinetika ekstraksi bergantung pada bahan • Adanya jumlah partikel yang lebih besar.
<i>Supercritical Fluid Extraction</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Kecepatan ekstraksi yang cepat • Ekstraksi yang lebih efisien • Efektivitas yang meningkat • Pelarutnya aman dan ramah lingkungan 	<ul style="list-style-type: none"> • CO₂ itu non polar sehingga tidak cocok untuk ekstraksi senyawa polar • Biayanya mahal • Polaritasnya rendah dari pelarut ekstraksi • Tekanannya tinggi sehingga membutuhkan peralatan dan sistem keamanan yang memadai.
<i>Pressurized Liquid Extraction</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Ekstraksi lebih cepat • Pelarut yang digunakan sedikit • Tidak diperlukan filtrasi ekstrak • Hasil ekstraksi banyak 	<ul style="list-style-type: none"> • Biaya mahal • Menggunakan suhu tinggi sehingga menghasilkan senyawa-senyawa yang tidak diinginkan.
<i>Soxhlet</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Metodenya sederhana • Menghasilkan ekstrak yang digunakan lebih cepat • Peralatan yang digunakan sederhana • Sampel yang digunakan lebih sedikit • Sampel diekstraksi secara sempurna • Ekstraksi yang kontinyu 	<ul style="list-style-type: none"> • Senyawa yang bersifat termolabil • Menggunakan pelarut organik berbahaya • Waktu yang digunakan lama • Sampel dipanaskan pada suhu tinggi akan menyebabkan kerusakan pada beberapa senyawa • Pelarut yang digunakan banyak

Maserasi	<ul style="list-style-type: none"> ● Praktis ● Biaya yang murah ● Metode yang digunakan sederhana ● Dapat menghindari rusaknya senyawa yang bersifat termolabil 	<ul style="list-style-type: none"> ● Banyak memakan waktu ● Beberapa senyawa hilang ● Beberapa senyawa sulit diekstraksi pada suhu kamar ● Pelarut yang digunakan banyak
----------	---	--

1.3.3. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi ekstraksi antara lain pelarut yang digunakan, waktu dan suhu yang digunakan, ukuran partikel, tekanan, frekuensi, dan daya (Restiana, 2018). Berikut ini merupakan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi ekstraksi :

1.3.3.1. Ukuran Bahan

Bahan yang akan diekstrak seharusnya memiliki luas permukaan yang besar untuk mempermudah kontak antara bahan dengan pelarut supaya menghasilkan hasil ekstraksi yang optimal. Semakin kecil ukuran partikel, semakin besar luas bidang kontak antara padatan dan solven, dan semakin pendek jalur difusinya, yang menjadikan laju transfer massa semakin tinggi. Ukuran luas permukaan suatu bahan yang akan diekstraksi dapat diperluas melalui proses pengecilan ukuran bahan seperti perajangan dan penghalusan (Maslukhah et al., 2016). Ukuran bahan yang akan diekstrak akan mempengaruhi efisiensi ekstraksi. Ukuran bahan yang terlalu besar mengakibatkan kontak antara komponen yang akan dipisahkan lebih kecil. Jika ukuran bahan kecil, maka pelarut lebih mudah berinteraksi dengan komponen yang akan dipisahkan (Aryani et al., 2015). Menurut (Ariyani et al., 2008) pengecilan ukuran bertujuan untuk memecahkan struktur dinding sel yang menjadi penghalang bagi terjadinya difusi pelarut ke dalam padatan inert. Ukuran partikel juga tidak boleh terlalu kecil karena apabila ukurannya terlalu kecil atau terlalu halus maka akan menyebabkan sulitnya proses pemisahan ampas dari ekstrak yang didapat.

1.3.3.2. Suhu Ekstraksi

Biasanya kelarutan dari bahan yang diekstraksi akan bertambah dengan meningkatnya suhu sehingga laju ekstraksinya juga tinggi. Selain itu, koefisien difusivitas juga akan semakin meningkat dengan naiknya suhu sehingga dapat mempercepat laju ekstraksi (Ariyani et al., 2008). Pada umumnya kelarutan zat aktif yang diekstrak akan bertambah besar dengan bertambah tingginya suhu. Akan tetapi, peningkatan suhu ekstraksi juga harus diperhatikan,

karena suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan kerusakan pada bahan yang sedang diproses (Margaretta et al., 2011)

1.3.3.3. Waktu Ekstraksi

Waktu ekstraksi akan sangat berpengaruh terhadap senyawa yang dihasilkan. Waktu ekstraksi yang tepat akan menghasilkan senyawa yang optimal (Budiyanto et al., 2019). Semakin lama waktu ekstraksi antara pelarut dan bahan, maka semakin lama kontak antara pelarut dengan bahan yang akan memperbanyak jumlah sel yang pecah dan bahan aktif yang terlarut (Wahyuni & Widjanarko, 2015). Kondisi ini akan terus berlanjut hingga tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam bahan dengan konsentrasi senyawa pada pelarut. Sedangkan waktu ekstraksi yang terlalu singkat menyebabkan tidak semua senyawa aktif terekstrak dari bahan (Yuliantari et al., 2017)

