

EKSTRAKSI SENYAWA FENOL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI BUAH CABAI RAWIT DENGAN METODE MICROWAVE ASSISTED EXTRACTION

Extraction of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity from Cayenne Pepper fruit by Microwave Assisted Extraction

Joni Kusnadi¹, Dedi^{1*}, Yunianta¹, Estri Laras Arumingtyas²

¹Jurusan Teknologi Hasil Pertanian – Fakultas Teknologi Pertanian – Universitas Brawijaya

²Jurusan Biologi – Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam – Universitas Brawijaya
Jalan Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi: email: dedi.ditjenbun@gmail.com

ABSTRAK

Pertimbangan dalam pemilihan metode ekstraksi untuk mendapatkan senyawa bioaktif dari bahan tanaman diantaranya adalah efisiensi waktu dan jumlah pelarut yang digunakan. Studi terdahulu menunjukkan ekstraksi bahan aktif dengan gelombang mikro mempercepat waktu ekstraksi dan menghemat penggunaan pelarut dibandingkan metode konvensional, tetapi waktu ekstraksi yang terlalu singkat dan penggunaan pelarut yang terlalu minim membuat hasil ekstraksi tidak optimal. Penelitian ini untuk mengetahui pengaruh rasio bahan:pelarut dan lama ekstraksi dengan gelombang mikro terhadap kandungan fitokimia dan aktivitas antioksidan dari ekstrak cabai rawit. Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak Kelompok 2 faktor yaitu rasio bahan:pelarut dengan variasi 1:5; 1:10; dan 1:15, serta lama ekstraksi (5, 10, dan 15 menit). Berdasarkan hasil pengujian, rasio bahan:pelarut 1:10 memberikan hasil terbaik untuk kadar total capsaicinoid, total fenol, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan dengan nilai rata-rata sebesar 138.06 ± 6.35 mg CE/g BK ekstrak, 33.75 ± 1.75 mg GAE/g BK ekstrak, 205.41 ± 26.13 mg QE/g BK ekstrak, dan 447.96 ± 25.63 µg/ml. Lama ekstraksi untuk menghasilkan nilai total capsaicinoid dan total fenol paling tinggi adalah 5 menit, sedangkan untuk total flavonoid pada waktu 10 dan 15 menit. Nilai IC_{50} memiliki korelasi yang linear dengan total capsaicinoid, total fenol, dan total flavonoid. Pemilihan perlakuan terbaik dengan metode multiple atribut menunjukkan rasio bahan:pelarut 1:10 dan lama ekstraksi 10 menit merupakan kombinasi perlakuan paling optimal untuk ekstraksi senyawa fenol menggunakan *Microwave Assisted Extraction*

Kata kunci : Antioksidan, Capsaicinoid, Flavonoid, *Microwave Assisted Extraction*

ABSTRACT

The consideration of extraction methods to obtain bioactive compounds of plant origin were the time efficiency and the amount of extraction solvent. Previous studies showed that microwave assisted extraction of active ingredients decrease the extraction time and minimize the solvent compared to conventional methods, but short extraction time and less solvents make extraction less optimal. The aim of this study to determine the effect of materials:solvent and extraction time of microwave assisted extraction to phytochemical content and antioxidant activity of the cayenne pepper extract. The study was conducted using a Randomized Block Design 2 factors of the ratio of material:solvent (1:5; 1:10; and 1:15) and extraction time (5, 10, and 15 min). The results showed that material:solvent ratio of 1:10 gave the best value for total capsaicinoid content, total phenol, total flavonoid and IC_{50} with average value of 138.06 ± 6.35 mg CE/g DW, 33.75 ± 1.75 mg GAE/g DW extract, 205.41 ± 26.13 mg QE/g DW extract, and 447.96 ± 25.63 µg/ml respectively. The optimal extraction time to generate total capsaicinoid and total phenol content was 5 minutes, while the optimal extraction time for total flavonoid was 10 and 15 minutes. IC_{50} in this study had a linear correlation with total capsaicinoid, total phenol, and total flavonoid. The best treatment with multiple attribute method showed the materials:solvent ratio of 1:10 and extraction time of 10 minutes was the most optimal treatment combination for extraction of phenol compound by microwave assisted extraction

Keywords: Antioxidants, Fatty Acids, Flavonoids, Jeringau

PENDAHULUAN

Cabai merupakan komoditas sayuran penting di Indonesia terutama dalam industri kuliner nasional. Hal ini dapat tergambar dari ragam kuliner yang memiliki cita rasa pedas yang diminati oleh masyarakat Indonesia. Pada beberapa jenis cabai yang dikonsumsi masyarakat Indonesia, cabai rawit (*Capsicum frutescens*) memiliki tingkat kepedasan yang lebih tinggi dibanding dengan jenis cabai besar (*Capsicum annuum*) (Musfiroh *et al.*, 2013; Sumpena, 2013). Menurut Giuffrida *et al.* (2013) rasa pedas pada buah cabai disebabkan oleh kandungan capsaicinoid yang ada pada buah cabai tersebut. Buah cabai memiliki kandungan nutrisi yang cukup lengkap seperti vitamin dan mineral. Selain itu buah cabai memiliki kandungan senyawa fenol yang didominasi oleh kelompok senyawa capsaicinoid dan flavonoid (Materska dan Perucka, 2005) serta beberapa asam fenolat seperti asam ferulat, asam kumarat dan asam cinamat (Shahidi dan Naczek, 2003; Junior *et al.*, 2011). Senyawa bioaktif yang ada pada cabai seperti fenol, flavonoid dan capsaicinoid menurut Chen *et al.* (2012) memiliki korelasi yang positif terhadap aktivitas antioksidan.

