

**ANALISIS PENGARUH RASIO PELARUT DAN WAKTU  
EKSTRAKSI TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN  
TOTAL FLAVONOID EKSTRAK JAMUR TIRAM PUTIH  
(*Pleurotus ostreatus*) MENGGUNAKAN MICROWAVE  
ASISSTED EXTRACTION (MAE)**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**NAILY ULYA**

**NIM. 135100600111005**



**JURUSAN KETEKNIKAN PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**2017**

**i**



**ANALISIS PENGARUH RASIO PELARUT DAN WAKTU  
EKSTRAKSI TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN  
TOTAL FLAVONOID EKSTRAK JAMUR TIRAM PUTIH  
(*Pleurotus ostreatus*) MENGGUNAKAN MICROWAVE  
ASISSTED EXTRACTION (MAE)**

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh  
Gelar Sarjana Teknologi Pertanian**

Oleh:

**NAILY ULYA**

**NIM. 135100600111005**



**JURUSAN KETEKNIKAN PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**2017**

**LEMBAR PERSETUJUAN**

Judul TA : Analisis Pengaruh Rasio Pelarut dan Waktu Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Total Flavonoid Ekstrak Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) Menggunakan Microwave Assisted Extraction (MAE)

Nama Mahasiswa : Naili Ulya  
 NIM : 135100600111005  
 Jurusan : Keteknikan Pertanian  
 Fakultas : Teknologi Pertanian

Pembimbing Pertama,

Pembimbing Kedua,

**Dr. Ir. Bambang Dwi Argo, DEA**  
NIP. 19610710 198601 1001

**Shinta Rosalia Dewi, S.Si., M.Sc**  
NIK. 2012018612182001

Tanggal Persetujuan:

Tanggal Persetujuan:

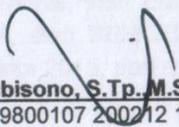
28 AUG 2017

**LEMBAR PENGESAHAN**

Judul TA : Analisis Pengaruh Rasio Pelarut dan Waktu Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Total Flavonoid Ekstrak Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) Menggunakan Microwave Assisted Extraction (MAE)

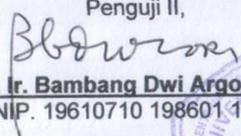
Nama Mahasiswa : Naili Ulya  
 NIM : 135100600111005  
 Jurusan : Keteknikan Pertanian  
 Fakultas : Teknologi Pertanian

Penguji I,



**Yusuf Wibisono, S.Tp., M.Sc., P.hD**  
 NIP. 19800107 200212 1 003

Penguji II,



**Dr. Ir. Bambang Dwi Argo, DEA**  
 NIP. 19610710 198601 1001

Penguji III,



**Shinta Rosalia Dewi, S.Si., M.Sc**  
 NIK. 2012018612182001



Ketua Jurusan,

**La Choviya Hawa, STP, MP, PhD**  
 NIP. 19780307 200012 2 001

Tanggal Lulus TA:.....



## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Magelang pada tanggal 12 Oktober 1994 dari ayah yang bernama Sungkono dan Ibu Siti Sarah. Penulis telah menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SD Negeri 1 Kajoran, Magelang pada tahun 2006, kemudian melanjutkan ke Sekolah Menengah Tingkat Pertama di SMPN 1 Salaman dengan tahun kelulusan 2009, dan menyelesaikan Sekolah

Menengah Umum di SMUN 1 Salaman pada tahun 2012.

Pada tahun 2017 penulis telah berhasil menyelesaikan pendidikannya di Universitas Brawijaya Malang di Jurusan Keteknikan Pertanian Program Studi Teknologi Bioproses. Pada masa pendidikannya penulis aktif mengikuti kepanitiaan tingkat jurusan, fakultas maupun universitas, staff EM UB 2014, Staff ARSC 2014, staff Forkita 2014, staff BEM FTP 2015, kepala departemen kemuslimahan Forkita 2015, dan menteri MKI BEM FTP 2016.

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur hanya milik Allah SWT atas limpahan rahmat, berkah, dan karunia-Nya selama saya hidup. Oleh karena itu saya diberikan kekuatan dan kemampuan untuk berusaha sebaik mungkin dalam proses menyelesaikan Skripsi ini sebagai syarat untuk mempuhkan pendidikan S1. Tak lupa pula kepada Nabi Agung Muhammad SAW yang telah menjadi teladan terbaik sepanjang masa.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Dr.Ir.Bambang Dwi Argo, DEA selaku dosen pembimbing 1 yang dengan sepenuh hati membimbing dari awal hingga tersusunnya skripsi ini
2. Ibu Shinta Rosalia Dewi, S.Sc.,M.Sc selaku dosen pembimbing 2, yang banyak memberikan bimbingan dan dukungan selama proses menyelesaikan skripsi ini
3. Bapak Yusuf Wibisono, S.Tp.,M.Sc.,P.hD selaku dosen penguji, yang dengan tulus memberikan masukan guna menyempurnakan skripsi ini
4. Bapak dan Ibu Laboran TPPHP, Tekologi Agrokimia, Kimia Dasar, dan Bioindustri yang sudah banyak membantu dalam proses penelitian
5. Seluruh jajaran dosen/staff pengajar di Jurusan Keteknikan Pertanian yang telah mendidik dengan sabar semoga ilmunya membawa keberkahan
6. Kedua orang tua saya yang penuh pengorbanan dan kasih sayang mendukung segala hal yang penulis lakukan termasuk skripsi ini.
7. Kakek dan Nenek yang selalu menyertakan doa untuk saya dalam tiap ibadahnya.
8. Pak Kuwat Santosa selaku Om yang selalu menjadi penasehat yang bijak dan sabar.
9. Mas Bima Aji Cahya, Mbak Azizah, Felicia Anindya As Saudah, dan Althof Wijaya yang selalu memberikan kehangatan dan kasih.
10. Segenap sepupu saya yang selalu menghadirkan kegembiraan, Mufid, Fikri, Danu, Janur, Aufa, dan Ipung.

11. Seluruh keluarga besar saya yang selalu menghadirkan kehangatan dan dukungan tanpa jeda.

12. Seluruh teman-teman saya di Teknologi Bioproses 2013 yang selalu memberikan energi positif, kasih sayang, dan keceriaan yang menyenangkan.

13. Seluruh teman-teman organisasi saya (EM 2014, ARSC 2014, FORKITA 2015, dan BEM 2016) yang telah mengajarkan saya untuk mengabdikan tanpa pamrih.

14. Teman-teman dalam lingkaran positif saya yang selalu mengingatkan untuk menjaga goal hidup saya tetap bersinar.

15. Anggi Octari Putri dan Ratna, sahabat karib selama perjuangan di Malang yang senantiasa kebersamaan dalam suka dan duka.

16. Eliza, Risyda, Elni, Syifa, Sovie, Winny, Dwi, Pika, Citra, Hanifa, Ana, Fadiah, dan segenap lingkaran pertemanan saya yang tak dapat saya sebutkan semuanya.

17. Teman-teman dekat saya di Magelang, Andi, Muin, Indri, Kiky, dan Nita yang selalu memberikan dukungan.

Besar harapan saya semoga penelitian yang akan saya lakukan dapat dinikmati hasilnya untuk almamater tercinta saya Universitas Brawijaya dan Indonesia.

Malang, 17 Agustus 2017

Hormat Saya,

Naily Ulya

**PERNYATAAN KEASLIAN TA**

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama Mahasiswa : Naily Ulya

NIM : 135100600111005

Program Studi : Teknologi Bioproses

Jurusan : Keteknikan Pertanian

Fakultas : Teknologi Pertanian

Judul TA : Analisis Pengaruh Rasio Pelarut dan Waktu Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Total Flavonoid Ekstrak Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) Menggunakan *Microwave Assisted Extraction* (MAE)

Menyatakan bahwa, TA dengan judul di atas merupakan karya asli penulis tersebut di atas. Apabila di kemudian hari terbukti pernyataan ini tidak benar, saya bersedia dituntut sesuai hukum yang berlaku

Malang, 17 Agustus 2017

Pembuat Pernyataan,

Naily Ulya

NIM 135100600111005

**NAILY ULYA. 135100600111005. ANALISIS PENGARUH RASIO PELARUT DAN WAKTU EKSTRAKSI TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN TOTAL FLAVONOID EKSTRAK JAMUR TIRAM PUTIH (*Pleurotus ostreatus*) MENGGUNAKAN MICROWAVE ASISSTED EXTRACTION (MAE). TA. PEMBINGBING: Dr. Ir. Bambang Dwi Argo, DEA, Shinta Rosalia Dewi, S.Si.,M.Sc**

### **RINGKASAN**

Jamur tiram merupakan salah satu komoditi pertanian yang memiliki potensi besar sebagai bahan baku obat alami. Jamur tiram mengandung senyawa polisakarida yang mempunyai sifat antimikroba, antitumor, antiradang, antioksidan, hematologi, hipotensi dan efek hepatoprotektif. Komponen biologis aktif yang terkandung dalam jamur tiram dan memiliki peran penting sebagai antioksidan adalah senyawa fenolik dan flavonoid. Upaya untuk mendapatkan senyawa flavonoid jamur tiram dilakukan dengan proses ekstraksi. Salah satunya dengan metode MAE (*Microwave Assisted Extraction*) yang merupakan metode modern dengan memanfaatkan gelombang mikro untuk meningkatkan efektivitas dan efisiensi pemecahan sel. MAE memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional yaitu mengurangi waktu ekstraksi dan volume pelarut. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh rasio pelarut dan waktu ekstraksi jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) terhadap total flavonoid dan aktivitas antioksidan menggunakan metode MAE. Penelitian ini dilaksanakan selama 5 bulan. Pemilihan objek pada penelitian untuk pengelompokan dan pemberian perlakuan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan tiga kelompok perlakuan waktu (2 menit, 3 menit, dan 4 menit) dan tiga perlakuan rasio pelarut (b/v) yaitu (1:30, 1:35, dan 1:40). Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak jamur tiram putih memiliki nilai  $IC_{50}$  yaitu 14,551 mg/ml dan total flavonoid 1,293 mgQE/g. Hasil analisis ANNOVA menunjukkan bahwa pada parameter uji total flavonoid dan  $IC_{50}$  tidak menunjukkan beda nyata pada semua faktor perlakuan dan tidak ada interaksi antara keduanya. Namun, perbandingan dengan kontrol menggunakan ekstraksi

konvensional menunjukkan bahwa hasil ekstraksi menggunakan MAE menunjukkan hasil yang lebih tinggi pada total flavonoid dan aktivitas antioksidan.

Kata Kunci: Aktivitas Antioksidan, Jamur Tiram Putih, MAE (*Microwave Assisted Extraction*), Total Flavonoid



**NAILY ULYA. 135100600111005. Analysis the Influence of Solvent Ratio and Time Extraction of Antioxidant Activity and Total Flafonoids Extract Oyster Mushroom (*Pleurotus Ostreatus*) Using MICROWAVE ASSISTED EXTRACTION (MAE).TA. SUPERVISOR: Dr. Ir. Bambang Dwi Argo, DEA, Shinta Rosalia Dewi, S.Si.,M.Sc**

**SUMMARY**

Oyster mushroom is one of the agriculture comodity that has big potential as materials for herbs. Oyster mushroom contains polysaccharide which has antimicrobial, antitumor, anti-inflammation, antioxidant, hematology, hypotention, and hepatoprotective effect. Active biology compounds which contain in oyster mushroom and has important role as antioxidant are flavonoids and fenolic compound. The effort to get flavonoids from oyster mushroom is done with extraction. One of extraction method is MAE (Microwave Assisted Extraction) which has modern method by using microwave to improve effectiveness and efficiency of breaking cells. MAE has more advantages compare to conventional extraction which are reduce time extraction and volume solvent. This study aims to know the effect of solvent ratio dan time extraction of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on total flavonoid and antioxidant activity using MAE. This reseach is held during 5 month. This reseach using GRD (Group Randomized Design) with 3 groups variable (2, 3, 4 minutes) and 3 variables solvent ratio (b/v) which are (1:30, 1:35, 1:40). Result from Antioxidant activity test show that extracted oyster mushroom has  $IC_{50}$  is 14,551 mg/ml and total flavonoids 1,293 mgQE/g. Result from ANNOVA analysis show that parameter Antioxidant activity test and  $IC_{50}$  not showing obvious differences at all the variable vactors and nothing interaction between them. But, comparison with control using conventional extraction show that extraction yield using MAE show higher total flavonoid and antioxidant activity.

Key words: Antioxidant activity, Oyster mushroom, MAE (Microwave Assisted Extraction), Total Flavonoid

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PERSETUJUAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR</b> .....	<b>viii</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>ix</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xvii</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang.....	<b>1</b>
1.2. Rumusan Masalah.....	<b>5</b>
1.3. Tujuan Penelitian.....	<b>6</b>
1.4. Manfaat Penelitian.....	<b>6</b>
1.5. Hipotesis.....	<b>7</b>
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>8</b>
2.1. Jamur Tiram Putih ( <i>Pleurotus ostreatus</i> ).....	<b>8</b>
2.2. Senyawa Flavonoid.....	<b>11</b>
2.3 Senyawa Antioksidan dalam Jamur Tiram Putih.....	<b>16</b>
2.4 Ekstraksi.....	<b>20</b>
2.5 Ekstraksi dengan Metode MAE ( <i>Microwave Assisted Extraction</i> ).....	<b>23</b>
2.5.1 Radiasi Gelombang Mikro.....	<b>23</b>
2.5.2 Pemanfaatan Gelombang.....	<b>23</b>

Mikro.....	23
2.5.3 Faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro.....	27
2.6 Penelitian Terdahulu Mengenai Jamur Tiram Putih.....	30
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>32</b>
3.1. Tempat dan Waktu.....	32
3.2. Bahan dan Alat Penelitian.....	32
3.2.1 Bahan Penelitian.....	32
3.2.2 Alat Penelitian.....	32
3.3. Metode Penelitian.....	34
3.4. Pelaksanaan Penelitian.....	35
3.4.1 Proses Pembuatan Serbuk Jamur Tiram Putih.....	35
3.4.2 Ekstraksi Jamur Tiram Putih.....	35
3.5. Parameter Pengamatan dan Analisis Data.....	36
3.5.1 Pengukuran Total Flavonoid.....	36
3.5.2 Uji Aktivitas Antioksidan.....	38
3.6. Analisa Data.....	39
3.7. Diagram Alir Penelitian.....	40
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>42</b>
4.1 Karakteristik Bubuk Jamur Tiram Putih.....	42
4.2 Ekstraksi Jamur Tiram Putih Menggunakan MAE.....	43
4.3 Kadar Flavonoid Ekstrak Jamur Tiram Putih.....	46
4.4 Aktivitas Antioksidan Jamur Tiram Putih.....	53
4.5 Hubungan Kadar Flavonoid dengan Aktivitas Antioksidan.....	57
4.6 Pemilihan Perlakuan Terbaik.....	59
4.6.1 Perbandingan Perlakuan Terbaik dengan Kontrol Tanpa Pemanasan.....	61
4.6.2 Perbandingan Perlakuan Terbaik dengan Kontrol Pemanasan Waterbath.....	62
4.6.3 Perbandingan Perlakuan Terbaik.....	



dengan Ekstraksi Lain

**BAB V KESIMPULAN DAN SARAN** 67

5.1 Kesimpulan 67

5.2 Saran 68

**DAFTAR PUSTAKA** 70

**LAMPIRAN** 77



**DAFTAR GAMBAR**

**Gambar 2.1** Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*)..... 9

**Gambar 2.2** Kerangka dasar flavonoid ..... 18

**Gambar 2.3** Profil Suhu Pemanasan Konvensional dan Gelombang Mikro ..... 26

**Gambar 4.1** Bubuk Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) ..... 43

**Gambar 4.2** Pembentukan senyawa Kompleks Quercetin Aluminium Klorida ..... 47

**Gambar 4.3** Hubungan Rasio Pelarut dan Waktu ekstraksi dengan Total Flavonoid ..... 48

**Gambar 4.4** Reaksi antara DPPH dengan Senyawa Antioksidan ..... 48

**Gambar 4.5** Grafik Pengaruh Jenis Pelarut dan Waktu Ekstraksi Terhadap Rerata IC<sub>50</sub> Ekstrak Jamur Tiram Putih ..... 56

