

Perbandingan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Labu Kuning dengan Variasi Pelarut

Anasthasia Pujiastuti¹, Agitya Resti Erwiyani², Istianatus Sunnah³

^{1,2,3}Program Studi Farmasi, Universitas Ngudi Waluyo

Korespondensi Email: thasia_anas@yahoo.com

ABSTRAK

Labu kuning (*Cucurbita maxima* D.) memiliki banyak senyawa bioaktif, terutama pada daging buahnya. Senyawa bioaktif dalam buah labu kuning antara lain flavonoid. Ekstraksi flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Proses ekstraksi memerlukan pelarut yang dapat menyari senyawa aktif yang terdapat dalam suatu tanaman. Pelarut yang dapat digunakan untuk ekstraksi antara lain etanol 96%, etanol 70%, etil asetat dan n-heksan. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak buah labu kuning dari 4 jenis pelarut. Metode ekstraksi pada penelitian ini yaitu maserasi menggunakan 4 variasi pelarut. Uji kualitatif dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Uji kuantitatif untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak labu kuning menggunakan metode ABTS. Hasil penelitian pada uji kualitatif menghasilkan retensi faktor (Rf) berkisar antara 0,3 – 0,82 yang berarti ekstrak buah labu kuning mengandung flavonoid. Hasil pengujian kuantitatif kadar flavonoid total dalam ekstrak buah labu kuning dengan pelarut etanol 96% (93,017 mgQE/g), etanol 70% (29,799 mgQE/g), etil asetat (135,546 mgQE/g), n-hexana (125,833 mgQE/g). Aktivitas antioksidan dengan parameter nilai IC₅₀ pada ekstrak buah labu kuning dengan pelarut etanol 70% (67,85 ppm), etanol 96% (69,00 ppm), etil asetat (84,79 ppm) dan n-hexana (99,81 ppm) termasuk kategori kuat. Kadar flavonoid total ekstrak buah labu kuning tertinggi yaitu dengan pelarut etil asetat. Aktivitas antioksidan terbaik ditunjukkan oleh ekstrak buah labu kuning dengan pelarut etanol 70% menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 67,85 ppm.

Kata Kunci: Labu Kuning, Variasi Pelarut, Flavonoid, Antioksidan

ABSTRACT

Comparison of Total Flavonoid Levels and Antioxidant Activity of Pumpkin Extract with Solvent Variations

*Pumpkin (*Cucurbita maxima* D.) has many bioactive compounds, especially in the flesh. Bioactive compounds in pumpkin fruit include flavonoids. Extraction of flavonoids can be done using the maceration method. The extraction process requires a solvent that can extract the active compounds contained in a plant. Solvents that can be used for extraction include 96% ethanol, 70% ethanol, ethyl acetate, and n-hexane. This study aimed to compare the total flavonoid content and antioxidant activity of pumpkin extract from 4 types of solvents. The extraction method in this study is maceration using 4 variations of solvents. The qualitative test was carried out using the Thin Layer Chromatography (TLC) method. Quantitative test to determine the antioxidant activity of pumpkin extract using the ABTS method. The results of the qualitative test resulted in the retention factor (Rf) ranging from 0.3 to 0.82, which means that pumpkin extract contains flavonoids.*

Perbandingan Kadar Flavonoid ... Anasthasia Pujiastuti, Agitya Resti Erwiyani,
Istianatus Sunnah

Journal of Holistics and Health Sciences
Vol. 4, No. 2 September 2022

Quantitative test results of total flavonoid content in pumpkin extract with 96% ethanol (93.017 mgQE/g), 70% ethanol (29.799 mgQE/g), ethyl acetate (135.546 mgQE/g), n-hexane (125.833 mgQE/g). Antioxidant activity with parameter IC50 value on pumpkin extract with 70% ethanol (67.85 ppm), 96% ethanol (69.00 ppm), ethyl acetate (84.79 ppm), and n-hexane (99.81 ppm) as solvent included in the strong category. The highest total flavonoid content of pumpkin fruit extract was ethyl acetate solvent. The best antioxidant activity was shown by pumpkin fruit extract with 70% ethanol solvent yielding an IC50 value of 67.85 ppm.

Keywords: Pumpkin, Variation Solvent, Flavonoid, Antioxidant

PENDAHULUAN

Labu kuning (*Cucurbita maxima* Duchesne.) diketahui mengandung nutrisi dan senyawa bioaktif seperti fenolat, vitamin (termasuk vitamin β -karoten, vitamin A, vitamin B2, vitamin C, dan vitamin E), asam amino, karbohidrat, mineral (terutama kalium) dan flavonoid (Noelia *et.al*, 2011). Flavonoid merupakan salah satu senyawa fenol terbesar dalam tanaman yang tersusun oleh 15 atom karbon sebagai inti dasarnya (Parwata, 2016). Senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa flavonoid dapat ditemukan pada tanaman yang menghasilkan pigmen berwarna kuning, merah, oranye, biru, dan ungu dari buah, bunga, dan daun (Arifin & Ibrahim, 2018).

Berdasarkan struktur dasarnya aglikon flavonoid dibagi dalam beberapa golongan yaitu flavon, flavonol, isoflavon, katekin, flavanon, leukoantosianin, auron, kalkon dan dihidroflavonol. Banyaknya golongan pada senyawa flavonoid memungkinkan adanya beragam sifat kepolaran dari flavonoid. Senyawa flavonoid yang bersifat polar dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilformamida dan lain-lain (Arifin & Ibrahim, 2018). Senyawa flavonoid yang

bersifat non polar atau semi polar dapat diekstraksi dengan pelarut non polar dan semi polar.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, diketahui bahwa senyawa flavonoid dari buah labu kuning (*Cucurbita maxima* D.) dapat diekstrak menggunakan metode maserasi (Ayu, 2020). Maserasi merupakan metode penyarian yang paling sederhana dengan merendam simplisia atau bahan yang akan di ekstrak dalam pelarut yang sesuai, dilakukan beberapa kali pengadukan dan disimpan pada suhu kamar. Penelitian yang dilakukan oleh (Pratama, 2019) melakukan ekstraksi buah labu kuning dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% tetapi tidak melakukan penetapan kadar flavonoid total serta aktivitas antioksidan. Pelarut yang digunakan untuk proses maserasi disesuaikan dengan tingkat kepolaran senyawa yang akan di ekstrak dari suatu simplisia. Pelarut yang dapat digunakan untuk proses maserasi antara lain etanol (etil-alkohol), etil asetat dan n-heksan.