Ekstraksi senyawa bioaktif, khususnya pada buah cabai bisa dilakukan dengan beberapa metode seperti metode Soxhlet (Bae *et al.*, 2012), magnetic stirring (Zhuang *et al.*, 2012), sonikasi (Barbero *et al.*, 2006), fluida superkritis (De Aguiar *et al.*, 2012), ekstraksi dengan perbantuan gelombang mikro (William *et al.*, 2004). Ada beberapa faktor yang perlu dipertimbangkan dalam pemilihan metode ekstraksi diantaranya adalah efisiensi waktu dan biaya serta efektivitasnya dalam menghasilkan senyawa bioaktif yang ditargetkan. Dari beberapa metode tersebut, metode ekstraksi dengan perbantuan gelombang mikro dianggap lebih efektif dan efisien karena bisa menghasilkan rendemen senyawa target yang lebih tinggi dalam waktu yang singkat. Mandal *et al.* (2007) menyatakan untuk efisiensi ekstraksi dengan perbantuan gelombang mikro ada beberapa hal yang perlu diperhatikan yaitu jenis dan volume pelarut, waktu ekstraksi, suhu, daya microwave, dan matriks bahan. Pada beberapa faktor tersebut, lama ekstraksi dan rasio bahan:pelarut merupakan faktor yang cukup penting karena waktu ekstraksi akan berkaitan dengan kecepatan proses ek-

straksi sehingga kegiatan analisis lanjutan bisa dilakukan lebih cepat, sedangkan rasio bahan:pelarut akan berkaitan dengan efisiensi penggunaan jumlah pelarut dalam proses ekstraksi, semakin sedikit pelarut yang digunakan berarti proses ekstraksi akan lebih efisien. Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui lama ekstraksi dan rasio bahan:pelarut yang optimal dalam menghasilkan senyawa bioaktif dari cabai rawit dan pengaruhnya terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak cabai rawit yang dihasilkan.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan tanaman berupa buah cabai rawit segar yang diperoleh dari pengumpul sayuran di daerah Dau kabupaten Malang. Buah cabai rawit yang dipilih adalah buah cabai yang telah berwarna merah yang menandakan buah cabai sudah mencapai fase masak (*mature*) seperti yang terlihat pada Gambar 1. Cabai rawit fase masak dipilih karena kandungan capsaicinoid pada cabai rawit fase *mature* dibandingkan dengan fase *immature*. Bahan kimia yang digunakan adalah bahan kimia pro analisis untuk ekstraksi dan analisis yang terdiri dari aseton (Mallincrodt), etanol absolut (Merck), reagen folin ciocalteau (Merck) 10%, Na_2CO_3 (Merck) 7%, NaNO_2 (Merck) 5%, AlCl_3 (LIPI) 10%, NaOH (Merck) 1 M, dan reagen DPPH (Merck) 0.1 mM.



Gambar 1. Sampel cabai rawit yang digunakan untuk bahan ekstraksi

Alat

Peralatan yang digunakan selain glassware adalah microwave Sharp model R-200J(S) (daya 450 W, frekuensi 2450 MHz yang dilengkapi dengan pengatur suhu, kondensor, dan pompa vakum Han den VP 115 tekanan 5 Pa, dan daya 186 W), rotary vacuum evaporator IKA RV 10, timbangan analitik, vortex dan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu

Metode

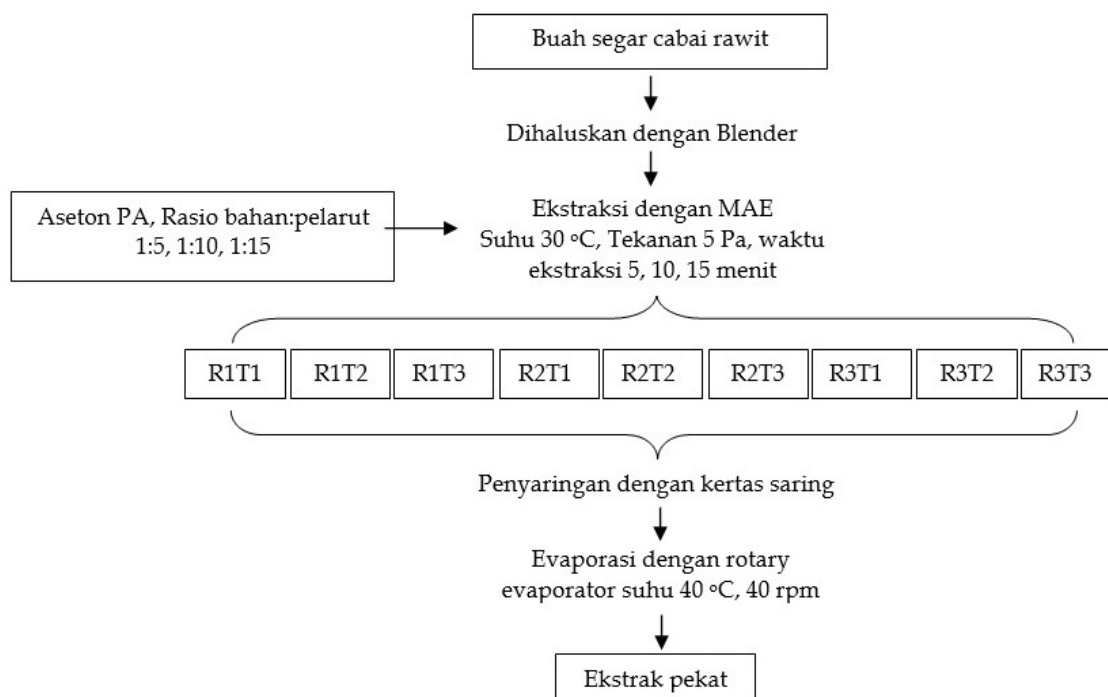
Ekstraksi

Ekstraksi menggunakan gelombang mikro diadopsi dari metode Williams *et al.* (2004) dengan modifikasi. Bahan yang digunakan adalah cabai rawit yang dibeli di pasar, sedangkan pelarut menggunakan aseton. Ekstraksi menggunakan microwave modifikasi dilakukan pada suhu 30 °C pada tekanan 5 Pa (sesuai kekuatan hisap pompa vakum). Set up ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 2.

Larutan hasil ekstraksi disaring menggunakan kertas saring, kemudian dipekatkan menggunakan rotary vacuum evaporator pada suhu 40 °C dan putaran 40 rpm. Ekstrak pekat selanjutnya dihembus dengan gas nitrogen agar tidak ada lagi pelarut dalam ekstrak. Ekstrak kasar kemudian disimpan dalam *refrigerator* pada suhu 5 °C untuk analisis lanjutan.

Pengukuran Kadar Total Capsaicinoid

Pengukuran kadar capsaicinoid diadopsi dari metode yang dilakukan oleh Nagoth *et al.* (2014). Larutan standar capsaicin dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100 µg/ml dibuat dengan seri pengenceran dalam etanol absolut, kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu pada panjang gelombang 280 nm. Nilai absorbansi digunakan sebagai dasar untuk pembuatan kurva standar capsaicin. Sebanyak 5 ml ekstrak cabai rawit dengan konsentrasi 400 µg/ml diukur ab-



Gambar 2. Set up ekstraksi

Keterangan : R1T1 (Rasio bahan:pelarut 1:5, waktu ekstraksi 5 menit), R1T2 (Rasio bahan:pelarut 1:5, waktu ekstraksi 10 menit), R1T3 (Rasio bahan:pelarut 1:5, waktu ekstraksi 15 menit), R2T1 (Rasio bahan:pelarut 1:10, waktu ekstraksi 5 menit), R2T2 (Rasio bahan:pelarut 1:10, waktu ekstraksi 10 menit), R2T3 (Rasio bahan:pelarut 1:10, waktu ekstraksi 15 menit), R3T1 (Rasio bahan:pelarut 1:15, waktu ekstraksi 5 menit), R3T2 (Rasio bahan:pelarut 1:15, waktu ekstraksi 10 menit), R3T3 (Rasio bahan:pelarut 1:15, waktu ekstraksi 15 menit)

sorbansinya pada panjang gelombang 280 nm. Perhitungan kadar total capsaisinoid didasarkan pada kurva standar capsaisin. Hasil yang diperoleh diekspresikan sebagai mg ekuivalent capsaisin per gram berat kering ekstrak (mg CE/g BK ekstrak).

Pengukuran Kadar Total Fenol

Kadar total fenol dari ekstrak cabai rawit ditentukan dengan metode spektrofotometri dan menggunakan reagent *Folin Ciocalteu* yang diadopsi dari metode De Aguiar *et al.* (2013) dengan beberapa modifikasi. Sebanyak 1 ml ekstrak cabai atau larutan standar asam galat dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 µg/ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 5 ml *Folin Ciocalteu* 10% ditambahkan dan divortex. Setelah 5 menit, 4 ml Na₂CO₃ 7.5% ditambahkan ke dalam campuran, kemudian diinkubasi selama 2 jam dalam ruang gelap dengan kondisi suhu ruang. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 760 nm. Perhitungan kadar total fenol didasarkan pada kurva standar asam galat. Hasil diekspresikan sebagai mg ekuivalen asam galat per gram berat kering ekstrak (mg GAE/g BK ekstrak).

Pengukuran Kadar Total Flavonoid

Kadar total flavonoid yang ada dalam ekstrak cabai rawit dianalisis dengan menggunakan metode spektrofotometri yang diadopsi dari metode pada penelitian Attanasova *et al.* (2011) dengan modifikasi. Sebesar 1 ml ekstrak cabai atau larutan standar kuercetin dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 µg/ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi 10 ml yang berisi 4 ml akuades. Tambahkan 0.3 ml NaNO₂ 5% lalu divortex sampai homogen dan didiamkan. Setelah 5 menit ditambahkan 0.3 ml AlCl₃ 10% dan pada menit keenam ditambahkan 2 ml NaOH 1 M dan Akuades sampai mencapai volume akhir 10 ml. Campuran kemudian divortex dan didiamkan selama 5 menit. Nilai absorbansi sampel diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 508 nm. Perhitungan kadar total fenol didasarkan pada kurva standar kuercetin. Hasil diekspresikan sebagai mg ekuivalent kuercetin per gram berat kering ekstrak (mg QE/g BK ekstrak).