1.3.3.4. Jenis dan Jumlah Pelarut

Jenis pelarut yang dipilih memiliki prinsip pelarut polar akan melarutkan senyawa polar sedangkan pelarut non polar akan melarutkan senyawa non polar. Semakin banyak pelarut yang digunakan maka kecepatan difusi suatu zat akan semakin meningkat dan akan menyebabkan perolehan yield semakin besar, tetapi memiliki kekurangan yang tidak ekonomis karena pelarut yang digunakan terlalu banyak. Dalam pemilihan jenis pelarut ada beberapa faktor seperti selektivitas pelarut, perbedaan titik didih antara pelarut dengan zat yang akan diekstrak dan reaktivitas (Prayudo et al., 2015).

Pelarut yang baik adalah pelarut yang tidak merusak residu, harga relatif murah, memiliki titik didih rendah, murni dan tidak berbahaya. Suatu zat dapat larut dalam pelarut jika mempunyai nilai polaritas yang sama. Perbandingan antara massa pelarut, dan massa padatan yang akan diekstrak juga harus tertentu untuk mendapatkan hasil ekstraksi yang terbaik (Ariyani et al., 2008). Pelarut yang bersifat polar diantaranya etanol, metanol, aseton air, dan isopropanol (Wahyuningtyas et al, 2017).

Etanol merupakan pelarut yang sesuai untuk mengekstrak senyawa-senyawa organik (Wahyuni, 2010). Etanol memiliki sifat lebih aman dibandingkan pelarut aseton, petroleum eter, hexane, dan metanol (Choi & Lee, 2017). Selain itu ekstraksi juga dilakukan dengan metanol dimaksudkan agar semua senyawa tersari dengan baik, karena metanol merupakan

pelarut yang bersifat universal dan dapat mengekstraksi semua senyawa metabolit dan metanol adalah pelarut optimum untuk mengekstrak isoflavon dari kedelai (Aryani et al., 2015).

1.3.3.5. Tekanan

Ekstraksi fluida superkritis sangat bergantung pada kondisi tekanan dan suhu superkritisnya. Semakin tinggi tekanan yang digunakan maka akan semakin tinggi jumlah isoflavon. Pada kondisi kritis, gas CO₂ menyerupai cairan yang mempunyai sifat dengan densitas tinggi, viskositas rendah sehingga dapat mengekstrak komponen senyawa dalam suatu bahan secara selektif dan efektif (Sondari & Puspitasari, 2018). Tekanan fluida adalah parameter utama yang mempengaruhi efisiensi ekstraksi cairan superkritis. Terjadi pada suhu tertentu dan membuat kelarutan zat terlarut meningkat, hal ini mengakibatkan semakin tinggi tekanan ekstraksi, maka semakin kecil volume cairan.

1.3.3.6. Frekuensi

Pada umumnya frekuensi ekstraksi ultrasonik dipilih yang rendah tetapi daya ultrasoundnya tinggi. Pada frekuensi tinggi biasanya digunakan untuk degradasi produk, sedangkan frekuensi rendah digunakan untuk proses emulsifikasi, ekstraksi, filtrasi dan penghancuran sel (Sereshti et al., 2012). Frekuensi yang meningkat akan memperkecil tekanan minimum, maka energi yang diperlukan akan lebih banyak untuk pembentukan kavitasasi dalam sistem. Frekuensi biasa digunakan pada kisaran 20-40 kHz (Wardiyati, 2004)

1.4. Analisis Kesenjangan

Analisis kesenjangan (*gap analysis*) bertujuan untuk mengidentifikasi apa yang akan dibutuhkan untuk menjembatani kesenjangan yang ada (Admaja, 2015). Publikasi jurnal *review* sebelumnya dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Publikasi Jurnal *Review* Sebelumnya