Berdasarkan latar belakang tersebut diketahui bahwa belum pernah dilakukan penelitian tentang kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak labu kuning dengan berbagai variasi pelarut. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang perbandingan kadar flavonoid

total dan aktivitas antioksidan ekstrak labu kuning (*Cucurbita maxima* D.) dengan menggunakan 4 jenis pelarut. Penggunaan pelarut yang berbeda dalam proses ekstraksi diharapkan dapat diketahui pengaruh pelarut terhadap kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

METODE

1. Desain Penelitian

Metode penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratorium dengan rancangan *Post Test Control Group Design*. Tahap pertama dilakukan ekstraksi buah labu kuning (*Cucurbita maxima* D.) untuk menghasilkan ekstrak kental. Tahap kedua adalah pengujian kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan dalam buah labu kuning (*Cucurbita maxima* D.).

2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah loyang, blender, gelas ukur, *beaker glass*, neraca analitis, kain flannel, rotary evaporator, panci stainless steel, spektrofotometer, pipet tetes, batang pengaduk, sendok tanduk, *yellow tip*, micropipette, oven, almari es, *Moisture Ballance*, pH meter, pH universal. Bahan yang digunakan yaitu buah labu kuning, etanol p.a., etanol 96%, etanol 70%, etil asetat, n-heksan, aquadest, plat silica gel GF₂₅₄, H₂SO₄ pekat, CH₃COOH, methanol, kuersetin, vitamin C, 2,2'-azino-bis(3etilbenzotiazolin)-6-asamsulfonat (ABTS).

3. Prosedur kerja

- a. Pembuatan ekstrak labu kuning
Buah labu kuning (*Cucurbita maxima* D.) diperoleh dari daerah Kopeng, Kabupaten Semarang. Buah labu kuning dikupas, daging buahnya

dicuci, dipotong kecil dan tipis, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 40 - 50°C. Buah labu kuning di blender menjadi serbuk simplisia. Serbuk simplisia diekstraksi menggunakan cara maserasi dengan 4 jenis pelarut yaitu etanol 70%, etanol 96%, etil asetat dan n-heksan. Proses maserasi pada tiap pelarut dilakukan secara terpisah dan tiap prosesnya dilakukan selama 5x24 jam. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dan dilanjutkan dengan *waterbath* hingga menghasilkan ekstrak kental buah labu kuning.

- b. Uji bebas etanol ekstrak labu kuning

Uji bebas etanol dilakukan dengan cara ekstrak buah labu kuning ditambah dengan H₂SO₄ pekat kemudian ditambah dengan CH₃COOH lalu dipanaskan. Hasil uji menunjukkan bebas etanol apabila tidak tercium bau ester (Kurniawati, 2015).

- c. Uji kualitatif

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak butanol : asam asetat : air (4:1:5). Fase diam sebelum digunakan diaktivasi terlebih dahulu pada suhu 105°C selama 30 menit. Ekstrak kental buah labu kuning sebelum ditotolkan, dilarutkan menggunakan etanol 96% supaya konsistensi ekstrak

menjadi sedikit cair, setelah itu ditotolkan pada plat fase diam menggunakan pipa kapiler. Fase diam selanjutnya dimasukkan dalam *chamber* yang berisi fase gerak yang sudah dijenuhkan. Fase diam selanjutnya dielusi kemudian dikeringkan dan diamati timbulnya bercak totolan sampel pada cahaya tampak, UV 254 nm dan 366 nm. Penampak bercak yang digunakan adalah uap ammonia dan FeCl_3 5%.

d. Uji kuantitatif

Uji kuantitatif kadar flavonoid total dilakukan dengan menggunakan pembanding kuersetin. Flavonoid total dinyatakan sebagai kuersetin equivalen per 100 gram bahan (mg QE/100 g) (Sudarmanto dan Suhartati, 2015). Uji kuantitatif dilakukan dengan cara:

i. Pembuatan larutan induk kuersetin

Pembuatan larutan induk kuersetin dilakukan dengan cara menimbang secara seksama lebih kurang 10 mg kuersetin kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan etanol p.a sampai tanda batas sehingga dihasilkan konsentrasi 100 ppm.

ii. Pembuatan larutan baku kuersetin

Larutan baku kuersetin dibuat dari larutan induk kuersetin konsentrasi 100 ppm. Larutan induk kuersetin diambil 2,5 mL, 5 mL dan 7,5 mL, masing-

masing ditambah dengan etanol p.a hingga 10 mL. Seri pengenceran larutan baku kuersetin dihasilkan dengan kadar berturut-turut 25, 50, 75 ppm.

iii. Penentuan *operating time* (OT)

Larutan baku kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 1 mL AlCl_3 2% dan 8 mL asam asetat 5%. Larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum teoritis 413 nm hingga diperoleh absorbansi yang stabil. Diamati kurva hubungan absorbansi, waktu, dan ditentukan *operating time*.

iv. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum (λ maks)

Larutan baku kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 1 mL AlCl_3 2% dan 8 mL asam asetat 5%. Dilakukan pembacaan dengan spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang 370-450 nm. Hasil panjang gelombang maksimum tersebut digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak buah labu kuning.