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan terhadap ekstrak cabai rawit dari semua genotipe dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visible yang diadopsi dari metode Vega-Galvez *et al.* (2009) dengan modifikasi. Prosedur pengujiannya adalah dengan memasukkan 1 ml (100 µg/ml) sampel ekstrak ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2 ml larutan 0.1mM DPPH kemudian divortex selama 30 detik hingga homogen dan diinkubasi selama 20 menit dalam ruang gelap pada suhu 30 °C. Nilai absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 517 nm. Hasil disajikan dalam bentuk IC₅₀ (µg/ml).

Rancangan Percobaan dan Analisis Statistik

Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok faktorial yang terdiri dari 2 faktor yaitu rasio bahan:pelarut terdiri dari 3 level (1:5, 1:10, 1:15) dan waktu ekstraksi yang terdiri dari 3 level (5, 10, dan 15 menit), sehingga diperoleh 9 kombinasi perlakuan. Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 3 kali, sehingga diperoleh 27 unit sampel

Data hasil pengamatan dianalisis dengan menggunakan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji Tukey pada taraf 5%. Uji korelasi Pearson digunakan untuk mengetahui hubungan antara aktivitas antioksidan dengan kandungan senyawa dalam ekstrak. Pemilihan perlakuan terbaik dilakukan dengan menggunakan metode Multiple Atribut (Zeleny, 1982). Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan program Minitab versi 16.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Rasio Bahan: Pelarut terhadap Kandungan Fitokimia Ekstak Cabai Rawit

Rasio bahan:pelarut merupakan salah satu faktor yang penting dalam efektifitas suatu proses ekstraksi. Secara umum dalam skala industri rasio bahan:pelarut yang rendah dalam proses ekstraksi lebih diminati untuk memaksimalkan proses ekstraksi dengan menggunakan volume pelarut yang minimal (Pinela *et al.*, 2016).

Tabel 1 memperlihatkan rasio bahan:pelarut 1:10 mampu menghasilkan

capsaicinoid, total fenol, dan total flavonoid dengan jumlah yang paling tinggi dimana nilai kadar total capsaicinoid berkisar antara 131.95-144.10 mg CE/g BK ekstrak atau nilai rata rata sebesar 138.06 ± 6.35 mg CE/g BK ekstrak, kadar total fenol berkisar antara 32.90-34.40 mg GAE/g BK ekstrak atau nilai rata rata sebesar 33.75 ± 1.75 mg GAE/g BK ekstrak, dan kadar total flavonoid berkisar antara 173.85-224.89 mg QE/g BK ekstrak atau nilai rata rata sebesar 205.41 ± 26.13 mg QE/g BK ekstrak. Nilai tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan nilai pada perlakuan rasio bahan:pelarut 1:5 dan 1:15.

Pada kelompok perlakuan rasio bahan:pelarut 1:5 terlihat bahwa nilai kadar total capsaicinoid, total fenol, dan total flavonoid jauh dibawah nilai kelompok rasio bahan:pelarut 1:10 dan 1:15. Hal ini diduga disebabkan oleh jumlah pelarut yang lebih sedikit dan juga karena adanya penguapan pelarut selama proses ekstraksi sehingga jumlah analit yang dapat terekstrak menjadi lebih rendah. Perlakuan rasio bahan:pelarut 1:10 diduga telah mencapai titik optimumnya, sehingga ketika volume pelarut ditambahkan menjadi rasio 1:15, maka tidak memberikan pengaruh dalam proses ekstraksi analit yang ditargetkan. Nilai kadar total capsaicinoid, total fenol, dan total flavonoid pada perlakuan rasio 1:15 lebih rendah dibanding dengan rasio 1:10 karena pada saat pemekatan ekstrak dengan menggunakan rotary evaporator waktunya lebih lama akibat volume pelarut yang lebih banyak. Paparan panas yang lebih lama akan memungkinkan terjadinya degradasi senyawa.

Pengaruh Lama Ekstraksi terhadap Kandungan Fitokimia Ekstak Cabai Rawit

Menurut Barbero *et al.* (2006), secara umum jumlah analit yang terekstrak akan meningkat dengan memperpanjang waktu ekstraksi walaupun resiko kerusakan analit bisa terjadi. Sementara Chan *et al.* (2011) menyebutkan waktu paparan yang berlebih dengan radiasi microwave walaupun pada kondisi suhu rendah atau daya yang rendah bisa menurunkan hasil ekstraksi karena hilangnya struktur kimia dari senyawa aktif.

Pada beberapa percobaan yang telah dilakukan, diperoleh hasil waktu terbaik untuk kadar total capsaicinoid adalah 5 menit. Hasil ini sejalan dengan yang ditemukan oleh Williams *et al.* (2004). Pada penelitian tersebut, waktu ekstraksi capsaicinoid yang

efisien menggunakan MAE dengan daya yang rendah adalah sekitar 5-7 menit, karena di atas 5-7 menit hasil capsaicinoid yang diperoleh mengalami stagnasi. Serupa dengan yang dilakukan oleh Barbero *et al.* (2006) pada optimasi waktu ekstraksi capsaicinoid dengan menggunakan microwave, waktu ekstraksi 5 menit dipilih sebagai waktu optimal karena kadar capsaicinoid yang diperoleh lebih tinggi dibanding waktu yang lebih lama (10, 15, dan 20 menit), walaupun secara statistik Barbero *et al.* (2006) menyatakan bahwa perbedaan hasil tersebut tidak berbeda nyata.

