

Optimization of Ethanol-Water Solvent System for Total Flavonoid Extraction from Okara

Reny Salim ✉, Tuty Taslim, Irene Puspa Dewi, dan Verawaty

Akademi Farmasi Prayoga Padang
Jl. Sudirman no 50, Padang-Sumatera Barat.

Info Artikel

Diterima: 9-04-2026

Disetujui: 26-05-2026

Dipublikasikan: 03-08-2026

Keywords:

okara
isoflavon
flavonoid ekstraksi
optimasi pelarut

Abstrak

Okara yang merupakan ampas dari olahan kacang kedelai mengandung metabolit sekunder flavonoid, tepatnya isoflavone. Pengolahan okara sebagai bahan baku pangan telah cukup banyak diusahakan namun jumlah okara yang diproduksi setiap harinya melebihi batas pengolahan menjadi produk bermanfaat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar total flavonoid dari serbuk okara kering yang diekstrak dari variasi pelarut etanol-air dan karakterisasi kadar air, sari larut air dan sari larut etanol sebagai simplisia yang layak. Okara kering diekstraksi secara maserasi menggunakan rasio pelarut etanol-air (v/v) yaitu 1:2 dan 2:1. Kadar flavonoid total yang diperoleh untuk rasio pelarut etanol-air (1:2) sebesar $676,88 \pm 15,66 \mu\text{g/g}$ serbuk okara kering dan pelarut etanol-air (2:1) sebesar $137,87 \pm 0,53 \mu\text{g/g}$ serbuk okara kering. Hasil yang didapatkan ini mengindikasikan pelarut etanol yang kadar airnya lebih tinggi mampu meningkatkan kadar isoflavon yang terekstrak.

Abstract

Okara, an agro-industrial by-product of soybean processing, is a potential source of flavonoids, particularly isoflavones. However, its large scale production often exceeds current utilization, resulting in its underexploitation. This study investigates the effect of ethanol-water solvent ratios on the total flavonoid content of dried okara powder and includes physicochemical characterization of the raw material. Extraction was carried out by maceration using ethanol-water mixtures (v/v) of 1:2 and 2:1. The total flavonoid content was $676.88 \pm 15.66 \mu\text{g/g}$ dry weight for the 1:2 solvent system and $137.87 \pm 0.53 \mu\text{g/g}$ dry weight for the 2:1 solvent system. These findings demonstrate that increasing the proportion of water in the solvent system enhances the extraction efficiency of flavonoids from okara.

Pendahuluan

Beberapa negara yang menggunakan kacang kedelai sebagai salah satu sumber makanan mempunyai masalah dalam hal pengolahan ampas dari hasil olahan kacang kedelai. Ampas dari pengolahan kacang kedelai menjadi tahu atau susu kedelai dikenal dengan nama okara. Okara ini memiliki nilai gizi yang tinggi. Okara mengandung metabolit seperti isoflavone, lignans, phytosterol, coumestans, saponins, dan phytates (Asghar & Et.al., 2023). Okara banyak dimanfaatkan sebagai pakan ternak namun karena jumlah okara yang diproduksi dari pengolahan jauh lebih besar dari kebutuhan maka ini menjadi masalah. Berdasarkan hasil beberapa penelitian diketahui bahwa okara yang bernilai nutrisi tinggi ini mempunyai masalah dalam hal kadar air yang tinggi, rasa yang kasar, dan mempunyai bau kacang yang tidak sedap (Li & Et.al., 2023).

Di Indonesia okara diolah sebagai campuran tepung pembuatan kue dilakukan oleh Arisandi, 2022 memberikan hasil kesukaan oleh responden pada campuran tepung okara : tepung terigu sebesar 1:1 (Arisandi & Dkk., 2022). Upaya pemanfaatan tepung okara lain sebagai bahan dasar makanan yang mempunyai manfaat antioksidan bagi remaja obesitas dalam bentuk snack bar telah dilakukan Adiari, 2017. Hasil yang diberikan menunjukkan penerimaan terbesar (85%) pada formula okara : beras hitam 2:1 (Adiari & Dkk, 2017). Selain itu, peningkatan fungsi okara sebagai bahan pelindung probiotik di saluran cerna dengan konsentrasi 1% dan 3% pada susu kedelai memberikan ketahanan yang lebih baik daripada 5% selama 35 hari penyimpanan (Yogeswara & Dkk., 2014) Penelitian pemanfaatan okara dalam industri makanan ini dilakukan berkaitan dengan keberadaan senyawa yang bermanfaat sebagai nutrisi bagi makhluk hidup terutama manusia.

Okara kaya akan serat pangan dan protein, serta mengandung senyawa bioaktif seperti isoflavone yang berkontribusi terhadap manfaat kesehatannya. Isoflavon beserta serat pangan dan protein pada okara diketahui mempunyai manfaat yang luas sebagai modulasi kekebalan tubuh, meningkatkan kepadatan mineral tulang (Harahap & Et.al., 2024), dan mengurangi keparahan depresi dan paru-paru akut (Li & Et.al., 2023) mengurangi risiko penyakit kardiovaskular, obesitas, penyakit jantung, hipertensi, kanker payudara, kolesterol (Suzuki & Banna, 2021). Isoflavon kedelai ditemukan terutama sebagai glikosida pada kacang kedelai dan dalam makanan kedelai yang tidak difermentasi. Isoflavon pada olahan kacang kedelai yang difermentasi ditemukan dalam bentuk aglikon, yang merupakan hasil metabolisme enzim β glukosidase dalam mengubah glikosida isoflavon menjadi aglikon. Isoflavon yang ditemukan sebagai glikosida (daidzin dan genistin) sama baiknya dalam bentuk aglikon (daidzein dan genistein) (Xiao & Et.al., 2015). Hasil penelitian Richelle, 2002 memberikan informasi bahwa hidrolisis glikosida isoflavone menjadi aglikon yang dilakukan tidak meningkatkan bioavailabilitas isoflavon pada manusia (Richelle & Et.al., 2002). Peningkatan kadar aglikon isoflavone dalam susu kedelai fermentasi yang dilakukan oleh Wei, 2007 terjadi sebesar (62-96)%, jenis isoflavonnya adalah genistein dan daidzein (Wei & Et.al., 2007). Okara kering mengandung 50% serat makanan, 25% protein dan 10% lipid. Penelitian terhadap kemampuan serat okara dalam mengatasi efek hipoglikemik diketahui okara mengandung 58,60% serat pangan total dan 55,63% serat pangan tidak larut serta 1,91% serat makanan larut. Serat makanan okara tersebut adalah arabinosa, galaktosa, xilosa dan asam galakturonat (Kamble & Rani, 2020). Kandungan serat ini mampu menggantikan tepung terigu sebagai bahan pembuat mie, roti kukus atau roti dengan rasa dan kualitas yang