**Gambar 4.6** Grafik Hubungan Antara Aktivitas Antioksidan (IC<sub>50</sub>) dengan Kandungan Flavonoid Total ..... 58



**DAFTAR TABEL**

**Tabel 2.1** Kandungan Senyawa Polifenol dalam Jamur Tiram Putih .....10

**Tabel 2.2** Perbandingan Ekstraksi Metode Soxhletasi, UAE (*Ultrasound-Assisted Extraction*), MAE (*Microwave Assisted Extraction*), SFE (*Supercritical Fluid Extraction*) .....26

**Tabel 2.3** Nilai Konstanta Dielektrik Beberapa Pelarut.....27

**Tabel 2.4** Penelitian Terdahulu Mengenai Ekstraksi Jamur Tiram Putih.....30

**Tabel 3.1** Daftar Peralatan yang Digunakan dalam Penelitian .....33

**Tabel 3.2** Kombinasi Perlakuan Ekstraksi Jamur Tiram Putih.....34

**Tabel 4.1** Perlakuan Terbaik .....60

**Tabel 4.2** Perbandingan Perlakuan Terbaik dengan Kontrol Metode Maserasi .....61

**Tabel 4.3** Perbandingan Perlakuan Terbaik Dengan Kontrol metode Waterbath.....63

**Tabel 4.4** Perbandingan Perlakuan Terbaik dengan Penelitian Lain.....61

**DAFTAR LAMPIRAN**

**Lampiran 1** Prosedur Analisa .....78

**Lampiran 1.1** Penentuan Kadar Air Metode Oven (AOAC, 1995) .....78

**Lampiran 1.2** Analisa Total Flavonoid .....79

**Lampiran 1.2.1** Pembuatan Larutan Quercetin .....79

**Lampiran 1.2.2** Analisis Ekstrak .....80

**Lampiran 1.3** Analisis Aktivitas Antioksidan Metode DPPH.....81

**Lampiran 2** Hasil Pengujian Kadar Air .....82

**Lampiran 3** Data Hasil Pengujian Total Flavonoid .....83

**Lampiran 4** Data Hasil Analisis ANOVA Total Flavonoid .....86

**Lampiran 5** Data Hasil Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....88

**Lampiran 6** Data Hasil Anova IC<sub>50</sub> .....96

**Lampiran 7** Data Hasil Analisis Penentuan Perlakuan Terbaik.....99

**Lampiran 8** Data Hasil Pengujian Kontrol .....101

**Lampiran 8.1** Data Hasil Pengujian Total Flavonoid Kontrol.....101

**Lampiran 8.2** Data Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Kontrol.....101

**Lampiran 9** Data Hasil Uji T.....104

**Lampiran 9.1** Data hasil Uji T Kontrol Menggunakan Maserasi.....104

**Lampiran 9.1** Data hasil Uji T Kontrol Menggunakan Waterbath.....105

**Lampiran 10** Spesifikasi Microwave.....106

**Lampiran 11** Dokumentasi Penelitian.....108



## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia dikenal kaya dengan sumber daya hayati yang memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku obat. Peluang eksplorasi tanaman obat masih sangat terbuka luas sejalan dengan semakin berkembangnya industri jamu, obat herbal, dan fitofarma. Berdasarkan manfaat yang sudah ada, baik teruji secara empiris atau klinis, potensi sumber bahan alam yang terdapat di bumi Indonesia perlu digali dengan semaksimal mungkin, dan dimanfaatkan dalam penyelenggaraan upaya-upaya kesehatan masyarakat (Saskiawan dan Nur, 2015).

Jamu tiram merupakan salah satu komoditi pertanian yang memiliki potensi besar sebagai bahan baku obat alami. Ketersediaan jamur tiram putih di Indonesia cukup tinggi. Kesadaran masyarakat untuk mengkonsumsi jamur berpengaruh positif terhadap permintaan pasokan yang meningkat mencapai 20%-25% per tahun. Produksi jamur Indonesia pada tahun 2011 adalah 43.047.029 kg dengan jumlah penduduk sebesar 437.737.582 jiwa, maka konsumsi jamur Indonesia rata-rata adalah 0,197 kg per kapita per tahun (Candra dkk., 2014). Konsumsi jamur yang tinggi ini menyebabkan perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai kandungan dalam jamur tiram putih yang berpengaruh positif terhadap kesehatan manusia.

Jamur tiram mengandung senyawa polifenol yang mempunyai sifat antimikroba, antitumor, antiradang, antioksidan, hematologi, hipotensi dan efek hepatoprotektif (Chang *and* Miles 1989; Wasser *dan* Weis 1999; Cohen *et al.* 2002 *dalam* Saskiawan, 2015). Usaha untuk mencegah atau mengurangi resiko yang ditimbulkan oleh aktivitas radikal bebas adalah dengan mengkonsumsi makanan atau suplemen yang mengandung antioksidan. Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas dengan cara mendonorkan satu atom protonnya sehingga membuat radikal bebas stabil dan tidak reaktif (Lusiana, 2015). Komponen biologis aktif yang terkandung dalam jamur tiram dan memiliki peran penting sebagai antioksidan adalah senyawa fenolik dan flavonoid (Lusiana, 2015). Berdasarkan penelitian terdahulu kandungan senyawa flavonoid jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) tinggi yaitu sebesar 2,00 mg catechin equivalent/g. Sementara, jamur tiram hitam (*Pleurotus sapidus*) hanya memiliki flavonoid sebesar 1,39 mg/g (Jeena *et al.*, 2014). Jamur jenggot (*Hericium erinaceus*) memiliki flavonoid sebesar 1,61 mg/g (Mujic *et al.*, 2010). Kandungan senyawa flavonoid yang tinggi tersebut akan berpengaruh terhadap tingginya aktivitas antioksidan. Oleh karena itu, dilakukan penelitian untuk memanfaatkan jamur tiram putih sebagai senyawa antioksidan.

Salah satu cara untuk mendapatkan senyawa antioksidan adalah menggunakan proses ekstraksi. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Jeena *et al.*, (2014), Palma *et al.*, (2016),

dan Kim *et al.*, (2009) proses ekstraksi jamur tiram putih untuk mendapatkan senyawa polifenol dilakukan dengan maserasi dan pelarut yang digunakan adalah metanol. Namun proses ekstraksi dengan metode maserasi ini membutuhkan waktu ekstraksi yang cukup lama yaitu 24 jam. Selanjutnya dilakukan pula ekstraksi jamur tiram putih untuk mendapatkan senyawa polifenol dengan metode sonikasi dan pelarut metanol selama 8 jam, namun total flavonoid yang diperoleh lebih rendah dibandingkan dengan metode maserasi (Gasecka, 2016). Menurut Arbayah *et al.*, (2016), proses ekstraksi menggunakan metode maserasi bertingkat dengan pengadukan dan pelarut etanol diperoleh total flavonoid sebanyak 3,39 mg QE/g DW pada ekstraksi yang pertama dan hasil ini tergolong tertinggi dibandingkan dengan penelitian yang sebelumnya telah dijelaskan. Namun pada penelitian ini proses ekstraksinya membutuhkan waktu lama yaitu 24 jam dan penggunaan pelarut yang terlalu banyak. Oleh karena hal tersebut dilakukan ekstraksi menggunakan MAE (*Microwave Assisted Extraction*) yang merupakan metode ekstraksi dengan memanfaatkan gelombang mikro untuk meningkatkan efektivitas dan efisiensi pemecahan sel sehingga senyawa antioksidan lebih mudah terlarut (Bener *et al.*, 2016). MAE memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode konvensional yaitu hanya membutuhkan waktu yang relatif sebentar dan volume pelarut rendah (Salas, 2010). Selain itu kelebihan MAE yaitu konsumsi energi dan pelarut yang lebih sedikit, yield yang lebih tinggi,

akurasi dan presisi yang lebih tinggi, adanya proses pengadukan sehingga meningkatkan fenomena transfer massa, dan setting peralatan yang menggabungkan sohklet dan kelebihan dari *microwave* (Purwanto, 2010). Efektivitas ekstraksi senyawa antioksidan yang dihasilkan sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya: ukuran bahan, waktu ekstraksi, temperatur ekstraksi, jenis pelarut, dan perbandingan jumlah pelarut dengan bahan.

Guna meningkatkan efektivitas dalam proses ekstraksi dipilih pelarut berupa akuades. Akuades memiliki konstanta dielektrik yang tinggi yaitu 78,3 dibandingkan dengan metanol, etanol, dan aseton (Farida, 2014). Konstanta dielektrik melambangkan rapatnya fluks elektostatik dalam sebuah bahan bila diberi potensial listrik (Arum dkk.,2015). Sehingga dapat disimpulkan bahwa konstanta dielektrik merupakan kemampuan suatu pelarut dielektrik untuk menyimpan energi gelombang mikro. Semakin tinggi nilai konstanta dielektrik maka kemampuan menyerap energi gelombang mikro semakin besar (Setiawan,2015). Selain pemilihan jenis pelarut, perlu diperhatikan juga volume pelarut yang akan digunakan. Volume pelarut sangat berpengaruh terhadap hasil ekstraksi karena akan mempengaruhi kemampuan gelombang mikro untuk mengekstrak bahan. Pada penelitian pendahuluan yang telah dilakukan, bubuk jamur tiram putih mampu terlarut sempurna pada perbandingan rasio pelarut 1:20 (b/v). Menurut Sanjaya (2011), proses ekstraksi dapat mencapai

titik optimum pada rasio pelarut 1:35 (b/v). Hal tersebut mendasari pemilihan rasio pelarut yang digunakan yaitu 1:30, 1:35, dan 1:40 (b/v). Pada pemilihan waktu ekstraksi digunakan variasi waktu yaitu 2, 3, dan 4 menit. Hal ini disesuaikan dengan hasil penelitian pendahuluan mengenai penggunaan waktu yang tepat sehingga tidak menyebabkan degradasi senyawa antioksidan.

Tujuan utama ekstraksi senyawa antioksidan ini untuk mendapatkan flavonoid dari jamur tiram putih. Flavonoid merupakan suatu senyawa yang bersifat termolabil. Pemanasan yang terlalu tinggi dapat menyebabkan degradasi senyawa flavonoid. Hal ini dapat diselesaikan dengan memanfaatkan MAE yang memiliki kontrol terhadap temperatur lebih baik dibandingkan dengan proses pemanasan konvensional.

Kondisi pengestrakan dengan MAE yang optimal diharapkan dapat meningkatkan efektivitas dan efisiensi ekstrak jamur tiram yang diukur melalui pengujian total flavonoid dan aktivitas antioksidan. Oleh karena itu perlu dilakukan proses pengujian salah satunya dengan mengontrol volume pelarut dan lama ekstraksi untuk menghasilkan flavonoid yang optimal.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, rumusan masalah penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh volume pelarut dan waktu ekstraksi terhadap total flavonoid ekstrak jamur tiram putih yang diekstrak menggunakan MAE?

2. Bagaimana pengaruh volume pelarut dan waktu ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak jamur tiram putih yang diekstrak menggunakan MAE?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah disebutkan, tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh volume pelarut dan waktu ekstraksi menggunakan MAE terhadap total flavonoid ekstrak jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*).

2. Mengetahui pengaruh volume pelarut dan waktu ekstraksi menggunakan MAE terhadap efektivitas antioksidan ekstrak jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*).

### 1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan bagi berikut:

1. Mendapatkan hasil ekstraksi jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) yang lebih efektif dan efisien menggunakan metode MAE.

2. Mengetahui aktivitas antioksidan dan total flavonoid jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) yang paling optimal pada beberapa perlakuan waktu ekstraksi dan volume pelarut.
3. Memberikan solusi alternatif penggunaan antioksidan sintetik.
4. Memberikan masukan bagi pengembangan keilmuan mengenai ekstraksi menggunakan MAE.

### 1.5 Hipotesis

1. Perbedaan volume pelarut dan suhu ekstraksi dapat berpengaruh nyata terhadap total flavonoid ekstrak jamur tiram putih, dimana semakin meningkatnya waktu dan volume pelarut dapat meningkatkan total flavonoidnya.
2. Perbedaan volume pelarut dan suhu ekstraksi dapat berpengaruh nyata terhadap aktivitas antioksidan ekstrak jamur tiram putih, dimana semakin meningkatnya waktu dan volume pelarut dapat meningkatkan aktivitas antioksidannya.
3. Semakin tinggi kadar flavonoid maka aktivitas antioksidan akan semakin tinggi.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*)

Jamur tiram mempunyai banyak nama antara lain di Jepang dikenal dengan nama *shimeji* atau *hiratake*, di Eropa dikenal dengan *abalone mushroom*, dan di Amerika yaitu *oyster mushroom*. Jamur tiram atau *Pleurotus ostreatus* merupakan jenis saprofit yang banyak tumbuh di bagian kayu. Jamur ini termasuk keluarga *Agaricaceae* atau *Tricholomataceae* dari kelas *Basidiomycetes*. Pembudidayaan jamur tiram ini telah banyak dilakukan mengingat prospek profit yang didapatkan cukup tinggi (Stevani, 2011).

Kesadaran masyarakat untuk mengkonsumsi jamur berpengaruh positif terhadap permintaan pasokan yang meningkat mencapai 20%-25% per tahun (Agrina, 2009 dalam Candra dkk., 2014). Produksi jamur tiram putih di Indonesia pada tahun 2011 adalah 43.047.029 kg dengan jumlah penduduk sebesar 437.737.582 jiwa. Hal itu menunjukkan bahwa konsumsi rata-rata jamur di Indonesia adalah 0,197 per kg per tahun (Sarina, 2012 dalam Candra dkk., 2014).

Jamur tiram tumbuh dan berkembang sepanjang tahun di daerah beriklim dingin sampai daratan tropis beriklim panas. Miselium jamur tumbuh optimal pada suhu 25°C-30°C, sedangkan tubuh buah tumbuh pada suhu optimal 18°C-20°C.

Faktor lain yang mempengaruhi pertumbuhan jamur adalah air, keasaman (pH), substrat, kelembaban, dan ketersediaan sumber nutrisi (Djarjih dkk., 2001).



**Gambar 2.1.** Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*)

Jamur tiram merupakan salah satu tanaman hortikultura yang mengandung protein dan serat pangan tinggi yaitu 30,40% dan 33,44% dalam 100g penyajian (Muchtadi, 1990 dalam Permatasari, 2002; stamets, 2005 dalam Wardani dkk., 2013).

Protein tersebut lebih baik bila dibandingkan dengan sumber protein nabati lain seperti kedelai atau kacang-kacangan. Selain itu jamur tiram putih juga mengandung lemak sebanyak 2,66 % (berat kering), karbohidrat 64,1 % (berat kering), dan kalori 345 Kcal/100 g (Sumarsih, 2010).

Selain kandungan nutrisinya yang tinggi jamur tiram juga mengandung komponen antioksidan seperti asam asorbig,  $\beta$ -caroten, dan  $\alpha$ -tocopherol (Setyawati, 2011). Jamur tiram juga mengandung retene yang merupakan substrat penghambat tumor. Jamur tiram memiliki kemampuan sebagai antivirus karena dapat membentuk interferon (Bano, 1982 dalam Steviani, 2011). Jamur tiram putih mengandung flavonoid sebanyak 2 mg/g (Fazira dkk., 2016). Menurut Mujic *et al.*, (2010) jamur tiram putih memiliki kandungan flavonoid sebanyak 1,32 mg/g DW. Hasil uji menggunakan sel MCF-7 menunjukkan bahwa jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) memiliki efektivitas optimum sebagai antikanker (Fazira dkk., 2016). Kandungan beberapa senyawa polifenol di dalam jamur tiram putih dapat dilihat pada Tabel 2.1.