v. Penentuan kurva baku kuersetin

Larutan baku kuersetin dihasilkan dengan kadar berturut-turut 25, 50, 75 dan 100 ppm diambil sebanyak 1 mL tiap konsentrasi dan dimasukkan dalam tabung

reaksi. Selanjutnya ditambahkan dengan 1 mL AlCl_3 2% dan 8 mL asam asetat 5% dan didiamkan selama 19 menit berdasarkan hasil *operating time*. Dilakukan pengukuran absorbansinya pada panjang gelombang yang telah diperoleh yaitu pada 413 nm.

vi. Penentuan kadar flavonoid total

Penetapan kadar flavonoid total dimulai dengan membuat larutan uji dengan cara menimbang secara seksama lebih kurang 0,8 g ekstrak buah labu kuning, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan 25 mL etanol 70%. Campuran tersebut selanjutnya di ekstraksi selama 30 menit dengan pengaduk magnetik. Campuran yang telah diaduk disaring ke dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan etanol 70% melalui penyaring sampai tanda batas. Larutan uji pada tiap ekstrak dengan pelarut etanol 96%, etanol 70%, etil asetat dan N-Hexana dibuat dengan cara yang sama.

Prosedur pengujian kadar flavonoid total dengan mengambil 1 mL larutan uji tiap ekstrak buah labu kuning ke dalam tabung reaksi secara terpisah. Setiap larutan dalam tabung reaksi ditambahkan 1 mL AlCl_3 2% dan 8 mL asam asetat 5%. Setiap campuran larutan dalam

tabung reaksi dikocok dan didiamkan selama 19 menit pada suhu ruang sesuai *operating time*. Selanjutnya setiap larutan diukur serapannya pada panjang gelombang serapan maksimum. Larutan blanko dibuat dengan cara mencampurkan 1 mL AlCl_3 2% dan 8 mL asam asetat 5% hingga homogen. Pengukuran panjang gelombang blanko dilakukan dengan cara yang sama. Penentuan nilai flavonoid total dihitung berdasarkan rumus (Mukhriani *et al.*, 2019):

$$\text{Flavonoid total} = \frac{c \cdot v \cdot fp}{g}$$

.....(1)

Keterangan :

c = konsentrasi sampel

v = volume ekstrak yang digunakan

fp = factor pengenceran

g = berat sampel

e. Uji aktivitas antioksidan dengan metode ABTS

i. Pembuatan Larutan ABTS
Sejumlah 36 mg ABTS ditimbang, dilarutkan dalam 10 mL *aquadest*. Diinkubasi selama 12 jam. Sebanyak 5,4 mg $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ditimbang dan dilarutkan dalam 10 mL *aquadest*. Diinkubasi dalam ruangan gelap suhu 22-24°C selama 12 jam – 16 jam sebelum digunakan. Larutan ABTS dan $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ dicampur dalam ruang gelap dan

dicukupkan volumenya dengan methanol pa sampai 50 mL (Mistriyani, *et al.*, 2018).

ii. Pengujian ABTS

Larutan ABTS dipipet sebanyak 1 mL dan dicukupkan volumenya sampai 5 mL dengan methanol pa dalam labu ukur. Larutan ini kemudian diukur dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 700-800 nm (Serlahwaty & Sevia, 2016). Penentuan *operating time* dilakukan dengan cara 1 mL larutan ABTS dicukupkan volumenya sampai 5 mL dengan metanol pa. Larutan tersebut kemudian di homogenkan dengan divortex 1 menit dan dibaca absorbansinya pada menit ke-1 sampai menit ke-30 menit pada panjang gelombang maksimal.

iii. Pengujian vitamin C

Sebanyak 2,5 mg vitamin C dilarutkan dalam 25 mL methanol p.a sehingga diperoleh konsentrasi stok 100 ppm. Dilakukan pengenceran larutan dengan konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm dan 5 ppm. Pembuatan larutan tersebut pada labu ukur 10 mL dan diencerkan dengan metanol p.a hingga tanda batas. Diambil 3 mL disetiap konsentrasi larutan sampel (vitamin C) dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah 3 mL ABTS dan dicukupkan dengan methanol pa pada

labu ukur 5 mL. Larutan dihomogenkan, kemudian ditunggu *operating time*. Setiap konsentrasi larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum (Sami dan Rahimah, 2016).

iv. Aktivitas antioksidan

ekstrak buah labu kuning Ekstrak buah labu kuning (*Cucurbita moschata* D.) sebanyak 10 mg dilarutkan dalam metanol pro analisis ad 10 mL dalam labu ukur sehingga diperoleh larutan stok 1000 ppm dan kemudian dibuat seri kadar dengan konsentrasi 60 ppm, 70 ppm, 80 ppm, 90 ppm dan 100 ppm. Pembuatan larutan tersebut sebanyak masing-masing konsentrasi, dimasukkan pada labu ukur 10 mL dan diencerkan dengan metanol p.a hingga tanda batas. Larutan uji dengan seri konsentrasi 60 ppm, 70 ppm, 80 ppm, 90 ppm dan 100 ppm dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 1 mL, kemudian larutan uji ditambahkan 3 mL larutan ABTS lalu dicukupkan volumenya sampai 5 mL dengan metanol pa. Campuran didiamkan selama waktu *operating time* yang diperoleh dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum (Sami dan Rahimah, 2016).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Buah labu kuning yang telah melalui tahap pembuatan simplisia dan menjadi serbuk buah labu kuning (*Cucurbita maxima D.*) selanjutnya diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan berbagai pelarut

yaitu etanol 96%, etanol 70%, etil asetat dan N-Hexana. Hasil ekstrak buah labu yang diperoleh memiliki konsistensi kental, berwarna coklat kemerahan, bau khas manis buah labu kuning. Hasil ekstrak buah labu kuning dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Ekstrak Buah Labu Kuning

