

## **Analisis Flavonoid Total Fraksi N-Heksan Ekstrak Biji Labu Kuning (*Cucurbita moschata*) Secara Spektrofotometri UV-VIS**

**Melati Aprilliana Ramadhani<sup>1</sup>, Istianatus Sunnah<sup>2</sup>, Devi Mardiyanti<sup>3</sup>**

<sup>1,3</sup>Program Studi S1 Farmasi, Universitas Ngudi Waluyo, Ungaran

<sup>2</sup>Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, Universitas Ngudi Waluyo Ungaran

Email Korespondensi: melatiaprilliana90@gmail.com

### **ABSTRAK**

Infertilitas merupakan salah satu permasalahan kesehatan utama di Indonesia yang dialami oleh wanita dengan persentase 20-35%. Salah satu terapi penunjang pada infertilitas dengan pemanfaatan tumbuhan yang berkhasiat obat. Salah satu bagian tumbuhan yang memiliki banyak manfaat dalam pengobatan herbal adalah biji labu kuning (*Cucurbita moschata*). Biji labu kuning mengandung senyawa golongan flavonoid yaitu isoflavon fitoestrogen yang memiliki kemiripan sifat dengan estrogen di dalam tubuh. Tujuan dari penelitian ini untuk menganalisis kadar total flavonoid biji labu kuning sebagai tahapan awal dalam aktivitasnya sebagai agen fertilitas pada wanita. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi menggunakan etanol 96%, kemudian dilakukan proses evaporasi, dan tahapan akhir dilakukan fraksinasi dengan menggunakan etil asetat dan n-heksan. Uji kuantitatif flavonoid dilakukan pada fraksi n-heksan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Hasil uji kualitatif fraksi n-heksan ekstrak biji labu kuning adalah positif mengandung flavonoid. Uji kuantitatif fraksi n-heksan ekstrak biji labu kuning dengan 3 kali replikasi didapatkan kadar flavonoid total berturut-turut adalah 27,77; 27,15; dan 27,36 mgQE/g. Biji labu kuning memiliki kandungan flavonoid non polar. Fraksi n-heksan ekstrak biji labu kuning mengandung flavonoid dengan kadar flavonoid total rata-rata  $27,43 \pm 0,32$  mgQE/g.

**Kata Kunci:** Biji Labu Kuning, Fraksinasi, N-Heksan, Kadar Flavonoid, Infertilitas

### **ABSTRACT**

***Analysis of Total Flavonoids in the N-Hexane Fraction of Pumpkin Seed Extract (*Cucurbita moschata*) by UV-VIS Spectrophotometry***

*Infertility is one of the main health problems in Indonesia experienced by women with a percentage of 20-35%. One of the supporting therapies for infertility is the use of medicinal plants. One part of the plant that has many benefits in herbal medicine is pumpkin seeds (*Cucurbita moschata*). Pumpkin seeds contain flavonoid compounds, namely phytoestrogen isoflavones, which have similar properties to estrogen in the body. The purpose of this study was to analyze the total flavonoid content of pumpkin seeds as an initial stage in their activity as a fertility agent in women. The extraction method used was maceration using 96% ethanol, then the evaporation process was carried out, and the final stage was fractionation using ethyl acetate and n-hexane. Quantitative flavonoid tests were carried out on the n-hexane fraction using the UV-Vis spectrophotometry method. The results of the qualitative test of the n-hexane fraction of pumpkin seed extract were positive for flavonoids. Quantitative tests of the n-hexane fraction of pumpkin seed extract with 3 replications obtained total flavonoid levels, respectively, were 27.77; 27.15; and*

27.36 mgQE/g. Pumpkin seeds contain non-polar flavonoids. The n-hexane fraction of pumpkin seed extract contains flavonoids with an average total flavonoid content of  $27.43 \pm 0.32$  mgQE/g.

**Keyword :** Pumpkin Seed, Fractionation, N-Hexan, Total Flavonoid, Infertility

## PENDAHULUAN

Kesuburan merupakan permasalahan yang penting kehidupan rumah tangga. Salah satu yang menjadi permasalahan utama dalam keharmonisan rumah tangga adalah kegagalan untuk hamil pada usia produktif. Berdasarkan data penelitian, sebanyak 15% kasus sulit hamil dialami oleh pasangan suami istri di seluruh dunia. Infertilitas pada wanita dapat disebabkan oleh gangguan ovulasi, berkurangnya cadangan ovarium, penyakit kronis atau adanya gangguan sistem reproduksi wanita (Skoracka *et al.*, 2021). Dalam kasus infertilitas pada wanita, beberapa pasien mencoba konsultasi kepada dokter spesialis. Pemberian terapi infertilitas untuk wanita tergantung dari permasalahan yang dialami. Untuk kasus infertilitas yang disebabkan oleh endometriosis diberikan terapi progestin. Infertilitas yang disebabkan oleh polip endometrium dan COS diberikan terapi progesteron dan kasus yang diakibatkan PCOS diberikan terapi metformin, golongan statin atau klomifen sitrat (Venturella *et al.*, 2019).