**Tabel 2.1** Kandungan Senyawa Polifenol dalam Jamur Tiram Putih

Kandungan	Jumlah ( $\mu$ g/g)
<i>Chlorogenic acid</i>	2,50
<i>Syringenic Acid</i>	2,30
<i>Ferulic Acid</i>	3,00
<i>p-Coumaric Acid</i>	7,17
<i>Caffeic Acid</i>	1,21
<i>t-Cinnamic Acid</i>	2,35
<i>Vanilic Acid</i>	1,34
<i>Naringenin</i>	0,15

Berdasarkan pengujian dengan *chromatographic profile*

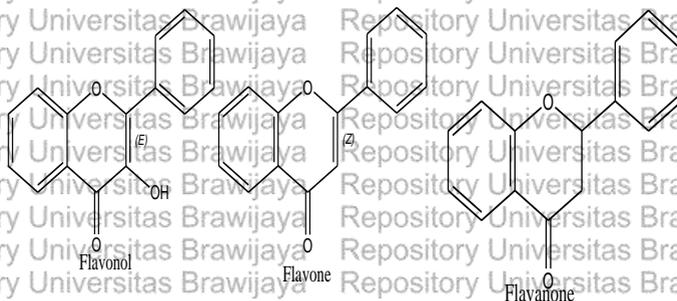
Sumber: (Gasecka, 2016)

Berdasarkan kandungan-kandungan tersebut jamur tiram putih dapat dimanfaatkan untuk menyembuhkan penyakit lever, diabetes, anemia, serta menurunkan kadar kolesterol. Selain itu kandungan senyawa polisakarida di dalamnya dapat dimanfaatkan sebagai antimikroba, antitumor, antiradang, antioksidan, hematologi, hipotensi, dan efek hepatoprotektif (Saskiawan, 2015). Senyawa polisakarida yang terdapat di dalam jamur diantaranya senyawa asam fenolik, flavonoid, asam askorbik, *stilbenes*, lignin, dan tanin (Gasecka, 2016).

## 2.2 Senyawa Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan yang memiliki zat hijau daun (klorofil) kecuali alga. Flavonoid dapat ditemukan pada bagian tumbuhan seperti daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar bunga, buah dan biji (Hanifa dkk., 2015). Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga dapat ditemukan pada setiap ekstrak tumbuhan (Markham, 1988 dalam Frindryani, 2016). Selama ini tercatat lebih dari 2000 jenis flavonoid yang berasal dari tumbuhan telah diidentifikasi oleh para ahli. Sejumlah flavonoid mempunyai rasa pahit hingga dapat bersifat menolak sejenis ulat tertentu (Frindryani, 2016). Flavonoid merupakan senyawa dengan kerangka dasar mempunyai 15 atom C, dua cincin benzen yang terikat pada suatu rantai propana sehingga susunannya adalah C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Kerangka tersebut berarti kerangka

karbonnya terdiri dari dua gugus C<sub>6</sub> (cincin benzene tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Robinson, 1995 dalam Frindryani, 2016). Susunan ini akan menghasilkan tiga jenis struktur, yaitu *1,3-diaril propane* atau flavonoid, *1,2-diaril propane* atau isoflavonoid, dan *1,1-diaril propane* atau neoflavonoid (Aulia, 2012).



**Gambar 2.2** Kerangka Dasar Flavonoid

Flavonoid memiliki peran sebagai antioksidan yang dapat meredam radikal bebas (Giorgi, 2000). Senyawa flavonoid terdapat dalam banyak jenis tanaman. Salah satunya terdapat dalam jamur tiram putih. Menurut Gasecka (2016), kandungan flavonoid yang terdapat di dalam jamur tiram putih adalah golongan flavanones (naringenin) sebesar 0,18 µg. Penelitian terdahulu mengenai flavonoid dalam jamur tiram putih dilakukan oleh Gasecka (2016), dimana diperoleh kandungan flavonoid total sebesar 2,11 mg Rutin Equivalent/100 g DW. Selain itu penelitian mengenai flavonoid dalam jamur tiram putih juga dilakukan oleh Arbayah (2013), dimana diperoleh total flavonoid sebanyak 3,39 mg QE/g DW. Berdasarkan penelitian yang

dilakukan oleh Gasecka (2016), Kim et al., (2009), dan Palma et al., (2016) diketahui flavonoid yang terdapat dalam jamur tiram putih adalah flavonones, flavonols, dan flavanol.

Terdapat beberapa metode dalam mengukur total flavonoid.

Metode yang sering digunakan adalah metode kolorimetri.

Metode ini memiliki kelebihan yaitu akurat, waktu singkat, dan

dapat diandalkan dibandingkan dengan metode *chromatographic*

yang membutuhkan keahlian khusus dalam menjalankan

instrumen, mahal, dan membutuhkan waktu yang lebih lama (Mir

et al., 2014). Contoh metode kolorimetri adalah metode  $AlCl_3$  dan

*2,4-dinitrophenylhydrazine*. Metode kolorimetri  $AlCl_3$  ditandai

dengan terjadinya pembentukan kompleks antara aluminium

klorida dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi

pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari golongan flavon

dan flavonol (Azizah dkk., 2014). Satuan yang digunakan bisa

berupa mg QE/g DW, mg rutin equivalent/g DW, dan mg

catechin/g DW tergantung pada larutan standar yang digunakan.

Sedangkan metode *2,4-dinitrophenylhydrazin* (DNPH) untuk

menentukan golongan flavanon dan flavanonol yang dianalisis

dengan metode kolorimetri. Senyawa flavonoid yang bereaksi

dengan *2,4-dinitrofenilhidrazin* adalah senyawa yang

mengandung gugus  $NH_2$ , gugus aldehid dan gugus keton

(Arbayah, 2013). Pengukuran ini dilakukan untuk mengetahui

kandungan flavonoid dalam suatu senyawa sehingga dapat

diketahui aktivitasnya sebagai antioksidan.

Senyawa flavonoid mampu menghambat proses karsinogenik baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Penghambatan terjadi pada tahap inisiasi, promosi maupun progresi melalui mekanisme molekuler antara lain inaktivasi senyawa karsinogen, antiproliferatif, penghambatan angiogenesis dan daur ulang sel, induksi apoptosis, dan aktivitas antioksidan. Senyawa ini terbukti bersifat tidak toksik pada sel normal manusia (Ren et al., 2003 *dalam* Setiawati, 2011).

Flavonoid memberikan kontribusi pada aktivitas antioksidannya secara *in vitro* dengan cara mengikat (kelasi) ion-ion metal seperti Fe dan Cu. Ion-ion metal tersebut dapat mengkatalisis reaksi yang akhirnya memproduksi radikal bebas (Mira et al., 2002; Muchtadi, 2012 *dalam* Sayuti, 2015). Walaupun flavonoid mempunyai kemampuan untuk mengikat ion-ion metal, akan tetapi tidak diketahui senyawa flavonoid ini dapat berfungsi sebagai pengikat ion metal pada kondisi normal (Frei dan Higdon, 2003; Muchtadi, 2012 *dalam* Sayuti, 2015). Secara tidak langsung flavonoid meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui beberapa mekanisme. Salah satu mekanisme peningkatan ekspresi gen antioksidan adalah melalui aktivitas *nuclear factor erythroid 2 related factor 2* (Nrf2) sehingga terjadi peningkatan gen yang berperan dalam sintesis enzim antioksidan endogen seperti misalnya gen SOD (*superoxide dismutase*) (Sumardika dan Jawi, 2012).

Mekanisme flavonoid dalam pencegahan timbulnya kanker adalah

- 1) Stimulasi aktivitas enzim-enzim detoksifikasi fase II ( Kong *et al.*, 2001 ; Walle dan Walle, 2002 *dalam* Sayuti, 2015). Enzim-enzim detoksifikasi fase II akan mengkatalisis reaksi yang meningkatkan ekskresi senyawa toksik atau bahan kimia karsinogenik dalam tubuh.
- 2) Menjaga aturan siklus sel yang normal (Chen *et al.*, 2004 ; Wang *et al.*, 2004 *dalam* Sayuti, 2015). Jika DNA mengalami kerusakan, siklus sel akan berhenti pada titik tempat terjadinya kerusakan sehingga memberi kesempatan pada DNA untuk melakukan mengaktifkan jalur yang membawa pada kematian sel jika kerusakan tersebut tidak dapat diperbaiki ( Stewart *et al.*, 2003 *dalam* Sayuti, 2015).
- 3) Menghambat proliferasi dan menginduksi apoptosis ( Sah *et al.*, 2004 ; Kavanagh *et al.*, 2001 ; Ramos, 2007 *dalam* Sayuti, 2015).
- 4) Menghambat invasi tumor dan angiogenesis (Bagli *et al.*, 2004 ; Kim, 2003 *dalam* Sayuti, 2015). Dengan bantuan enzim-enzim *matrixmetalloproteinases* sel-sel kanker akan menyerang jaringan normal (Sayuti, 2015).
- 5) Mengurangi terjadinya peradangan (inflasi) (Sakata *et al.*, 2003 ; Cho *et al.*, 2003 *dalam* Sayuti, 2015). Peradangan ini bisa terjadi akibat produksi radikal bebas secara lokal oleh enzim-enzim inflamasi (*inflammatory enzymes*).

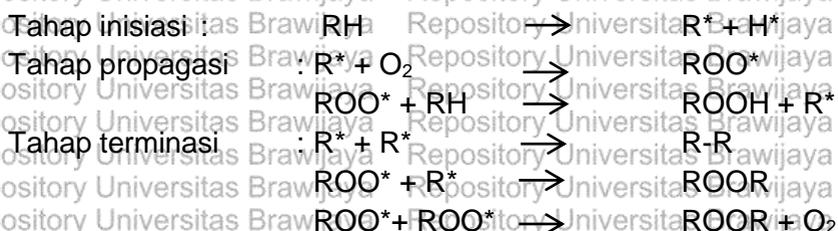
### 2.3 Senyawa Antioksidan dalam Jamur Tiram Putih

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam (Sayuti dkk., 2014). Tubuh manusia tidak memiliki cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Adanya kekhawatiran akan kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan. Antioksidan alami dapat melindungi tubuh dari kerusakan yang disebabkan spesies oksigen reaktif, mampu menghambat terjadinya penyakit degeneratif serta mampu menghambat peroksidase lipid pada makanan. Antioksidan alami umumnya mempunyai gugus hidroksil dalam struktur molekulnya. Keseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas menjadi kunci utama pencegahan stres oksidatif dan penyakit-penyakit kronis (Kuncahyo dkk., 2007 dalam Rifka, 2016).

Radikal dapat terbentuk dari pemutusan ikatan kovalen yang masing-masing radikalnya tetap mempertahankan satu elektron yang disebut reaksi homolisis. Radikal bebas merupakan molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan di dalam orbital luarnya sehingga dapat bereaksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel tersebut (Wijaya, 1996 dalam Frindryani, 2016). Ketika radikal

bebas bereaksi dengan senyawa non-radikal, radikal baru akan terbentuk dan reaksi berantai akan terjadi (Halliwell dan Gutteridge, 1999 dalam Frindryani, 2016). Reaksi berantai ini dapat merusak struktur sel dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya (Herry, 2014 dalam Frindryani, 2016).

Reaksi berantai pada radikal bebas (tanpa ada antioksidan) terdiri dari tiga tahap, yaitu:

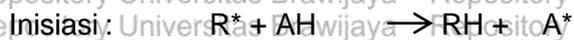


Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal bebas ( $R^*$ ) yang sangat reaktif, karena ( $RH$ ) melepaskan satu atom hidrogen, hal ini dapat disebabkan adanya cahaya, oksigen, atau panas. Pada tahap propagasi, radikal ( $R^*$ ) akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi ( $ROO^*$ ). Radikal peroksi selanjutnya akan menyerang  $RH$  menghasilkan hidroperoksida dan radikal baru. Hidrogen peroksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton (Nugroho, 2007 dalam Frindryani, 2016).

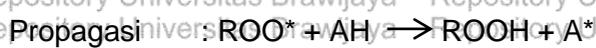
Tanpa adanya antioksidan, reaksi oksidasi akan berlanjut sampai tahap terminasi, sehingga antar radikal bebas dapat



saling bereaksi membentuk senyawa yang kompleks. Adanya antioksidan memberikan atom hidrogen atau elektron pada radikal bebas ( $R^*$ ,  $ROO^*$ ), mengubahnya ke bentuk yang lebih stabil (RH). Sementara turunan radikal antioksidan ( $A^*$ ) memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal semula ( $R^*$ ). Reaksi penghambatannya adalah sebagai berikut (Yuswatina, 2009 dalam Frindryani, 2016):



Radikal lipida



Antioksidan dinyatakan sebagai senyawa yang secara nyata dapat menghambat oksidasi walaupun dengan konsentrasi yang lebih rendah sekalipun dibandingkan dengan substrat yang dapat dialokasikan (Widjaya, 2003 dalam Lulail, 2009). Antioksidan diperlukan dalam jumlah yang sangat kecil untuk mencegah atau menghambat prooksidan. Prooksidan adalah substansi toksik yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif terhadap lemak, protein, dan asam nukleat sehingga menyebabkan berbagai penyakit (Cao dan Prior, 2002 dalam Kusumaningrum, 2011).

Berdasarkan dari sumbernya antioksidan dikelompokkan menjadi dua, yaitu antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami) dan antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia). Beberapa contoh antioksidan sintetik yang sudah beredar adalah *Butylated Hidroxyanisol* (BHA), *Butylated Hidroxytoluene* (BHT), *Tert-Butylated*

Hidroxyquinon (TBHQ), dan tokoferol. Antioksidan tersebut merupakan antioksidan yang telah diproduksi secara sintesis untuk tujuan komersil (Buck, 1991 dalam Anggraeni, 2016). Sedangkan antioksidan primer contohnya yaitu antioksidan yang berupa mineral, antioksidan vitamin, dan fitokimia atau senyawa fenolik (Inggrid dkk., 2014).

Salah satu metode untuk mengukur aktivitas antioksidan suatu senyawa menggunakan metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Metode DPPH memberikan informasi mengenai reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Anggraeni, 2016). Metode peredaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan methanol radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambatan radikal bebas. Ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan bahan pendonor elektron maka DPPH akan tereduksi, menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning yang berasal dari gugus pikril (Tristantini dkk., 2016).

Aktivitas antioksidan dapat dinyatakan dengan beberapa cara. Salah satunya dengan  $IC_{50}$  (*Inhibitory Concentration*) yaitu satuan yang digunakan untuk mengevaluasi ketepatan dan

performasi dari suatu obat-obatan (Sebaugh, 2010). Dalam pengukuran aktivitas antioksidan, *Inhibitory Concentration 50%* ( $IC_{50}$ ) didefinisikan sebagai konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50% (Sari, 2012). Menurut Molyneux (2004),  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang akan menyebabkan reduksi terhadap aktivitas DPPH sebesar 50%. Aktivitas antioksidan terbaik ditunjukkan dengan nilai  $IC_{50}$  yang rendah. Aktivitas antioksidan dikatakan kuat apabila nilai  $IC_{50}$  lebih kecil dari 0,05 mg/ml, kuat bila nilai  $IC_{50}$  antara 0,05-0,1 mg/ml, sedang bila nilai  $IC_{50}$  0,1-0,15 mg/ml, dan lemah apabila  $IC_{50}$  antara 0,151-0,2 mg/ml (Blois, 1958 dalam Anggela, 2012). Cara penentuan  $IC_{50}$  dapat dilakukan dengan menggunakan persamaan regresi linear, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y (Wachidah, 2013).

Antioksidan yang terdapat di dalam jamur tiram putih adalah antioksidan alami. Salah satu metode untuk mendapatkan senyawa antioksidan tersebut yaitu dengan cara ekstraksi. Pemilihan ekstraksi disesuaikan dengan jenis antioksidan yang akan diambil.

## 2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan berdasarkan perbedaan kelarutan bahan. Proses ekstraksi memiliki dua bagian utama, yaitu pelarut dan bahan utama. Pelarut (*solvent*) ialah zat yang digunakan untuk melarutkan dan memisahkan zat terlarut

(solute) dari material yang memiliki kelarutan lebih rendah daripada zat itu sendiri. Sedangkan, yang dimaksud bahan utama adalah bahan yang mengandung zat yang ingin dilarutkan atau diekstraksi (Berk, 2009 dalam Setyawan 2012). Pada umumnya ekstraksi dilakukan pada bahan rempah dan herbal (*speces and herbs*) untuk meningkatkan masa simpan senyawa aktif dalam bahan tersebut (*United Nation Industrial Development Organization, 2005 dalam Setyawan, 2012*).

Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam melakukan ekstraksi yaitu preparasi bahan. Tujuan utama preparasi bahan yaitu mengeleminasi atau mengurangi potensi gangguan oleh matriks bahan. Ekstraksi harus dilakukan dalam jumlah pelarut yang mencukupi, kondisi suhu dan pH ideal yang telah ditentukan secara analitis sebelumnya. Hal lain yang perlu diperhatikan yaitu struktur polifenol yang akan diekstrak, karena senyawa-senyawa ini memiliki gugus hidroksil yang mampu berikatan dengan gula, asam, ataupun gugus alkil. Oleh sebab itu, kepolaran senyawa fenol dapat bervariasi secara signifikan dan sangat sulit untuk mengembangkan metode ekstraksi tunggal optimum untuk semua senyawa fenol tersebut. Diperlukan pula optimasi prosedur ekstraksi dari berbagai jenis bahan untuk mendapatkan pengujian senyawa fenol yang akurat (Efendi, 2012).

Metode ekstraksi sangat penting dilakukan karena hasil ekstraksi menunjukkan tingkat keberhasilan metode tersebut dalam mengeluarkan senyawa fenol dari matriks bahan ke dalam

media (pelarut) melalui pengujian kuantitatif ekstrak (Salas, 2010). Terdapat beberapa metode ekstraksi senyawa fenol dari buah dan sayuran. Metode tersebut diantaranya, yaitu, ekstraksi cair-cair (*liquid-liquid extraction*/LLE), ekstraksi fase padatan (*solid phase extraction*/SPE), ekstraksi fluida superkritik (*supercritical fluid extraction*/SFE), ekstraksi cairan bertekanan (*pressurized liquid extraction*/PLE), ekstraksi bantuan gelombang mikro (*microwave-assisted extraction*/MAE), dan ekstraksi bantuan ultrasonik (*ultrasound-assisted extraction*/UAE). Hingga saat ini masih dikembangkan berbagai metode ekstraksi modern untuk mendapatkan rendemen yang tinggi, biaya produksi rendah, dan waktu yang singkat dalam melakukan sampling (Salas et al., 2010).

Pemilihan metode ekstraksi berdasarkan pada senyawa yang akan di ekstrak. Senyawa yang bersifat termolabil perlu menggunakan metode ekstraksi yang memanfaatkan suhu rendah. Salah satu contoh senyawa termolabil yaitu flavonoid. Untuk mendapatkan senyawa ini dapat dilakukan ekstraksi dengan metode pemancaran gelombang mikro (Gasecka, 2016). Selain itu menurut Wachidah (2013), senyawa flavonoid dalam buah parijoto dapat diekstrak menggunakan maserasi bertingkat.

## 2.5 Ekstraksi dengan Metode MAE (*Microwave Assisted Extraction*)

### 2.5.1 Radiasi Gelombang Mikro

Gelombang mikro adalah radiasi elektromagnetik dengan frekuensi 0,3-300 GHz dan diposisikan antara X-ray dan sinar inframerah dalam *spectrum* (Effendi, 2012). Gelombang mikro industri dan domestik umumnya dioperasikan pada 2,45 GHz, guna menghindari terjadinya gangguan dan interferensi dengan komunikasi radio (Kaufmann *et al.*, 2002). Umumnya digunakan gelombang mikro dengan frekuensi 2450 MHz dengan energi luaran 600-700 Watt untuk alat *microwave* komersial. Sumber tenaga bagi *microwave* oven adalah magnetron. Pada frekuensi 2450 MHz magnetron bisa menghasilkan daya antara 500-2000 W (Ramanadhan, 2005 *dalam* Farida, 2014). Gelombang elektromagnetik ini terdiri dari dua medan kumparan yang tegak lurus (*oscillating perpendicular fields*), yaitu medan listrik dan medan *magnetic* (Effendi, 2012). Gelombang mikro dalam ekstraksi berperan sebagai vektor energi kepada bahan yang mampu menyerap energi elektromagnetik dan mengubahnya menjadi panas (Jain, 2009 *dalam* Effendi, 2012).

### 2.5.2 Pemanasan Gelombang Mikro

Prinsip pemanasan menggunakan gelombang mikro adalah berdasarkan tumbukan langsung dengan material polar atau pelarut dan diatur oleh dua fenomena tersebut yaitu konduksi

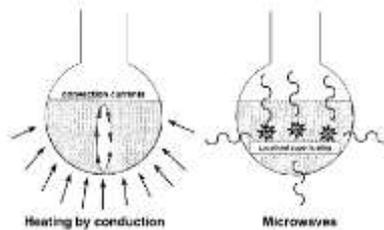
ionik dan rotasi dipol. Sebagian besar kasus, kedua fenomena tersebut berjalan secara simultan. Konduksi ionik mengacu pada migrasi elektroforetik ion dalam pengaruh perubahan medan listrik. Resistansi yang ditimbulkan oleh larutan terhadap proses migrasi ion menghasilkan friksi yang akan memanaskan larutan. Rotasi dipol merupakan pengaturan kembali dipol-dipol molekul akibat medan listrik yang terus berubah dengan cepat. Gelombang mikro bekerja dengan melewati radiasi gelombang mikro pada molekul air, lemak, maupun gula yang sering terdapat pada bahan makanan. Molekul-molekul ini akan menyerap energi elektromagnetik tersebut. Proses penyerapan energi ini disebut sebagai pemanasan dielektrik. Mekanisme penyerapan gelombang mikro oleh bahan ini menyebabkan pemanasan dengan *microwave* berlangsung dengan sangat cepat bila dibandingkan pemanasan konvensional (Delazar *et al.*, 2012 dalam Farida, 2015).

Panas radiasi gelombang mikro memanaskan dan menguapkan air sel bahan, tekanan pada dinding sel meningkat, sehingga sel membengkak (*swelling*). Tekanan akan mendorong dinding sel dari dalam, merenggangkan, dan memecahkan sel tersebut (Calinescu *et al.*, 2001 dalam Caesar, 2015). Rusaknya matriks bahan akan mempermudah senyawa target keluar dan terekstraksi (Caesar, 2015).

Ekstraksi dengan pelarut yang memanfaatkan *microwave* sebagai sumber energi akan memberikan beberapa keuntungan

yaitu dapat mengekstrak secara langsung, mempercepat waktu proses, meningkatkan hasil dan kualitasnya, konsumsi energi lebih rendah, dan biaya investasi yang lebih murah bila dibandingkan dengan ekstraksi menggunakan metode konvensional (Farida, 2014). Selain itu, keuntungan proses MAE antara lain: kebutuhan pelarut minimal, yield ekstraksi meningkat, lebih akurat dan presisi (Kerem, 2005 dalam Farida, 2014). Ekstraksi menggunakan MAE sangat cocok untuk mengekstrak senyawa yang tidak tahan terhadap cahaya. Gelombang mikro juga mengurangi aktivitas enzimatis yang dapat merusak senyawa yang diekstrak (Salas, 2010).

Radiasi gelombang mikro berbeda dengan metode pemanasan konvensional. Radiasi gelombang mikro memberikan pemanasan yang merata pada campuran reaksi. Pada pemanasan konvensional dinding *oil bath* atau *heating mantle* dipanaskan terlebih dahulu, kemudian pelarutnya. Akibat distribusi panas yang seperti itu selalu terjadi perbedaan suhu antara dinding dan pelarut (Taylor, 2005 dalam Farida, 2014). Perbedaan profil suhu pemanasan konvensional dan gelombang mikro dapat dilihat pada **Gambar 2.3**.



**Gambar 2.3.** Profil Suhu Pemanasan Konvensional dan Gelombang Mikro (Kaufmann, 2001)

Ekstraksi menggunakan *microwave* lebih menguntungkan bila dibandingkan ekstraksi secara konvensional. Perbandingan antara metode ekstraksi *microwave* dan metode lainnya dapat dilihat pada **Tabel 2.2.**

**Tabel 2.2** Perbandingan Ekstraksi metode soxhletasi, UAE (*Ultrasound-Assisted Extraction*), MAE (*Microwave Assisted Extraction*), SFE (*Supercritical Fluid Extraction*)

Solvent	Soxhletasi	UAE	MAE	SFE
Berat bahan* (gram)	5-10	5-30	0,5-1	1-10
Volume pelarut (ml)	>300	300	10-20	5-25
Suhu (°C)	Titik didih	Ruang	40, 70, 100	50,200
Waktu	16 jam	30 menit	30-45 detik	30-60 menit
Tekanan (atm)	Ruang	Ruang	1-5	150-650
Konsumsi energi relative	1	0,05	0,05	0,25

\*Tergantung pada jenis dan konsentrasi sampel

Sumber: (Salas, 2010)

### 2.5.3 Faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi dengan Bantuan

#### Gelombang Mikro

Beberapa faktor yang mempengaruhi ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro adalah :

##### 1. Jenis Pelarut

Penggunaan pelarut yang tepat didasarkan pada kelarutan senyawa target, interaksi antara pelarut dengan matriks bahan serta kemampuan pelarut dalam menyerap energi gelombang mikro. Ukuran kemampuan pelarut untuk menyerap energi gelombang mikro dan mengubahnya menjadi panas dinyatakan sebagai faktor disipasi (Setiawan, 2015). Keberhasilan dan selektivitas dari ekstraksi dengan gelombang mikro secara signifikan bergantung pada konstanta dielektrik dari pelarut yang digunakan. Konstanta fisik untuk beberapa pelarut dapat dilihat pada **Tabel. 2.3** (Farida, 2014).

**Tabel 2.3 Nilai konstanta dielektrik beberapa pelarut**

Pelarut	Konstanta dielektrik $\epsilon_r(\epsilon)$
Air	78,3
Metanol	32,6
Etanol	24,3
2-propanol	19,9
Aseton	20,7

Nilai konstanta dielektrik merupakan ukuran kemampuan pelarut dalam menyerap energi gelombang mikro. Semakin tinggi nilai konstanta dielektrik pelarut, maka kemampuan untuk menyerap energi gelombang mikro makin besar.

## 2. Waktu Ekstraksi

Semakin meningkatnya waktu ekstraksi, maka jumlah analit akan semakin tinggi. Namun bila dibandingkan, ekstraksi dengan memanfaatkan gelombang mikro membutuhkan waktu yang sangat singkat. Seringkali waktu ekstraksi 15-20 menit memberikan hasil yang baik (Setiawan, 2015).

## 3. Volume Pelarut

Volume pelarut merupakan hal yang sangat krusial. Volume pelarut harus cukup untuk meyakinkan bahwa bahan yang diekstrak harus terendam seluruhnya di dalam pelarut. Volume pelarut yang lebih banyak dapat meningkatkan perolehan ekstrak dalam ekstraksi konvensional. Namun demikian dalam metode ekstraksi gelombang mikro, volume terlarut yang terlalu banyak dapat menghasilkan rendemen yang lebih rendah (Agnes *et al.*, 2013 dalam Setiawan, 2015). Hal ini mungkin karena dengan adanya pelarut yang berlebihan mengakibatkan terjadinya pembengkakan berlebih (*excessive swelling*) pada material yang diekstraksi dan berakibat timbulnya *thermal stress* yang berlebih yang disebabkan timbulnya panas yang cepat pada larutan akibat dari penyerapan gelombang mikro oleh pelarut (Setiawan, 2015). *Thermal stress* yang berlebih

akan berakibat negatif terhadap proses ekstraksi (Setiawan, 2015).

#### 4. Daya Gelombang Mikro

Daya gelombang mikro dan lama ekstraksi merupakan dua faktor yang saling memengaruhi. Kombinasi dari daya rendah atau sedang dengan pemaparan yang lebih lama akan membawa hasil yang lebih baik mengingat kombinasi tersebut dapat menghindari terjadinya degradasi termal dari zat yang diinginkan. Secara umum, efisiensi ekstraksi dengan waktu yang singkat akan meningkat seiring dengan meningkatnya daya *microwave* dari 30-150 W (Shu, 2003 *dalam* Hartati, 2010 *dalam* Setiawan, 2015). Namun pada daya yang lebih tinggi (400-1200 W), variasi daya tidak memberikan pengaruh yang nyata pada rendemen ekstraksi (Gao dkk., 2006 *dalam* Farida, 2014).

#### 5. Suhu

Suhu ekstraksi merupakan faktor yang dapat meningkatkan dan menurunkan rendemen senyawa antioksidan yang diekstrak. Semakin tinggi suhu akan meningkatkan rendemen senyawa antioksidan. Akan tetapi bila terlalu tinggi akan merusak senyawa itu sendiri. Flavonoid terekstrak secara optimal pada suhu 50 °C, dan akan menurunkan rendemen bila melebihinya (Setiawan, 2015).



6. Luas Permukaan Material

Perlakuan awal juga dapat menentukan banyaknya senyawa yang akan di ekstrak seperti dihaluskan, diblender, dan dihomogenkan dengan pelarut akan meningkatkan kandungan senyawa yang akan diekstrak. Perlakuan ini sering digunakan untuk ekstraksi berbantu gelombang mikro dan ekstraksi flavonoid. Xiao *et al.*, (2008) yang dikutip oleh Setiawan (2015) melakukan perlakuan awal dengan cara dihaluskan lalu diayak.

2.6 Penelitian Terdahulu Mengenai Jamur Tiram Putih

Beberapa penelitian mengenai ekstraksi jamur tiram putih telah dilakukan untuk mengetahui kandungan total flavonoid, total fenol, dan aktivitas antioksidan. Adapun daftar penelitiannya dapat dilihat di **Tabel 2.4**.

**Tabel 2.4** Penelitian Terdahulu Mengenai Ekstraksi Jamur Tiram Putih

Peneliti	Total Flavonoid Content (TPC)	Total Fenol Content (TFC)	Antioxidant Activity (IC <sub>50</sub> )	Metode Ekstraksi	Pelarut	Metode Pengukuran
Jeena <i>et al.</i> , (2014)	1,82 mg catechin equiv alent/g DW	1,32 mg GAE/g DW	3 mg/ml	Maserasi	Metanol	TFC: AlCl <sub>3</sub> Kolorimetri TPC: Folin-Ciocalteu IC <sub>50</sub> : DPPH



Palma <i>et al.</i> (2016)	0,049 mg QE/g DW	2,39 mg GAE/g DW <sup>(1)</sup>	0,02699 mg/ml <sup>(1)</sup> 0,066 mg/ml <sup>(2)</sup>	Maserasi Bertingka t <sup>(1)</sup> Soxhlet <sup>(2)</sup>	Metanol	TFC: AICI <sub>3</sub> Kolorimetri TPC: Folin- Ciocalteu IC50: DPPH
Gaseck <i>a et al.</i> (2016)	2,11 mg rutin equiv alent/ g DW	9,64 mg/g DW	4,42 mg/ml	Sonikasi dan shaker	Metanol	TFC: AICI <sub>3</sub> Kolorimetri TPC: Folin- Ciocalteu IC50: DPPH
Arbaya <i>h</i> (2016)	3,39 mg QE/g DW	40,23 mg TAE/g DW	12 mg/ml	Maserasi dengan pengadu kan	Etanol	TFC: AICI <sub>3</sub> Kolorimetri TPC: Folin- Ciocalteu IC50: DPPH
Kim <i>et</i> <i>al.</i> (2009)	2,16 mg catec hin equiv alent/ g	21,2 mg/g	29 mg/ml	Maserasi	Metanol	TFC: AICI <sub>3</sub> Kolorimetri TPC: Folin- Ciocalteu IC50: DPPH

## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai Juli 2017. Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknik Pengolahan Pangan dan Hasil Pertanian Jurusan Keteknikan Pertanian Laboratorium Teknologi Agrokimia Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Laboratorium Bioindustri Jurusan Teknologi Industri Pertanian, dan Laboratorium Kimia Dasar Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Malang.

### 3.2 Bahan dan Alat Penelitian

#### 3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) segar dari pertanian, akuades, bahan uji aktivitas antioksidan seperti metanol dan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Bahan uji untuk total flavonoid adalah metanol, *quercetin*,  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{AlCl}_3$  dan  $\text{NaOH}$ .