mirip dengan makanan pembanding dalam mempertahankan nilai indeks glikemik pada penderita diabetes (Tian, 2025).

Nutrisi lain yang terkandung pada okara adalah protein berupa asam amino esensial sekitar (28-30)%, lemak berupa asam lemak tak jenuh ganda sekitar (8-10)%, dan sejumlah nutrisi kecil lainnya seperti pati, gula, kalium, dan sejumlah vitamin B. Sejumlah kecil kelompok vitamin B ini mampu meningkatkan pencernaan dan menjadikan okara sebagai salah satu sumber protein nabati yang berbiaya rendah (Li & Et.al., 2012). Hal lain yang tidak kalah penting dalam okara adalah serat sekitar 50%. Jenis serat yang terkandung dalam okara ada dua, yaitu mudah larut dan tidak mudah larut. Serat makanan berupa karbohidrat yang tidak dapat dipecahkan dan diserap oleh tubuh manusia, tetapi memiliki sejumlah manfaat bagi kesehatan (Tian & Et.al., 2024). Pemanfaatan polisakarida pada okara yang dicampur dengan kitosan telah dilaporkan oleh Moon (2021) sebagai enkapsulasi quercetin. Hasilnya menunjukkan peningkatan aktivitas biologis yang lebih baik dibandingkan quercetin dalam keadaan bebas (Moon & Et.al., 2021). Selain itu juga dimanfaatkan sebagai enkapsulasi β -karoten, besi sulfat menggunakan zein sebagai eksipien. Hasil yang diberikan meningkatkan penyerapan dan bioavailabilitas kedua zat aktif tersebut (Kharel & Et.al., 2021).

Manfaat senyawa yang dimiliki okara telah banyak dilakukan penelitian dan dibuatkan reviewnya namun dalam penelitian tersebut belum ada yang mengamati jenis dan kadar metabolit okara setelah dikeringkan dan dikemas pada wadah. Hal ini menjadi hal yang cukup penting mengingat bahwa okara diproduksi dalam jumlah besar dan tidak mungkin diolah sekaligus. Hal lain juga berkenaan dengan penggunaan peralatan dan kondisi labor memberikan hasil yang berbeda dengan kondisi masyarakat sehingga ini memberikan peluang untuk meneliti karakter, jenis dan kandungan metabolit yang ditemukan pada okara yang telah dikeringkan dan disimpan dalam wadah yang kering. Jadi penelitian ini dirancang dengan tujuan untuk mendapatkan data karakter (kadar air, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol) dan identifikasi jenis metabolit sekunder dari serbuk okara. Selain itu, dari penelitian sebelumnya juga diketahui bahwa okara mengandung isoflavon, maka diselidiki pelarut yang dapat menghasilkan kadar flavonoid total yang optimal melalui variasi rasio volume etanol-air. Harapannya, data penelitian ini nantinya dapat digunakan untuk pengembangan okara sebagai bahan baku yang bermanfaat bagi pangan ataupun suplemen secara lebih luas.

Metode

Penelitian ini menggunakan peralatan adalah timbangan digital, mesin penggiling, ayakan no 60 mesh, gelas kimia (50, 100, 250) mL, corong, 1 set destilasi Sterling Bidwell, gelas ukur 100 mL, kurs porselen, desikator, plat tetes, tang kurs, lumpang dan alu, tabung reaksi, pipet tentukur (1, 2, 5) mL, labu ukur (10 dan 100) mL, ball filter, vortex, spektrofotometer UV-Vis T70.

Penelitian ini menggunakan bahan kimia adalah aluminium foil, kapas, kain flannel, kertas saring Whatmann no 41, merkuri (II) klorida (Merck), kalium iodide (Merck), bismuth (III) nitrat (Merck), asam nitrat pekat (SmartLab), padatan iodin (Merck), asam klorida pekat (SmartLab), asam asetat glasial (SmartLab), asam sulfat pekat (SmartLab), serbuk magnesium (Merck), norit, ammonia pekat (SmartLab),

kloroform(Bratco), toluene(Bratco), etanol 96%(Bratco), serbuk kuersetin(Sigma Aldrich), aluminium klorida (Merck), kalium asetat (Merck).

Pembuatan Okara

Sampel penelitian adalah serbuk okara yang diperoleh dari ampas pengolahan susu kedelai industri rumah tangga sehingga selesai diperas okara langsung ditebarkan dalam nampan secara merata kemudian dijemur sinar matahari langsung yang bersuhu sekitar (32-33)°C. Pada saat matahari tidak ada lagi okara dibawa masuk dan diletakan pada tempat yang kering dan cukup panas (di bagian luar atas kulkas). Lakukan penjemuran sinar matahari langsung hingga okara menggumpal dan warna mengalami sedikit perubahan menjadi sedikit coklat atau kuning. Okara yang sudah kering disimpan dalam kotak plastik bersih dan tertutup rapat pada kondisi ruang yang kering dan hangat. Okara kering dhaluskan dengan herb grinder dan diayak dengan ayakan no 60 Mesh kemudian simpan dalam wadah yang bersih.