Hasil penelitian yang telah dilakukan, terdapat beberapa herbal yang dapat digunakan sebagai penunjang terapi infertilitas seperti buah delima, bunga kamomil, semanggi merah, teh cina, kurma, kayu manis, adas, biji jantan hitam, akar manis. Kandungan senyawa metabolit yang terdapat tanaman herbal tersebut sebagian besar berupa flavonoid (Akbaribazm *et al.*, 2021). Salah satu golongan flavonoid yang memiliki peran dalam menunjang terapi infertilitas pada wanita yaitu isoflavon. Isoflavon dapat mengikat reseptor estrogen 1 yang digabungkan dengan protein-G (GPR30), yang melibatkan jalur pensinyalan seluler yang berbeda, seperti peningkatan kadar kalsium atau NO intraseluler. Zat ini menghambat enzim tirosin kinase pada membran sel A431 manusia dan bertindak sebagai ligan untuk reseptor yang diaktifkan oleh proliferasi peroksisom (PPAR). Isoflavon pada kedelai dapat bekerja melalui mekanisme antioksidan melalui stimulasi enzim yang bertanggung jawab untuk metabolisme xenobiotik dan pengurangan stres oksidatif secara *in vitro* (Ullah *et al.*, 2020).

Labu kuning memiliki banyak manfaat bagi kesehatan salah satunya bagian bijinya. Biji labu kuning memiliki kandungan protein, lemak, serat dan karbohidrat. Biji labu kuning memiliki kandungan asam lemak jenuh yang tinggi dan asam lemak esensial seperti asam palmitat, asam stearat, dan asam linoleat. Selain asam lemak, biji labu kuning mengandung mineral yang tinggi yaitu kalium dan natrium. Sebagai antioksidan, biji labu kuning mengandung  $\alpha$ -tokoferol dan karotenoid. Kandungan  $\alpha$ -tokoferol dalam biji labu kuning antara 33,33 hingga 122,65  $\mu\text{g/g}$ . Ekstrak biji labu kuning dapat digunakan sebagai terapi estrogenik karena mengandung prekursor estradiol yaitu fitoestrogen. Estrogen memiliki manfaat sebagai pengatur pertumbuhan, perkembangan dan homeostasis ovarium. Selain sebagai estrogenik, dapat digunakan sebagai pencegah penurunan kadar estrogen saat menopause. Konsumsi biji labu kuning sebelum atau saat awal menopause, dapat menstabilkan kadar hormonal (Motamed Jahromi & Niami Jahromi, 2020).

Terapi estrogen sintetis yang selama ini digunakan akan memberikan efek

samping atau sensitivitas obat, sehingga perlu adanya penggunaan herbal untuk terapi infertilitas salah satunya biji labu kuning. Untuk memastikan adanya kandungan senyawa metabolit dalam biji labu kuning yang digunakan sebagai kandidat terapi infertilitas maka perlu adanya analisis yang dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Pengujian kandungan flavonoid dalam ekstrak dapat dilakukan secara kualitatif menggunakan uji reagen alkalin, uji asetat, uji Shinoda, reaksi Shibata, uji Ferri klorida, uji Pew, uji amonia atau uji reduksi seng klorida (An Gai Hong *et al.*, 2020). Untuk pengujian kandungan flavonoid secara kuantitatif dapat menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis, atau Kromatografi Lapis Tipis dengan reagen  $AlCl_3$  untuk melihat adanya bercak dalam plat. Metode lain yang digunakan untuk menentukan kuantifikasi kandungan flavonoid antara lain metode *2,4-dinitrophenylhydrazine* dan HPLC (KCKT) (Doloking *et al.*, 2022). Hasil pengujian baik secara kualitatif dan kuantitatif ini yang akan mendukung data efek farmakologi pada biji labu kuning. Saat ini belum, ditemukan adanya penelitian yang mengkaji tentang efektifitas fraksi biji labu kuning sebagai terapi infertilitas pada wanita. Tujuan dari penelitian ini untuk menganalisis kadar total flavonoid biji labu kuning sebagai tahapan awal dalam aktivitasnya sebagai agen fertilitas pada wanita.

## METODE

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat gelas (pyrex iwaki), maserator, timbangan analitik Ohaus, rotary evaporator (Biobase), corong pisah (pyrex), waterbath (Memmert), cawan porselen (omron), spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1800, *moisturizer analyzer* (metler toledo). Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah biji labu kuning (hasil panen petani Desa Getasan Kab. Semarang), etanol 96% (kualitas farmasetik), etil asetat, n-heksan (farmasetik), etanol p.a (Merck), kuersetin (Merck),  $AlCl_3$ , asam asetat (kualitas farmasetik), akuades, serbuk Mg, HCl.