#### 3.2.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.1.

**Tabel.3.1 Daftar peralatan yang digunakan dalam penelitian**

No	Alat	Fungsi
1	Microwave (Merk Samsung)	Sumber gelombang mikro sebagai variasi perlakuan yang digunakan dalam proses ekstraksi
2	Blender (Merk Miyako)	Untuk memperkecil ukuran jamur tiram putih agar didapat luas permukaan yang besar
3	Rak dryer	Untuk mengeringkan jamur tiram
4	Glassware	Tempat ekstraksi, pengukur volume ekstrak, dan wadah ekstrak
5	Rotary Vacuum Evaporator (Merk Heidolph)	Untuk mengurangi kadar air ekstrak jamur tiram putih
6	Spektrofotometer UV-Vis (Merk Genesys 10)	Untuk pengujian aktivitas antioksidan dan total flavonoid
7	Neraca digital	Untuk mengukur massa sampel
8	Sentrifuse	Proses pemisahan filtrat
9	Magnetic stirrer	Membantu proses pelarutan bubuk jamur tiram putih
10	Vortex	Untuk mengocok cairan selama proses pengujian supaya homogen
11	Lemari pendingin	Menyimpan sampel
12	Beker Glass 250 ml (Merk Pyrex)	Sebagai tempat sampel saat ekstraksi
13	Ayakan 60 Mesh	Untuk menyaring bubuk jamur tiram putih
14	Oven	Untuk uji kadar air

### 3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini disusun menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan dua faktor, yaitu rasio pelarut terhadap jamur tiram putih (b/v), dan waktu *microwave* dengan tiga kali pengulangan. Rasio pelarut terhadap jamur tiram putih yang digunakan terdiri atas tiga level, yaitu 1:30, 1:35, dan 1:40 (b/v), sedangkan variasi waktu yang digunakan yaitu terdiri atas 2, 3, dan 4 menit. Berdasarkan kedua faktor diperoleh kombinasi perlakuan seperti pada Tabel 3.4.

**Tabel 3.2 Kombinasi Perlakuan Ekstraksi Jamur Tiram Putih**

Rasio Pelarut (b/v) (X)	Waktu (Y)		
	Y1(2 menit)	Y2(3 menit)	Y3(4 menit)
X1 (1:30)	$X_1Y_1$	$X_1Y_2$	$X_1Y_3$
X2 (1:35)	$X_2Y_1$	$X_2Y_2$	$X_2Y_3$
X3 (1:40)	$X_3Y_1$	$X_3Y_2$	$X_3Y_3$

Keterangan :

$X_1Y_1$  = Rasio pelarut terhadap jamur tiram putih 1:30 (b/v) dengan lama waktu *microwave* 2 menit.

$X_1Y_2$  = Rasio pelarut terhadap jamur tiram putih 1:30 (b/v) dengan lama waktu *microwave* 3 menit.

$X_1Y_3$  = Rasio pelarut terhadap jamur tiram putih 1:30 (b/v) dengan lama waktu *microwave* 4 menit.

$X_2Y_1$  = Rasio pelarut terhadap jamur tiram putih 1:35 (b/v) dengan lama waktu *microwave* 2 menit.

$X_2Y_2$  = Rasio pelarut terhadap jamur tiram putih 1:35 (b/v) dengan lama waktu *microwave* 3 menit.

$X_2Y_3$  = Rasio pelarut terhadap jamur tiram putih 1:35 (b/v) dengan lama waktu *microwave* 4 menit.

$X_3Y_1$  = Rasio pelarut terhadap jamur tiram putih 1:40 (b/v) dengan lama waktu *microwave* 2 menit.

$X_3Y_2$  = Rasio pelarut terhadap jamur tiram putih 1:40 (b/v) dengan lama waktu *microwave* 3 menit.

$X_3Y_3$  = Rasio pelarut terhadap jamur tiram putih 1:40 (b/v) dengan lama waktu *microwave* 4 menit.

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.4.1 Proses Pembuatan Serbuk Jamur Tiram Putih

Jamur tiram dikeringkan menggunakan rak dryer pada suhu 45°C selama 3x24 jam untuk menghasilkan jamur tiram dengan kadar air yang rendah dan memastikannya siap untuk dihancurkan menggunakan blender. Kemudian di ayak menggunakan ayakan 60 mesh.

#### 3.4.2 Ekstraksi Jamur Tiram Putih dengan MAE

Jamur tiram putih dan pelarut (akuades) yang telah diblender dimasukkan dalam erlenmeyer 250 ml merk Pyrex kemudian diletakkan diatas *magnetic stirrer* selama 15 menit untuk membantu penetrasi pelarut ke dalam bahan. Erlenmeyer tersebut kemudian dimasukkan dalam *microwave* untuk dilakukan proses radiasi dengan gelombang mikro pada daya 180 watt dan waktu 2, 3, dan 4 menit. Microwave yang digunakan bermerk Samsung tipe MG23H3185 dan spesifikasi dapat dilihat pada Lampiran 10. Setelah proses ekstraksi

selesai, campuran jamur tiram putih-akuades dikeluarkan dari *microwave*. Suspensi hasil ekstraksi lalu didinginkan pada suhu ruang. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4500 rpm selama 5 menit pada suhu 25°C. Kemudian supernatan yang didapat diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 55°C, kecepatan perputaran botor sampel 65 rpm dan tekanan gauge 105 mbar. Hasil ekstrak kemudian disimpan dalam botol gelap untuk mencegah terjadinya degradasi senyawa dalam ekstrak jamur tiram putih akibat paparan sinar dan diletakan dalam lemari pendingin suhu 4°C sampai siap dianalisis.

### **3.5 Parameter Pengamatan dan Analisis Data**

#### **3.5.1 Pengukuran Total Flavonoid (Modifikasi metode Li *et al*, 2009)**

Kandungan total flavonoid ditentukan dengan metode kolorimetri aluminium klorida. Pertama dilakukan pembuatan larutan standar berupa quersetin. Prosedur pembuatan kurva quercetin (Modifikasi Li, *et al*, 2009)

1. Quercetin dilarutkan dalam metanol sampai mencapai konsentrasi 1500, 1400, 1300, 1200, 1100, dan 1000 ppm.
2. Diambil 2,5 ml pada masing-masing pengenceran dan ditambahkan akuades pada masing-masing tabung hingga volume 3 ml.
3. Ditambahkan 0,3 ml larutan  $\text{NaNO}_2$  20% 2,9 M.

4. Ditunggu 6 menit lalu ditambahkan 0,3 ml larutan  $\text{AlCl}_3$  10% 0,8 M.

5. Ditunggu selama 6 menit kemudian ditambahkan 4 ml larutan  $\text{NaOH}$  1 M.

6. Ditambahkan akuades hingga volume 10 ml dan di vortex.

7. Diinkubasi 30 menit pada suhu ruang dalam kondisi gelap.

8. Dipipet 1 ml ke kuvet untuk diukur absorbansi pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 511 nm.

9. Dibuat kurva standar dengan  $x$ =konsentrasi larutan quercetin dan  $y$ =absorbansi. Lalu dihitung persamaan regresi dan  $R^2$ .

Selanjutnya dilakukan pengukuran total flavonoid pada sampel. Adapun prosedur analisis total flavonoid yaitu:

1. Diukur sampel yang akan diuji dengan volume 2,5 ml, kemudian ditimbang massanya.

2. Ditambahkan akuades pada masing-masing tabung hingga volume 3 ml.

3. Ditambahkan 0,3 ml larutan  $\text{NaNO}_2$  20% 2,9 M

4. Ditunggu hingga 6 menit, lalu ditambahkan 0,3 ml larutan  $\text{AlCl}_3$  10% 0,8 M

5. Ditunggu 6 menit lalu ditambahkan larutan 4 ml  $\text{NaOH}$  1M.

6. Ditambahkan akuades hingga volume 10 ml dan di vortex.

7. Diinkubasi 30 menit pada suhu ruang dalam kondisi gelap.

8. Di pipet 1 ml ke kuvet untuk diukur absorbansi pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 511 nm.



9. Dikalibrasi dengan kurva standar untuk diperoleh total flavonoid. Pada kurva standar diperoleh persamaan linear.

$y = ax + b$  dimana,

$y$  : hasil absorbansi sampel

$x$  : kesetaraan quercetin (mg/l)

Dari persamaan diatas akan diperoleh nilai kesetaraan quercetin ( $x$ ) yang akan digunakan untuk menghitung kandungan total flavonoid dengan rumus,

$$\text{Total flavonoid} = \frac{\text{Kesetaraan quercetin} \left( \frac{\text{mg}}{\text{l}} \right) \times \text{Volume sampel} (\text{l}) \times \text{Faktor pengenceran}}{\text{Massa sampel} (\text{g})}$$

Kandungan total flavonoid diinterpretasikan sebagai miligram ekuivalen quercetin per gram berat kering (mg QE/g DW).

Diagram alir proses pengukuran total flavonoid dapat dilihat di Lampiran 1.2.

### 3.5.2 Uji Aktivitas Antioksidan (Modifikasi Pinela *et al.*,

2016)

Ekstrak jamur tiram putih ditimbang sebanyak 0,5 gram dilarutkan pada akuades sampai volume mencapai 50 ml.

Kemudian larutan diencerkan hingga mencapai konsentrasi 7.500, 5.000, dan 2.500 ppm. Kemudian 1 ml sampel direaksikan dengan 7 ml metanol dan direaksikan dengan 2 ml DPPH 0,2 nM lalu divortex hingga homogen. Larutan blangko dibuat dengan mereaksikan 7 ml methanol dengan 2 ml DPPH

0,2 nM dan divortex hingga homogen. Sampel tersebut didiamkan selama 30 menit pada ruangan yang gelap.

Kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang 521 nm.

Diagram alir proses uji aktivitas antioksidan dapat dilihat di **Lampiran 1.3**.

Aktivitas antioksidan masing-masing sampel pada tiap pengenceran dinyatakan dengan presentase penghambatan radikal bebas yang dihitung dengan rumus:

$$\text{Antioksidan} = \frac{(\text{Absorbansi Blangko} - \text{Absorbansi Sampel})}{\text{Absorbansi Blangko}} \times 100\%$$

% Antioksidan : Kemampuan antioksidan untuk meredam radikal bebas (%)

Absorbansi blangko : Nilai absorbansi larutan blangko pada spektrofotometer

Absorbansi Sampel : Nilai absorbansi larutan sampel pada spektrofotometer

Kemudian, dibuat kurva hubungan antara konsentrasi sampel (x) dan %aktivitas antioksidan (y). Lalu dihitung persamaan regresi dan  $R^2$ . Akan diperoleh persamaan  $y = ax + b$  dimana

y: 50 (Ketetapan)

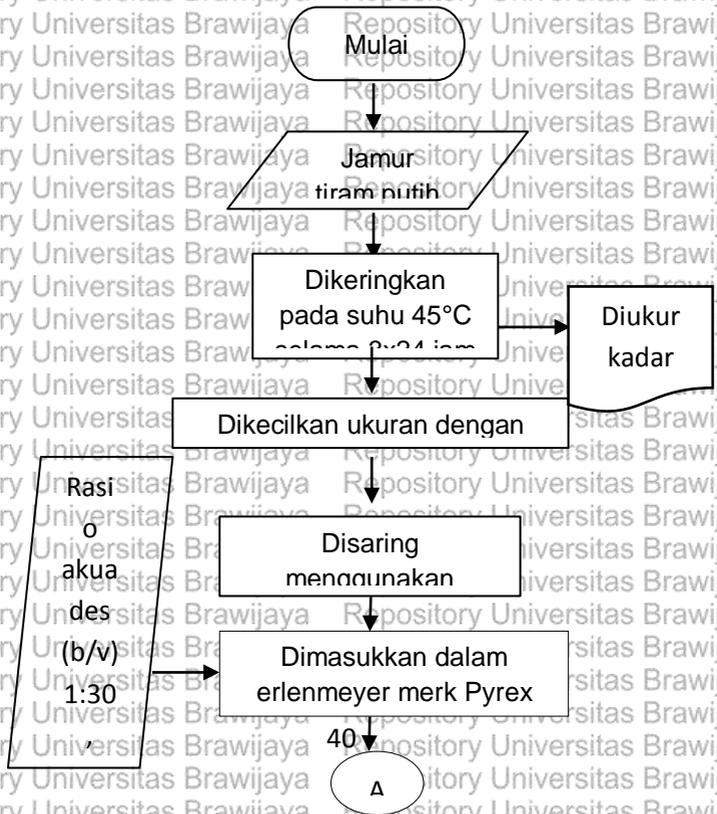
x:  $IC_{50}$  (mg/ml)

Dari persamaan tersebut dapat dicari nilai  $IC_{50}$  (x) yang menunjukkan kemampuan ekstrak untuk menangkal 50% radikal bebas.

### 3.6 Analisis Data

Analisis data hasil pengamatan dilakukan dengan menggunakan analisis sidik seragam atau ANNOVA (*Analysis of Variance*) metode Rancangan Acak Kelompok. Apabila hasil uji menunjukkan adanya beda nyata dilakukan uji lanjut dengan DMRT (Duncan Multiple Range Test) 5% atau dilakukan dengan uji lanjut BNT dengan selang kepercayaan 5% jika tidak terdapat interaksi namun di salah satu faktor perlakuan atau keduanya terdapat beda nyata. Pemilihan perlakuan terbaik menggunakan indeks efektivitas metode Zeleny.

### 3.7 Diagram Alir Penelitian



A

Diaduk menggunakan *Magnetic stirrer* selama 15 menit

Dimicrowave dengan power 180 watt dengan variasi waktu 2,3,4 menit

Disentrifuse dengan kecepatan 4500 rpm selama 5 menit pada suhu 25°C

Dimasukkan dengan *rotary vacuum evaporator* 55°C, 65 rpm, dan tekanan

Ekstrak jamur tiram putih

Selesai

Uji Total Flavonoid (mg QE/g DW)  
Uji Aktivitas Antioksidan (mM/ml)



## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Karakteristik Bubuk Jamur Tiram Putih

Jamur tiram putih yang digunakan diperoleh dari petani jamur di Kota Malang dengan umur sekitar 7 minggu. Jamur tiram putih segar ini dipotong-potong menjadi kecil kemudian dikeringkan menggunakan rak dryer selama 72 jam dengan suhu 45°C.

Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air jamur tiram putih sehingga dapat disimpan lebih lama dan mencegah terjadinya metabolisme yang dapat menyebabkan kerusakan senyawa antioksidan. Setelah itu jamur tiram putih diblender untuk diperoleh bubuk jamur tiram putih. Bubuk jamur tiram putih diayak sehingga diperoleh ukuran bubuk 60 mesh. Pengecilan ukuran ini bertujuan untuk meningkatkan luas permukaan sehingga dapat memperbesar kontak antar analit dengan pelarut oleh karenanya proses ekstraksi dapat berjalan maksimal.

Kemudian bubuk tersebut diukur kadar airnya. Kadar air bubuk jamur tiram putih hasil perhitungan yaitu 13,33%. Sedangkan Kadar air jamur tiram segar yang digunakan dalam penelitian yaitu 95%. Bubuk jamur tiram putih ini mengandung senyawa antioksidan berupa flavonoid. Guna mendapatkan senyawa flavonoid dilakukan ekstraksi.



Gambar 4.1 Bubuk Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*)

#### 4.2 Ekstraksi Jamur Tiram Putih Menggunakan MAE

Proses ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan metode *Microwaven assisted Extraction* (MAE).

Metode ini memanfaatkan gelombang mikro untuk membantu memecahkan sel pada tanaman target sehingga memudahkan

pelarut untuk melarutkan senyawa bioaktif. MAE memiliki kelebihan dibanding dengan ekstraksi konvensional yaitu lebih

cepat dan penggunaan pelarut yang relatif lebih sedikit (Bener *et al.*, 2015). MAE yang digunakan merupakan *microwave* dengan

penggunaan tegangan sebesar 180 watt. Alat ini tidak dilengkapi dengan pengatur suhu sehingga setelah melakukan

ekstraksi dilakukan pengukuran suhu dengan termometer.