Karakterisasi Serbuk Okara

Parameter kelayakan serbuk okara diamati dari kadar air, kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol. Metode penentuan kadar air digunakan adalah metode destilasi azeotropic dengan toluena sebagai pelarut organik yang tidak bercampur, yaitu sebanyak 7 gram serbuk okara dicampur dengan 100 mL toluena jenuh pada alat Dean-Stark. Sampel dipanaskan mulai suhu rendah selama 45 menit lalu naikan suhunya lebih tinggi selama 60 menit. Campuran uap air-toluena dikonsentrasikan dan diukur secara volumetrik pada alat. Kadar air dihitung menggunakan persamaan (1) melalui penentuan faktor distilasi (2). Faktor distilasi ditentukan mencampurkan 3 mL aquades dengan 100 mL toluena jenuh pada alat Dean-Stark kemudian dipanaskan seperti penentuan kadar air pada serbuk okara (Indonesia, 2020).

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{volume air terbaca}}{\text{massa simplisia}} \times \text{faktor distilasi} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{Faktor distilasi} = \frac{\text{volume air yang didestilasi}}{\text{volume air yang terdestilasi}} \quad (2)$$

Kadar sari larut air ditentukan dengan modifikasi cara kerja di Farmakope Herbal Indonesia, yaitu menimbang 5 gram serbuk okara dalam botol kaca yang sudah ditarakan. Tambahkan 100 mL air jenuh kloroform (2,5 mL kloroform dicukupkan dengan air hingga bervolume 100 mL) kemudian diaduk sekali-kali menggunakan stirrer dalam 6 jam pertama dan diamkan selama 18 jam. Setelah itu saring dengan kertas saring Whatmann No 1 corong Buchner lengkap pompa vakum ke erlenmeyer yang sudah ditarakan kemudian dipindahkan ke cawan penguap yang juga sudah ditarakan. Uapkan cairan pada penangas yang bersuhu 105°C hingga kering lalu simpan pada desikator selama 15 menit. Timbang. Setelah itu panaskan lagi selama 1 jam pada suhu 105°C. Dinginkan pada desikator. Timbang. Catat massanya dan hitung perubahan massa yang dimiliki. Jika sudah mencapai bobot tetap atau selisih berat maksimal 0,0005 gram maka dapat dihentikan. Kadar sari larut etanol ditentukan dengan modifikasi cara kerja di Farmakope Herbal, yaitu menimbang 5 gram serbuk okara didalam botol kaca yang sudah ditarakan. Tambahkan 100 mL etanol aduk selama 1 jam dengan magnetic stirrer kemudian diamkan selama 1 jam. Ulangi pengadukan sebanyak 2 kali seperti sebelumnya. Jika sudah diaduk selama 3 kali maka didiamkan selama 18 jam. Setelah

itu saring dengan kertas saring Whatmann No 1 ke dalam erlenmeyer yang sudah ditarakan kemudian dipindahkan ke cawan penguap yang juga sudah ditarakan. Uapkan cairan pada penangas yang bersuhu 105°C hingga kering lalu simpan pada desikator selama 15 menit. Timbang. Setelah itu panaskan lagi selama 1 jam pada suhu 105°C. Dinginkan pada desikator. Timbang. Catat massanya dan hitung perubahan massa yang dimiliki. Jika sudah mencapai bobot tetap atau maksimal selisih berat 0,0005 gram maka dapat dihentikan. Persamaan yang digunakan untuk menghitung kadar pada persamaan (3).

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\% \quad (3)$$

Skrinning Fitokimia Serbuk Okara

Reagen penguji (tabel 1) yang digunakan dibuat sendiri oleh peneliti menggunakan bahan kimia analitik (Merck) dan aquades. Acuan pembuatan berdasarkan Standard Pharmacognostic Methods yang ditulis oleh Trease dan Evan's Pharmacognosy (Evans, 2009) dan Harbone Phytochemical Methods dengan sedikit modifikasi.

Tabel 1. Pembuatan Reagen Skrinning Fitokimia

Nama Reagen	Cara Pembuatan
Reagen Mayer	Larutan A dibuat dari 0,34 gram merkuri (II) klorida yang dilarutkan dalam aquades yang bervolume 15 mL. Larutan B dibuat dari 1,25 gram kalium iodida pada ke dalam aquades 2,5 mL sebagai larutan B. Campurkan kedua larutan dan tambahkan aquades hingga bervolume 25 mL.
Reagen Dragendroff	Larutan A dibuat dari 2 gram bismuth (III) nitrat dilarutkan dalam 5 mL asam nitrat pekat. Larutan B dibuat dari 6,8 gram KI dilarutkan dalam 12,5 mL air suling. Kedua larutan dicampurkan dan didiamkan sampai memisah sempurna, ambil bagian yang jernih.
Reagen Bouchardat	Zat A. 0,5 gram iodin padat. Zat B. Larutan iodin dalam 1 gram KI dilarutkan dalam 25 mL aquades. Larutkan iodine padat dalam larutan KI tersebut.
Reagen asam klorida 10%	Pipet 2,7 mL larutan Pipet 2,7 mL larutan asam klorida pekat untuk diencerkan ke dalam labu ukur 10 mL.
Reagen Amonia 5%	Pipet 5 mL larutan ammonia pekat (25%) lalu masukan ke dalam labu ukur 25 mL. Tambahkan aquades hingga tanda batas dan aduk hingga tercampur.
Reagen besi (III) klorida 1%	Serbuk besi (III) klorida sebanyak 1 gram dilarutkan dalam 100 mL aquades.