Prosedur kerja :

Proses ekstraksi

Simplisia biji labu kuning yang telah dikeringkan, diekstraksi menggunakan metode maserasi. Sebanyak 1 kg simplisia biji labu kuning, dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10. Maserasi dilakukan selama 5 hari dilanjutkan dengan remaserasi selama 2 hari. Maserat yang dihasilkan dipekatkan menggunakan rotavapour pada suhu  $50^{\circ}C$  sampai diperoleh ekstrak kental (BPOM RI, 2023). Ekstrak kental yang diperoleh dilakukan pengujian kadar air dengan menggunakan metode gravimetri dengan alat *moisturizer analyzer* (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

Fraksinasi

Ekstrak kental yang diperoleh kemudian difraksinasi menggunakan akuades. Sebanyak 40 gram ekstrak kental dilarutkan dengan akuades dengan perbandingan 1:10, kemudian ditambahkan dengan n-heksan dengan perbandingan 1:1. Kedua fraksi tersebut dipisahkan. Fraksinasi dilanjutkan dengan menggunakan etil asetat sebanyak 250 ml, hingga diperoleh 3 fraksi yaitu fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi n-Heksan. Masing-masing fraksi dihitung rendemennya (BPOM RI, 2023).

Uji kualitatif flavonoid

Identifikasi flavonoid secara kualitatif menggunakan uji Shibata. Sebanyak 1 gram ekstrak dilarutkan dengan menggunakan 1-2 mL metanol 50%, kemudian ditambahkan srbuk Mg dan 5-6 tetes HCl (Shaikh & Patil, 2020).

Uji kadar total flavonoid (A. Makuasa & Ningsih, 2020)

Pembuatan pereaksi  $AlCl_3$

Larutan  $AlCl_3$  dibuat dengan konsentrasi 10%. Sebanyak 1gram serbuk  $AlCl_3$  dilarutkan dengan akuades sampai 100 mL.

Pembuatan larutan asam asetat 5%

Asam asetat sebanyak 5 mL dilarutkan dalam akuades sampai mencapai volume 100 mL.

Pembuatan larutan blanko

Larutan blanko yang digunakan yaitu etanol. Sebanyak 2 mL etanol pa, ditambahkan 0,1mL  $AlCl_3$  10% dan 0,1 mL asam asetat kemudian ditambahkan akuades sampai volume 10 mL.

Pembuatan larutan standar kuersetin.

Larutan stok kuersetin dibuat 1000 ppm, dengan menimbang kuersetin 25 mg dilarutkan dengan etanol pa sampai volume 25 mL.

Penentuan panjang gelombang maksimal larutan standar kuersetin

Larutan stok 1000 ppm diencerkan menjadi konsentrasi 100 ppm. Sebanyak 1 mL larutan konsentrasi 1000 ppm kemudian dilarutkan dengan etanol pa 10 mL. Larutan standar konsentrasi 100 ppm, diambil sebanyak 1 mL ditambahkan 1 mL  $AlCl_3$  dan 8 mL larutan asam asetat 5%. Panjang gelombang diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 400-500 nm.

Penentuan operating time

Larutan standar kuersetin 100 ppm, yang telah dipreparasi untuk menentukan panjang gelombang maksimal, dilakukan pembacaan absorbansi interval 1 menit sampai diperoleh absorbansi stabil dalam waktu 30 menit.

Penentuan seri konsentrasi kuersetin dan sampel fraksi ekstrak biji labu kuning

Larutan standar kuersetin dan fraksi ekstrak biji labu kuning, dibuat seri konsentrasi 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, 140 ppm. Masing-masing larutan diambil 1 mL, kemudian ditambahkan 1 mL larutan  $AlCl_3$  dan 8 mL larutan asam asetat 5%. Masing-masing seri konsentrasi larutan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimal yang telah diperoleh.

Penelitian ini telah melewati uji etik nomor 11/KEP/EC/UNW/2024.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa metabolit dalam kandungan tanaman herbal sangat mendukung data efek farmakologinya. Salah satu herbal yang banyak memiliki manfaat terhadap kesehatan adalah biji labu kuning. Biji labu kuning memiliki kandungan flavonoid yang dapat digunakan sebagai penunjang terapi infertilitas. Untuk membuktikan adanya kandungan zat aktif tersebut dilakukan identifikasi secara kualitatif dan kuantitatif. Langkah awal untuk identifikasi, simplisia biji labu kuning diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% kemudian difraksinasi menggunakan pelarut n-Heksan dan etil asetat. Tujuan fraksinasi untuk memperoleh molekul bioaktif yang bermutu menggunakan pelarut yang tepat sehingga akan mendapatkan hasil kadar total flavonoid yang maksimal.