Penelitian ini menggunakan microwave yang dilengkapi dengan pompa vacuum. Pada kondisi tekanan lebih rendah dari atmosfer, proses ekstraksi dengan microwave bisa dilakukan dalam suhu yang rendah karena dalam kondisi vacuum titik didih pelarut menjadi lebih rendah (Wang *et al.*, 2008). Salah satu mekanisme kerja microwave dalam proses ekstraksi adalah dengan merusak struktur sel. Senyawa senyawa yang bersifat polar dalam sel akan menyerap gelombang mikro sehingga terjadi kenaikan suhu dan memicu adanya tekanan dari dalam sehingga memungkinkan terjadinya lisis sel. Bernal *et al.* (1993) menyebutkan capsaicin dalam buah cabai terakumulasi dalam vakuola sel epidermis plasenta, sementara enzim peroksidase juga terletak pada vakuola sel. Kumar *et al.* (2012) menambahkan, aktivitas peroksidase sebagian besar terjadi di plasenta dan sel epidermis lapisan luar pericarp buah. Adanya kerusakan sel oleh gelombang mikro selama proses ekstraksi, diduga akan mengakibatkan terjadi proses oksidasi capsaicin oleh enzim peroksidase. Semakin lama waktu ekstraksi, maka kemungkinan proses oksidasi juga terjadi dalam waktu yang lama sehingga degradasi capsaicinoid menjadi lebih besar. Hal ini diduga sebagai penyebab kenapa capsaicinoid pada waktu ekstraksi yang lebih lama dari 5 menit kadarnya lebih rendah atau mengalami penurunan.

Lama ekstraksi untuk kadar total fenol mengikuti pola kadar total capsaicinoid dimana lama ekstraksi 5 menit merupakan waktu yang paling optimal untuk menghasilkan nilai total fenol karena setelah waktu 5 menit mulai terjadi penurunan total fenol. Penurunan tersebut diduga karena adanya proses oksidasi senyawa fenol oleh enzim peroksidase selama proses ekstraksi. Takahama (2004) menyebutkan senyawa fenol yang

Tabel 1. Nilai rata-rata kadar total capsaicinoid, total fenol, dan total flavonoid ekstrak cabai rawit pada berbagai kombinasi perlakuan rasio bahan:pelarut dan lama ekstraksi

Rasio Bahan:Pelarut (mg:ml)	Lama Ekstraksi (menit)	Total Capsaicinoid (mg CE/g)*	Total Fenol (mg GAE/g)*	Total Flavonoid (mg QE/g)*
1:5	5	99.03 ± 8.82 cd	29.72 ± 1.12 bcd	76.39 ± 1.79 e
1:5	10	90.28 ± 6.18 d	29.51 ± 2.16 cd	76.37 ± 0.85 e
1:5	15	73.60 ± 0.62 e	26.81 ± 1.16 d	59.50 ± 1.59 e
1:10	5	144.10 ± 5.25 a	34.40 ± 2.62 a	173.85 ± 13.10 d
1:10	10	138.14 ± 4.59 a	33.95 ± 2.29 ab	217.50 ± 16.53 ab
1:10	15	131.95 ± 1.49 a	32.90 ± 0.13 abc	224.89 ± 1.58 a
1:15	5	132.32 ± 4.75 a	33.08 ± 1.51 abc	186.53 ± 3.47 cd
1:15	10	115.43 ± 3.01 b	31.98 ± 1.24 abc	199.98 ± 0.34 bc
1:15	15	108.90 ± 6.42 bc	30.64 ± 1.43 abcd	204.26 ± 7.26 bc

Keterangan : *Nilai yang disajikan dalam bentuk Mean ± S.D, nilai rerata diperoleh dari 3 kali ulangan ekstraksi. Nilai yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom tabel menunjukkan perbedaan yang tidak nyata berdasarkan uji Tukey pada taraf 5%

Tabel 2. Nilai IC₅₀ ekstrak cabai rawit yang diuji

Rasio Bahan:Pelarut (mg:ml)	Lama Ekstraksi (menit)	IC ₅₀ (µg/g)*
1:5	5	543.88 ± 27.05 a
1:5	10	505.72 ± 6.31 ab
1:5	15	483.43 ± 24.69 bc
1:10	5	476.56 ± 18.75 bc
1:10	10	440.27 ± 9.01cd
1:10	15	427.06 ± 6.64 d
1:15	5	494.01 ± 5.79 b
1:15	10	482.33 ± 9.69 bc
1:15	15	474.04 ± 4.15 bc

Keterangan : *Nilai yang disajikan dalam bentuk Mean ± S.D, nilai rerata diperoleh dari 3 kali ulangan ekstraksi. Nilai yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom tabel menunjukkan perbedaan yang tidak nyata berdasarkan uji Tukey pada taraf 5%