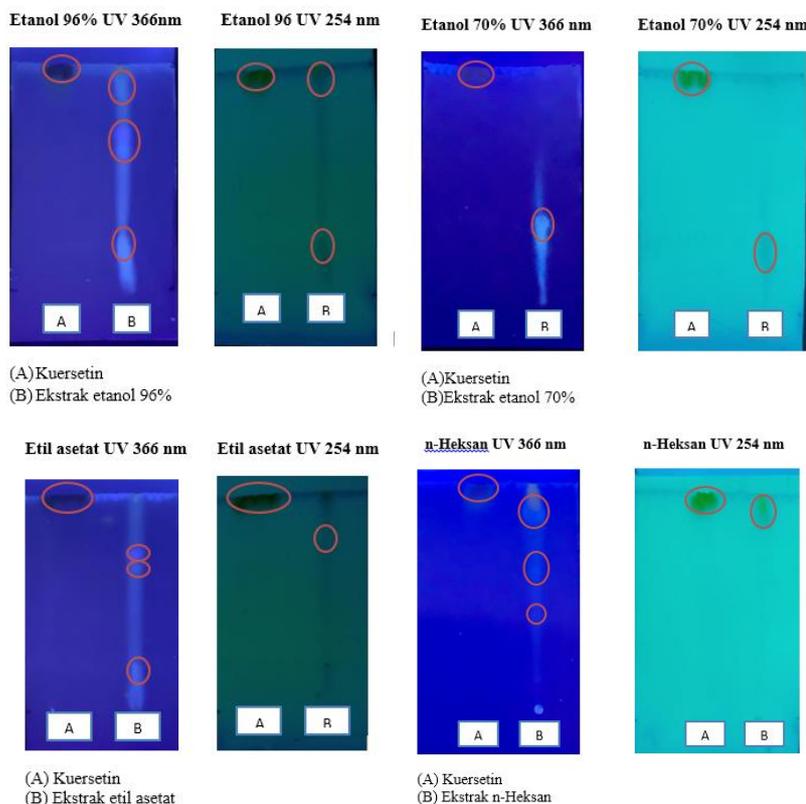
Bobot Simplisia (g)	Pelarut	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%b/b)	Karakteristik		
				Konsistensi	Warna	Bau
250	Etanol 96%	91	36,4	Kental	Coklat kehitaman	Bau Khas
250	Etanol 70%	76	30,4	Kental	Coklat kehitaman	Bau Khas
250	Etil asetat	54	21,6	Kental	Coklat kehitaman	Bau Khas
250	N-Hexana	39	15,6	Kental	Coklat kehitaman	Bau Khas

Berdasarkan tabel 1. diketahui bahwa semua ekstrak buah labu kuning yang dihasilkan nilai rendemennya lebih dari 10%. Hasil rendemen ekstrak buah labu kuning berturut-turut dari yang paling tinggi yaitu menggunakan pelarut etanol 96%, etanol 70%, etil asetat dan n-hexana.

Ekstrak buah labu kuning dengan pelarut etanol 96% dan etanol 70% selanjutnya dilakukan uji bebas etanol, untuk memastikan bahwa ekstrak yang dihasilkan tidak lagi mengandung pelarut. Berdasarkan hasil uji bebas etanol menggunakan H_2SO_4 pekat dan CH_3COOH diketahui bahwa ekstrak telah bebas

etanol. Pengujian bebas etanol menggunakan $K_2Cr_2O_7$ dan H_2SO_4 pada ekstrak etanol 96% dan etanol 70% dinyakan kedua ekstrak menunjukkan tidak terbentuk warna kuning yang berarti ekstrak tidak mengandung etanol.

Uji kualitatif merupakan identifikasi senyawa flavonoid pada ekstrak buah labu kuning yang dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak butanol : asam asetat : air (4:1:5). Hasil uji kualitatif dengan KLT dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil Uji Kualitatif Ekstrak Buah Labu Kuning

Berdasarkan hasil uji KLT bercak yang muncul dilakukan perhitungan nilai faktor retensi (Rf).

Nilai Rf hasil elusi ekstrak buah labu kuning dengan berbagai pelarut dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai Rf Hasil KLT Ekstrak Buah Labu Kuning

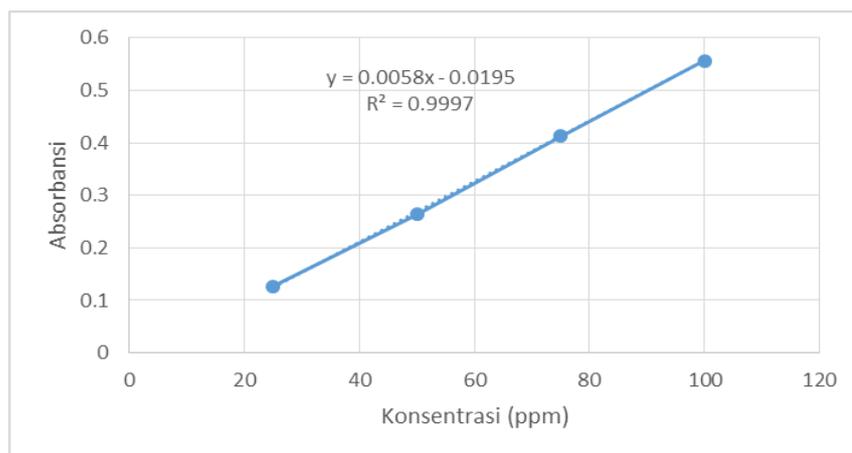
Sampel	Nomor Bercak	Nilai Rf	Warna Bercak	
			UV 254 nm	UV 366 nm
Baku Kuersetin	1	0,9	Ungu muda	Berfluoresensi biru muda
Ekstrak dengan pelarut etanol 96%	1	0,3		
	2	0,7	Ungu muda	Berfluoresensi biru muda
	3	0,74		
Ekstrak dengan pelarut etanol 70%	1	0,4	Ungu muda	Berfluoresensi biru muda
Ekstrak dengan pelarut etil asetat	1	0,34		
	2	0,72	Ungu muda	Berfluoresensi biru muda
	3	0,74		