## Hasil

### Kadar Air

Proses ekstraksi menghasilkan rendemen sebagai berikut :

Tabel 1. Kadar air simplisia dan ekstrak

No	Sampel	Kadar air (%)
1	Simplisia biji labu kuning	0,69
2	Ekstrak etanol biji labu kuning (EEBLK)	3,66
3	Fraksi n-Heksan biji labu kuning	1,31

Hasil kadar air simplisia, ekstrak maupun fraksi n-heksan biji labu kuning, memenuhi persyaratan (<10%).

### Ekstraksi dan Fraksinasi

Hasil ekstraksi dan fraksinasi pada tabel 2 menunjukkan bahwa proses fraksinasi n-Heksan memenuhi persyaratan yang ditentukan oleh Farmakope Herbal Indonesia (> 10%).

Tabel 2. Hasil ekstraksi dan fraksinasi biji labu kuning

No	Sampel	Rendemen (%)
1	Ekstrak biji labu kuning (EEBLK)	5,92
2	Fraksi akuadest biji labu kuning	2,15
3	Fraksi etil asetat biji labu kuning	4,55
4	Fraksi n-Heksan biji labu kuning	77,8

### Identifikasi Flavonoid secara Kualitatif

Tabel 3. Identifikasi Flavonoid secara Kualitatif

Sampel	Reagen	Hasil	Keterangan
Fraksi n-Heksan	Serbuk Mg+ HCl	Terbentuk warna kuning coklat	Mengandung flavonoid

Pada tabel 3, identifikasi senyawa menggunakan metode kualitatif, menunjukkan adanya kandungan flavonoid dalam ekstrak dengan adanya warna kuning setelah direaksikan dengan reagen Mg+HCl.

### Penentuan operating time

Tabel 4. Hasil operating time

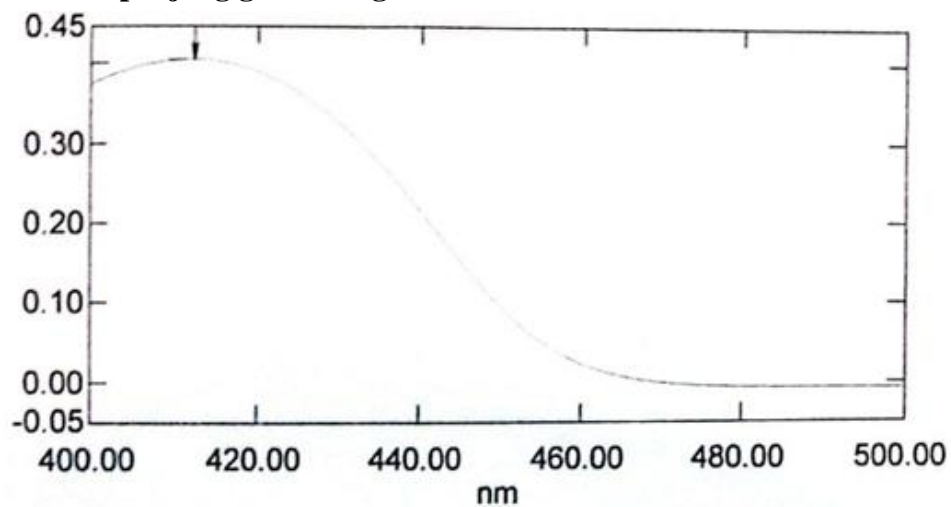
Waktu (detik)	Absorbansi (nm)	Waktu (detik)	Absorbansi (nm)
0	0,415	900	0,416
60	0,415	960	0,416
120	0,415	1020*	0,415
180	0,416	1080*	0,415
240	0,416	1140*	0,415
300	0,416	1200*	0,415
360	0,416	1260*	0,415
420	0,416	1380*	0,415

Waktu (detik)	Absorbansi (nm)	Waktu (detik)	Absorbansi (nm)
480	0,415	1440*	0,415
540	0,415	1500*	0,415
600	0,415	1560*	0,415
660	0,415	1620*	0,415
720	0,415	1680*	0,415
780	0,415	1740*	0,415
840	0,416	1800*	0,415

\*waktu *operating time*

Berdasarkan tabel 4, *operating time* diperoleh pada detik ke 1020 (17 menit) -1800 detik (30 menit).