Serbuk okara sebanyak 5 gram digerus dengan 5 mL ammonia 5% kemudian tambahkan 20 mL kloroform lanjut gerus kembali. Saring hasil gerusan untuk diletakan dalam botol kaca 100 mL. Tambahkan 10 mL asam klorida 10% kemudian kocok selama 1-2 menit lalu amati pemisahan yang terjadi. Ambil lapisan asam (atas) (bobot jenis 1,05 gram/mL) untuk dilakukan uji alkaloid dengan reagen Mayer (positif ditandai dengan terbentuknya endapan putih/krem), Dragendroff (positif ditandai dengan terbentuknya endapan orange), dan Bouchardat (positif ditandai dengan terbentuknya endapan merah kecoklatan). Lapisan kloroform (bawah) (1,49 gram/mL) diuji terpenoid dengan terlebih dahulu menyaring cairan lapisan menggunakan norit. Hasil saringan yang menetes dari norit diletakan pada lubang 1, 2, 3 plat tetes untuk uji steroid pada lubang 1 ditambahkan 2 tetes asam sulfat pekat (positif ditandai dengan pewarnaan biru dan lubang 2 ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat (positif ditandai dengan pewarnaan hijau) sedangkan uji terpenoid positif jika pada lubang 3 ditambahkan masing-masing 1 tetes asam sulfat pekat dan 1 tetes asam asetat anhidrat terbentuk pewarnaan merah atau coklat kemerahan (Shaikh, 2020).

Serbuk okara ditimbang sebanyak 2 gram dididihkan dengan aquades 100 mL selama 5 menit terbentuk ekstrak air. Ambil 2 mL ekstrak tersebut aduk kuat untuk mengamati pembentukan busa yang tidak hilang selama 10 menit (uji saponin). Ambil 2 mL ekstrak berikutnya untuk diuji flavonoid menggunakan campuran reagen asam klorida pekat dan serbuk magnesium, positif ditandai dengan pewarnaan merah-jingga sampai merah ungu. Lanjut 2 mL ekstrak lainnya untuk uji tanin menggunakan reagen besi (III) klorida 1%, positif ditandai dengan terbentuknya endapan biru gelap untuk tanin terhidrolisis dan endapan hijau untuk tanin kondensasi (Shaikh, 2020).

Maserasi Serbuk Okara (Jankowiak & Et.al., 2014)

Modifikasi cara maserasi serbuk okara yang dilakukan oleh Jankowiak, 2014. Serbuk okara 15,08 gram dimaserasi dengan 150 mL pelarut campur (etanol-air) rasio 2:1 dan 1:2 menggunakan stirrer dengan waktu pengadukan 2 jam di awal dan 1 jam setelah didiamkan 21 jam. Hasil maserasi disaring awal dengan kain flannel lalu dilanjutkan dengan penyaringan menggunakan kertas saring Whatmann no 1 dilengkapi corong Buchner dan pompa vakum. Ampas dari hasil penyaringan diremaserasi dengan cara yang sama sebanyak 2 kali. Hasil maserasi dikumpulkan dan diuapkan dengan rotary evaporator suhu 40°C sampai berbentuk ekstrak semi kental. Ekstrak semi kental diuapkan pelarutnya menggunakan waterbath pada suhu 40°C hingga berbentuk ekstrak kental. Timbang berat ekstrak dengan menggunakan botol vial yang telah ditarakan.

Penentuan Kadar Flavonoid Total (Chen & Et.al., 2020)

Kadar flavonoid total dalam ekstrak okara ditentukan menggunakan reagen Aluminium Klorida 10% dan kalium asetat 1 M. Penggunaan kedua reagen ini dalam penentuan kadar flavonoid sudah umum, sederhana dan akurat. Larutan standar flavonoid yang digunakan adalah kuersetin 100 ppm, dibuat dari 0,01 g serbuk kuersetin (Sigma Aldrich) dilarutkan dengan etanol 96% dalam labu ukur 100 mL. Konsentrasi deret larutan kuersetin yang membuat persamaan regresi linier adalah (15, 20, 25, 30, 35) ppm merupakan pengenceran dari 100 ppm dalam labu ukur 10 mL.

Pengukuran absorbansi sampel dan larutan dilakukan pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari kompleks aluminium-kuersetin yaitu 441 nm. Proses pereaksiaian dimulai dari penyedotan 1,5 mL standar quersetin atau ekstrak dicampur dengan 1,5 mL etanol 96%; 0,1 mL $AlCl_3$ 10%; 0,1 mL KCH_3COO 1 M kemudian cukupkan volume hingga tanda batas dengan aquades. Aduk kemudian diamkan selama 30 menit. Lakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 441 nm. Penentuan kadar flavonoid total menggunakan persamaan regresi linier untuk mendapatkan konsentrasi yang ekuivalen dengan senyawa flavonoid murni yang digunakan (kuersetin). Besarnya konsentrasi yang diperoleh dari persamaan regresi linier digunakan untuk menghitung kadar flavonoid total (persamaan 4). Kadar yang didapat dikonversikan dalam tiap gram serbuk kering yang diekstrak (persamaan 5)

$$TFC (\mu\text{g/g ekstrak}) = \frac{c \times v \times fp}{m} \quad (4)$$

Makna lambang dari persamaan 4, yaitu TFC = kadar flavonoid total, c = kesetaraan kuersetin ($\mu\text{g/mL}$), v = volume total ekstrak, fp = faktor pengenceran, m = massa ekstrak (g).

$$TFC (\mu\text{g/g sampel}) = TFC (\mu\text{g/g ekstrak}) \times \frac{\text{massa ekstrak total}}{\text{massa serbuk}} \quad (5)$$

Hasil dan Pembahasan

Kacang kedelai sebanyak 500 gram diolah menjadi susu kedelai menghasilkan ampas kedelai yang dikenal dengan nama okara. Okara dijemur dibawah matahari langsung sampai kering yang ditandai dengan penggumpalan dan warna okara dari putih menjadi sedikit kuning. Okara digiling menjadi serbuk okara dilakukan karakterisasi terhadap parameter kadar air, kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol (**tabel 2**)

Tabel 2. % Hasil Karakterisasi Okara

No	Parameter	% Hasil
1	Kadar Air	6,51
2	Kadar Sari Larut Air	6,06
3	Kadar Sari Larut Etanol	5,96

Tabel 2. karakterisasi simplisia okara yang dijadikan sampel mempunyai kadar air yang memenuhi standar kelayakan sebagai suatu simplisia (kurang dari 10%). Kadar sari larut air lebih besar dari kadar sari larut etanol 96%. Hasil ini dapat menjadi gambaran kepolaran pelarut yang mampu memberikan kadar ekstrak okara yang lebih optimal.