Tabel 3. Hasil uji korelasi Pearson antara kadar total capsaicinoid, total fenol, total flavonoid terhadap aktivitas antioksidan (IC₅₀)

	IC ₅₀ *
Total Capsaicinoid	-0.488 0.010
Total Fenol	-0.452 0.018
Total Flavonoid	-0.689 0.000

Keterangan : *Isi sel koefisien korelasi *P-value*

terakumulasi dalam vakuola sel bisa teroksidasi oleh enzim peroksidase dengan terbentuknya peroksida dalam vakuola atau diluar vakuola yang berdifusi ke dalam organel. Penghancuran struktur sel oleh gelombang mikro selama proses ekstraksi bisa mengakibatkan terjadinya proses oksidasi fenol tersebut. Semakin lama waktu ekstraksi maka kemungkinan proses oksidasi juga terjadi dalam waktu yang lama sehingga akan terjadi penurunan nilai kadar total fenol dari ekstrak tersebut. Selain karena proses oksidasi oleh enzim peroksidase, degradasi senyawa fenol juga bisa berkaitan dengan struktur kimianya. Semakin banyak gugus hidroksi yang ada pada cincin aromatik akan semakin mudah senyawa fenol tersebut terdegradasi selama proses ekstraksi dengan perbantuan gelombang mikro karena semakin banyak gelombang mikro yang terserap oleh senyawa fenol tersebut (Wang *et al.* 2008). Dengan demikian semakin lama paparan gelombang mikro dalam proses ekstraksi, diduga bisa menurunkan kadar total fenol karena adanya senyawa yang terdegradasi.

Lama ekstraksi untuk kadar total flavonoid pada penelitian ini memiliki trend yang sedikit berbeda dengan kadar total capsaicinoid dan kadar total fenol, dimana tren kadar total flavonoid masih mengalami kenaikan setelah waktu 5 menit. Berdasarkan perhitungan uji Tukey pada taraf 5% nilai kadar total flavonoid yang tertinggi diperoleh pada waktu ekstraksi 10 dan 15 menit.

Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dalam penelitian ini menggunakan metode DPPH dan disajikan dalam nilai IC_{50} yang merupakan nilai konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) ekstrak cabai yang dibutuhkan untuk mereduksi atau menetralkan senyawa radikal bebas dalam hal ini DPPH sejumlah 50%. Nilai IC_{50} dalam penelitian ini dipengaruhi juga oleh rasio bahan:pelarut dan lama ekstraksi. Berdasarkan perhitungan sidik ragam dan uji Tukey pada taraf 5% rasio bahan:pelarut yang memberikan nilai aktivitas antioksidan yang paling baik adalah rasio 1:10 dengan nilai berkisar antara 427.06–476.56 $\mu\text{g/ml}$ atau nilai rata rata sebesar $447.96 \pm 25.63 \mu\text{g/ml}$. Sedangkan lama ekstraksi yang paling optimal berdasarkan uji Tukey pada taraf 5% adalah pada 10 dan 15 menit.

Nilai rata rata IC_{50} untuk semua kombinasi perlakuan seperti terlihat pada Tabel

2 menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dari cabai rawit dalam penelitian ini termasuk lemah. Hasil yang senada juga diperoleh Zhuang *et al.* (2012) yang menyatakan nilai IC_{50} dari 9 kultivar cabai berkisar antara 135.13–366.67 $\mu\text{g/ml}$. Begitu juga dengan Tundis *et al.* (2013) yang menyebutkan nilai IC_{50} dari 4 kultivar *C. annuum* berkisar antara 118.7–410.1 $\mu\text{g/ml}$ yang diukur pada 2 fase kematangan buah.

Aktivitas antioksidan suatu ekstrak tanaman tergantung pada senyawa senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan yang terkandung dalam ekstrak tersebut. Kappel *et al.* (2008) menyebutkan senyawa polifenol bisa berperan sebagai antioksidan karena senyawa tersebut memiliki sifat redox yang membuat senyawa tersebut mampu mereduksi radikal bebas dan menetralkan prooksidan lainnya. Bae *et al.* (2012) menyatakan flavonoid menunjukkan aktivitas antioksidan yang ditentukan dengan adanya sejumlah gugus hidroksil pada posisi tertentu dan ikatan ganda pada posisi C2-C3. Nascimento *et al.* (2014) menambahkan bahwa capsaicin yang terkandung dalam buah cabai selain memberikan rasa pedas juga memiliki aktivitas antioksidan.

Penelitian ini untuk mengetahui hubungan antara aktivitas antioksidan dengan kandungan fitokimia yang diuji dalam ekstrak cabai rawit maka dilakukan analisis statistik dengan uji korelasi Pearson menggunakan program minitab versi 16 dengan hasil seperti terlihat pada Tabel 3.