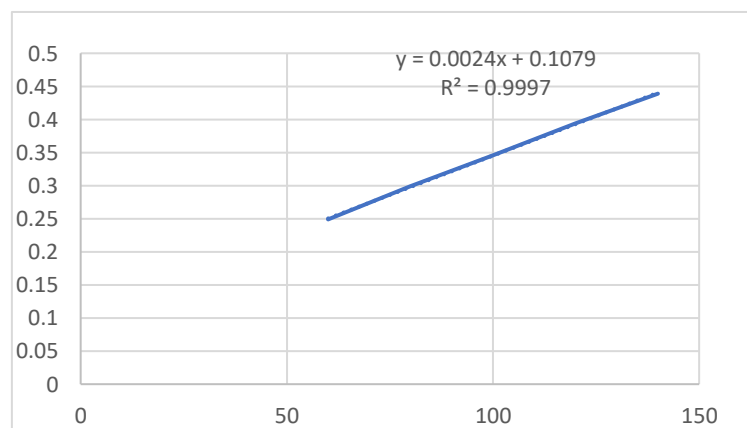
### Penentuan panjang gelombang maksimal larutan standar kuersetin



Gambar 1. Hasil panjang gelombang maksimal

Berdasarkan gambar 1, diperoleh panjang gelombang maksimal 412,5 nm dengan absorbansi 0,406 nm

### Penentuan kurva baku larutan standar kuersetin



Gambar 2. Kurva baku kuersetin

Hasil konsentrasi sampel yang dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 412,5 nm diperoleh persamaan regresi linear  $y=0,0024x+0,1079$ .

### Penentuan kadar total flavonoid

Tabel 5. Kadar total flavonoid fraksi n-Heksan biji labu kuning

Replikasi	Absorbansi (nm)	Kadar (mgQE/g)	Kadar rata-rata (mgQE/g)
1	0,236	27,77	27,43±0,32
2	0,233	27,15	
3	0,234	27,36	

Hasil rata-rata kadar total flavonoid diperoleh 27,43±0,32 mgQE/g.

### PEMBAHASAN

Simplisia biji labu kuning dibuat dengan mengeringkan biji yang baru saja diambil dari buah labu kuning. Pengeringan dilakukan dengan 2 cara yaitu mengeringkan biji kuning dengan penjemuran tidak terkena sinar matahari dan pengeringan dengan oven suhu 40°C (BPOM RI, 2023). Metode pengeringan ini dimaksudkan supaya mendapatkan simplisia yang kering, kadar air kecil tetapi tidak menghilangkan kandungan senyawa yang terdapat dalam simplisia biji labu kuning. Proses ekstraksi biji labu kuning, menggunakan metode ekstraksi dingin yaitu maserasi (Goti & Dasgupta, 2023). Hasil maserasi berupa ekstrak kental, dilakukan pemisahan senyawa menggunakan fraksinasi. Tujuan fraksinasi untuk memisahkan golongan utama zat aktif yang terdapat dalam ekstrak dengan golongan lain. Proses fraksinasi harus memperhatikan pemilihan pelarut yang sesuai. Prinsip *like dissolves like* pada pemilihan pelarut sangat menentukan kandungan senyawa yang akan diperoleh saat fraksinasi.

Kelarutan dan konstanta dielektrik sangat berpengaruh dalam proses fraksinasi. Salah satu parameter dalam menentukan jenis pelarut yang akan digunakan yaitu polaritas cairan dan konstanta dielektrik (Zhuang *et al.*, 2021). Pada proses fraksinasi digunakan 3 pelarut yang berbeda tingkat polaritas. n-Heksan merupakan pelarut non polar dengan indeks polaritas 0,0, konstanta dielektrik 1,89 dan kelarutan dalam air 0,001 %. Etil asetat merupakan pelarut semi polar dengan indeks polaritas 4,4 dan konstanta dielektrik 6,02 (25°C) serta kelarutan 8,7% sedangkan air merupakan pelarut paling polar dengan indeks polaritas 9, konstanta dielektrik 80 (suhu 20°C) dan kelarutan 100%. Penggunaan 3 pelarut yang berbeda tingkat polaritasnya akan dapat menyari jenis senyawa golongan flavonoid dengan kepolaran yang berbeda pula.

Salah satu parameter non spesifik dalam mutu simplisia yaitu kadar air. Pengujian kadar air dalam simplisia maupun ekstrak ditujukan untuk mengevaluasi adanya kandungan air dalam simplisia dan ekstrak. Adanya air akan menyebabkan kerusakan yang menyebabkan menurunnya kualitas mutu simplisia atau ekstrak. Semakin banyak kadar air dalam ekstrak akan menyebabkan ekstrak mudah ditumbuhi jamur sehingga mutu ekstrak akan turun. Pengujian kadar air pada ekstrak menggunakan metode gravimetri, diperoleh hasil kadar simplisia, ekstrak etanol biji labu kuning dan fraksi ekstrak n-Heksan berturut-turut 0,61%;3,66% dan 1,31%. Kadar air masing-masing sampel memenuhi syarat karena <10%.