Tabel 3. Data Skrinning Fitokimia Serbuk Okara

	Golongan Senyawa Metabolit Sekunder					
	Alkaloid	Flavonoid	Terpenoid	Steroid	Tanin	Saponin
Perubahan Kimia Keberadaan	bening	bening	Coklat kemerahan	bening	hijau	Busa selama 10 menit
	-	-	+	-	+	+

Tabel 3. skrining fitokimia memperlihatkan serbuk okara mengandung terpenoid (fitosterol), tanin dan saponin (soy saponin). Menurut literatur, keberadaan tanin mengandalkan uji besi (III) klorida 1% belum spesifik sehingga perlu dilakukan uji konfirmasi tambahan yaitu uji vanillin-HCl dan uji gelatin untuk memastikannya. Sementara itu, pada penelitian ini informasi yang dapat diberikan terkait perubahan kimia yang teramati saat ekstrak air okara dengan reagen besi (III) klorida bereaksi menunjukkan kemungkinan besar keberadaan asam fenolik, isoflavon dalam bentuk glikosida dan fenolik terikat. Pernyataan ini diperkuat dengan tidak teridentifikasinya isoflavon dari ekstrak air saat skrining serbuk karena isoflavon dari okara sebagian besar dalam bentuk glikosida (genistin, daidzin) bersifat semipolar hingga polar sehingga ekstrak air mungkin hanya menarik sedikit saja. Untuk uji flavonoid menggunakan larutan asam pekat dan serbuk magnesium reagen ini tidak selalu reaktif, ini terbukti dari penelitian ekstrak air okara pada penelitian ini (Messina & Et.al., 2025). Dalam serbuk okara, keberadaan saponin teridentifikasi dalam bentuk saponin triterpenoid yang mempunyai sifat relatif stabil terhadap proses perebusan, sehingga dalam penelitian ini berhasil diidentifikasi. Kesesuaian hasil skrining metabolit sekunder terpenoid pada penelitian ini dengan penelitian sebelumnya. Pada penelitian yang telah dilakukan peneliti lainnya diinformasikan bahwa jenis terpenoid nonpolar adalah fitosterol (β -sitosterol) dari serbuk okara dapat diekstrak menggunakan pelarut nonpolar seperti n-heksana atau kloroform (Canaan & Et.al., 2022).

Ekstrak Okara

Serbuk okara diekstraksi secara maserasi dengan variasi pelarut memberikan data massa ekstrak dan persen rendemen yang disajikan pada **tabel 4**.

Tabel 4. Massa dan % Rendemen Ekstrak

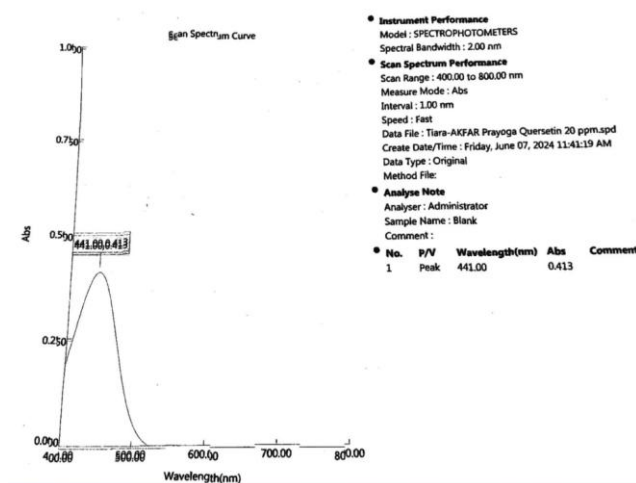
Variasi Pelarut (etanol-air)	Massa (gram)	% Rendemen
1:2	4,7909	31,77
2:1	1,4774	9,80

Persen rendemen yang diperoleh dari massa serbuk yang sama namun rasio v/v berbeda adalah berbeda. Persen rendemen menyatakan perbandingan massa ekstrak yang diperoleh terhadap massa awal bahan. Penelitian ini menggunakan pelarut etanol-air dengan 2 variasi yaitu 1:2 dan 2:1. Hasilnya persen rendemen 1:2 lebih besar dari 2:1, yang artinya pelarut dengan polaritas lebih tinggi (kandungan air lebih besar) mampu mengekstrak senyawa dalam okara lebih efektif. Senyawa yang terekstrak diduga didominasi oleh senyawa polar seperti protein, karbohidrat dan beberapa senyawa fenolik sederhana lainnya yang telah dilaporkan pada penelitian sebelumnya terdapat dalam jumlah cukup tinggi pada okara (Privatti & Et.al., 2024).

Kadar Flavonoid

Ekstrak okara variasi pelarut etanol : air dihitung kadarnya berdasarkan nilai absorbansi yang terukur pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari pereaksian larutan standar kuersetin dengan reagen aluminium klorida 10% dan kalium asetat 1 M. Panjang gelombang maksimum yang terukur dari

pereaksian larutan standar disajikan pada **gambar 1**. Nilai absorbansi deret larutan kuersetin disajikan pada **tabel 5**. Nilai yang diperoleh dijadikan sebagai data untuk mendapatkan persamaan regresi linier.