Pada saat ekstraksi digunakan *beaker glass* dengan merk *Pyrex* 500 ml. Penggunaan *beaker glass* ini akan mempengaruhi besarnya gelombang mikro yang diterima oleh bahan. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi merupakan akuades karena memiliki konstanta dielektrik yang tinggi dibanding dengan pelarut lain seperti etanol, metanol, dan aseton. Konstanta dielektrik akuades yaitu 78,3 (Frida, 2014).

Pada metode ini dilakukan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* untuk membantu pelarutan bubuk jamur tiram putih terhadap akuades. Pengadukan dilakukan selama 15 menit. Selama proses pengadukan dengan *magnetic stirrer* suhu dijaga tetap dalam suhu ruang supaya tidak terjadi degradasi senyawa antioksidan. Kemudian sampel dimasukkan dalam *microwave* dengan memvariasikan 2 variabel yaitu waktu dan rasio pelarut. Waktu yang digunakan yaitu 2, 3, dan 4 menit sedangkan rasio pelarut yang digunakan yaitu 1:30, 1:35, dan 1:40 (b/v). Pemilihan waktu tersebut didasarkan pada penelitian pendahuluan, dimana jika dinaikkan waktu menjadi 5 menit maka sampel akan mencapai suhu lebih dari 70°C dan menyebabkan kerusakan senyawa antioksidan. Penentuan rasio didasarkan pada penelitian pendahuluan dimana rasio pelarut yang dapat digunakan untuk merendam bubuk jamur tiram secara keseluruhan sebanyak 1:20 (b/v). Sedangkan menurut Sanjaya (2012), titik optimum pada ekstraksi menggunakan gelombang mikro yaitu 1:35 (b/v). Setelah proses ekstraksi terukur suhu 42-

45°C pada waktu ekstraksi 2 menit dalam rasio pelarut 1:30, 1:35, dan 1:40 (b/v). Pada waktu ekstraksi 3 menit dan rasio pelarut 1:30, 1:35, dan 1:40 (b/v) terukur suhu 50-52°C. Sedangkan, pada waktu ekstraksi 4 menit dan rasio pelarut 1:30, 1:35, dan 1:40 (b/v) terukur suhu 52-60°C. Berdasarkan hasil tersebut dapat dilihat bahwa penambahan rasio pelarut tidak memberikan pengaruh yang signifikan pada suhu ekstraksi. Namun semakin bertambahnya waktu ekstraksi menyebabkan kenaikan suhu yang relatif besar yaitu 5°C. Kenaikan suhu ini merupakan akibat dari kontak antara larutan dengan gelombang mikro selama proses ekstraksi.

Setelah proses ekstraksi, simplisa dipisahkan dari padatan dengan menggunakan *sentrifuse* berkecepatan 4500 rpm selama 5 menit dan suhu 25°C. Filtrat yang diperoleh mengandung akuades dan senyawa bioaktif serta berwarna kuning pekat.

Setelah pemisahan dilakukan, selanjutnya akuades diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 55°C selama 30 menit. Suhu tersebut dipilih karena degradasi senyawa antioksidan terjadi pada suhu mulai 70°C (Krishnaiah, 2015).

Evaporasi ini dilakukan untuk mendapatkan ekstrak yang lebih pekat dan murni. Penggunaan tekanan vakum bertujuan untuk menurunkan titik didih akuades sehingga akuades lebih cepat teruap dan analit yang berupa senyawa flavonoid yang bersifat termolabil tidak rusak akibat suhu yang terlalu tinggi.

Selanjutnya ekstrak yang telah dievaporasi diukur kandungan

total flavonoid dengan metode kolorimetri aluminium klorida dan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

### 4.3 Kadar Flavonoid Ekstrak Jamur Tiram Putih

Dalam penelitian ini dilakukan pengukuran kadar total flavonoid. Tujuannya adalah untuk mengetahui jumlah beberapa senyawa flavonoid yang terdapat dalam jamur tiram putih.

Flavonoid merupakan salah satu senyawa polifenol yang banyak

ditemukan di tanaman dan merupakan antioksidan (Hanifah

dkk.,2015). Kadar flavonoid diukur secara kuantitatif dengan

metode aluminium klorida dan disajikan dalam satuan mg QE

(Quercetin Equivalent)/g DW. Metode aluminium klorida

(kolorimetri  $AlCl_3$ ) adalah metode perhitungan total flavonoid

dengan menggunakan quercetin sebagai larutan standar. Prinsip

penetapan flavonoid dengan metode kolorimetri  $AlCl_3$  adalah

pembentukan kompleks antara  $AlCl_3$  dengan gugus keto pada

atom C-4 dan juga dengan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-

4 yang bertetangga dengan flavon dan flavonol dalam ekstrak.

Sehingga metode ini dapat digunakan untuk menentukan jumlah

flavonoid golongan flavon dan flavonol (Desmiaty dkk., 2009).

Pada penelitian ini digunakan quercetin sebagai pembanding,

karena quercetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang

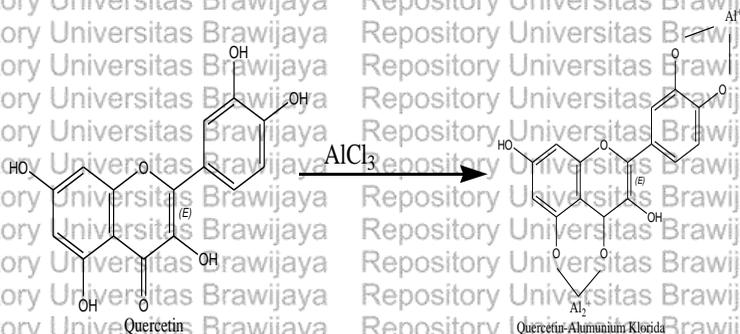
mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksi

pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan

flavonol. Selain itu berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh

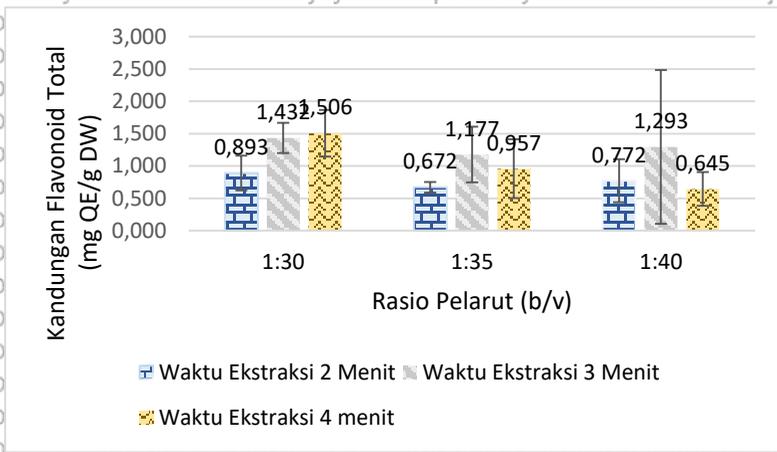
Mir et al.,(2014), menunjukkan bahwa quercetin memiliki reaktivitas yang tinggi dibanding dengan flavonoid lain yaitu quercetin (3,1X) > rutin (1,5X) ≥ daflon (1,5X) > diosmin (1X) > morin (0,4X). Reaksi antara quercetin dengan  $AlCl_3$  dapat dilihat di

**Gambar 4.2.**



**Gambar 4.2** Pembentukan senyawa Kompleks Quercetin-Aluminium Klorida

Data lengkap hasil pengukuran kadar flavonoid dapat dilihat di **Lampiran 3**. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh rata-rata kandungan flavonoid yaitu 0,645-1,506 mg QE/g DW. Grafik rerata total flavonoid ekstrak jamur tiram putih disajikan pada **Gambar 4.3**.



**Gambar 4.3** Hubungan Rasio Pelarut dan Waktu ekstraksi dengan Total Flavonoid

**Gambar 4.3** menunjukkan bahwa pada rasio pelarut 1:30 (b/v) menunjukkan tren yang naik. Semakin lama waktu ekstraksi maka kandungan flavonoid semakin meningkat pada rasio 1:30 (b/v). Sedangkan pada rasio pelarut yang lain 1:35 dan 1:40 (b/v) terjadi kenaikan selanjutnya penurunan akibat semakin bertambahnya waktu. Kandungan flavonoid tertinggi pada rasio 1:30 (b/v) yaitu pada waktu 4 menit sebesar 1,506 mg QE/g DW. Kandungan tertinggi rasio 1:35 (b/v) terjadi pada waktu ekstraksi 3 menit yaitu 1,177 mg QE/g DW dan pada rasio pelarut 1:35 (b/v) adalah 1,293 mg QE/g DW pada rasio pelarut 1:40 (b/v). Rerata kandungan flavonoid pada rasio konsentrasi 1:30 (b/v) selama ekstraksi 2, 3, dan 4 menit adalah 0,893-1,506 mg QE/g DW. Pada rasio konsentrasi 1:35 (b/v) selama ekstraksi 2, 3, dan 4 menit yaitu 0,672-0,957 mg QE/g DW. Sedangkan pada rasio

konsentrasi 1:40 (b/v) rerata kandungan flavonoidnya adalah 0,772-0,645 mg QE/g DW.

Pada ekstraksi dengan rasio pelarut 1:30 (b/v) memiliki tren yang berbeda dengan rasio pelarut 1:35 dan 1:40 (b/v). Hal ini dikarenakan pada rasio 1:30 (b/v) flavonoid terekstrak secara optimal pada menit ke-4. Pada rasio ini penambahan waktu ekstraksi mungkin dapat meningkatkan kandungan flavonoid.

Pada rasio pelarut 1:35 dan 1:40 (b/v) terjadi tren yang berbeda dengan rasio 1:30 (b/v). Hal ini dapat disebabkan karena beberapa faktor. Faktor yang pertama adalah metode yang digunakan dalam pengukuran total flavonoid. Metode yang digunakan untuk pengukuran flavonoid yaitu aluminium klorida, metode ini bertujuan untuk mendapatkan hasil total dari flavonoid, isoflavan, dan neoflavanoid, atau keseluruhannya bisa disebut dengan bioflavan (Arbayah, 2013). Sedangkan menurut Mohy *et al.*, (2009) dalam Arbayah (2013), respon flavonoid rendah terhadap metode kolorimetri aluminium klorida tapi bereaksi positif terhadap keberadaan 2,4-dinitrophenylhydrazine. Sedangkan, flavonols dan isoflavan dengan C2-C3 rangkap dua tidak dapat bereaksi dengan 2,4-dinitrophenylhydrazine tapi dapat bereaksi sangat bagus dengan aluminium klorida. Oleh karena itu tidak semua flavonoid dalam jamur tiram putih terukur menggunakan metode  $AlCl_3$  kolorimetri. Guna mendapatkan hasil yang optimal dapat dilakukan metode komplementer yaitu menggabungkan antara metode  $AlCl_3$  dengan 2,4-





evaporasi yang tidak sesuai prosedur, yaitu pemanasan berlebih karena alat yang digunakan untuk evaporasi tidak stabil sehingga seringkali harus di cek suhunya secara manual. Selain itu, *microwave* yang digunakan tidak memiliki kontrol suhu otomatis sehingga suhu yang digunakan tidak seragam meskipun pada waktu yang sama. Sedangkan standar deviasi terendah terjadi pada rasio pelarut 1:35 (b/v) dan waktu ekstraksi 2 menit. Hal ini menunjukkan bahwa pengulangan yang dilakukan memiliki nilai yang relatif seragam. Dari **Gambar 4.3** juga dapat disimpulkan bahwa perlakuan variasi waktu dan rasio pelarut tidak berpengaruh signifikan terhadap total flavonoid.

Berdasarkan analisa sidik ragam pada **Lampiran 4**, dapat dilihat bahwa nilai faktor perlakuan rasio pelarut (X), perlakuan waktu (Y), dan interaksi antar keduanya (XY) tidak berpengaruh nyata terhadap kandungan flavonoid ekstrak. Tidak dapat dilakukan uji lanjut BNT dikarenakan seluruh faktor perlakuan tidak berbeda nyata. Dari analisa annova tersebut dapat disimpulkan bahwa perlakuan yang diberikan tidak memberikan perubahan pada hasil. Hal ini disebabkan karena jarak antar rasio terlalu sedikit yaitu 1:30, 1:35, dan 1:40 (b/v). Artinya menggunakan rasio pelarut 1:30 (b/v) sudah dapat memperoleh hasil ekstrak yang optimal.

#### 4.4 Aktivitas Antioksidan Jamur Tiram Putih

Jamur tiram putih memiliki potensi sebagai senyawa antioksidan yang efektif dapat menetralkan radikal bebas.

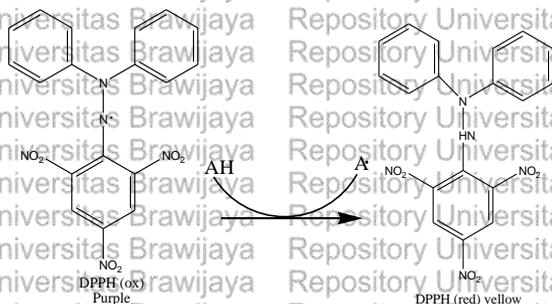
Metode pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) yaitu memanfaatkan senyawa radikal bebas DPPH dalam pelarut polar seperti metanol untuk menguji suatu senyawa antioksidan dalam meredam radikal bebas (Sadeli, 2016). Hasil uji diukur

menggunakan spektrofotometer uv-vis untuk mengetahui panjang gelombang yang diserap. Semakin besar penurunan absorbansi DPPH maka semakin kuat pula aktivitas antioksidannya (Sadeli, 2016). Kemudian dilakukan perhitungan

% Antioksidan untuk bisa mendapatkan nilai  $IC_{50}$ . % Antioksidan menunjukkan kemampuan senyawa dalam meredam radikal bebas. Semakin tinggi nilai presentase maka makin baik senyawa tersebut bekerja. Menurut Sadeli (2016),  $IC_{50}$  (Inhibitory Concentration 50) merupakan konsentrasi senyawa antioksidan yang dibutuhkan untuk mengurangi radikal DPPH sebesar 50%.

Nilai  $IC_{50}$  diperoleh dari regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak atau fraksi uji sebagai sumbu x dan % penangkapan radikal sebagai sumbu y. Makin kecil nilai  $IC_{50}$  maka semakin aktif ekstrak atau fraksi uji tersebut sebagai senyawa penangkap radikal DPPH atau senyawa antioksidan.