Hasil fraksinasi pada tabel 2, menunjukkan bahwa diperoleh 77,8% hasil

fraksi n-Heksan. Berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia, rendemen memenuhi syarat apabila memiliki konsentrasi lebih dari 10% (Kementerian Kesehatan RI, 2017). Hasil fraksi yang memenuhi syarat, salah satunya dipengaruhi oleh penggunaan pelarut dalam proses fraksinasi. Pada proses fraksinasi biji labu kuning, menggunakan pelarut n-heksan yang merupakan pelarut non polar. Pada biji labu kuning, terdapat kandungan senyawa metabolit yang bersifat non polar seperti flavonoid non polar dan karotenoid. Pemilihan pelarut untuk proses fraksinasi, dimulai dari pelarut yang memiliki kategori non polar terlebih dahulu, kemudian semi polra dan polar. N-heksan sebagai pelarut yang paling non polar, memiliki nilai polaritas paling kecil (0,009), sehingga senyawa yang bersifat non polar akan dapat terlarut dalam pelarut non polar (Abu bakar & Haque, 2020). Proses fraksinasi berjalan sempurna, dibuktikan banyak rendemen pada fraksi n-heksan yang diperoleh dan memenuhi persyaratan  $> 10\%$ . Hal ini menunjukkan bahwa, komponen senyawa metabolit yang bersifat non polar dapat tertarik sempurna dalam proses fraksinasi. Hasil fraksi akuades dan fraksi etil asetat memiliki rendemen yang rendah ( $< 10\%$ ), karena senyawa metabolit yang terkandung di dalam biji labu kuning sangat kecil.

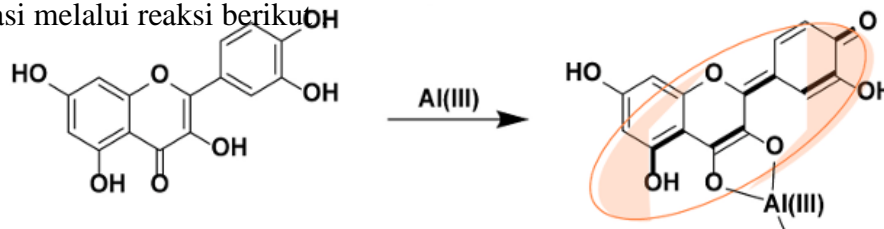
Pada tabel 3, identifikasi flavonoid secara kualitatif menunjukkan hasil fraksi n-heksan biji labu kuning terdapat flavonoid di dalamnya. Identifikasi ini mengacu pada uji Shinoda atau uji reduksi  $MgCl_2$  (Shaikh & Patil, 2020). Perubahan warna menjadi kuning coklat inilah sebagai bukti bahwa fraksi n-Heksan mengandung flavonoid. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya, biji labu kuning yang telah diproses menjadi minyak memiliki kandungan flavonoid (Sunnah *et al.*, 2023). Berdasarkan tabel 1, bahwa rendemen yang diperoleh pada fraksi n-heksan besar, sehingga dimungkinkan golongan flavonoid yang terkandung dalam biji labu kuning merupakan golongan flavonoid non polar.

Penentuan kadar total flavonoid menggunakan standar kuersetin. Kuersetin atau (*3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone*) merupakan aglikon flavonoid glikosida yang memiliki manfaat sebagai antioksidan. Kuersetin tidak dapat diproduksi di dalam tubuh (Anand David *et al.*, 2016). Larutan standar kuersetin dibuat dengan seri konsentrasi 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm dan 140 ppm kemudian dibaca pada panjang gelombang 412,5 nm. Penentuan *operating time* dilakukan menggunakan konsentrasi 100 ppm pada panjang gelombang 412,5 nm. Berdasarkan tabel 4, diperoleh *operating time* pada menit 17. *Operating time* merupakan waktu larutan sampel dapat dibaca dengan absorbansi paling stabil. Waktu 17 menit inilah, absorbansi larutan standar memiliki kestabilan. Berdasarkan gambar 2, diperoleh kurva baku  $y=0,0024x+0,1079$ . Nilai r pada kurva baku menunjukkan 0,9997, hal ini menunjukkan nilai koefisien korelasi baik (mendekati 1). Artinya konsentrasi memiliki pengaruh dalam penentuan kadar.