Berdasarkan hasil uji korelasi Pearson terlihat bahwa kadar total capsaicinoid, total fenol dan total flavonoid memiliki p-value <0.05. Hal ini berarti diasumsikan bahwa kadar total capsaicinoid, total fenol dan total flavonoid memiliki korelasi yang linear dengan aktivitas antioksidan (IC_{50}). Nilai koefisien korelasi yang negatif berarti semakin tinggi nilai kadar total capsaicinoid, total fenol dan total flavonoid maka nilai IC_{50} akan semakin rendah. Nilai koefisien korelasi paling tinggi ditunjukkan oleh kadar total flavonoid terhadap nilai IC_{50} . Hal ini menunjukkan kandungan flavonoid dalam ekstrak cabai rawit tersebut memiliki peranan yang paling dominan dalam aktivitas antioksidan ekstrak cabai rawit tersebut. Tabel 1 menunjukkan bahwa nilai total flavonoid untuk semua kombinasi perlakuan cukup tinggi, namun hal tersebut tidak membuat ekstrak cabai rawit dalam penelitian ini memiliki

aktivitas antioksidan yang kuat. Hal ini diduga karena flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kasar berikatan dengan gugus glikosida sehingga bisa menurunkan aktivitas antioksidan ekstrak cabai rawit tersebut (Diantika *et al.*, 2014). Materska dan Perucka (2005) menjelaskan aktivitas antiradikal pada flavonoid lebih berhubungan dengan kehadiran gugus o-dihydroxy dalam cincin B dibandingkan dengan gugus OH pada C-3 dan ikatan ganda antara C-2 dan C-3 karena penutupan gugus OH C-3 pada flavonoid glikosidik oleh ikatan glikosida akan menurunkan kemampuan aktivitas antiradikal senyawa flavonoid tersebut.

Perlakuan Terbaik yang Terpilih

Tabel 1 menunjukkan kombinasi perlakuan terbaik untuk parameter kadar total capsaicinoid dan kadar total fenol adalah rasio bahan:pelarut 1:10 dengan waktu ekstraksi 5 menit, sedangkan untuk kadar total flavonoid dan nilai IC_{50} adalah pada perlakuan rasio bahan:pelarut 1:10 dengan waktu ekstraksi 15 menit. Kombinasi perlakuan terbaik berdasarkan hasil perhitungan menggunakan metode Zeleny (1982) adalah rasio bahan:pelarut 1:10 dengan waktu ekstraksi 10 menit. Rasio bahan:pelarut 1:10 terpilih karena sesuai dengan data yang diperoleh, dimana rasio 1:10 menghasilkan nilai tertinggi untuk keempat parameter. Waktu ekstraksi 10 menit terpilih diduga merupakan titik optimal untuk keempat parameter agar diperoleh hasil yang sama sama tinggi untuk kadar total capsaicinoid, total fenol, total flavonoid dan nilai IC_{50} .

Dengan demikian, kombinasi perlakuan optimal berupa rasio bahan:pelarut 1:10 dan waktu ekstraksi 10 menit bisa digunakan untuk referensi dalam melakukan ekstraksi bahan aktif yang berperan sebagai antioksidan dari buah cabai rawit dengan perbantuan gelombang mikro.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian, rasio bahan:pelarut 1:10 memberikan hasil yang terbaik untuk kadar total capsaicinoid, total fenol, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan dengan nilai rata rata berturut turut sebesar 138.06 ± 6.35 mg CE/g BK, 33.75 ± 1.75 mg GAE/g BK, 205.41 ± 26.13 mg QE/g BK,

dan 447.96 ± 25.63 μ g/ml. Lama ekstraksi untuk menghasilkan nilai total capsaicinoid dan total fenol paling tinggi adalah 5 menit sedangkan untuk total flavonoid pada waktu 10 dan 15 menit. Nilai IC_{50} dalam penelitian ini memiliki korelasi yang linear dengan total capsaicinoid, total fenol dan total flavonoid. IC_{50} pada semua kombinasi perlakuan menunjukkan aktivitas antioksidan yang lemah. Pemilihan perlakuan terbaik dengan metode multiple atribut menunjukkan rasio bahan:pelarut 1:10 dan lama ekstraksi 10 menit merupakan kombinasi perlakuan yang paling optimal untuk ekstraksi senyawa fenol dengan menggunakan *microwave assisted extraction*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi melalui skema pendanaan PUPT Universitas Brawijaya yang telah mendanai sebagian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Attanassova, M, Georgieva, S, Ivancheva, K. 2011. Total phenolic and total flavonoid contents, antioxidant capacity and biological contaminants in medicinal herbs. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*. 46(1):81-88
- Bae, H, Jayaprakasha, G, K, Jifon, J, Patil, B, S. 2012. Variation of antioxidant activity and the levels of bioactive compounds in lipophilic and hydrophilic extracts from hot pepper (*Capsicum* spp.) cultivars. *Food Chemistry*. 134(4):1912-1918
- Barbero, G, F, Palma, M, Barroso, C, G. 2006. Determination of capsaicinoids in peppers by microwave-assisted extraction-high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Analytica Chimica Acta*. 578(2):227-233
- Bernal, M, A, Calderon, A, A, Pedreno, M, A, Munoz, R, Barceló, A, R, de Caceres, F, M. 1993. Capsaicin oxidation by peroxidase from *Capsicum annuum* (variety *Annuum*) fruits. *J. Agric. Food Chem.* 41(7):1041-1044