Sampel ekstrak jamur tiram putih pada konsentrasi 10.000, 7500, 5000, dan 2.500 ppm dan metanol ditambahkan dengan reagen DPPH 0,2 nM. Perubahan warna dari putih kekuningan menjadi ungu mengindikasikan bahwa ekstrak jamur tiram putih memiliki aktivitas antioksidan. Tingkat perubahan warna ungu DPPH menunjukkan aktivitas penghambatan radikal bebas oleh sampel (Abdille *et al.*, 2004). Adapun reaksi penangkapan radikal bebas (DPPH) dengan senyawa antioksidan dapat dilihat pada **Gambar 4.4.**



**Gambar 4.4** Reaksi antara DPPH dengan Senyawa Antioksidan

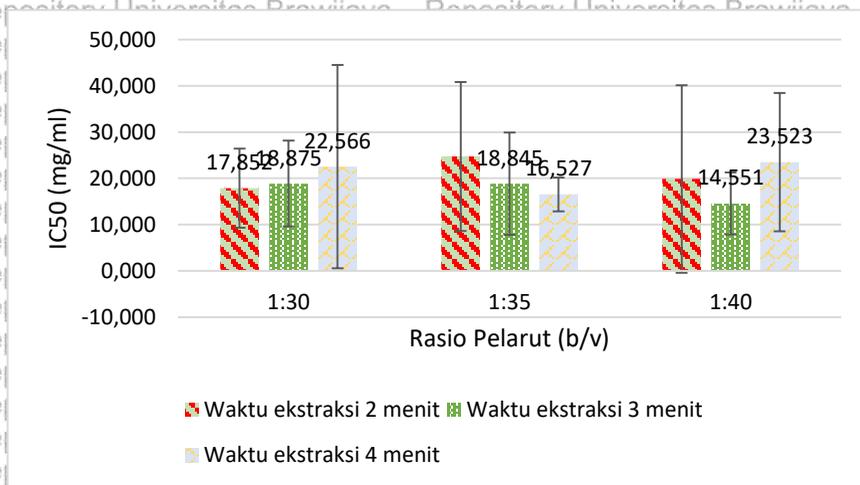
Setelah penambahan DPPH dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometri uv-vis untuk mengetahui nilai serapan gelombangnya. Pengukuran ini menggunakan panjang gelombang 521 nm yang berdasarkan penelitian pendahuluan merupakan panjang gelombang maksimal. Data lengkap hasil pengukuran aktivitas antioksidan dapat dilihat di **Lampiran 5.**

Berdasarkan Gambar 4.5, nilai  $IC_{50}$  ekstrak jamur tiram putih berkisar antara 14,551-24,735 mg/g. Rerata  $IC_{50}$  ekstrak jamur tiram putih tertinggi yaitu pada rasio pelarut 1:35 (b/v) waktu 2 menit sebesar 24,735 mg/g. Rerata terendah  $IC_{50}$  ekstrak jamur tiram putih yaitu pada rasio 1:40 (b/v) menit ke-3 sebesar 14,551 mg/g. Pada setiap rasio terlihat tren yang berbeda. Pada rasio 1:30 (b/v) terlihat ada kenaikan seiring dengan bertambahnya waktu. Pada rasio 1:35 (b/v) terjadi penurunan akibat penambahan waktu. Sedangkan pada rasio 1:40 (b/v) terjadi penurunan selanjutnya kenaikan. Hal ini dapat disebabkan karena pelarut yang digunakan tidak efisien dalam mengekstrak sampel. Oleh karenanya, gelombang mikro yang seharusnya dapat mengekstrak seluruh bagian dari bubuk jamur tiram putih terhambat oleh adanya volume pelarut yang terlalu banyak. Menurut Agnes et al., (2013) dalam Setiawan (2015), volume terlarut yang terlalu banyak dapat menghasilkan rendemen yang lebih rendah dalam ekstraksi menggunakan gelombang mikro. Hal ini disebabkan adanya pembengkakan berlebih pada material yang diekstraksi dan menimbulkan *thermal stress*. Proses ekstraksi yang dilakukan pada menit ke-4 di semua rasio pelarut terukur suhu dibawah  $65^{\circ}C$ . Jadi dalam hal ini suhu ekstraksi tidak menyebabkan terjadinya kerusakan pada senyawa antioksidan.

Aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan *Inhibitory Concentration* 50% ( $IC_{50}$ ) yang berarti konsentrasi sampel yang



dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50% (Sari, 2012). Semakin tinggi nilai  $IC_{50}$  menunjukkan bahwa aktivitasnya sebagai senyawa antioksidan rendah, begitu juga sebaliknya jika nilai  $IC_{50}$  rendah maka aktivitasnya sebagai antioksidan tinggi. Sifat antioksidan pada nilai  $IC_{50}$  berdasarkan data yang diperoleh bersifat sangat lemah karena lebih dari 0,2 mg/ml. Grafik rerata  $IC_{50}$  ekstrak jamur tiram putih disajikan dalam **Gambar 4.5**

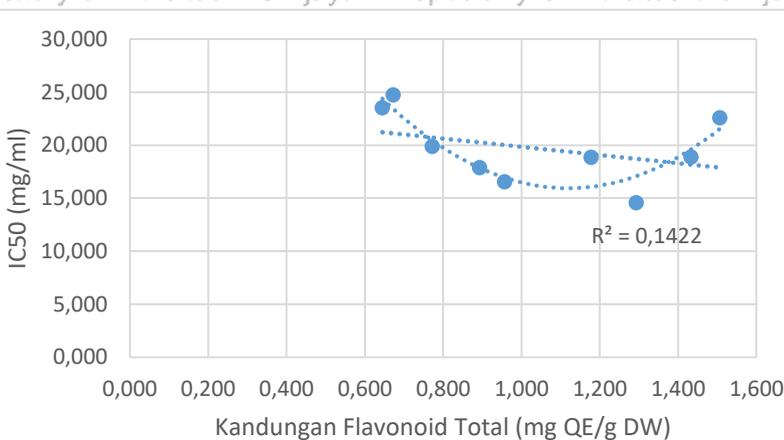


**Gambar 4.5** Grafik Pengaruh Jenis Pelarut dan Waktu Ekstraksi Terhadap Rerata  $IC_{50}$  Ekstrak Jamur Tiram Putih

Berdasarkan **Gambar 4.5** dapat dilihat nilai standar deviasi tertinggi terjadi pada perlakuan rasio pelarut 1:30 (b/v) dan waktu ekstraksi 4 menit. Hal ini terjadi karena pada pengulangan kedua, suhu yang digunakan untuk proses evaporasi tidak sesuai dengan prosedur yaitu 55°C. Perubahan



Dari hasil pengujian aktivitas antioksidan dan total flavonoid dibuat sebuah grafik hubungan antar keduanya yang disajikan dalam Gambar 4.6.



**Gambar 4.6** Grafik Hubungan Antara Aktivitas Antioksidan ( $IC_{50}$ ) dengan Kandungan Flavonoid Total

Gambar 4.5 menunjukkan semakin rendahnya nilai total flavonoid maka  $IC_{50}$  yang diperoleh juga rendah. Pada grafik dapat dilihat pula bentuk kurva eksponensial melengkung keatas. Didapatkan nilai minimum dari pengujian pada nilai total flavonoid 1,3 mg QE/g Dw dan  $IC_{50}$  15 mg/ml. Kemudian setelah terjadi penurunan terjadi kenaikan lagi sampai pada 22,56 mg/ml untuk  $IC_{50}$  dan 1,5 mg QE/g DW untuk total flavonoid. Hal ini dapat





merupakan hasil perlakuan terbaik dari penelitian yang telah dilakukan. Hasil perhitungan alternatif rerata terbaik dapat dilihat pada **Lampiran 7**. Perlakuan terbaik berdasarkan parameter tersebut adalah pada perakuan ekstraksi menggunakan rasio pelarut 1:40 (b/v) dan waktu ekstraksi 4 menit (X3Y2). Nilai semua parameter uji dari perlakuan terbaik dapat dilihat pada

**Tabel 4.1.**

**Tabel 4.1** Perlakuan Terbaik

Parameter	Jarak Kerapatan	Satuan	Perlakuan Terbaik (X3Y2)
Total Flavonoid	0,0757	mg QE/g BK	1,293
IC <sub>50</sub>		mg/ml	14,551

Berdasarkan pada **Tabel 4.1** nilai total flavonoid terbaik yaitu 1,293 mg Ekuivalen Quercetin/g BK dan nilai IC<sub>50</sub> terbaik yaitu 14,551mg/ml. Nilai IC<sub>50</sub> tersebut menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak sebanyak 14,551 mg/ml dapat menghambat 50% radikal bebas DPPH. Kemudian hasil ini dibandingkan dengan bubuk jamur tiram putih yang diekstrak menggunakan metode konvensional (maserasi) dan pemanasan (menggunakan waterbath). Setelah diketahui perlakuan terbaik dalam penelitian, dilakukan perbandingan dengan control menggunakan maserasi tanpa pemanasan dan dengan pemanasan.

#### 4.6.1 Perbandingan Perlakuan Terbaik dengan Kontrol Tanpa Pemanasan

Perlakuan terbaik yang diperoleh pada rasio pelarut 1:40 (b/v) dan waktu ekstraksi 4 menit, kemudian untuk dibandingkan dilakukan ekstraksi metode maserasi yang dilakukan pada suhu ruang. Perbandingan hasil perlakuan terbaik dengan metode maserasi dan pemanasan dapat dilihat pada **Tabel 4.2**

**Tabel 4.2** Perbandingan Perlakuan Terbaik dengan Kontrol Metode Maserasi

Parameter	Satuan	Perlakuan Terbaik X3Y2	Kontrol Metode Maserasi	Notasi
Total Flavonoid	mg QE/g BK	1,293	0,655	**
IC <sub>50</sub>	mg/ml	14,551	39,894	**

**Ket:** \*\* Berbeda nyata  $\alpha=0,05$

Pada **Tabel 4.2** dapat diketahui bahwa nilai parameter total flavonoid dan IC<sub>50</sub> lebih baik dibandingkan dengan metode maserasi. Dimana nilai total flavonoid perlakuan terbaik yaitu 1,293 mg QE/g Bk sedangkan nilai total flavonoid metode maserasi yaitu 0,655 mg QE/g. Nilai IC<sub>50</sub> perlakuan terbaik yaitu 14,551 mg/ml dan nilai IC<sub>50</sub> metode maserasi yaitu 39,894 mg/ml.

Hal ini disebabkan karena pada ekstraksi dengan metode MAE prosesnya dibantu oleh gelombang mikro untuk memecahkan sel bahan sehingga senyawa antioksidan lebih mudah terekstrak.

Metode MAE juga hanya membutuhkan relatif sedikit pelarut untuk dapat memperoleh hasil ekstraksi yang optimal dibandingkan dengan metode maserasi. Metode maserasi cenderung membutuhkan volume pelarut yang tinggi. Jika dilihat berdasarkan uji t pada **Lampiran 8**, dapat diketahui bahwa total flavonoid hasil ekstraksi dengan MAE dan maserasi tanpa pemanasan menunjukkan berbeda nyata. Begitu juga dengan nilai  $IC_{50}$  yang menunjukkan berbeda nyata. Dari hal tersebut dapat disimpulkan bahwa penggunaan gelombang mikro sebagai *driving force* dalam proses ekstraksi memberikan pengaruh nyata dibandingkan dengan perendaman biasa.

#### **4.6.2 Perbandingan Perlakuan Terbaik dengan Kontrol Pemanasan Waterbath**

Metode ekstraksi konvensional berbeda dengan metode MAE. Proses ekstraksi menggunakan gelombang mikro menimbulkan panas yang dapat membantu proses ekstraksi supaya lebih efektif dan efisien. Maka, dilakukan pula perbandingan dengan kontrol menggunakan pemanasan waterbath. Suhu yang digunakan dalam pemanasan waterbath yaitu  $49,7^{\circ}C$ . Pemilihan suhu ini berdasarkan pada nilai rata-rata suhu yang terukur pada 3 pengulangan. Perbandingan antara perlakuan terbaik dengan kontrol menggunakan pemanasan dapat dilihat pada **Tabel 4.3**

**Tabel 4.3** Perbandingan Perlakuan Terbaik dengan Kontrol Metode Pemanasan Waterbath

Parameter	Satuan	Perlakuan Terbaik X3Y2	Kontrol Metode Waterbath	Notasi
NTotal Flavonoid	mg QE/g BK	1,293	0,653	**
IC <sub>50</sub>	mg/ml	14,551	26,333	**

**Ket:** \*\* Berbeda nyata  $\alpha=0,05$

Dari **Tabel 4.3** dapat dilihat bahwa total flavonoid pada metode pemanasan menggunakan waterbath yaitu 0,653 mg QE/g BK dan IC<sub>50</sub> adalah 26,333 mg/ml. Kedua nilai ini lebih rendah jika dibandingkan dengan nilai perlakuan terbaik karena meskipun keduanya menggunakan panas pada MAE dibantu dengan gelombang mikro dan dapat tersebar merata untuk mengekstrak sampel. Sedangkan pada metode pemanasan dengan *waterbath* panas yang dihasilkan tidak bisa secara optimal tersebar merata pada sampel sehingga hasil ekstraksi tidak maksimal. Berdasarkan uji t pada **Lampiran 9** menunjukkan bahwa terjadi beda nyata antara perlakuan terbaik dengan perlakuan menggunakan metode pemanasan dengan waterbath pada aktivitas antioksidan dan total flavonoid.

#### 4.6.3 Perbandingan Perlakuan Terbaik dengan Ekstraksi Lain

Metode ekstraksi Mae merupakan metode yang relatif baik untuk proses esktraksi senyawa antioksidan dari jamur tiram



putih. Dilakukan perbandingan dengan metode lain untuk mengetahui perbedaannya. Perbandingan ini dilakukan dengan membandingkan pada penelitian Gasecka *et al.*, (2016) dan Palma *et al.*, (2016).

Gasecka *et al.*, (2016) melakukan ekstraksi senyawa antioksidan jamur tiram putih yang telah dikeringkan kemudian dibuat menjadi bubuk. Sebanyak 10 gram bubuk jamur tiram putih dicampurkan dengan 100 ml metanol 80%. Sampel tersebut disonikasi kemudia di kocok menggunakan *shaken*. Ekstrak yang diperoleh kemudian di saring menggunakan kertas Whatman No. 4. Ekstraksi tersebut dilakukan sebanyak dua kali. Kemudian hasil supernatan keduanya dicampur dan dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C sampai kering. Sampel disimpan pada suhu -12°C. Untuk keperluan analisis selanjutnya, ekstrak dilarutkan lagi pada metanol 80%. Sedangkan pada penelitian Palma (2016), jamur tiram putih dibagi menjadi beberapa bagian yaitu micelium, primordia, dan tubuh buah. Kesemuanya dikeringkan pada oven suhu 58°C selama 24 jam. Kemudian 0,5 g sampel dilarutkan pada 10 ml metanol dan diekstrak menggunakan metode soxhlet. Ekstrak yang diperoleh dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Dari dua literatur pembeding ini peneliti sama-sama melakukan pengujian total flavonoid dengan metode kalorimetrik AIC<sub>3</sub> dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH tetapi keduanya dengan modifikasi. Hasil pengujian total flavonoid dan

aktivitas antioksidan dari dua literatur kemudian dibandingkan dengan perlakuan terbaik pada penelitian ini seperti terlihat pada

#### Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Perbandingan Perlakuan Terbaik dengan Penelitian Lain

Metode	Total Flavonoid (mg QE/g ekstrak)	Aktivitas Antioksidan (mg/ml ekstrak)
(1) Sonikasi	2,11	4,42
(2) Soxhlet	0,055	0,148
(3) Perlakuan Terbaik	1,293	14,551

Ket: (1) Gasecka et al.,2016 (2) Palma *et al.*,2016 (3) Penelitian ini

Dari Tabel 4.4 terlihat bahwa kandungan total flavonoid dan nilai IC<sub>50</sub> perlakuan terbaik dengan penelitian lain memiliki nilai yang lebih baik jika dibandingkan dengan metode soxhlet dan lebih buruk jika dibandingkan dengan metode sonikasi. Beberapa faktor yang mungkin menjadi penyebab hal tersebut adalah:

1. Perbedaan jenis pelarut yang digunakan ketika ekstraksi. Setiap pelarut memiliki kemampuan yang berbeda dalam melarutkan analit.
2. Perbedaan jamur tiram putih yang digunakan dari segi umur, lokasi tumbuh, cara budidaya, dan proses pasca panen. Beberapa hal ini mempengaruhi kandungan flavonoid yang ada dalam jamur tiram putih.
3. Perbedaan perlakuan awal bahan seperti proses pengeringan, pengcilan ukuran, dan pengayakan (perbedaan ukuran ayakan) dapat menyebabkan perbedaan hasil senyawa

flavonoid yang diperoleh. Hal ini berhubungan dengan luas permukaan bahan. Semakin besar luas permukaannya maka semakin maksimal proses ekstraksi yang dapat dilakukan.

4. Perbedaan kemurnian ekstrak. Ekstrak yang tidak murni berdampak pada terjadinya gangguan pada saat proses pengujian kandungan total flavonoid dan aktivitas antioksidan.

5. Perbedaan proses ekstraksi. Faktor ini sangat berpengaruh pada senyawa flavonoid yang diperoleh. Pemilihan proses ekstraksi yang tepat dapat memberikan jumlah senyawa flavonoid yang maksimal.

6. Perbedaan modifikasi pada pengujian. Meskipun sama-sama menggunakan metode Alumunium Klorida dan metode DPPH tetapi secara pelaksanaan teknis pengujian yang dilakukan berbeda.