Ekstrak dengan pelarut n-Hexana	1	0,32	Ungu muda	Berfluoresensi biru muda
	2	0,76		
	3	0,82		

Berdasarkan tabel 2. hasil KLT diketahui bahwa pada keempat ekstrak buah labu kuning menghasilkan nilai Rf flavonoid berkisar antara 0,28-0,83 sehingga dapat dipastikan bahwa ekstrak buah labu kuning mengandung flavonoid. Bercak yang dihasilkan pada ekstrak dengan pelarut etanol 96%, etil asetat dan n-Hexana yaitu 3 bercak, sedangkan pada pelarut 70% hanya menghasilkan 1 bercak. Nilai Rf baku kuersetin yaitu 0,9 dengan warna bercak yang dihasilkan yaitu ungu muda saat dilihat dibawah sinar UV 254 nm dan berfluoresensi biru muda pada UV 366 nm. Nilai Rf ekstrak buah labu kuning yang paling mendekati dengan nilai Rf baku kuersetin yaitu pada ekstrak dengan pelarut N-Hexana pada bercak ketiga yaitu sebesar 0,82.

Uji kuantitatif flavonoid total pada ekstrak buah labu kuning

dimulai dengan pengukuran panjang gelombang maksimum kuersetin menggunakan spektrofotometer UV-Vis dimulai dari panjang gelombang 350 – 450 nm. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum kuersetin diperoleh 413,50 nm. Hasil pengukuran senyawa flavonoid pada kuersetin stabil pada menit ke 19 hingga 30. Hal ini berarti larutan sampel dapat dilakukan pengujian pada menit ke 19 setelah pencampuran karena pada waktu itu proses reaksi telah mencapai kestabilan. Hasil absorbansi kurva baku kuersetin menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 413,50 nm dengan seri larutan 25, 50 dan 75 ppm dari larutan induk kuersetin 100 ppm. Grafik kurva baku kuersetin dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Grafik Kurva Baku Kuersetin

Berdasarkan gambar 2 diketahui bahwa konsentrasi keempat larutan baku kuersetin telah memenuhi persyaratan pada rentang

0,2-0,8. Hasil regresi linier diperoleh nilai $r^2 = 0,9997$, nilai $r = 0,9998$ dan persamaan garis $y = 0,0058x - 0,0195$. Hasil kadar flavonoid ekstrak

buah labu kuning dengan berbagai pelarut dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Kadar Flavonoid Ekstrak Buah Labu Kuning dengan Berbagai Pelarut

Sampel	Absorbansi	Rata-rata Absorbansi ± SD	Flavonoid Total (mgQE/g)	Rata-rata Flavonoid Total (mgQE/g) ± SD
Ekstrak dengan pelarut etanol 96%	0,519		92,845	
	0,525	0,520 ± 0,0046	93,879	93,017 ± 0,79*
	0,516		92,327	
Ekstrak dengan pelarut etanol 70%	0,152		29,569	
	0,157	0,153 ± 0,0032	30,431	29,799 ± 0,55*
	0,151		29,397	
Ekstrak dengan pelarut etil asetat	0,760		134,397	
	0,767	0,767 ± 0,0065	135,603	135,546 ± 1,12*
	0,773		136,638	
Ekstrak dengan pelarut N-Hexana	0,706		125,086	
	0,708	0,710 ± 0,0059	125,431	125,833 ± 1,01*
	0,717		126,983	

Keterangan : SD = Standar Deviasi

* = nilai signifikansi < 0,05 (p < 0,05)

Berdasarkan tabel 3 dapat diketahui bahwa rata-rata flavonoid total tertinggi berturut-turut dihasilkan oleh ekstrak dengan pelarut etil asetat, n-hexana, etanol 96% dan etanol 70%. Data kadar flavonoid total dari semua ekstrak kemudian dilakukan analisis statistik menggunakan SPSS 25. Uji normalitas dan homogenitas kadar flavonoid total ekstrak buah labu kuning dengan variasi pelarut menghasilkan nilai signifikansi > 0,05 yang berarti data terdistribusi normal dan homogen sehingga dilanjutkan dengan uji Anova. Hasil uji Anova kadar flavonoid total ekstrak buah labu kuning diperoleh

nilai signifikan 0,000 (p < 0,05). Analisis dilanjutkan dengan uji Post Hoc dan dihasilkan nilai signifikan 0,000 (p < 0,05). Hal ini berarti terdapat perbedaan yang signifikan antar kadar flavonoid total ekstrak buah labu kuning dengan 4 jenis pelarut yang digunakan.

Penentuan aktivitas antioksidan pada penelitian ini dilakukan dengan metode ABTS dengan mekanisme kerja menstabilkan senyawa radikal bebas dengan mendonorkan radikal proton. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak buah labu kuning dengan berbagai pelarut menggunakan kontrol positif vitamin C. Hasil

penentuan aktivitas antioksidan ekstrak buah labu kuning dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Labu Kuning