- Chan, C, H, Yusoff, R, Ngoh, G, C, Kung, F, W, L. 2011. Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants. *Journal of Chromatography A*. 1218(37):6213-6225
- Chen, L, Hwang, J, E, Gu, K, M, Kim, J, H, Choi, B, Song, K, S, Park Y, Kang, Y, H. 2012. Comparative study of antioxidant effects of five Korean varieties red pepper (*Capsicum annuum* L) extracts from various parts including placenta, stalk, and pericarp. *Food Science and Biotechnology*. 21(3):715-721
- De Aguiar, A, C, Sales, L, P, Coutinho, J, P, Barbero, G, F, Godoy, H, T, Martínez, J. 2013. Supercritical carbon dioxide extraction of *Capsicum* peppers: global yield and capsaicinoid content. *The Journal of Supercritical Fluids*. 81:210-216
- Diantika, F, Sutan, S, M, dan Yulianingsih, R. 2014. Pengaruh lama ekstraksi dan konsentrasi pelarut etanol terhadap ekstraksi antioksidan biji kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Teknologi Pertanian*. 15(3): 159-164
- Giuffrida, D, Dugo, P, Torre, G, Bignardi, C, Cavazza, Corradini, C, Dugo, G. 2013. Characterization of 12 *Capsicum* varieties by evaluation of their carotenoid profile and pungency determination. *Food Chemistry*. 140(4):794-802
- Junior, S, B, de Melo, A, M, T, Zini, C, A, Godoy, H, T. 2011. Optimization of the extraction conditions of the volatile compounds from chili peppers by headspace solid phase micro-extraction. *Journal of Chromatography A*. 1218(21):3345-3350
- Kappel, V, D, Costa, G, M, Scola, G, Silva, F, A, Landell, M, F, Valente, P, Souza, D, G, Vanz, D, C, Reginatto, F, H, Moreira, J, C. 2008. Phenolic content and antioxidant and antimicrobial properties of fruits of *Capsicum baccatum* L. var. pendulum at different maturity stages. *J. med. Food*. 11(2):267-274
- Kumar, S, Kumar, R, Singh, J. 2012. 'Cayenne/American pepper'. Dalam KV Peter. *Handbook of Herbs and Spices*. Woodhead Publishing., UK
- Mandal, V, Mohan, Y, Hemalatha, S. 2007. Microwave assisted extraction: an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy Reviews*. 1(1):7-18
- Materska, M, Perucka, I. 2005. Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). *J. Agri. Food Chem*. 53(5):1750-1756
- Musfiroh, I, Mutakin, Angelina, T, Muchtaridi. 2013. Capsaicin level of various capsicum fruits. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5(1):248-251
- Nagoth, J, A, Raj, J, P, P, Lebel, A, L. 2014. Comparative study on the extraction of capsaicinoids from capsicum chinese and their analysis by phosphomolybdic acid reduction and HPLC. *International Journal of Pharmaceutical Sciences*. 28(2):247-252
- Nascimento, P, L, Nascimento, T, C, Ramos, N, S, Silva, G, R, Gomes, J, E, Falcão, R, E, Moreira, K, A, Porto, A, L, Silva, T, M. 2014. Quantification, antioxidant and antimicrobial activity of phenolics isolated from different extracts of *Capsicum frutescens* (*Pimenta Malagueta*). *Molecules*. 19(4): 5434-5447
- Pinela, J, Prieto, M, A, Carvalho, A, M, Barreiro, M, F, Oliveira, M, B, P, Barros, L, Ferreira, I, C, F, R. 2016. Microwave-assisted extraction of phenolic acids and flavonoids and production of antioxidant ingredients from tomato: A nutraceutical-oriented optimization study. *Separation and Purification Technology*. 164:114-124
- Shahidi, F, Naczsk, M. 2003. *Phenolics in Food and Nutraceuticals*. CRC Press, USA
- Sumpena, U. 2013. Penetapan kadar capsaicin beberapa jenis cabai (*Capsicum* Sp) di indonesia. *Mediagro*. 9(2):9-16
- Takahama, U. 2004. Oxidation of vacuolar and apoplastic phenolic substrates by peroxidase: physiological significance of the oxidation reactions. *Phytochemistry Reviews*. 3(1-2):207-219
- Tundis, R, Menichini, F, Bonesi, M, Conforti, F, Statti, G, Menichini, F, Loizzo, M, R. 2013. Antioxidant and hypoglycaemic activities and their relationship to phytochemicals in *Capsicum annuum* cultivars during fruit development. *LWT - Food Science and Technology*. 53(1):370-377
- Vega-Gálvez, A, Di Scala, K, Rodríguez, K, Lemus-Mondaca, R, Miranda, M, López, J, Perez-Won, M. 2009. Effect of air-drying temperature on physicochemical properties, antioxidant capacity, colour and total phenolic con-

- tent of red pepper (*Capsicum annuum*, L. var. Hungarian). *Food Chemistry*. 117(4): 647-653
- Wang, J, X, Xiao, X, H, Li, G, K. 2008. Study of vacuum microwave-assisted extraction of polyphenolic compounds and pigment from chinese herbs. *Journal of Chromatography A*. 1198:45-53
- Williams, O, J, Raghavan, G, S, V, Orsat, V, Dai, J. 2004. Microwave assisted extraction of capsaicinoids from capsicum fruit. *Journal of Food Biochemistry*. 28(2):113-122
- Zeleny, M. 1982. *Multiple Criteria Decision Making*. Mc Graw Hill, New York
- Zhuang, Y, Chen, L, Sun, L, Cao, J. 2012. Bioactive characteristics and antioxidant activities of nine peppers. *Journal of Functional Foods*. 4(1):331-338