## BAB V Kesimpulan dan Saran

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan pada bab sebelumnya, maka simpulan yang dapat ditarik dari hasil penelitian mengenai pengaruh rasio pelarut dan waktu ekstraksi jamur tiram putih adalah:

1. Variasi perlakuan rasio pelarut 1:30, 1:35, dan 1:40 (b/v) serta variasi waktu ekstraksi 2, 3, dan 4 menit tidak memberikan pengaruh nyata terhadap hasil uji total flavonoid, serta tidak terjadi interaksi antar keduanya.
2. Variasi perlakuan rasio pelarut 1:30, 1:35, dan 1:40 (b/v) serta variasi waktu ekstraksi 2, 3, dan 4 menit tidak memberikan pengaruh nyata terhadap hasil  $IC_{50}$ , serta tidak terjadi interaksi antar keduanya.
3. Hasil uji perlakuan terbaik dengan metode Zeleny diperoleh kombinasi perlakuan rasio pelarut 1:40 (b/v) dan waktu ekstraksi 4 menit (X3Y2) merupakan perlakuan terbaik yang diuji menggunakan parameter kimia. Karakteristik perlakuan terbaik yaitu memiliki kandungan total flavonoid sebesar 1,293mg QE/g dan  $IC_{50}$  sebesar 14,551 mg/ml. Nilai  $IC_{50}$  ini menunjukkan bahwa penambahan 14,551 mg/ml ekstrak jamur tiram dapat mereduksi 50% radikal bebas.

4. Berdasarkan uji t berpasangan, perlakuan terbaik penelitian ini menunjukkan nilai yang berbeda nyata jika dibandingkan dengan metode konvensional, yaitu menggunakan maserasi biasa dan maserasi dengan pemanasan *waterbath*. Perlakuan terbaik penelitian menunjukkan nilai yang lebih baik daripada perlakuan kontrol.

## 5.2 Saran

1. Perlu dilakukan evaporasi yang lebih lama lagi supaya mendapatkan ekstrak yang lebih murni sehingga nilai total flavonoid dan aktivitas antioksidan dapat dibandingkan dengan penelitian lain.
2. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai jenis-jenis senyawa flavonoid yang terdapat di dalam jamur tiram putih dan dilakukan isolasi flavonoid.
3. Perlu dilakukan penambahan rasio pelarut supaya dapat diketahui pengaruhnya terhadap hasil kandungan total flavonoid dan  $IC_{50}$ .
4. Perlu dilanjutkan dengan proses optimasi untuk mendapatkan nilai total flavonoid dan  $IC_{50}$  yang optimal.
5. Pada alat ekstraksi yang digunakan perlu dilakukan modifikasi seperti ditambahkan kontrol suhu dan pengadukan supaya hasil ekstraksi dapat maksimal.



6. Perlu dilakukan ekstraksi bertingkat menggunakan beberapa jenis pelarut polar dan non polar agar flavonoid dapat terekstrak dengan maksimal.

7. Pada proses pengukuran total flavonoid perlu digunakan metode komplementer, yaitu menggabungkan metode kolorimetri AIC<sub>3</sub> dengan metode kolorimetri 2,4-dinitrophenylhydrazinl (DNPH).

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdille, Md.H., Singh, R.P., Jayaprakasha, B.S dan Jena. 2004. ***An Antioxidant Activity of the Extracts from Dillenia Indica Fruits***. *Journal of Food Chemistry*, 90 (2005) 891-896
- Andersen, Øyvind M dan Markham, Kenneth R. 2006. ***Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications***. Boca Raton: CRC press
- Anggela, Lasmida 2012. ***Aktivitas Antioksidan dan Stabilitas Fisik Gel Anti-Aging yang Mengandung Ekstrak Air Kentang Kuning (Solanum tuberosum L.)***. Skripsi. Universitas Indonesia, Jakarta
- Arbaayah dan Kalsom, Umi. 2013. ***Antioxidant Properties in the Oyster Mushrooms (Pleurotus spp.) And Split Gill Mushroom (Schizophyllum commune) Ethanolic Extracts***. *Mycosphere* 4 (4): 661-673 (2013) ISSN 2077-7019
- Anggraeni, Citra. 2016. ***Studi aktivitas antioksidan dan Karakteristik Psiko Kimia Cuka Apel Berbagai Merk yang Beredar di Kota Malang, Jawa Timur***. Skripsi Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Malang
- Arum, Zhanah Hawa, Widodo, Chomsin S, dan Saroja, Gancang. 2015. ***Studi Pengukuran Nilai Konstanta Dielektrik Oli Berbagai Viskositas Pada Frekuensi 100 Hz – 2000 Hz***. Jurusan Fisika FMIPA Univ. Brawijaya
- Azizah, Dyah Nur, Kumolowati, Endang, dan Faramayuda, Fahrauk. 2014. ***Penetapan Kadar Flavonoid Metode AlCl3 Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (Theobroma Cacao L.)***. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, Des 2014, 2 (2), 45-49 ISSN 2354-6565
- Bener, Mustafa, Ozyurek, Mustafa, Guclu, Kubilay, dan Apak, Resat. 2016. ***Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Curcumin from Curcuma longa L. (Turmeric) and Evaluation of Antioxidant Activity in Multi-Test Systems***. *Rec. Nat. Prod.* 10:5 542-554

Caesar, Christopher. 2015. **Ekstraksi Senyawa Fenol Daun Beluntas (*Pluchea indica*) Metode Microwave Assisted Extraction (Kajian Bahan:Ratio Pelarut dan Lama Ekstraksi)**. Skripsi. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Malang

Candra, Reki, Hepiana, Dyah A, dan Situmorang, Suriaty. 2014. **Analisis Usahatani dan Pemasaran Jamur Tiram dengan Cara Konvensional dan Jaringan (*Multi Level Marketing*) Di Provinsi Lampung**. *JIIA, volume 2, no. 1*

Desmiaty, Yesi; Ratnawati, Julia dan Andini, Peni. 2009. **Penentuan Jumlah Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Buah Merah (*Pandanus conoideus Lamk*) Secara Kolorimetri Komplementer**. *POKJANAS TOI XXXVI 13 dan 14 Mei 2009 Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta*

Djarajah, Nunung M dan Djajarah, Abbas S. 2001. **Budidaya Jamur Tiram: Pembibitan, Pemeliharaan, dan Pengendalian Hama Penyakit**. Yogyakarta: Kanisius

Effendi, freini D. 2012. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Jati (*Tectona grandis Lf.*) Metode Microwave-Assisted Extraction Terhadap *Escherecia coli* dan *Staphilococcus aureus* (Kajian Lama Perendaman dan Daya Microwave)**. Skripsi. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Malang

Farida, Rita. 2014. **Ekstraksi Antisianin dari Limbah Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Metode Microwave Assisted Extraction (Kajian Lama Ekstraksi dan Rasio Bahan:Pelarut)**. Skripsi. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Malang

Fazira, Eliza; Ulya, Naili; Trilaksana, Mohammad I A, dan Zahro', Fatimmatuz. 2016. **Formulasi Nanoflavon Ekstrak Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) Menggunakan Teknologi Sonikasi sebagai Senyawa Antikanker Payudara**. *The 2<sup>nd</sup> International Conference on Food, Agryculture, and Natural Resources*



- Frindyani, Luthfil. 2016. **Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa dalam Ekstrak Etanol Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) dengan Metode DPPH**. Skripsi. Yogyakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta
- Giorgi, P.2000. **Flavonoid an Antioxi-dant**. *Journal National Product*.63:1035-1045
- Hanifa, Riza A; Lukmani, Yani, dan Syafrir, Livia. 2015. **Ekstraksi Antioksidan dan Senyawa Aktif dari Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*)**. *Prosiding Penelitian Unisba 2015* ISSN 2460-6472
- Ingrid, H Maria dan Santoso, Henry. 2014. **Ekstraksi Antioksidan dan Senyawa Aktif dari Buah Kiwi (*Actinidia Deliciosa*)**. Bandung: Lembaga penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Katolik Parahyangan
- Jeena, G S., H. Punetha, O. Prakash, M. Chandra and K.P.S. Kushwaha. 2014. **Study On in Vitro Antioxidant Potential of some Cultivated Pleurotus Species (Oyster mushroom)**. *Indian Journal of Natural Products and Resources* Vol 5 (1) :5
- Kaufmann, Beatrice dan Cristen, Philippe. 2002. **Recent Extraction Techniques For Natural Products: Microwave-Assisted Extraction and Pressurised Solvent Extraction**. *Phytochemical Analysis Phytochem. Anal.* 13, 105–113 (2002) Doi: 10.1002/Pca.631 John Wiley & Sons, Ltd.
- Krishnaiah, Duduku, Bono, Awang, Sarbatly, Rosalam dan Anisuzzaman, SM. 2015. **Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of An Isolated Morinda Citrifolia L. Methanolic Extract from Poly-Ethersulphone (PES) Membrane Separator**. *Journal of King Saud University-Engineer Science* (2015) 27, 63-67
- Kusumaningrum, Amalia P. 2011. **Kajian Total Bakteri Probiotik dan Aktivitas Antioksidan Yoghurt Tempe dengan Variasi Substrat**. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret, Surakarta



Li, W., Dai, R.J., Yu, Y.H., Li, L., Wu, C.M., Luan, W.W., Meng, W W., Zhang, X S dan Deng, Y L. 2007. **Antihyperglycemic Effect of *Cephalotaxus sinensis* Leaves and GLUT4 Translocation Facilitating Activity of Its Flavonoid Constituents.** *Biol. Pharm. Bull.* 30(6).1123-1129.

Lulail, Jamal. 2009. **Kajian Hasil Riset Potensi Antioksidan di Pusat Informasi Teknologi Pertanian Fateta Ipb serta Aplikasi Ekstrak Bawang Putih, Lada dan Daun Sirih pada Dendeng Sapi.** Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor

Lusiana. 2015. **Potensi Antioksidasi Ekstrak Etanol Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*).** *Jurnal Gradien* Vol. 11 No. 1 1066-1069

Molyneux P. 2004. **The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity.** *Songklanakarin J.Sci. Technol.* 26(2):211-219.

Mir, S. A.; Bhat, A. S; dan Ahangar, A.A. 2014. **A simplified 2, 4-Dinitrophenylhydrazine Assay for Flavonoids and its Comparison with A Standard Flavonoid Assay.** *International Journal of PharmTech Research CODEN (USA): IJPRIF ISSN : 0974-4304 Vol.6, No.2, pp 751-758*

Mujic, Z., Zekovic, Z., Lepojevic, S., Vidovic, J., Zivkovic, 2010. **Antioxidant Properties Of Selected Edible Mushroom Species.** *Journal Central European Agricultural* Vol (4): 388

Palma, Ivette Gonzalez, Hector B, Buendia, dan Escalona et al. 2016. **Evaluation of the Antioxidant Activity of Aqueous and Methanol Extracts of *Pleurotus ostreatus* in Different Growth Stages.** *Frontiers in Microbiology* Vol:7 Article 1099

Pinela J., Lillia B., Ana M.C., Isabel CFR. 2012. **Nutritional Composition and Antioxidant Activity of Four Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) Farmer Varieties in Northeastern Portugal Homegardens.** *Food and Chemical Toxicology* 50 (2012) 829–834.

Purwanto, Helmy. 2010. **Pengembangan Microwave Assisted Extractor (Mae) pada Produksi Minyak Jahe Dengan**



**Kadar Zingiberene Tinggi.** *Momentum*, Vol. 6, No. 2: 9–16

Qing, Chen Xiao, Qin, Liu, Yu, Jiang xirr dan Fan, Zeng. 2005. **Microwave assisted Extraction of Polysaccharides from Solanium Nigrum.** *J. Cent. South Univ. Technol* Vol.12 No. 5 Article ID: 1005-9784 (2005)05-0556-05

Rifka, Laila. 2016. **Potensi Senyawa Antioksidan Teh Celup Berbasis Ekstrak Cincau Hitam (Mesona palustris BL.) dan Kreatin Tikus Wistar ( Rattus norvegicus) Jantan Hipertensi.** Skripsi. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Malang

Sadeli, Richard A. 2016. **Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) Ekstrak Bromelain Buah Nanas (Ananas comosus (L). Merr.).** Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta

Salas, P, G. Aranzazu, M, S, and Alberto, F, G. **Phenolic Compound-Extraction System for Fruit and Vegetable Samples.** *Molecules*, 15: 8813-8826

Sanjaya, Yushinta Aristina. 2011. **Proses Ekstraksi dan Karakterisasi Ekstrak Antioksidan dari Rumpun Laut Hijau (Caulerpa racemosa) Menggunakan Teknik Ultrasonik (Kajian Lama Waktu Ekstraksi dan Rasio Bahan dan Pelarut).** Thesis. Universitas Brawijaya Malang

Santi, Sri R dan Sukadan, I M. 2015. **Aktivitas Antioksidan Total Flavonoid dan Fenol Kulit Batang Gayam (Inocarpus fagiferus Fosb).** *Jurnal Kimia* 9 (2) : 160-168

Sapri, Fitriani, Ana, dan Narulita, Rizka. **Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia Terhadap Rendemen Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Annona muricata L.) dengan Metode Maserasi.** *Prosiding Seminar Nasional Kimia 2014 HKI-Kaltim* ISBN: 978-602-19421-0-9

Sari, Ima Rini Mutia. 2012. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jamur (Pleurotus ostreatus) dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Teraktif.** Skripsi. Universitas Indonesia, Jakarta



Saskiawan, Iwan dan Hasanah, Nur. 2015. **Aktivitas Antimikroba dan Antioksidan Senyawa Polisakarida Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*)**. *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON*. Volume 1, Nomor 5 ISSN: 2407-8050 Halaman. 1105-1109

Sayuti, Kesuma dan Yenrina, Rina. 2015. **Antioksidan Alami dan Sintetik**. Padang: Andalas Press University

Sebaugh, JL. 2010. **Guidelines for accurate EC50/IC50 estimation**. Willey online library DOI:10.1002/pst.426

Setiawati, A., Endah PS, Titi RW, Rifki R. 2011. **Sambung Nyawa *Gynura Procumbens (Lour.) Merr.* sebagai Agen Kemopreventif**. Yogyakarta: *Cancer Cemporeventive Research Center* Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada

Setiawan, Muhammad H. 2015. **Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus L. Merr.*)**. Skripsi. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang

Setyawan, Dwi A. 2012. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Jati (*Tectona grandis Lf.*) Metode Microwave Assisted Extraction Terhadap *Eschericia coli* dan *Sthaphilococcus aureus* (Kajian Rasio Sampel: Pelarut dan Jumlah Proses Ekstraksi)**. Skripsi. Jurusan Teknolodi Hasil Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Malang

Steviani, S. 2011. **Pengaruh Pemberian Molase pada Beberapa Media pada Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*)**. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret, Surakarta

Sumardika, I Wayan dan Jwai, I Made. 2012. **Ekstrak Air Daun Ubi Jalar Ungu Memperbaiki Profil Lipid dan Meningkatkan Kadar SOD Darah Tikus yang Diberi Makanan Tinggi Kolesterol**. *Jurnal Ilmiah Kedokteran MEDICINA* vol 43 No. 2

Sumarsih, Sri. 2010. **Untung Besar Usaha Bibit Jamur Tiram**. Depok: Penebar Swadaya

Tristantini, Dewi; Asmawati, Alifah; Pradana, Bayangkara T, dan Jonathan, Jason G. 2016. **Pengujian Aktivitas**

**Antioxidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L).** *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan" Issn 1693-4393 Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia Yogyakarta*

Wachidah, Leliani Nurul. 2013. **Uji Aktivitas Antioksidan serta Penentuan Kandungan Fenolat dan Flavonoid Total dari Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume).** Skripsi. UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta

Wardani, Nela A K dan Widjanarko, Simon B. 2013. **Potensi Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) dan Gluten dalam Pembuatan Daging Tiruan Tinggi Serat.** *Jurnal Teknologi Pertanian Vol. 14 No. 3 [Desember 2013] 151-164*

Zaidan, Sarah dan Djamil, Ratna. 2014. **Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Simplisia Daun Insulin (*Smallanthus sonchifolius*, Poepp).** *Simposium PERHIPBA XVI, Hotel Paragon Universitas Sebelas Maret, Solo 23-24 April 2014*