

EKSTRAKSI ANTIOKSIDAN CASCARA ARABICA MENGUNAKAN METODA ULTRASONIC-ASSISTED EXTRACTION

Antioxidant Extraction of Cascara Arabica Using The Ultrasonic-Assisted Extraction Method

Bambang Kunarto^{1*}, Elly Yuniarti Sani¹, Dewi Larasati¹

¹ Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Semarang, Jl. Soekarno-Hatta Semarang, Indonesia

* Email: bambangkun@usm.ac.id

DOI: <http://dx.doi.org/10.20884/1.jaber.2024.5.1.10114>

Naskah ini diterima pada 25 November 2023; revisi pada 27 November 2023;
disetujui untuk dipublikasikan pada 7 Mei 2024

ABSTRAK

Cascara merupakan produk samping dari komoditas biji kopi, yaitu bagian kulit dan pulp hasil pengupasan pengolahan basah. Cascara kaya fenolik, flavonoid dan tannin, sehingga berpotensi sebagai sumber antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh lama waktu ekstraksi cascara Arabica menggunakan metoda *ultrasonic-assisted extraction* terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanolik yang dihasilkan. Ekstraksi dilakukan menggunakan ultrasonic bath (Branson 3800) pada suhu 30°C dan frekuensi 40 kHz. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% dengan rasio cascara Arabica dan pelarut 1:10 (b/v). Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan lama ekstraksi (10, 20, 30, 50, 50 dan 60 menit) dan diulang sebanyak 3 kali. Variabel yang diamati meliputi *yield*, fenolik total, flavonoid total, dan aktivitas antioksidan (RSA-DPPH dan *reducing power*). Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA. Apabila terdapat pengaruh yang nyata maka pengujian dilanjutkan dengan uji DMRT dengan tingkat signifikansi $\alpha = 5\%$ untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan lama waktu ekstraksi etanolik cascara Arabica berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap *yield*, fenolik total, flavonoid total, dan aktivitas antioksidan (RSA-DPPH dan *reducing power*). Ekstraksi cascara Arabica selama 30 menit menghasilkan aktivitas antioksidan yang kuat

Kata kunci: antioksidan, cascara, fenolik, flavonoid, *ultrasonic-assisted extraction*

ABSTRACT

Cascara is a by-product of the coffee bean commodity, namely the skin and pulp resulting from wet processing. Cascara is rich in phenolics, flavonoids and tannins, making it a potential source of antioxidants. The purpose of this study was to determine the effect of the long extraction time of cascara Arabica using the *ultrasonic-assisted extraction* method on the antioxidant activity of the resulting ethanolic extract. Extraction was carried out using an ultrasonic bath (Branson 3800) at a temperature of 30°C and a frequency of 40 kHz. The solvent used was 70% ethanol with a cascara Arabica and solvent ratio of 1:10 (w/v). The experimental design used was a completely randomized design (CRD) with 6 treatment durations of extraction (10, 20, 30, 50, 50 and 60 minutes) and the treatment was repeated 3 times. The variables observed included yield, total phenolics, total flavonoids, and antioxidant activity (RSA-DPPH and *reducing power*). The data obtained were analyzed by ANOVA. If there is a significant effect, then the test is continued with the DMRT test with a significance level of $\alpha = 5\%$ to determine differences between treatments. The results showed that the length of time for cascara Arabica ethanolic extraction had a significant effect ($p < 0.05$) on yield, total phenolic, total flavonoids, and antioxidant activity (RSA-DPPH and *reducing power*). Cascara Arabica extraction for 30 minutes resulted in strong antioxidant activity.

Keywords: antioxidant, cascara, flavonoid, phenolic, *ultrasonic-assisted extraction*

PENDAHULUAN

Cascara adalah kulit kopi ceri kering (*dried coffee chey pulp*) yang merupakan limbah pengolahan kopi baik *wet process*, *semi-dry process* maupun *dry process*. *Wet process* pada umumnya dilakukan untuk kopi Arabika, sedangkan *dry process* untuk pengolahan kopi Robusta. Pada pengolahan kopi menyisakan limbah sebesar 40-45% yang berupa kulit luar, pulp, lendir, perkamen dan kulit perak (Heeger *et al*, 2016). Proporsi limbah terbesar menurut Arpi *et al*. (2021) adalah pulp dan kulit luar sebesar 29,9%. Cascara berpotensi sebagai sumber antioksidan, karena berdasarkan kajian fitokimia, cascara mengandung polifenol dan tannin, yang antara lain flavan-o-ols, hydroxynnamic acid, flavanol (Heeger *et al.*, 2016), katekin, rutin, antosianidin, asam ferulat (Arpi *et al.*, 2021), hydro-benzoic acid caffeic acid, asam galat, asam vanilat dan asam kumarat (Klingel *et al.*, 2020). Cascara juga masih mengandung kafein, asam khlorogenat dan melanoidin (Iriondo-De Hond *et al.*, 2020).

Untuk lebih mengoptimalkan aplikasi senyawa antioksidan cascara, maka perlu dilakukan ekstraksi. Salah satu metoda ekstraksi non konvensional adalah ekstraksi berbantu gelombang ultrasonik (*ultrasonic-assisted extraction/UAE*). Prinsip UAE adalah bahwa gelombang ultrasonik digunakan untuk menghasilkan gelembung kavitasi (*cavitation bubbles*) pada material larutan. Ketika gelembung pecah dekat dengan dinding sel, maka akan terbentuk gelombang kejut dengan pancaran cairan (*liquid jets*) yang membuat dinding sel pecah. Pecahnya dinding sel membuat komponen di dalam sel keluar bercampur dengan pelarut (Cintas dan Cravotto, 2005).

Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi ekstraksi dengan metode UAE yaitu waktu ekstraksi (Xu *et al.*, 2016). Semakin lama ekstraksi maka semakin lama kontak antara pelarut dengan bahan, sehingga dimungkinkan perolehan ekstrak dan senyawa bioaktif semakin meningkat. Penggunaan waktu yang lama pada metode UAE dapat meningkatkan suhu larutan sehingga mempercepat oksidasi antioksidan dan ekstrak yang diperoleh rendah (Sholihah, 2016). Sedangkan, waktu ekstraksi yang terlalu singkat dapat menyebabkan tidak semua senyawa bioaktif terekstrak dari bahan. Oleh karena itu tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh lama waktu ekstraksi cascara Arabica menggunakan metoda *ultrasonic-assisted extraction* terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanolik yang dihasilkan.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan utama yang digunakan adalah kulit buah kopi Arabika yang diperoleh dari unit usaha edukasi kopi Doesoen Sirap. Kulit buah kopi Arabika diperoleh dari buah kopi yang ditanam di lereng gunung Kelir pada ketinggian lebih dari 1100 m dpl. Bahan kimia yang digunakan antara lain: etanol (Merck, Jerman), reagen folin-ciocalteu (Merck, Jerman), 2, 2-difenil-1-pikrillhidrazil (Sigma, US), toluene (Merck, Jerman), asam galat (Merck, Jerman), asam asetat (Merck, Jerman), Na₂CO₃ (Merck), NaOH (Merck), *catechin* (Merck), asam trikloroasetat (Merck), *destiled water*, feri klorida (Merck), asam askorbat (Merck), tween 80 (Sigma-Aldrich), kefein standar (Merck).

Peralatan penelitian terdiri atas: grinder (Maksindo, Indonesia), ayakan (ASTM Standart, Indonesia), timbangan analitik (OHOUS PA 214, USA), sonicator bath 3800 (Branson, Mexico), rotary vacuum evaporator (Heidolph, Germany), Spektrofotometer (GENESYS 10S double beam) dan beberapa peralatan gelas (pyrex).

Yield Ekstrak Etanolik Cascara Arabica (Al-Juhaimi *et al.*, 2016)

Persentase *yield* ekstrak dinyatakan sebagai berat ekstrak kering per berat sampel kering) x 100.

Analisis fenolik total ekstrak etanolik cascara Arabica (Dewanto *et al.*, 2002)

Sebanyak 125 μ L ekstrak sampel dari kulit biji kopi Arabica dilarutkan dalam 500 μ L *destilled water*, kemudian ditambahkan 125 μ L larutan reagen Folin-Ciocalteu. Campuran tersebut diaduk, lalu 1,25 mL Na_2CO_3 7% ditambahkan bersama dengan *destilled water* hingga volumenya mencapai 3 mL. Pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 760 nm dilakukan setelah inkubasi dalam kondisi gelap selama 90 menit. Kandungan fenolik total dalam ekstrak etanolik cascara Arabica dihitung dalam satuan miligram Ekuivalen Asam Galat (GAE) per gram sampel kering

Analisis flavonoid total ekstrak etanolik casacara Arabica (Bhat *and* Yahya, 2014)

Ekstrak cascara Arabika sebanyak 1 mL dilarutkan dalam 4 ml *destilled water*. Pada saat awal (0 menit), 0,3 mL NaNO_2 5% (berdasarkan berat per volume) ditambahkan. Campuran ini dibiarkan selama 5 menit, kemudian ditambahkan 0,3 ml AlCl_3 10% (berdasarkan berat per volume). Pada menit ke-6, NaOH 1 M sebanyak 2 mL ditambahkan beserta *destilled water* hingga mencapai volume 10 mL. Campuran ini diaduk menggunakan vortex dan absorbansinya diukur pada panjang gelombang (λ) 510 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Jumlah flavonoid total dihitung sebagai miligram Ekuivalen Katekin (CE) per 100 gram sampel kering

Aktivitas Antioksidan (Savić-Gajić *at al.*, 2017)

Sebanyak 1 mL larutan DPPH ditambahkan ke dalam 2,5 ml ekstrak cascara Arabika. Setelah dicampur secara merata, campuran tersebut diinkubasi dalam kondisi gelap dengan suhu ruang selama 30 menit. Setelah itu, absorbansi campuran diukur pada panjang gelombang 517 nm.. Penghambatan radikal DPPH (%) dihitung menggunakan formula $(\text{Ac}-\text{As})/\text{Ac} \times 100$, dimana Ac dan As, masing-masing adalah absorbansi kontrol dan sampel. Aktivitas antioksidan ekstrak etanolik cascara Arabica diukur dengan IC_{50}

Analisis reducing power (Ozcoy *at al.*, 2008)

Satu miligram sampel dicampur dengan larutan buffer fosfat (2,5 mL) dan kalium ferisianida (2,5 mL). Campuran tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 50°C selama 20 menit. Setelah itu, sejumlah 2,5 mL asam trikloroasetat ditambahkan ke dalam campuran, dan campuran tersebut disentrifugasi selama 10 menit pada 3000 rpm. Supernatan sebanyak 2,5 mL dicampur dengan 2,5 mL *destilled water* dan 0,5 ml larutan besi klorida. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 700 nm. Persentase *reducing power* sampel dibandingkan dengan standar (asam askorbat) dan dihitung menggunakan rumus $[1-(1-\text{As}/\text{Ac})] \times 100$, di mana Ac adalah absorbansi standar dan As adalah absorbansi sampel.

Rancangan percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Dengan 6 perlakuan (waktu ekstraksi 10; 20; 30; 40; 50 dan 60 menit) dan 3 kali ulangan. Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perlakuan. Apabila terdapat pengaruh nyata maka pengujian dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan tingkat singnifikasi $\alpha = 5\%$, untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama waktu ekstraksi cascara Arabica dengan metoda UAE berpengaruh nyata ($p < 0,05$) pada semua parameter uji. Nilai *yield* ekstrak berkisar antara $9,21 \pm 0,01$ sampai $12,25 \pm 0,69\%$, fenolik total $6,21 \pm 0,01$ sampai $9,57 \pm 0,2$ mg GAE/g, flavonoid

total $17,04 \pm 0,06$ sampai $18,71 \pm 0,11$ mg CE/100g (Tabel 1), IC_{50} sebesar $68,32 \pm 0,61$ sampai $60,71 \pm 0,6$ 4 ppm dan *reducing power* $68,99 \pm 0,15$ sampai $76,98 \pm 0,27\%$.

Tabel 1. Yield, fenolik total dan flavonoid total ekstrak cascara Arabica

Perlakuan lama ekstraksi (UAE) (menit)	Yield (%)	Fenolik total (mg GAE/g)	Flavonoid total (mg CE/100g)
10	$9,21 \pm 0,01^a$	$6,21 \pm 0,01^a$	$17,04 \pm 0,06^a$
20	$10,72 \pm 0,69^c$	$7,09 \pm 0,06^b$	$17,86 \pm 0,11^b$
30	$12,25 \pm 0,69^e$	$9,57 \pm 0,21^e$	$18,71 \pm 0,11^c$
40	$12,01 \pm 0,01^d$	$9,01 \pm 0,01^d$	$17,81 \pm 0,64^b$
50	$10,33 \pm 0,04^{bc}$	$8,13 \pm 0,31^c$	$16,98 \pm 0,51^a$
60	$10,01 \pm 0,52^b$	$8,12 \pm 0,01^c$	$16,87 \pm 0,59^a$

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$). $n=3$.

Yield ekstrak etanolik cascara Arabica

Semakin lama proses ekstraksi berlangsung, terlihat terjadi peningkatan *yield* ekstrak. Namun, setelah melewati 30 menit ekstraksi, terjadi penurunan *yield* (Tabel 1). Semakin lama ekstraksi berlangsung, semakin lama pula kontak antara cascara Arabica dengan pelarut. Hal ini memungkinkan pelarut mempunyai waktu lebih lama untuk menembus dinding sel dan menarik senyawa, yang berakibat pada waktu kontak gelembung kavitasi yang lebih panjang. Dampaknya, sel-sel sampel lebih terpapar oleh gelembung kavitasi, yang membantu dalam proses pemecahan sel dan pada akhirnya meningkatkan *yield*. Efek kavitasi ini menyebabkan pembengkakan, hidrasi, fragmentasi, serta pembentukan pori-pori dalam matriks jaringan tanaman tempat zat terlarut terkandung. Semua faktor ini berperan dalam meningkatkan paparan zat terlarut terhadap media ekstraksi, dan membantu melepaskannya ke dalam pelarut (Kumar *et al.*, 2021).

Menurut Odabas dan Koca (2016), turunnya *yield* setelah ekstraksi selama 30 menit disebabkan karena waktu ekstraksi UAE yang terlalu lama dapat merusak senyawa fenolik, sehingga *yield* yang dihasilkan lebih rendah. Sedangkan Damar dan Yilmas (2023) melaporkan bahwa kondisi ekstraksi yang ekstrem selama sonikasi terlokalisasi dalam gelembung kavitasi, sehingga dapat menyebabkan degradasi senyawa bioaktif

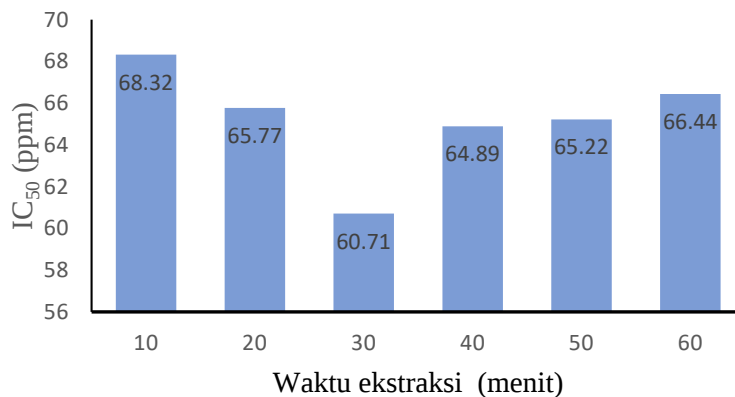
Fenolik dan flavonoid total ekstrak etanolik cascara Arabica

Peningkatan fenolik total dan flavonoid total terjadi seiring dengan peningkatan lama ekstraksi (dari 10 menit sampe 30 menit), namun selanjutnya terjadi penurunan karena pelarut dan zat terlarut telah mencapai titik kesetimbangan (Tabel 1). Sholihah (2016) menyatakan bahwa efek dari ultrasonik yang dapat menyebabkan semakin tipisnya lapisan dinding sel dan meningkatkan kemampuan penetrasi pelarut, sehingga menyebabkan pelarut dapat menarik zat-zat kimia seperti fenol dan flavonoid yang terdapat dalam sel.

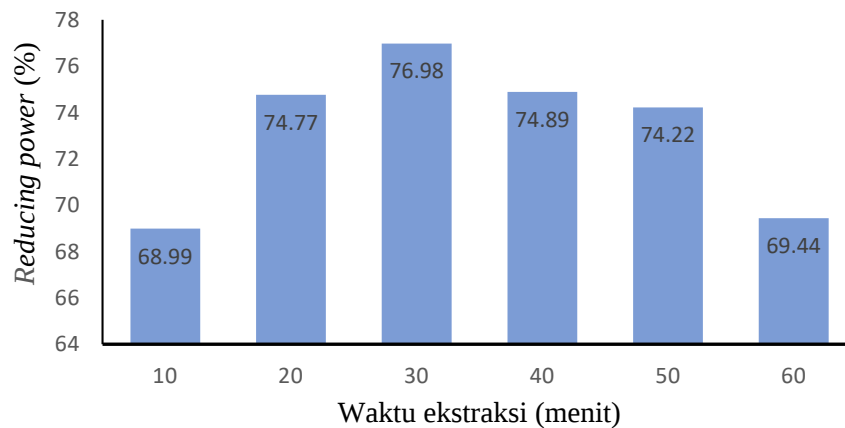
Penurunan kadar fenolik dan flavonoid total sesuai dengan yang dilaporkan Margaretta *et al.* (2011) bahwa penurunan selama ekstraksi disebabkan karena proses ekstraksi telah mencapai keadaan ekuilibrium, sehingga senyawa fenol yang terdapat dalam permukaan dan bagian dalam *solid* sudah tidak dapat terekstrak lagi. Menurut Wu *et al.* (2022), efek termal dan mekanis yang ditimbulkan oleh gelombang ultrasonik dapat merusak struktur sampel sehingga kadar fenolik dan flavonoid menjadi turun.

Aktivitas antioksidan ekstrak etanolik cascara Arabica

Aktivitas antioksidan ekstrak etanolik cascara Arabica (RSA-DPPH dan *reducing power*) meningkat sesuai dengan peningkatan lama waktu ekstraksi, namun selanjutnya mengalami penurunan. Aktivitas antioksidan sejalan dengan kadar fenolik total dan flavonoid total. Li *et al.* (2018) menyatakan bahwa fenolik total dan flavonoid total dari tanaman adalah kontributor yang signifikan untuk aktivitas antioksidan. Hasil uji aktivitas antioksidan ini juga sesuai dengan hasil penelitian Atanassova *et al.* (2011) bahwa flavonoid bertanggung jawab terhadap kemampuan menangkalkan radikal bebas dan mengkelat ion logam. Liu *et al.* (2019) juga melaporkan bahwa senyawa fenolik memiliki kapasitas antioksidan yang tinggi. Ekstraksi cascara Arabica selama 30 menit menghasilkan aktivitas antioksidan yang kuat. Pengaruh lama waktu ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanolik cascara Arabica (IC_{50} RSA-DPPH dan *reducing power*) ditunjukkan pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Aktivitas antioksidan ekstrak etanolik cascara Arabica (IC_{50} RSA-DPPH)



Gambar 2. Aktivitas antioksidan ekstrak etanolik cascara Arabica (*reducing power*).

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstraksi cascara Arabica dengan metoda *ultrasonic-assisted extraction* selama 30 menit menggunakan pelarut etanol 70% pada suhu 30°C dan frekwensi 40kHz menghasilkan ekstrak yang mempunyai aktivitas antioksidan kuat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada LPPM Universitas Semarang yang telah membiayai penelitian ini melalui Penelitian Hibah Kompetitif Internal (PHKI) dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian Dosen Universitas Semarang Nomor : 004/USM.H7.LPPM/L/2023

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Juhaimi, F., Adiamo, O. Q., Ghafoor, K. & Babiker, E. E. (2016). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compound from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seed. *CyTA-Journal of Food*, 14(3): 369-374. (doi. 10.1080/19476337.2015.1110202).
- Arpi, N., Muzaifa, M., Sulaiman, M. I., Andini, R., & Kesuma, S. I. (2021). Chemical Characteristics of Cascara, Coffee Cherry Tea Made of Various Coffee Pulp Treatments. IOP Conf. Series: *Earth and Environmental Science* 709 (012030): 1 – 10.
- Atanassova, M., Georgieva, S., & Ivancheva, K. (2011). Total phenolic and total flavonoid contents, antioxidant capacity and biological contaminants in medicinal herbs. *Journal of the University of Chemical Technology & Metallurgy*, 46(1).
- Bhat, R. & Yahya, B. N. (2014). Evaluating melinjau (*Gnetum gnemon* L.) seed flour quality as a base for development of novel food products and food formulations. *Food Chemistry*, 156: 42-49.
- Cintas, P. & Cravotto. (2005). Power Ultrasound in Organic Synthesis: Moving cavitation chemistry from academia to innovative and large-scale applications. *The Royal Society Journal of Chemistry* 35: 180-196.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K. & Liu, R. H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(10): 3010-3014. (doi.10.1021/jf0115589).
- Heeger, A., Kosinska-Cagnazzo, A., Cantergiani, E., & Andlauer, W. (2016). Bioactives Of Coffee Cherry Pulp And Its Utilisation For Production Of Cascara Beverage. *Food Chemistry* 1(1): 1 – 7.
- Klingel, T., Kremer, J. I., Gottstein, V., Rezende, T. R. D., Schwarz, S., & Lachenmeier, D. W. (2020). A Review of Coffee By-Products Including Leaf, Flower, Cherry, Husk, Silver Skin, and Spent Grounds as Novel Foods within the European Union 9(665): 1 – 20.
- Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics sonochemistry*, 70, 105325.
- Li, M., Pare, P. W., Zhang, J., Kang, T., Zhang, Z., Yang, D. & Xing, H. (2018). Antioxidant Capacity Connection with Phenolic and Flavonoid Content in Chinese Medicinal Herbs. *Records of Natural Products*, 12(3), 239-250.
- Liu, Y., Luo, X., Lan, Z., Tang, J., Zhao, P., & Kan, H. (2018). Ultrasonic-assisted extraction and antioxidant capacities of flavonoids from *Camellia fascicularis* leaves. *CyTA-Journal of Food*, 16(1), 105-112
- Margaretta, S., Handayani, S. D., Indraswati, N., & Hindarso, H. (2013). Ekstraksi senyawa phenolic Pandanus amaryllifolius roxb. sebagai antioksidan alami. *Widya Teknik*, 10(1), 20-30.
- Odabas, H. I. & Koca, I. (2016). Application of response surface methodology for optimizing the recovery of phenolic compounds from hazelnut skin using different extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 91: 114-124. (doi.10.1016/j.indcrop.2016.05.033).
- Ozsoy, N., Can, A., Yanardag, R. & Akev, N. (2008). Antioxidant activity of Smilax excelsa L. leaf extracts. *Food Chemistry*, 110(3): 571-583. (doi. 10.1016/j.foodchem.2008.02.037).

- Savić-Gajić, I., Savić, I. M., Nikolić, L. B., Popsavin, M. M. & Rakić, S. J. (2017). The improvement of phtostability and antioxidant activity of trans-resveratrol by cyclodextrins. *Advanced Technologies*, 6(2): 18-25. (doi. 10.5937/savteh1702018S).
- Sholihah, M. 2016. Ultrasonic-Assisted Extraction Antioksidan dari Kulit Manggis [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Wu, E. Y., Sun, W. J., Wang, Y., Zhang, G. Y., Xu, B. C., Chen, X. G., Hao, K. Y., He, L. Z., & Si, H. B. (2022). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of total flavonoids from *Abrus cantoniensis* (Abriherba) by response surface methodology and evaluation of its anti-inflammatory effect. *Molecules*, 27(7), 1-17.
- Xu, G., Liang, C., Huang, P., Liu, Q., Xu, Y., Ding, C., & Li, T. (2016). Optimization of rice lipid production from ultrasound-assisted extraction by response surface methodology. *Journal of cereal science*, 70, 23-28.