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)	Kategori
Vitamin C	1	0,308	29,19	4,88	Sangat kuat
	2	0,287	34,02		
	3	0,265	39,08		
	4	0,234	46,20		
	5	0,216	50,34		
Ekstrak dengan pelarut etanol 96%	60	0,316	42,34	69,00	Kuat**
	70	0,267	51,28		
	80	0,224	59,12		
	90	0,185	62,24		
	100	0,146	73,36		
Ekstrak dengan pelarut etanol 70%	60	0,294	46,91	67,85	Kuat**
	70	0,266	49,11		
	80	0,214	57,45		
	90	0,176	65,01		
	100	0,133	73,56		
Ekstrak dengan pelarut etil asetat	60	0,216	34,55	84,79	Kuat**
	70	0,193	41,52		
	80	0,171	48,18		
	90	0,149	54,85		
	100	0,122	56,97		
Ekstrak dengan pelarut n-Hexana	60	0,295	25,31	99,81	Kuat*
	70	0,281	28,86		
	80	0,267	32,40		
	90	0,220	44,30		
	100	0,191	51,65		

Keterangan : IC₅₀ = *inhibitory concentration 50*

* = nilai signifikansi < 0,05 (p < 0,05)

** = nilai signifikansi > 0,05 (p > 0,05)

Berdasarkan tabel 4 dapat diketahui bahwa konsentrasi sampel yang semakin tinggi menghasilkan nilai absorbansi yang semakin kecil dan % inhibisi semakin besar. Kontrol positif vitamin C dengan konsentrasi yang jauh lebih kecil daripada ekstrak labu kuning menghasilkan nilai *inhibitory concentration* (IC₅₀) yang

lebih kecil. Nilai IC₅₀ yang semakin kecil berarti memiliki aktivitas antioksidan yang semakin besar. Ekstrak buah labu kuning dengan pelarut etanol 70% menghasilkan nilai IC₅₀ yang paling kecil tetapi memiliki aktivitas antioksidan paling besar dibandingkan etanol 96%, etil asetat dan N-Hexana. Data aktivitas

antioksidan dari semua ekstrak buah labu kuning dilakukan analisis statistik menggunakan SPSS 25. Uji normalitas dan homogenitas aktivitas antioksidan ekstrak buah labu kuning dengan variasi pelarut menghasilkan nilai signifikansi $> 0,05$ yang berarti data terdistribusi normal dan homogen sehingga dilanjutkan dengan uji Anova. Hasil uji Anova aktivitas antioksidan ekstrak buah labu kuning diperoleh nilai signifikan $0,017$ ($p < 0,05$). Analisis dilanjutkan dengan uji Post Hoc untuk mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan ekstrak antar pelarut. Hasil uji Post Hoc diketahui bahwa terdapat perbedaan aktivitas antioksidan yang signifikan antar ekstrak buah labu kuning pelarut n-hexana dengan etanol 96% dengan nilai signifikansi $0,007$ ($p < 0,05$) serta dengan pelarut etanol 70% $p = 0,006$ ($p < 0,05$).

Pembahasan

Pada pembuatan simplisia buah labu kuning (*Cucurbita maxima* D.) dilakukan pengeringan dengan cara di bawah sinar matahari secara tidak langsung dengan ditutup kain berwarna hitam agar kandungan senyawa aktif pada buahnya tidak rusak oleh sinar matahari. Pengeringan dilakukan agar simplisia awet, dapat digunakan dalam jangka waktu yang lama, dan tidak terjadi kerusakan. Sampel yang telah dikeringkan dihaluskan sampai menjadi serbuk yang halus. Setelah itu dilanjutkan dengan proses pengilingan dan pengayakan. Proses pengayakan dilakukan untuk menyeragamkan ukuran partikel sesuai dengan yang diinginkan yang mana ukuran partikel akan berhubungan dengan efek fisiologinya (Desiari *et al.*, 2019).

Ukuran partikel serbuk yang dibuat menjadi lebih kecil akan mempermudah pelarut untuk berpenetrasi mengikat senyawa aktif yang terkandung didalam serbuk dengan jumlah yang lebih banyak. Ukuran partikel yang lebih kecil juga dapat mempengaruhi hasil ekstraksi karena laju ekstraksi juga akan meningkat apabila ukuran partikel semakin kecil yang akan mempengaruhi jumlah rendemen ekstrak yang diperoleh akan semakin banyak.

Berdasarkan tabel 1 diketahui bahwa semua ekstrak buah labu kuning yang dihasilkan nilai rendemennya lebih dari 10%. Menurut Handayani *et al.* (2016) rendemen yang dikatakan baik yaitu lebih dari 10% sehingga dilihat dari hasil ekstraksi buah labu kuning menandakan ekstrak yang diperoleh sudah optimal dan proses ekstraksi telah dilakukan dengan baik. Hasil rendemen dari suatu sampel sangat diperlukan karena untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi. Hasil rendemen ekstrak buah labu kuning berturut-turut dari yang paling tinggi yaitu menggunakan pelarut etanol 96%, etanol 70%, etil asetat dan n-Hexana. Hasil rendemen tersebut sesuai dengan penelitian (Vifta dan Advistasari, 2018) yang menyatakan bahwa penggunaan etanol 96% menghasilkan kadar total flavonoid tertinggi. Hasil rendemen ekstrak buah labu kuning dipengaruhi oleh tingkat kepolaran pelarut yang digunakan. Senyawa flavonoid yang bersifat polar dapat larut dalam pelarut polar. Etil asetat memiliki sifat mudah terbakar dan mudah larut dalam air. Etil asetat dapat digunakan sebagai pelarut dalam proses ekstraksi (Rowe, *et al.*, 2009).

Konstanta dielektrik dari etil asetat yaitu 6,02 yang menunjukkan polaritasnya lebih rendah daripada etanol, tetapi lebih tinggi dari pada n-heksana. Konstanta dielektrik n-heksana 1,89 menunjukkan tingkat kepolaran paling rendah yaitu bersifat non-polar. Etanol memiliki nilai konstanta dielektrik sebesar 24,30, yang berarti memiliki polaritas lebih tinggi dibandingkan etil asetat dan n-heksana (Sudarmadji, *et al.*, 1989). Polaritas etanol 70% lebih tinggi dibandingkan etanol 96% dikarenakan kandungan H₂O pada etanol 70% lebih banyak. Pelarut yang memiliki polaritas paling tinggi secara berurutan yaitu etanol 70%, etanol 96%, etil asetat dan n-hexana.

Ekstrak buah labu kuning dengan pelarut etanol 96% dan 70% yang dihasilkan tidak mengandung etanol berdasarkan hasil pengujian bebas etanol. Hal tersebut dibuktikan dengan tidak terciumnya bau ester pada ekstrak yang dihasilkan dan tidak terbentuk warna kuning sehingga dapat dipastikan bahwa ekstrak buah labu kuning yang dihasilkan tidak mengandung etanol. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Ikhsanudin and Mardhiyah, (2017) yang menyatakan bahwa jika larutan uji tidak mengandung etanol atau bebas etanol maka akan terbentuk warna campuran dari larutan ekstrak dan larutan kalium dikromat (K₂Cr₂O₇) yang ditambahkan asam sulfat (H₂SO₄), tetapi jika larutan mengandung etanol maka akan terbentuk warna biru.

Uji kualitatif yaitu identifikasi senyawa flavonoid pada ekstrak daging buah labu kuning dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak butanol : asam asetat : air (4:1:5).

Pemilihan fase gerak yang digunakan disesuaikan dengan sifat kepolaran dari flavonoid yang terdapat pada ekstrak daging buah labu kuning yaitu bersifat polar hal ini diketahui dari jumlah rendemen yang dihasilkan paling banyak dengan pelarut etanol, sehingga dengan polaritas yang sama dapat memberikan pemisahan yang baik. Fase diam sebelum digunakan diaktivasi terlebih dahulu pada suhu 105°C selama 30 menit untuk menghilangkan kadar air yang terdapat pada silika gel GF₂₅₄. Nilai R_f flavonoid berkisar antara 0,28-0,83 yang menegaskan adanya kandungan flavonoid (Harborne, 1996). Berdasarkan hasil KLT diketahui bahwa pada keempat ekstrak buah labu kuning menghasilkan nilai R_f flavonoid berkisar antara 0,28-0,83 sehingga dapat dipastikan bahwa ekstrak buah labu kuning mengandung flavonoid. Bercak yang dihasilkan pada ekstrak dengan pelarut etanol 96%, etil asetat dan N-Hexana yaitu 3 bercak, sedangkan pada pelarut 70% hanya menghasilkan 1 bercak. Nilai R_f baku kuersetin yaitu 0,9 dengan warna bercak yang dihasilkan yaitu ungu muda saat dilihat dibawah sinar UV 254 nm dan berfluoresensi biru muda pada UV 366 nm. Nilai R_f ekstrak daging buah labu kuning yang paling mendekati dengan nilai R_f baku kuersetin yaitu pada ekstrak dengan pelarut n-Hexana pada bercak ketiga yaitu sebesar 0,82. Nilai R_f menyatakan perbedaan jenis flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daging buah labu kuning. Faktor yang dapat mempengaruhi nilai R_f antara lain struktur kimia senyawa yang dipisahkan, polaritas fase diam dan fase gerak, kejenuhan bejana, suhu dan kesetimbangan (Rohman, 2009). Hasil KLT pada

ekstrak daging buah labu kuning dengan semua pelarut setelah disemprot ammonia dan FeCl_3 5% pada sinar UV 254 nm noda berwarna ungu muda dan pada pengamatan dibawah sinar UV 366 nm noda berfluoresensi biru muda. Menurut Rohman (2009), warna bercak yang termasuk dalam senyawa flavonoid yaitu apabila diamati di bawah sinar UV 366 nm sebelum disemprot dengan ammonia terdapat fluoresensi biru muda dan setelah disemprot dengan ammonia warna akan mengalami perubahan warna sedikit atau tidak mengalami perubahan dan tetap berfluoresensi biru muda. Berdasarkan data yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daging buah labu kuning (*Curcubita moschata* D.) mengandung senyawa flavonoid yang ditunjukkan dengan nilai R_f 0,8 dan warna bercak di bawah sinar UV 366 nm berfluoresensi biru muda.

Penentuan kadar flavonoid total pada ekstrak buah labu kuning menggunakan pembanding kuersetin. Hasil rata-rata flavonoid total dari 4 jenis pelarut yang digunakan, berturut-turut yaitu etil asetat, n-hexana, etanol 96% dan etanol 70%. Berdasarkan tabel 3 diketahui bahwa hasil rata-rata flavonoid total tidak sebanding dengan hasil rendemen ekstrak buah labu kuning. Rendeman ekstrak yang semakin tinggi belum tentu menghasilkan flavonoid total yang semakin besar. Hal ini tidak sesuai dengan hasil penelitian Hasnaeni *et al.*, 2019 yang menyatakan bahwa terdapat hubungan antara rendemen dengan jumlah senyawa aktif dari suatu sampel sehingga apabila jumlah rendemen semakin banyak maka jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam sampel juga

semakin banyak. Hasil tersebut dimungkinkan karena adanya perbedaan polaritas dari pelarut yang digunakan sehingga kemampuan mengekstrak senyawa aktif dalam tanaman juga berbeda. Berdasarkan hasil analisis statistik diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kadar flavonoid total ekstrak buah labu kuning dengan 4 jenis pelarut yang digunakan.