No	Judul (Referensi)	Isi	Kesimpulan
1.	<i>Extraction Methods for the Isolation of Isoflavonoids from Plant Material</i> (Blicharski <i>et al</i> , 2017)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Membahas perbandingan metode tradisional dan modern dalam isolasi isoflavonoid dari tanaman. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Metode tradisional memiliki banyak kelemahan dari metode modern yaitu memakan waktu yang lama, membutuhkan banyak energi dan jumlah pelarut yang banyak, menghasilkan banyak jumlah limbah dan menimbulkan resiko degradasi senyawa termolabil. Keuntungan metode modern adalah peningkatan hasil, waktu ekstraksi yang optimal, peningkatan kualitas, kemudahan dalam skala industri, serta ramah lingkungan.
2.	<i>Comparison of Extraction Solvents and Techniques Used For The Assay of Isoflavones From Soybean</i> (Luthria <i>et al</i> , 2007)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Membahas perbandingan pelarut ekstraksi dengan metode ekstraksi isoflavon. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Total isoflavon yang optimal dari sampel kacang kedelai, diperoleh dengan menggunakan etanol 75% dengan menggunakan metode PLE (<i>Pressurized Liquid Extraction</i>).
3.	<i>Extraction of Flavonoid From Natural Sources Using Modern Techniques</i> (Chaves <i>et al</i> , 2020)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Membahas mengenai teknik terbaik yang digunakan dalam ekstraksi flavonoid. ▪ Membahas tentang faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi flavonoid. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Teknik ekstraksi yang tepat tergantung pada matriks tanaman dan jenis kompos. Metode ekstraksi tradisional adalah metode yang baik tetapi masih harus lebih banyak penelitian lebih lanjut untuk mengurangi biaya ekstraksi, waktu yang dikonsumsi, kualitas ekstrak, serta keamanan lingkungan. ▪ Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi flavonoid tergantung dari jenis metode ekstraksi yang digunakan, MAE memiliki faktor pelarut, volume rasio sampel, <i>microwave power</i>, suhu, dan waktu.
4.	<i>Microwave Assisted Extraction of Soy Isoflavones</i> (Rostagno, 2007)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Membahas mengenai kondisi ekstraksi MAE yang optimal. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Kondisi ekstraksi yang optimal menggunakan 0,5 gram sampel yang kemudian diekstraksi dengan 25 ml 50% etanol pada suhu 59°C selama 20 menit.

Pada *review* (Blicharski & Oniszczuk, 2017) yang berjudul “*Extraction Methods for the Isolation of Isoflavonoids from Plant Material*” membahas tentang kelemahan dan kelebihan metode ekstraksi modern dan metode ekstraksi tradisional pada tumbuhan. *Review* ini berisi tentang perbandingan metode ekstraksi tradisional dan modern dari bahan tumbuhan, serta kelemahan dan kelebihan masing-masing metode. Pada *review* (Luthria *et al.*, 2007) yang

berjudul "*Comparison of Extraction Solvents and Techniques Used For The Assay of Isoflavones From Soybean*" membahas mengenai perbandingan pelarut ekstraksi dengan metode ekstraksi isoflavon. Isi dari *review* ini adalah membandingkan pengaruh pelarut ekstraksi dan teknik pengujian isoflavon dari kedelai. Pada *review* (Chaves et al., 2020) yang berjudul "*Extraction of Flavonoid From Natural Sources Using Modern Techniques*" membahas mengenai teknik terbaik yang digunakan dalam ekstraksi flavonoid serta faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi flavonoid. *Review* ini berisi mengenai metode ekstraksi tradisional yang baik, tetapi masih harus lebih banyak penelitian lebih lanjut untuk mengurangi biaya ekstraksi, waktu yang dikonsumsi, kualitas ekstrak, serta keamanan lingkungan. Serta faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi flavonoid tergantung dari jenis metode ekstraksi yang digunakan, MAE memiliki faktor pelarut, volume rasio sampel, *microwave power*, suhu, dan waktu. Pada *review* (Rostagno et al., 2007) yang berjudul "*Microwave Assisted Extraction of Soy Isoflavones*" membahas mengenai kondisi optimal pada metode MAE. *Review* ini berisi kondisi ekstraksi yang optimal menggunakan 0,5 gram sampel yang kemudian diekstraksi dengan 25 ml 50% etanol pada suhu 59°C selama 20 menit.

Pada *review* (Blicharski & Oniszcuk, 2017) belum membahas mengenai faktor-faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi, baik itu ekstraksi konvensional maupun modern. Sedangkan pada *review* (Luthria et al., 2007) hanya membahas pelarut yang optimal untuk ekstraksi isoflavon dengan menggunakan PLE (*Pressurized Liquid Extraction*). *Review* ini akan dilakukan penelitian lebih lanjut dengan membahas mengenai kondisi optimal dari berbagai metode ekstraksi isoflavon dengan membandingkan faktor-faktor yang mempengaruhi proses tersebut. Beberapa faktor-faktornya yaitu suhu, waktu, tekanan, daya, frekuensi, serta jumlah isoflavon. Pada *review* (Chaves et al., 2020) membahas tentang ekstraksi flavonoid. Jika *review* ini akan dilakukan penelitian mengenai ekstraksi isoflavon. Pada *review* (Rostagno et al., 2007) hanya membahas mengenai satu metode ekstraksi saja yaitu MAE (*Microwave Assisted Extraction*) sedangkan pada *review* ini akan dibahas mengenai beberapa metode ekstraksi baik modern maupun konvensional.

1.5. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji tentang ekstraksi isoflavon menggunakan metode konvensional dan modern pada kacang kedelai, kacang hijau, kacang merah, kacang koro pedang, dan faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi.