ISSN(P): 2088-2246
ISSN(E): 2684-7345

PENENTUAN KADAR POLIFENOL TOTAL DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA KACANG KEDELAI (*Glycine max L.*) Var. ARGOMULYA DARI MALANG JAWA TIMUR DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis

Determination of Total Polyphenol Content and Evaluation of Antioxidant Activity in Argomulya Soybean (Glycine max L.) from Malang, East Java, Using UV–Visible Spectrophotometry

Aprilya Kumala Shary[1*], Kintoko[2], Wahyu Widyaningsih[3], Hari Susanti[4]
[1*]Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Madani
[2,3,4]Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta
[1*]Jalan. Wonosari Km 10, Piyungan, Bantul, Daerah Istimewah Yogyakarta, 55792, Indonesia
[2,3,4]Jalan Ring Road Selatan, Banguntapan, Bantul, Daerah Istimewah Yogyakarta, 55191, Indonesia
Email: [1]aprilyakumalashary20@gmail.com Telp.085229538451*
**Corresponding Author*

Tanggal *Submission*: 11-04-2026, Tanggal diterima:30-06-2026

Abstrak

Polifenol adalah sekelompok metabolit sekunder pada tumbuhan yang berperan penting sebagai senyawa bioaktif, terutama sebagai antioksidan alami. Kedelai (*Glycine max* L.) diketahui mengandung berbagai senyawa fenolik seperti isoflavon, flavonoid, dan asam fenolik yang berkontribusi terhadap aktivitas farmakologisnya. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan polifenol total dan aktivitas antioksidan pada kedelai menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Sampel kedelai dikeringkan, digiling, dan diekstraksi dengan etanol 70% menggunakan metode maserasi. Kandungan polifenol total ditentukan menggunakan metode *Folin-Ciocalteu*, diukur pada panjang gelombang 765 nm, dan dinyatakan dalam mg asam galat ekivalen (GAE) per gram sampel. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dengan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 517 nm untuk menentukan nilai IC_{50}. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kedelai memiliki kandungan polifenol total yang cukup tinggi serta aktivitas antioksidan yang baik. Terdapat hubungan antara kandungan polifenol total dan kemampuan penangkapan radikal bebas, di mana semakin tinggi kandungan polifenol, semakin kuat aktivitas antioksidannya. Kesimpulannya, kedelai memiliki potensi sebagai sumber senyawa bioaktif alami dengan aktivitas antioksidan, dan metode spektrofotometri UV-Vis efektif untuk menganalisis kandungan polifenol total dan aktivitas antioksidan.

Kata Kunci: antioksidan, *Folin-Ciocalteu*, *Glycine max L.*, kacang kedelai, polifenol total

Abstract

Polyphenols are a group of secondary metabolites in plants that play an important role as bioactive compounds, particularly as natural antioxidants. Soybeans (Glycine max L.) are known to contain various phenolic compounds such as isoflavones, flavonoids, and phenolic acids that contribute to their pharmacological activity. This study aims to determine the total polyphenol content and antioxidant activity in soybeans using the UV-Vis spectrophotometry method. Soybean samples were dried, ground, and extracted with 70% ethanol using the maceration method. Total polyphenol content was determined using the Folin-Ciocalteu method, measured at a wavelength of 765 nm, and expressed in mg of gallic acid equivalent (GAE) per gram of sample. Antioxidant activity was tested using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method with absorbance measurements at a wavelength of 517 nm to determine the IC_{50} value. The results of the study showed that soybean extract has a fairly high total polyphenol content as well as good antioxidant activity. There is a relationship between total polyphenol content and free radical scavenging

ISSN(P): 2088-2246
ISSN(E): 2684-7345

ability, wherein the higher the polyphenol content, the stronger the antioxidant activity. In conclusion, soybeans have potential as a source of natural bioactive compounds with antioxidant activity, and the UV-Vis spectrophotometry method is effective for analyzing total polyphenol content and antioxidant activity.

Keywords: *antioxidants, Folin-Ciocalteu, Glycine max L., soybeans, total polyphenols*

PENDAHULUAN

Polifenol adalah kelompok metabolit sekunder tumbuhan yang luas (fenolat sederhana, flavonoid, tanin, dsb.) dengan aktivitas antioksidan dan potensi biologis penting pada sistem pangan dan kesehatan manusia (Ciupei et al., 2024). Kajian-kajian mutakhir menegaskan relevansinya dari sisi klasifikasi, bioaktivitas, hingga bioavailabilitas sehingga pengukuran kandungan polifenol total (TPC) pada bahan pangan menjadi parameter dasar yang krusial (Sun et al., 2024).

Kacang kedelai (*Glycine max L.*) dikenal bukan hanya sebagai sumber protein, melainkan juga kaya senyawa fenolik seperti isoflavon, flavonoid, asam fenolat yang berkontribusi terhadap kapasitas antioksidan dan sejumlah efek fisiologis (Choi et al., 2020). Berbagai ulasan dan studi eksperimental pada kedelai termasuk kultivar berkulit hitam melaporkan peran polifenol pada modulasi stres oksidatif, fungsi vaskular, serta indikator risiko metabolik (Yamashita et al., 2020).

Kedelai mengandung banyak isoflavon yang berperan penting dalam melawan radikal bebas dan mencegah penyakit degeneratif (Tullah et al., 2023). Isoflavon pada kedelai biasanya terdapat dalam bentuk ikatan (glikosida/glikon), sedangkan isoflavon yang dominan dalam tempe berupa aglikon (bebas/tidak terikat). Dalam bentuk aglikon, isoflavon lebih mudah diserap oleh tubuh (Yudiono, 2023).

Berbagai studi telah mengkaji penggunaan pelarut etanol dengan variasi konsentrasi untuk mengekstrak senyawa fenolik. Keberhasilan penggunaan etanol sebagai pelarut bergantung pada beberapa faktor seperti konsentrasi pelarut, suhu, durasi ekstraksi, serta metode yang digunakan. Faktor-faktor ini tidak dapat disamaratakan, karena setiap jenis bagian tanaman memiliki sifat fisikokimia yang berbeda (Hakim & Saputri, 2020).

Variasi TPC kedelai dipengaruhi faktor genetik (genotipe/kultivar) dan bagian tanaman (biji, kulit biji, hasil samping), yang berdampak pada profil fenolik dan kapasitas antioksidan (Hakim & Saputri, 2020). Karakterisasi komprehensif biomolekul kedelai dan hasil sampingnya, serta perbandingan antar-kultivar, menunjukkan sebaran TPC dan komponen fenolik yang berbeda bermakna (Spréa et al., 2024).

Selain genotipe, tahapan pertumbuhan dan perlakuan pascapanen/olah (perendaman, perkecambahan, pemanasan/roasting, perebusan) memodulasi TPC dan aktivitas antioksidan (Deorukhkar & Ananthanarayan, 2021). Perkecambahan kerap meningkatkan fenolat tertentu; sementara pemrosesan termal dapat menurunkan TPC/aktivitas antioksidan bergantung kondisi proses dan matriks legum, termasuk kedelai (AlJuhaimi et al., 2024).

Dari sisi analitik, metode *Folin–Ciocalteu* (F–C) tetap menjadi pendekatan kolorimetri paling luas digunakan untuk estimasi TPC karena kesederhanaan, sensitivitas, dan biaya yang relatif rendah. Tinjauan kimiawi terbaru menekankan mekanisme reaksi F–C (reduksi kompleks molibdofosfotungstat oleh senyawa pereduksi), faktor-faktor yang memengaruhi hasil, serta praktik pelaporan (ekivalen asam galat, GAE) (Pérez et al., 2023).

ISSN(P): 2088-2246
ISSN(E): 2684-7345

Namun, F–C bersifat non-spesifik: reagen juga merespons reduktan non-fenolik (mis. askorbat, beberapa gula/amin, sulfur), sehingga potensi bias perlu dikelola lewat kontrol matriks, pembersihan sampel, dan interpretasi hati-hati. Evaluasi dan ulasan mutakhir merekomendasikan validasi silang/konfirmasi (mis. kromatografi atau uji alternatif) bila diperlukan (Dominguez-López et al., 2024).

Menurut Hasanah, dkk (2019) sembilan varietas kedelai Indonesia dan menemukan kadar total flavonoid tertinggi pada varietas Argomulyo (0,354 mg/g biji kering) menggunakan metode spektrofotometri kuersetin. Sementara itu, penelitian lain juga mengembangkan metode mikroanalisis menggunakan *Folin–Ciocalteu* dengan format 96-well microplate, menunjukkan linearitas baik (r = 0,99) dan memungkinkan analisis sampel kedelai dalam jumlah besar secara efisien (Yusnawan & Utomo, 2021).

Secara keseluruhan, berbagai studi dari skala global dan lokal memperkuat relevansi penentuan polifenol total pada kedelai. Berdasarkan ini, penelitian kita berfokus pada penentuan TPC dalam kacang kedelai menggunakan metode Folin–Ciocalteu, dengan menyoroti aspek teknik ekstraksi, kuantifikasi sebagai mg GAE/g, dan interpretasi non-spesifik agar diperoleh data terpercaya dan dapat dibandingkan lintas studi.

Materials

Alat

Spektrofotometri UV-Vis (*Shimadzu*), micro pipet, *rotary evaporator*, pompa vakum, alat-alat gelas, *magnetic stirrer*, mirkroskop.

Bahan

Kacang kedelai var.argomulya, etaanol 70%, aquadest, asam galat, pereaksi *Folin Ciocalteu*, NaOH, kloralhidrat.

Prosedur

Uji Mikroskopik Kacang Kedelai

Pengujian mikroskopis dilakukan dengan mengamati karakteristik sampel secara langsung. Serbuk sampel diletakkan di atas objek glass, kemudian ditetesi dengan kloralhidrat. Panaskan diatas api bunsen beberapa detik lalu ditutup dengan cover glass yang selanjutnya akan diamati dibawah mikroskop (Solikah, 2024).

Ekstraksi Kacang Kedelai

Sebanyak 500 gram kacang kedelai diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi selama 1×24 dan dilakukan pengadukan berkala. Kemudian, di lakukan *rotary evaporator* untuk mengambil ekstrak kentalnya untuk dilakukan uji berikutnya (Jadhav & Nirval, 2019).

Penetapan Kadar Polifenol Total

A. Pembuatan asam galat : 10 mg asam galat dilarutkan dalam methanol p.a hingga volume 25 mL dalam labu ukur. Dilakukan pengenceran dengan seri konsentrasi 50, 70, 100, 140 dan 190 ppm (µg/mL) (Adolph, 2016).
B. Pembuatan larutan NaOH 1%: sebanyak 1 gram NaOH dilarutkan dalam 100 mL aquadest dan digojog hingga larut.
C. Pembuatan larutan seri konsentrasi: 5 seri konsentrasi yang telah dibuat kemudian dipipet sebanyak 1 mL dan ditambahkan 5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* dan diinkubasi

ISSN(P): 2088-2246
ISSN(E): 2684-7345

selama 8 menit. Lalu, tambahkan 4 mL NaOH sehingga didapatkan volume 10 mL. Setelah itu, diinkubasi selama 1 jam. Ukur serapan absorbansinya pada panjang gelombang 736 nm (Courtney, 2012).

D. Pembuatan larutan uji : Timbang sebanyak 200 mg ekstrak kacang kedelai, kemudian masukkan ke dalam beaker glass, tambahkan 10 mL metanol p.a., dan aduk selama 30 menit dengan magnetic stirrer. Kemudian, saring dan masukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan larutkan dengan metanol p.a hingga tanda batas (Courtney, 2012).
E. Uji kadar polifenol total : Pada masing-masing larutan standar dan larutan uji dipipet sebanyak 1 mL dan ditambahkan 5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* dan diamkan selama 8 menit, dan ditambahkan 4 mL NaOH dan inkubasi selama 1 jam. Diukur serapannya pada masing-masing larutan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 730 nm. Selanjutnya, dibuat kurva kalibrasi dengan membuat hubungan antara konsentrasi 41 (x) dan absorbansi (y) larutan seri (Courtney, 2012).

Rumus perhitungan polifenol total :

$$\frac{konsentrasi\ (ppm) \times vol.sampel\ (mL)}{berat\ sampel\ (g)}$$

Uji Aktivitas Antioksidan Kacang Kedelai (*Glycine max L.*)

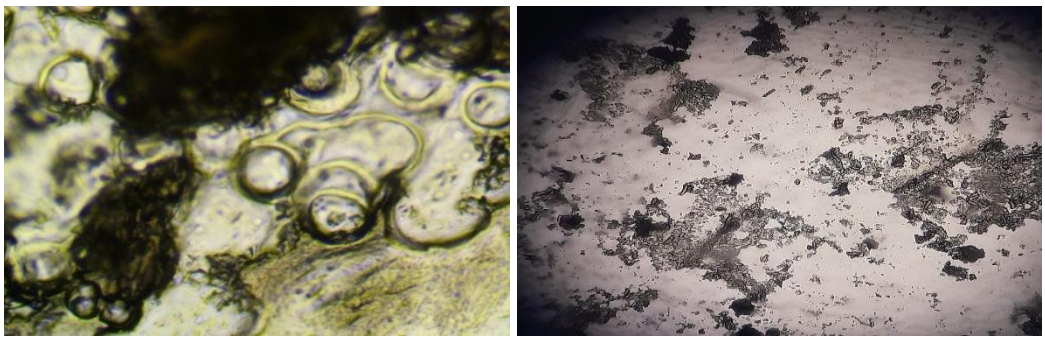
A. Pembuatan Larutan Uji : Sebanyak 250 mg ekstrak kacang kedelai ditimbang, kemudian dilarutkan menggunakan etanol hingga mencapai volume 25 mL. Selanjutnya dibuat larutan seri dengan konsentrasi 20, 40, 80, 120, dan 180 ppm (Yudiono, 2023).
B. Penentuan Aktivitas Antioksidan : Sebanyak 1 mL larutan uji diambil lalu ditambahkan 4 mL larutan DPPH hingga total volume menjadi 5 mL. Campuran kemudian diinkubasi selama 30 menit. Vitamin C digunakan sebagai larutan pembanding, kemudian absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm (Prasetyo et al., 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji mikroskopik dari kacang kedelai dengan perbesaran 10x terlihat adanya struktur berbentuk bulat dengan dinding yang cukup jelas serta beberapa area gelap yang menyebar di sekitarnya. Struktur bulat ini kemungkinan merupakan sel atau vesikel yang terdapat dalam jaringan kacang kedelai (*Glycine max L.*). Hasil pengamatan mikroskopik terhadap kacang kedelai (*Glycine max* L.) menunjukkan adanya struktur sel berbentuk bulat dengan dinding sel yang tampak jelas, serta area berwarna lebih gelap yang diduga merupakan lokasi akumulasi senyawa polifenol. Keberadaan senyawa tersebut berpotensi berperan dalam melindungi komponen bioaktif yang terkandung di dalam kedelai. Temuan ini memberikan informasi yang lebih mendalam mengenai karakteristik mikroskopis kacang kedelai yang berkaitan dengan potensi aktivitas antioksidannya. Berbeda dengan penelitian sebelumnya (Rahayu & Nani, 2022), yang berfokus pada perkembangan tren publikasi dan arah penelitian kedelai secara umum, hasil penelitian ini menyoroti aspek karakterisasi mikroskopis yang belum banyak dibahas sebelumnya. Oleh karena itu, temuan ini dapat menjadi pelengkap kajian terdahulu dengan menyediakan bukti empiris mengenai karakteristik fisik dan kandungan bioaktif kacang kedelai, yang berpotensi mendukung

ISSN(P): 2088-2246
ISSN(E): 2684-7345

pengembangan pangan fungsional berbasis kedelai.



Gambar 1. Uji Mikroskopik Kacang Kedelai dengan perbesaran 10x dan 4x

Ekstraksi merupakan tahapan penting dalam isolasi senyawa bioaktif, termasuk polifenol dari kacang kedelai (*Glycine max L.*). Pada penelitian ini digunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%, yang secara luas diaplikasikan dalam ekstraksi senyawa fenolik karena sifatnya yang polar, aman, dan mampu melarutkan beragam komponen fenolik. Pemilihan etanol 70% juga mempertimbangkan keamanan pangan, sehingga ekstrak yang diperoleh berpotensi diaplikasikan dalam produk fungsional. Metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 70% yang digunakan dalam penelitian ini terbukti efektif dalam mengekstrak polifenol total dari kacang kedelai. Hasil ekstraksi menunjukkan kadar polifenol total sebesar 7,941 ± 0,230 mg GAE/g. Nilai ini sejalan dan bahkan lebih tinggi dibandingkan dengan beberapa penelitian sebelumnya, seperti yang dilaporkan oleh (Yustinianus et al., 2022) dengan kadar polifenol total 1,45 mg GAE/g pada 24 genotipe kedelai, dan (Hasanah Uswatun et al., 2020) yang menemukan variasi fenolik antarvarietas kedelai Indonesia. Penggunaan etanol 70% sebagai pelarut dianggap optimal karena mampu melarutkan senyawa polar dan semipolar secara efektif tanpa menyebabkan degradasi termal, berkat proses maserasi dilakukan pada suhu kamar. Dengan demikian, metode ini tidak hanya sederhana dan ekonomis, tetapi juga menghasilkan rendemen ekstrak dengan kandungan polifenol yang signifikan, mendukung efektivitasnya untuk aplikasi penelitian dan pengembangan produk berbasis kedelai.

Maserasi dipilih karena kesederhanaannya, tidak membutuhkan peralatan kompleks, serta dapat meminimalkan degradasi termal senyawa fenolik yang umumnya sensitif terhadap panas. Hasil ekstraksi menunjukkan bahwa etanol 70% mampu menghasilkan rendemen ekstrak yang cukup tinggi dengan kandungan polifenol total signifikan. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa penggunaan etanol berair (50–80%) merupakan kondisi optimal untuk mengekstrak polifenol dari kedelai maupun legum lainnya karena mampu menembus matriks sel dan melarutkan senyawa polar maupun semi-polar.

ISSN(P): 2088-2246
ISSN(E): 2684-7345

Faktor lain yang berpengaruh dalam proses ekstraksi adalah ukuran partikel, rasio sampel terhadap pelarut, waktu, dan suhu ekstraksi. Dalam penelitian ini, simplisia kedelai dihaluskan terlebih dahulu untuk memperbesar luas permukaan kontak dengan pelarut. Proses maserasi dilakukan pada suhu kamar sehingga degradasi termal polifenol dapat dihindari. Teknik ini juga memungkinkan difusi senyawa bioaktif berjalan lebih optimal dengan agitasi ringan selama perendaman (Yudiono, 2023).

Dengan demikian, metode ekstraksi yang digunakan terbukti efektif untuk memperoleh polifenol total dari kacang kedelai. Hasil ini mendukung temuan bahwa maserasi dengan etanol 70% merupakan pendekatan sederhana namun efisien dalam mengekstraksi polifenol, serta relevan digunakan untuk aplikasi penelitian maupun pengembangan produk berbasis kedelai.

Polifenol merupakan kelompok senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada kacang kedelai (*Glycine max L.*) dan dikenal memiliki aktivitas antioksidan tinggi. Penentuan kadar total polifenol (*Total Phenolic Content*, TPC) pada penelitian ini dilakukan dengan metode Folin–Ciocalteu, yang bekerja berdasarkan mekanisme reduksi reagen oleh gugus hidroksil aromatik dari senyawa fenolik, menghasilkan warna biru yang dapat diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 765 nm. Nilai TPC dinyatakan sebagai mg gallic acid equivalent (GAE)/g sampel kering berdasarkan kurva standar asam galat.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kacang kedelai yang diperoleh melalui maserasi etanol 70% memiliki kadar polifenol total sebesar 7,941 ± 0,230 ± SD mg GAE/g. Nilai ini mengindikasikan bahwa kacang kedelai mengandung senyawa fenolik dalam jumlah yang signifikan. Keberadaan polifenol ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa biji kedelai mengandung berbagai fenolik termasuk isoflavon, flavonoid, dan asam fenolat yang berperan penting dalam aktivitas antioksidan (Ma et al., 2022; Choi et al., 2021).

Jika dibandingkan dengan literatur, nilai TPC kedelai dalam penelitian ini berada dalam kisaran yang dilaporkan oleh Ramli et al. (2022) yang mendapatkan kadar polifenol total 1,45 mg GAE/g pada 24 genotipe kedelai, dan Hasanah et al. (2019) yang menemukan variasi fenolik antarvarietas kedelai Indonesia. Perbedaan nilai ini kemungkinan dipengaruhi oleh faktor varietas, kondisi lingkungan tumbuh, tahap kematangan biji, serta metode ekstraksi.

Metode Folin–Ciocalteu, meskipun sensitif, memiliki keterbatasan karena juga dapat bereaksi dengan senyawa pereduksi nonfenolik seperti asam askorbat dan beberapa gula. Namun, metode ini tetap menjadi standar yang dapat diandalkan untuk estimasi total polifenol, terutama pada studi pendahuluan. Penggunaan etanol 70% sebagai pelarut juga berkontribusi terhadap tingginya ekstraksi polifenol karena sifatnya yang mampu melarutkan senyawa polar dan semipolar secara efektif

Tabel 1. Hasil Uji Kadar Polifenol Total Kacang Kedelai

Sampel	Kadar Total Polifenol (mg GAE/g) ± SD	Metode Ekstraksi	Pelarut
Kacang Kedelai	7,941 ± 0,230*	Maserasi	Etanol 70%

ISSN(P): 2088-2246
ISSN(E): 2684-7345

Berdasarkan hasil pengujian kadar polifenol total dengan menggunakan analisis statistik SPSS, hasilnya yaitu uji normalitas menunjukkan data terdistribusi normal (Asymp. Sig. = 0,072 > 0,05) dan uji homogenitas varians (Levene's Test) memperlihatkan data bersifat homogen (Sig. = 0,432 > 0,05). Analisis One-Way ANOVA menghasilkan nilai signifikansi 0,000 (p < 0,05).

Pengujian aktivitas antioksidan dalam penelitian ini dilakukan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dengan vitamin C sebagai kontrol. Metode DPPH banyak digunakan karena sederhana, sensitif, dan mampu menilai kemampuan suatu senyawa dalam menangkap radikal bebas melalui mekanisme donasi hidrogen atau elektron. Vitamin C dipilih sebagai kontrol positif karena memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dan stabil, sehingga menjadi standar umum dalam pengujian antioksidan.

Tabel 2. Hasil Pengukuran % Inhibisi Pembanding Vitamin C dan Pengukuran Nilai IC_{50}

Konsentrasi (µl/mL)	% Inhibisi		
	Rep.1	Rep.2	Rep.3
2	20,915	19,477	17,516
4	24,575	24,575	23,79
8	38,300	38,300	38,169
12	51,895	51,111	51,111
18	64,183	64,052	63,79
Regresi Linear	y = 2,8260x + 15,1047	y = 2,8628x + 14,3103	y = 2,9525x +12,8923
Korelasi (r)	0,9942	0,9955	0,9937
Nilai IC_{50} (µl/mL)	12,347	12,466	12,568
		-	12,4603
		SD	0,1106
		%CV	0,8876

Hasil menunjukkan bahwa vitamin C menunjukkan peningkatan persentase penghambatan seiring dengan meningkatnya konsentrasi larutan. Nilai penghambatan tertinggi diperoleh pada konsentrasi 18 µL/mL, dengan rata-rata lebih dari 63%. Hubungan antara konsentrasi dan persentase penghambatan menunjukkan korelasi linier yang sangat baik dengan koefisien korelasi mendekati 1. Nilai IC50 untuk vitamin C berada pada kisaran 12 µL/mL, menunjukkan bahwa vitamin C memiliki kemampuan yang sangat kuat untuk menangkap radikal bebas hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya menurut Brand-Williams et al., (1995). Standar deviasi dan nilai %CV yang rendah juga menunjukkan bahwa metode pengujian ini memberikan hasil yang konsisten dan memiliki presisi yang baik.

ISSN(P): 2088-2246
ISSN(E): 2684-7345

Tabel 3. Hasil Pengukuran % Inhibisi Ekstrak Kacang Kedelai dan Pengukuran Nilai IC_{50}

Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi		
	Rep.1	**Rep.2**	**Rep.3**
20	16,370	17,005	17,385
40	32,868	28,299	28,807
80	43,527	37,309	37,817
120	53,680	53,807	51,522
180	62,817	62,563	60,152
Regresi Linear	y = 0,2705x + 18,0481	y = 0,2830x + 14,8893	y = 0,2618x +16,0940
Korelasi (r)	0,9585	0,9807	0,9799
Nilai IC_{50} (µl/mL)	118,121	124,067	129,511
		-	123,899
		SD	5,6968
		%CV	4,5979

Pada tabel 3 yaitu pengukuran % inhibisi ekstrak kacang kedelai, peningkatan konsentrasi sampel juga disertai dengan peningkatan persentase penghambatan. Persentase penghambatan radikal bebas tertinggi diperoleh pada konsentrasi 180 ppm dengan nilai rata-rata di atas 62%. Data regresi linier menunjukkan hubungan yang cukup kuat antara konsentrasi ekstrak dan aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Nilai IC50 untuk ekstrak kedelai ditentukan sebesar 123,899 µg/mL. Berdasarkan kategori aktivitas antioksidan, nilai ini menunjukkan bahwa ekstrak kedelai termasuk dalam kategori sedang. Temuan ini konsisten dengan penelitian sebelumnya oleh Tullah et al., (2023) yang melaporkan nilai IC_{50} pada kisaran serupa untuk ekstrak kedelai kuning menggunakan metode DPPH.

Perbedaan aktivitas antioksidan antara vitamin C dan ekstrak kedelai dipengaruhi oleh komposisi senyawa aktif yang terkandung dalam masing-masing bahan. Vitamin C adalah senyawa murni yang dapat secara langsung mendonorkan elektron untuk menstabilkan radikal bebas, sedangkan ekstrak kedelai merupakan campuran berbagai metabolit sekunder dengan konsentrasi dan aktivitas yang bervariasi. Meskipun aktivitas antioksidan ekstrak kedelai lebih rendah daripada vitamin C, hasil ini tetap menunjukkan potensi biologis senyawa fenolik dan isoflavon dalam kedelai sebagai antioksidan alami.

Aktivitas antioksidan ekstrak kedelai dalam penelitian ini diyakini terkait dengan adanya senyawa polifenol yang sebelumnya diidentifikasi melalui pengujian total polifenol. Senyawa fenolik diketahui memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas melalui gugus hidroksil yang dapat mendonorkan proton, sehingga menghambat reaksi oksidasi. Secara umum, semakin tinggi kandungan senyawa fenolik, semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya. Oleh karena itu, hasil penelitian ini menunjukkan adanya hubungan antara kandungan polifenol total dan kapasitas antioksidan ekstrak kedelai.

Selain dipengaruhi oleh kandungan senyawa aktif, aktivitas antioksidan juga dapat dipengaruhi oleh metode ekstraksi dan jenis pelarut yang digunakan. Penggunaan etanol 70% dalam penelitian ini dianggap cukup efektif karena dapat mengekstraksi senyawa polar dan semipolar, termasuk flavonoid dan isoflavon. Namun, variasi metode ekstraksi atau optimasi konsentrasi pelarut masih mungkin dilakukan untuk meningkatkan hasil senyawa bioaktif, sehingga meningkatkan aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

ISSN(P): 2088-2246
ISSN(E): 2684-7345

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kedelai memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami, meskipun aktivitasnya masih lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C yang digunakan sebagai acuan. Temuan ini mendukung pemanfaatan kedelai tidak hanya sebagai sumber protein nabati, tetapi juga sebagai bahan pangan fungsional yang berpotensi memberikan efek perlindungan terhadap stres oksidatif. Kemudian, tingginya kadar polifenol total menunjukkan bahwa kacang kedelai berpotensi besar sebagai sumber senyawa bioaktif dengan aktivitas antioksidan alami. Data ini penting untuk mendukung pengembangan kedelai tidak hanya sebagai sumber protein, tetapi juga sebagai bahan baku pangan fungsional dan penelitian farmakologi.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak kedelai (*Glycine max L.*) yang diperoleh dengan metode maserasi menggunakan etanol 70% sebagai pelarut ditemukan mengandung senyawa polifenol total dengan konsentrasi 7,941 ± 0,230 mg GAE/g. Hasil ini menunjukkan bahwa kedelai mengandung senyawa fenolik yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak kedelai mampu menghambat radikal bebas dengan nilai IC_{50} sebesar 123,899 µg/mL, yang termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan sedang. Aktivitas antioksidan diyakini terkait dengan adanya senyawa fenolik dan isoflavon dalam ekstrak kedelai. Meskipun kapasitas antioksidannya masih lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C sebagai acuan, ekstrak kedelai tetap memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan pangan fungsional atau sumber senyawa bioaktif alami. Secara keseluruhan, penelitian ini menunjukkan bahwa metode Folin–Ciocalteu dan metode DPPH dapat digunakan untuk mengevaluasi kandungan polifenol total dan aktivitas antioksidan pada kedelai. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan bagi penelitian lebih lanjut mengenai optimasi metode ekstraksi, pengujian parameter antioksidan lainnya, serta pemanfaatan kedelai di sektor pangan dan farmasi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada seluruh tim laboratorium dan rekan sejawat yang turut membantu dalam pelaksanaan analisis, khususnya pada tahap ekstraksi dan pengujian kadar polifenol total. Dukungan moral maupun teknis yang diberikan sangat berarti dalam penyelesaian penelitian ini hingga tersusunnya manuskrip.

DAFTAR PUSTAKA

Adolph, R. (2016). *Kriteria Dan Tata Laksana Registrasi Obat Tradisional*. *November*, 1–23.

AlJuhaimi, F., Babacan, R., Ahmed, I. A. M., Özcan, M. M., Uslu, N., & Karrar, E. (2024). The role of germinating, roasting and boiling on bioactive properties, fatty acid, phenolic components and biogenic element contents of soybean seeds. *International Journal of Food Science and Technology*, *59*(6), 3603–3612. https://doi.org/10.1111/ijfs.17094

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, *28*(1), 25–30. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5

Choi, Y. M., Yoon, H., Lee, S., Ko, H. C., Shin, M. J., Lee, M. C., Hur, O. S., Ro, N. Y., & Desta, K. T. (2020). Isoflavones, anthocyanins, phenolic content, and antioxidant activities of black soybeans (Glycine max (L.) Merrill) as affected by seed weight. *Scientific Reports*, *10*(1), 1–13. https://doi.org/10.1038/s41598-020-76985-4

ISSN(P): 2088-2246
ISSN(E): 2684-7345

Ciupei, D., Colişar, A., Leopold, L., Stănilă, A., & Diaconeasa, Z. M. (2024). Polyphenols: From Classification to Therapeutic Potential and Bioavailability. *Foods*, *13*(24), 1–36. https://doi.org/10.3390/foods13244131

Courtney, A. (2012). Formularies. *Pocket Handbook of Nonhuman Primate Clinical Medicine*, 213–218. https://doi.org/10.1201/b12934-13

Deorukhkar, A., & Ananthanarayan, L. (2021). Effect of thermal processing methods on flavonoid and isoflavone content of decorticated and whole pulses. *Journal of Food Science and Technology*, *58*(2), 465–473. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04555-7

Dominguez-López, I., Pérez, M., & Lamuela-Raventós, R. M. (2024). Total (poly)phenol analysis by the *Folin-Ciocalteu* assay as an anti-inflammatory biomarker in biological samples. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *64*(27), 10048–10054. https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2220031

Hakim, A. R., & Saputri, R. (2020). Narrative Review: Optimasi Etanol sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid dan Fenolik. *Jurnal Surya Medika*, *6*(1), 177–180. https://doi.org/10.33084/jsm.v6i1.1641

Hasanah Uswatun, S., W Diki, P., & Sari Nitta, N. (2020). Total Flavonoid Levels In Various Varieties of Soybean (Glycine max) In Indonesia. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, *10*(2), 132–138. www.journal.uniga.ac.id

Jadhav, S., & Nirval, M. (2019). Effect of soaking and boiling soybean on quality parameters of soy flour. *The Pharma InnovationJournal*, *8*(6), 1298–1301. https://www.thepharmajournal.com/archives/?year=2019&vol=8&issue=6&ArticleId=7283

Pérez, M., Dominguez-López, I., & Lamuela-Raventós, R. M. (2023). The Chemistry Behind the *Folin-Ciocalteu* Method for the Estimation of (Poly)phenol Content in Food: Total Phenolic Intake in a Mediterranean Dietary Pattern. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *71*(46), 17543–17553. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c04022

Prasetyo, E., Kiromah, N. Z. W., & Rahayu, T. P. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Terhadap Ekstrak Etanol Kulit Buah Durian (Durio zibethinnus L.) dari Desa Alasmalang Kabupaten Banyumas. *Jurnal Pharmascience*, *8*(1), 75. https://doi.org/10.20527/jps.v8i1.9200

Rahayu, Y. R., & Nani, R. (2022). *Jurnal Gema Pustakawan*. *10*(1), 62–74.

Solikah, W. Y. (2024). Standarisasi Ekstrak Etanol Biji Pala (Myristica fragrans Houtt). *INPHARNMED Journal (Indonesian Pharmacy and Natural Medicine Journal)*, *7*(2), 74. https://doi.org/10.21927/inpharnmed.v7i2.3877

Spréa, R. M., Finimundy, T. C., Calhelha, R. C., Pires, T. C. S. P., Prieto, M. A., Amaral, J. S., & Barros, L. (2024). Comprehensive analysis of soybean (Glycine max L.) by-products: Nutritional value, phenolic composition, and bioactive properties. *Food Bioscience*, *62*(October). https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.105382

Sun, S., Liu, Z., Lin, M., Gao, N., & Wang, X. (2024). Polyphenols in health and food processing: antibacterial, anti-inflammatory, and antioxidant insights. *Frontiers in Nutrition*, *11*(August), 1–10. https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1456730

Tullah, T. V., Yanti, E. F., Tinggi, S., Kesehatan, I., Bangsa, H., & Jember, U. (2023). *Penetapan Kadar Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kacang kedelai Kuning (Glycine max L .) Dengan Metode DPPH*. *6*(2), 31–39.

Yamashita, Y., Nakamura, A., Nanba, F., Saito, S., Toda, T., Nakagawa, J., & Ashida, H. (2020). Black soybean improves vascular function and blood pressure: A randomized, placebo controlled, crossover trial in humans. *Nutrients*, *12*(9), 1–14. https://doi.org/10.3390/nu12092755

Yudiono, K. (2023). Aktivitas antioksidan, total polifenol, total flavonoid, dan sifat sensoris inovasi tempe kedelai dengan substitusi tepung daun kelor. *Agrointek*, *17*(4), 746–754. https://doi.org/10.21107/agrointek.v17i4.17146

ISSN(P): 2088-2246
ISSN(E): 2684-7345

Yusnawan, E., & Utomo, J. S. (2021). Mikroanalisis Kandungan Senyawa Fenolik Total Ekstrak Biji Kedelai dengan Reagen *Folin-Ciocalteu*. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*, *1*(1), 73. https://doi.org/10.21082/jpptp.v1n1.2017.p73-81

Yustinianus, R. R., Wunas, J., Rifai, Y., & Ramli, N. (2022). Curcumin Content in Extract of some Rhizomes from Zingiberaceae Family. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, *4*(1), 15–19.