Kadar total flavonoid diuji menggunakan metode  $AlCl_3$  secara spektrofotometri UV-Vis. Metode kompleksasi  $AlCl_3$  memiliki keunggulan dapat digunakan untuk menganalisis kandungan flavonoid dalam tanaman yang spesifik mayoritas berasal dari golongan aglikon. Metode tersebut memiliki representasi analisis yang tinggi dan kemungkinan terjadi penyimpangan sangat kecil. Spesifitas tersebut disebabkan oleh adanya efek batokromik akibat kompleksasi antara flavonoid dengan logam Al (Ramos *et al.*, 2017). Pengujian kadar flavonoid menggunakan metode  $AlCl_3$ , dilakukan dengan pembacaan absorbansi



menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 441-440 nm. Metode  $AlCl_3$  merupakan metode yang spesifik untuk flavonoid golongan flavonol dan flavon luteolin (Pekal & Pyrzynska, 2014). Standar flavonoid yang sering digunakan antara lain kuersetin, rutin dan katekin (Shraim *et al.*, 2021). Untuk standar baku flavonoid, absorbansi dibaca pada panjang gelombang 415 nm. Kuersetin sebagai golongan flavonol akan memberikan absorbansi maksimal 0,271 (Mammen & Daniel, 2012). Kuersetin dengan adanya  $AlCl_3$  akan membentuk kompleksasi melalui reaksi berik



Gambar 3. Reaksi kompleksasi kuersetin dengan  $AlCl_3$  (Shraim *et al.*, 2021)

Hasil rata-rata kadar total flavonoid dalam fraksi n-Heksan ekstrak biji labu kuning sebesar  $27,43 \pm 0,32$  mgQE/g. Berdasarkan literatur, kadar total flavonoid dalam fraksi ekstrak biji labu kuning  $< 50$  mgQE/g. Bagian labu kuning yang memiliki kandungan flavonoid lebih besar antara lain daging dan kulit buah (Hagos *et al.*, 2023). Hasil penelitian sebelumnya, menjelaskan bahwa fraksi n-Heksan pada ekstrak daun labu kuning (*Cucurbita moschata*) mengandung flavonoid sebesar 39,98 mgQE/ 100 g (Sabarudin *et al.*, 2021). Hasil penelitian Rasheed *et al.*, 2023, bahwa wanita yang mengonsumsi biji labu kuning dalam bentuk biji segar sebanyak 15 gram perhari dapat meningkatkan fase folikel dan luteal. Hasil penelitian lain menyebutkan bahwa kandungan antioksidan, asam lemak, protein dan mineral dalam biji labu kuning dapat meningkatkan kadar hormon progesteron wanita yang berkorelasi dengan peningkatan LH dan FSH (Rasheed *et al.*, 2023).

Pada penelitian yang telah dilakukan ini, biji labu kuning telah mengalami proses fraksinasi dan menghasilkan kadar flavonoid sebesar  $27,43 \pm 0,32$  mgQE/g, yang artinya per gram biji labu mengandung 27,43 mg flavonoid yang setara dengan kuersetin. Apabila dikorelasikan dengan penelitian Rasheed *et al.*, 2023, maka dalam 15 gram akan mengandung flavonoid sebesar 411,45 mg. Pada penelitian Akbaribazm *et al.*, 2021, dosis ekstrak biji jintan hitam 100-400mg /kg BB dapat meningkatkan estradiol dan prolaktin dan sebagai terapi PCOS. Hasil penelitian lain menyebutkan bahwa kandungan antioksidan, asam lemak, protein dan mineral dalam biji labu kuning dapat meningkatkan kadar hormon progesteron wanita yang berkorelasi dengan peningkatan LH dan FSH (Rasheed *et al.*, 2023).

## SIMPULAN

Biji labu kuning memiliki kandungan flavonoid non polar. Fraksi n-heksan ekstrak biji labu kuning mengandung flavonoid dengan kadar flavonoid total rata-rata adalah  $27,43 \pm 0,32$  mgQE/g.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset, dan Teknologi (DRTPM) yang telah memberikan pendanaan untuk penelitian ini, dan semua pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- A. Makuasa, D. A., & Ningsih, P. (2020). The Analysis of Total Flavonoid Levels In Young Leaves and Old Soursop Leaves (*Annona muricata* L.) Using UV-Vis Sepctrofotometry Methods. *Journal of Applied Science, Engineering, Technology, and Education*, 2(1), 11–17. <https://doi.org/10.35877/454ri.asci2133>
- Abu bakar, A., & Haque, M. (2020). Preparation of Medical Plants : Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 12, 1–10. <https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS>
- Akbaribazm, M., Goodarzi, N., & Rahimi, M. (2021). Female infertility and herbal medicine: An overview of the new findings. *Food Science and Nutrition*, 9(10), 5869–5882. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2523>
- An Gai Hong, G., Chen, X. W., Li, C., Zhang, L., Wei, M. F., Chen, J. J., Ma, Q., Yang, D. F., & Wang, J. (2020). Pathophysiological Changes in Female Rats with Estrous Cycle Disorder Induced by Long-Term Heat Stress. *BioMed Research International*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/4701563>
- Anand David, A. V., Arulmoli, R., & Parasuraman, S. (2016). Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid. *Pharmacognosy Reviews*, 10(20), 84–89. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.194044>
- BPOM RI. (2023). Pedoman Penyiapan Bahan Baku Obat Bahan Alam Berbasis Ekstrak / Fraksi. *Badan Pengawas Obat Dan Makanan RI, November*, 45.
- Doloking, H., Tahar, N., Mukhriani, & Surya Ningsi. (2022). Flavonoids: A Review On Extraction, Identification, Quantification, and Antioxidant Activity. *Ad-Dawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences*, 5(1). <https://doi.org/10.24252/djps.v5i1.29329>
- Goti, D., & Dasgupta, D. S. (2023). A comprehensive review of conventional and non-conventional solvent extraction techniques. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 12(3), 202–211. <https://doi.org/10.22271/phyto.2023.v12.i3c.14682>
- Hagos, M., Chandravanshi, B. S., Redi-Abshiro, M., & Yaya, E. E. (2023). Determination of Total Phenolic, Total Flavonoid, Ascorbic Acid Contents and Antioxidant Activity of Pumpkin Flesh, Peel and Seeds. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 37(5), 1093–1108. <https://doi.org/10.4314/bcse.v37i5.3>
- Kementerian Kesehatan RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia*. <https://doi.org/10.2307/jj.2430657.12>
- Mammen, D., & Daniel, M. (2012). A critical evaluation on the reliability of two aluminum chloride chelation methods for quantification of flavonoids. *Food Chemistry*, 135(3), 1365–1368. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.109>
- Motamed Jahromi, S., & Niami Jahromi, S. (2020). The Effect of Hydro-Alcoholic Extract of Pumpkin Seeds on Estrogen Levels and Kidney Markers in Adult