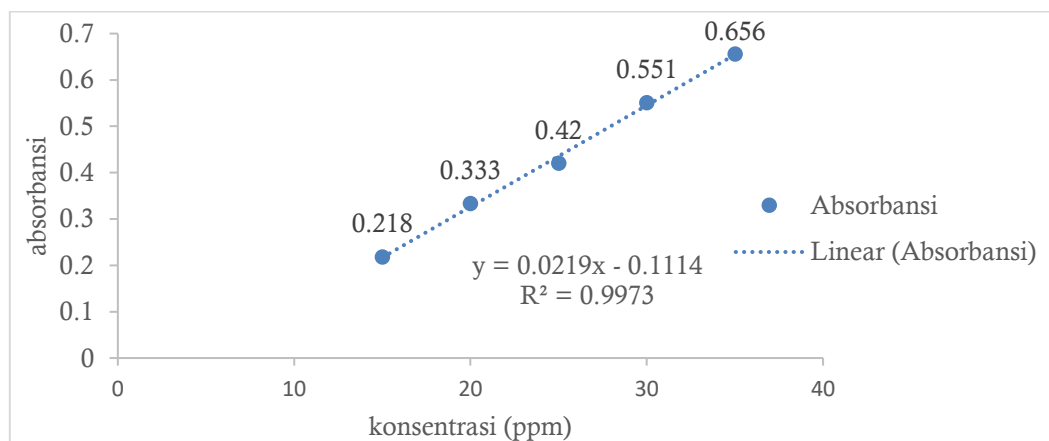


Gambar 1. Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin-AlCl₃

Tabel 5. Data Absorbansi Deret Standar Kuersetin-AlCl₃

No	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1	15	0,218
2	20	0,333
3	25	0,42
4	30	0,551
5	35	0,656

Nilai absorbansi yang diperoleh dari pengukuran ini digunakan untuk membuat kurva yang menyatakan hubungan konsentrasi dengan absorbansi (**gambar 2**). Hubungan yang diinginkan berupa hubungan linier sehingga menghasilkan persamaan regresi linier dengan nilai R^2 mendekati 1 (Fahira, Ananto, & Hajrin, 2021).



Gambar 2. Kurva Linier Kompleks Deret Standar Kuersetin-AlCl₃

Kedua ekstrak okara sebanyak 1,22 gram dilarutkan dengan pelarutnya dan digunakan sebagai induk untuk menentukan kadar flavonoid dalam ekstrak okara. Ekstrak etanol-air (2:1) dilarutkan dalam labu ukur 10 mL sedangkan ekstrak etanol-air (1:2) dalam labu ukur 50 mL. Pelarutan kembali ekstrak dengan pelarut ekstraksinya membutuhkan volume yang berbeda. Ekstrak etanol-air (2:1) mudah larut dalam pelarutnya karena menghasilkan ekstrak yang lebih mudah terdispersi dibandingkan dengan ekstrak etanol-air yang mengandung banyak polisakarida, protein dan komponen fenolik. Saat pelarut diuapkan, senyawa tersebut bisa mengumpal membentuk matriks padat akibat interaksi antarmolekul seperti ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan kompleks polisakarida-protein. Gejala yang teramati dalam penelitian ini sesuai dengan informasi dari penelitian okara sebelumnya (Ningrum & Et.al., 2025).

Larutan dari kedua ekstrak mempunyai nilai absorbansi > 1 sehingga perlu diencerkan memenuhi hukum Lambert-Beer. Larutan ekstrak etanol-air 2:1 dilakukan pengenceran sebanyak 25 kali (diambil 1 mL lalu diencerkan dalam labu ukur 25 mL) sedangkan larutan ekstrak etanol-air 1:2 sebesar 2,5 kali (diambil 4 mL lalu diencerkan dalam labu ukur 10 mL) (Mamovei & Et.al., 2021). Hasil pengukuran absorbansi ekstrak okara variasi pelarut disajikan pada **tabel 6**. Nilai ini diperoleh dari hasil pengukuran absorbansi terhadap sampel menggunakan spektrofotometri UV-Visible pada panjang gelombang maksimum. Setiap sampel dilakukan pengulangan 3 kali.

Tabel 6. Data Absorbansi Ekstrak Okara

Variasi Pelarut	Absorbansi Pengulangan		
	1	II	III
Etanol : Air			
1:2	0,343	0,355	0,334
2:1	0,039	0,039	0,04

Nilai setiap absorbansi digunakan untuk menghitung konsentrasi ekstrak okara yang setara dengan μ gram ekuivalen kuersetin menggunakan persamaan regresi linier. Hasil perhitungan konsentrasi dimasukan ke dalam persamaan total flavonoid konsentrasi untuk mendapatkan kadar flavonoid dalam tiap gram serbuk okara kering (**tabel 7**).

Tabel 7. Nilai Konsentrasi dan Kadar Flavonoid Ekstrak

Variasi Pelarut	Konsentrasi (µg/mL)			Kadar Flavonoid (µg/g serbuk okara)			Kadar flavonoid total (µg/g serbuk okara)
	Pengulangan			Pengulangan			
	1	II	III	I	II	III	
Etanol : Air							
1:2	20,75	21,30	20,34	675,40	693,23	662,02	676,88±15.66
2:1	6,87	6,87	6,91	137,87	137,87	138,79	137,87±0,53

Kadar flavonoid total pada **tabel 7** memperlihatkan adanya pengaruh kadar flavonoid total akibat variasi rasio pelarut ekstraksi etanol-air. Terlihat bahwa ekstrak etanol-air (v/v) 1:2 mempunyai kadar flavonoid

total (676,88 µg/g serbuk okara kering) lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol-air (v/v) 2:1 (137,87 µg/g serbuk okara kering). Kadar yang berbeda ini disebabkan oleh sifat flavonoid utama yang terdapat pada okara mulai dari semipolar hingga polar, golongan isoflavon seperti genistein, daidzein, dan glycitein, dalam bentuk glikosida maupun aglikon, sehingga mudah larut dalam pelarut polar seperti campuran etanol-air 1:2 (Ferreira, 2025).

Tabel 8. Data Absorbansi Sari (Air & Etanol)

Pelarut	Absorbansi		
	Pengulangan		
	I	II	III
Air	0,215	0,238	0,227
Etanol 96%	0,445	0,619	-

Tabel 9. Nilai Konsentrasi dan % Kadar Flavonoid Sari

Pelarut	Konsentrasi (µg/mL)			Kadar Flavonoid (µg/g massa serbuk okara)			Kadar rata-rata (µg/g massa serbuk okara)
	Pengulangan			Pengulangan			
	1	II	III	I	II	III	
Air	14,90	15,95	15,45	29,78	31,88	30,87	30,84±1,05
Etanol 96%	25,41	33,35	-	0,89	1,24	-	1,06±0,25

Penelitian ini juga mengukur kadar flavonoid dari hasil penentuan kadar sari larut air dan larut etanol dengan cara yang sama seperti ekstrak etanol-air (**tabel 8 dan 9**). Dalam penelitian ini, okara yang diekstrak masing-masing massanya 5,0050 gram. Pengukuran ini juga dilakukan pengulangan namun pada kadar sari larut etanol 96% hanya dilakukan 2 kali. Kadar flavonoid total tiap gram massa serbuk kering okara sari larut air lebih besar dari sari larut etanol 96%. Kadar ini sejalan dengan kadar flavonoid total pada variasi rasio pelarut etanol-air yang mengindikasikan bahwa pelarut ekstraksi yang cocok untuk mengekstrak flavonoid dari okara untuk hasil yang lebih optimal adalah pelarut yang polaritasnya lebih tinggi.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Jankowiak, 2014 berkenaan dengan ekstraksi isoflavone dari okara basah menggunakan pelarut air dan alkohol-air. Jankowiak menemukan kadar isoflavone etanol 70% sebesar 1018 ± 43 µg/g ekstrak dan ekstrak air sebesar 479 ± 83 µg/g ekstrak. Massa okara basah yang diekstrak oleh Jankowiak menggunakan rasio pelarut-sampel 20:1. Pada penelitian ini menggunakan okara kering dengan rasio pelarut-sampel 10:1. Pelarut yang digunakan mulai dari etanol-air (1:2 dan 2:1), air dan etanol 96%. Hasil penelitian ini mendapatkan kadar flavonoid total secara berurutan $676,88 \pm 15,66$ µg/g; $137,87 \pm 0,53$ µg/g; $30,84 \pm 1,05$ µg/g; $1,06 \pm 0,25$ µg/g. Kadar ini menunjukkan bahwa rasio pelarut yang kadar airnya tinggi berbanding lurus dengan peningkatan kadar flavonoid total sehingga dapat disimpulkan bahwa flavonoid dalam sampel lebih mudah terekstraksi dalam pelarut yang lebih polar dibandingkan pelarut dengan konsentrasi etanol tinggi. Saat melakukan penentuan kadar flavonoid dari ekstrak yang memiliki etanol lebih banyak, peneliti mengalami kesulitan karena adanya endapan yang terbentuk saat $AlCl_3$

direaksikan dengan flavonoid. Ini sesuai dengan pernyataan dalam artikel Jankowiak bahwa isoflavon terikat dengan protein saat terekstrak dengan alkohol air sehingga terbentuk endapan dan sulit untuk memisahkannya. Adapun pemisahan tersebut memberikan hasil jenis isoflavon yang tidak terikat dengan protein yang terbaca oleh alat melalui nilai absorbansi senyawa kompleks $AlCl_3$ -flavonoid (Jankowiak & Et.al., 2014). Penelitian lainnya berkenaan dengan kadar flavonoid okara dari kedelai telah dilakukan juga oleh Ibidapo, 2019 di Lagos-Nigeria melalui pereaksian dengan aluminium klorida menggunakan metode kolorimetri. Okara berasal dari kedelai TGX 15 dalam bentuk serbuk (massa 15 gram) diekstrak dengan methanol (200 mL) selama 24 jam. Ekstrak yang diperoleh dengan konsentrasi 10 mg/mL sebanyak 1 mL (100 μ g/mL) direaksikan dengan aluminium klorida 10% dan pencampurannya memberikan data kadar flavonoid sebesar 48,42 mg/100 gram okara (Ibidapo & Et.al., 2019). Kadar yang didapatkan oleh Ibidapo lebih tinggi dari kadar flavonoid yang diperoleh dari penelitian ini. Hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan kepolaran pelarut yang digunakan, okara sebagai sampel dibuat sendiri oleh (Ibidapo & Et.al., 2019), metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pengadukan selama 24 jam.

Simpulan

Karakterisasi serbuk okara dari segi kadar air (6,5%) memenuhi standar yang telah ditetapkan yaitu kurang dari 10%. Jenis karakter lainnya, yaitu kadar sari larut air (6,06%) dan sari larut etanol (5,96%), menunjukkan kecenderungan penggunaan pelarut polar sebagai pelarut ekstraksi prioritas. Kecenderungan ini selaras dengan hasil pengukuran kadar flavonoid total ekstrak okara pada pelarut etanol-air 1:2 (676,88 $\pm$ 15,66 μ g/g serbuk kering) lebih tinggi daripada pelarut etanol-air 2:1 (137,87 $\pm$ 0,53 μ g/g serbuk kering).

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung dalam pelaksanaan penelitian terutama Yayasan Prayoga Padang.