Aktivitas antioksidan ekstrak buah labu kuning ditentukan secara kuantitatif menggunakan metode ABTS. Mekanisme kerja penghambatannya berdasarkan kemampuan ekstrak dalam mereduksi radikal bebas ABTS yang ditandai dengan menurunnya intensitas warna biru larutan ABTS yang telah mengandung ekstrak. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan parameter *inhibitory concentration* (IC_{50}). Nilai IC_{50} yang semakin kecil berarti memiliki aktivitas antioksidan yang semakin kuat. Berdasarkan hasil pengujian pada tabel 4 diketahui bahwa aktivitas antioksidan paling tinggi dihasilkan oleh control positif vitamin C dengan nilai IC_{50} sebesar 4,48 ppm yang termasuk dalam kategori sangat kuat. Vitamin C menghasilkan aktivitas antioksidan yang paling kuat dikarenakan vitamin C telah terbukti sebagai antioksidan dan telah banyak dimanfaatkan. Aktivitas antioksidan dari ekstrak buah labu kuning secara berurutan dari yang paling kuat yaitu ekstrak dengan pelarut etanol 70%, etanol 96%, etil asetat dan n-hexana. Aktivitas antioksidan pada semua ekstrak buah labu kuning dengan berbagai pelarut termasuk dalam kategori kuat. Hasil aktivitas antioksidan tersebut sesuai dengan tingkat kepolaran pelarut yang digunakan. Ekstrak buah labu kuning

dengan tingkat polaritas pelarut yang semakin tinggi menghasilkan aktivitas antioksidan yang semakin kuat. Hal ini tidak berbanding lurus dengan kadar flavonoid total yang dihasilkan. Ekstrak buah labu kuning dengan pelarut etanol 70% menghasilkan rata-rata flavonoid total yang paling rendah tetapi memiliki aktivitas antioksidan yang semakin kuat. Berdasarkan hasil analisis statistik diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara aktivitas antioksidan ekstrak pelarut n-hexana dengan etanol 96% serta antara ekstrak pelarut n-hexana dengan etanol 70%. Aktivitas antioksidan antar ekstrak pelarut etanol 96%, etanol 70% dan etil asetat terdapat perbedaan yang tidak bermakna.

SIMPULAN (PENUTUP)

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa : Kadar flavonoid total pada ekstrak buah labu kuning dari yang tertinggi yaitu dengan pelarut etil asetat (135,546 mgQE/g), n-hexana (125,833 mgQE/g), etanol 96% (93,017 mgQE/g) dan etanol 70% (29,799 mgQE/g).

Aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC₅₀ pada ekstrak buah labu kuning dari yang tertinggi yaitu dengan pelarut etanol 70% (67,85 ppm), etanol 96% (69,00 ppm), etil asetat (84,79 ppm) dan n-hexana (99,81 ppm).

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Ngudi Waluyo yang telah membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, B. & Ibrahim, S., (2018), Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid, *Jurnal Zarah*, Vol. 6 No. 1, halaman 21-29.
- Ayu, S.M., (2020), Pengaruh Formulasi Emulgel Buah Labu Kuning (*Cucurbita maxima* D.) sebagai Pelembab Kulit, *Skripsi*, Universitas Ngudi Waluyo, Ungaran, Jawa Tengah.
- Handayani, H., Sriherfyna, F. H., & Yuniarta. (2016). Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan : Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 4(1), 262–272.
- Harborne, J. P. (1996). *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (2nd ed.), Institut Teknologi Bandung, Bandung
- Hasnaeni, Wisdawati, & Usman, S. (2019). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara Blanco*). *Jurnal Farmasi Galenika*, 5(2), 175–182.
<https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13149>
- Ikhsanudin, Azis and Mardhiyah, S. (2017) ‘Formulasi dan Uji Anti jerawat Gel Ekstrak Etanol 70% Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi Linn.*) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*’, *Medula*, 5(1), pp. 416–426.
- Kurniawati, E. (2015) ‘Daya Antibakteri Ekstrak Etanol

- Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara *In-vitro*, *Jurnal Wiyata*, 2(2), pp. 193–199.
- Mistriyani, Riyanto, S., & Rohman. (2018). Antioxidant activities of Rambutan (*Nephelium lappaceum* L) peel in vitro. *Food Research*, 2(1), 119–123. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.2\(1\).150](https://doi.org/10.26656/fr.2017.2(1).150)
- Mukhriani, M., Rusdi, M., Arsul, M. I., Sugiarna, R., & Farhan, N. (2019). Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Anggur (*Vitis vinifera* L). *Ad-Dawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(2).
- Noelia, Valenzuela, Junior, Morales, Infante, J. A. (2011). Physicochemical, technological properties, and health benefits of Cucurbita moschata Duchesne vs. Cehualca. *A Review. Food Research International*, 44(9), 2587–2593
- Parwata, I.M.O.A., (2016). Flavonoid, *Diktat/Bahan Ajar Kimia Organik*, Universitas Udayana, Denpasar.
- Pratama, N.M. (2019). Optimasi Formulasi Dan Uji Iritasi Masker Gel *Peel-Off* Nano Ekstrak Daging Labu Kuning (*Cucurbita maxima* Durch). *Skripsi*. Universitas Ngudi Waluyo.
- Rohman, A. (2009). Kimia Farmasi Analisis. In 1. Pustaka Pelajar: Yogyakarta.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Quinn, M.E.,(2009), *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Journal of Holistics and Health Sciences Vol. 4, No. 2 September 2022 sixth edition, Pharmaceutical Press and American Pharmacist Association, USA.
- Sami, F. J., & Rahimah, S. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) dengan Metode DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan Metode ABTS (2,2 azinobis (3- etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 107–110. <https://doi.org/10.33096/jffi.v2i2.179>
- Serlahwaty, D., & Sevia, A. N. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Kombinasi Buah Strawberry Dan Tomat Dengan Metode ABTS. *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia*, 50, 20–21.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi, 1989, *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian, Liberty*, Yogyakarta.
- Sudarmanto, I. dan Suhartati, T. (2015) ‘Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Pada Kulit Akar Tanaman Ara (*Ficus*)’, *Jurnal Kesehatan*, 6(2), pp. 137–141.
- Vifta, Rissa Laila dan Advistasari.,Y.D (2018). Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B .). *Prosiding Seminar Nasional Unimus*,