- Female Rats. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 22(4).  
<https://doi.org/10.5812/ircmj.98864>
- Pękal, A., & Pyrzynska, K. (2014). Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Analytical Methods*, 7(9), 1776–1782. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9814-x>
- Ramos, R., Bexerra, I., Ferreira, M., & Soares, L. A. (2017). Spectrophotometric Quantification of Flavonoids in Herbal Material, Crude Extract, and Fractions from Leaves of *Eugenia uniflora* Linn. *Pharmacognosy Research*, 9(3r). <https://doi.org/10.4103/pr.pr>
- Rasheed, N., Ahmed, A., Nosheen, F., Imran, A., Islam, F., Noreen, R., Chauhan, A., Shah, M. A., & Amer Ali, Y. (2023). Effectiveness of combined seeds (pumpkin, sunflower, sesame, flaxseed): As adjacent therapy to treat polycystic ovary syndrome in females. *Food Science and Nutrition*, 11(6), 3385–3393. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3328>
- Sabarudin, Ruslin, Zubaydah, W. O. S., Sartinah, A., Buton, S., & Yamin. (2021). Antiradical activity, total phenolic, and total flavonoids extract and fractions of pumpkin (*Cucurbita moshata* Duch) leaves. *Food Research*, 5(2), 348–353. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.5\(2\).529](https://doi.org/10.26656/fr.2017.5(2).529)
- Shaikh, J. R., & Patil, M. (2020). Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *International Journal of Chemical Studies*, 8(2), 603–608. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834>
- Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M., & Hijji, Y. M. (2021). Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *Lwt, Food Science and Technology*, 150(111932). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111932>
- Skoracka, K., Ratajczak, A. E., Rychter, A. M., Dobrowolska, A., & Krela-Każmierczak, I. (2021). Female Fertility and the Nutritional Approach: The Most Essential Aspects. *Advances in Nutrition*, 12(6), 2372–2386. <https://doi.org/10.1093/advances/nmab068>
- Sunnah, I., Fadiyah, G. A., & Octavia, P. A. (2023). Karakteristik Fisik Dan Formulasi Minyak Biji Labu Kuning (*Cucurbita Moschata* D) Sebagai Body Scrub.pdf. *Media Informasi Penelitian Kabupaten Semarang*, 5(1), 392–400.
- Ullah, A., Munir, S., Badshah, S. L., Khan, N., Ghani, L., Poulson, B. G., Emwas, A., & Jaremko, M. (2020). Important Flavonoids and Their Role as aTherapeutic Agent. *Molecules*, 25, 1–39.
- Venturella, R., Vaiarelli, A., Cimadomo, D., Pedri, S., Lico, D., Mazzilli, R., Mocciano, R., Rienzi, L., Di Carlo, C., Ubaldi, F. M., & Zullo, F. (2019). State of the art and emerging drug therapies for female infertility. *Gynecological Endocrinology*, 35(10), 835–841. <https://doi.org/10.1080/09513590.2019.1603289>
- Zhuang, B., Ramanauskaite, G., Koa, Z. Y., & Wang, Z. G. (2021). Like dissolves like: A first-principles theory for predicting liquid miscibility and mixture dielectric constant. *Science Advances*, 7(7), 1–8. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abe7275>