Daftar Referensi

- Adiari, & Dkk. (2017). Pengembangan pangan fungsional berbasis tepung okara dan tepung beras hitam (*Oryza sativa* L. indica) sebagai makanan selingan bagi remaja obesitas. *Jurnal Gizi Indonesia*, 6(1), 51–57. <https://doi.org/10.14710/jgi.6.1.51-57>
- Arisandi, F., & Dkk. (2022). Pemanfaatan Tepung Ampas Sari Kedelai (Okara) Sebagai Bahan Alternatif Pembuatan Kue untuk Mengurangi Pencemaran Lingkungan di Kabupaten Tapin propinsi Kalimantan Selatan. *Enviro Science*, 18(1), 134–139.
- Asghar, & Et.al. (2023). Valorization and food applications of okara (soybean residue): A concurrent review. *Food Science & Nutrition*, 11(December 2022), 3631–3640. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3363>

- Canaan, J. M. M., & Et.al. (2022). Soybean processing waste and their potential in the generation of high value added products. *Food Chemistry*, 373(Part B), 131476. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131476>
- Chen, & Et.al. (2020). The micronization process for improving the dietary value of okara (soybean residue) by planetary ball milling. *LWT*, 132(July), 109848. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109848>
- Evans, W. C. (2009). *Trease and Evans' pharmacognosy (16th ed.)*. Saunders Elsevier.
- Ferreira, R. S. B. (2025). Towards sustainable soybean waste management: Bio-based solvent extraction of isoflavones for food and cosmetic applications. *Separation and Purification Technology*, 372(November 2025).
- Harahap, & Et.al. (2024). Effect of Tempeh and Daidzein on Calcium Status, Calcium Transportes, and Bone Metabolism Biomarkers in Ovariectomized Rats. *Nutrients*, 16(651), 1–25.
- Ibidapo, & Et.al. (2019). Bioactive components of malted millet (*Pennisetum glaucum*), Soy Residue “okara” and wheat flour and their antioxidant properties. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 1886–1898. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1689998>
- Indonesia, K. K. R. (2020). *Farmakope Indonesia (Edisi VI)*.
- Jankowiak, & Et.al. (2014). The potential of crude okara for isoflavone production. *Journal of Food Engineering*, 124, 166–172. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.10.011>
- Kamble, & Rani. (2020). Bioactive components , in vitro digestibility , microstructure and application of soybean residue (okara) : a review. *Legume Science*, 2(1), 1–9. <https://doi.org/10.1002/leg3.32>
- Kharel, S., & Et.al. (2021). Valorizing okara waste into nutritionally rich polysaccharide/protein-extracts for co-encapsulation of β -carotene and ferrous sulphate as a potential approach to tackle micronutrient malnutrition. *Journal of Functional Foods*, 87(104749), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104749>
- Li, & Et.al. (2012). Isolation and structural characterisation of okara polysaccharides. *Molecules*, 17(1), 753–761. <https://doi.org/10.3390/molecules17010753>
- Li, Y., & Et.al. (2023). Effects of fermentation with different probiotics on the quality, isoflavone content, and flavor of okara beverages. *Journal Food Science & Nutrition*, 00, 1–15.
- Mamovei, M., & Et.al. (2021). An empirical investigation of deviations from the Beer–Lambert law in optical estimation of lactate. *Scientific Reports*, 11(12734), 1–9.
- Messina, M., & Et.al. (2025). Perspective : Iso flavones — Intriguing Molecules but Much Remains to Be Learned about These Soybean Constituents. *Advances in Nutrition*, 16(5), 100418. <https://doi.org/10.1016/j.advnut.2025.100418>

- Moon, & Et.al. (2021). Nano-encapsulated quercetin by soluble soybean polysaccharide/chitosan enhances anti-cancer, anti-inflammation, and anti-oxidant activities. *Journal of Functional Foods*, 87(104756), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104756>
- Ningrum, A., & Et.al. (2025). Valorization of soybean residues (Okara): technofunctional properties of okara hydrolyzates using papain. *International Journal of Food Properties*, 28(1), 1–21. <https://doi.org/10.1080/10942912.2025.2519838>
- Privatti, R. T., & Et.al. (2024). Saline as solvent and ethanol-based purification process for the extraction of proteins and isoflavones from wet okara. *Food Chemistry*, 443(15 Juni 2024). Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.138605>
- Richelle, & Et.al. (2002). Hydrolysis of isoflavone glycosides to aglycones by β -glycosidase does not alter plasma and urine isoflavone pharmacokinetics in postmenopausal women. *Journal of Nutrition*, 132(9), 2587–2592. <https://doi.org/10.1093/jn/132.9.2587>
- Shaikh, J. R. (2020). Qualitative tests for preliminary phytochemical screening : An overview. *International Journal of Chemical Studies*, 8(2), 603–608. Retrieved from <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834%0AAbstract>
- Suzuki, & Banna. (2021). Improving Diet Quality for Chronic Disease Prevention With. *American Journal of Lifestyle Medicine*, 15(1), 1–5. <https://doi.org/10.1177/1559827620960099>.
- Tian, E. a. (2025). Modified Okara improves Noodle Properties : Effects on digestibility , structure , and functionality. *Current Research in Food Science*, 11(June), 101122. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2025.101122>
- Tian, & Et.al. (2024). Effect of modified okara insoluble dietary fibre on the quality of yoghurt. *Food Chemistry: X*, 21(October 2023), 101064. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.101064>
- Wei, & Et.al. (2007). Using of Lactobacillus and Bifidobacterium to product the isoflavone aglycones in fermented soymilk. *International Journal of Food Microbiology*, 117(1), 120–124. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.02.024>
- Xiao, & Et.al. (2015). Enhancement of the antioxidant capacity of soy whey by fermentation with Lactobacillus plantarum B1-6. *Journal of Functional Foods*, 12, 33–44. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.10.033>
- Yogeswara, A., & Dkk. (2014). Pemanfaatan Limbah Ampas Susu Kedelai Sebagai Bahan Pelindung Probiotik L. acidophilus FNCC 0051 Selama di Saluran Cerna in Vitro. *Seminar MIPA Universitas Hindu Indonesia*, (September), 1–9.