

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK METANOL DAN PARTISI ETIL ASETAT
BIJI LABU KUNING (*Cucurbitae moshata*)**

*Activity Antioxidan Extracted Metanol and Partition Ethyl Acetat Pumpkin seeds
(Cucurbitae moschata)*

Mochamad Redhia Setiawan¹ dan Sentot Joko Raharjo²

1.2 Akademi Analis Farmasi Dan Makanan Putra Indonesia Malang jl. Barito No.5 Malang

Penulis Korespondensi : email redhias@gmail.com

ABSTRAK

Penyakit degeneratif yang timbul umumnya terjadi akibat kerusakan sel, jaringan lemak. Biji labu kuning mengandung senyawa metabolit sekunder Flavonoid dan Alkaloid yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi adanya kandungan Flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan. Biji labu kuning diekstraksi dengan metode maserasi dengan metanol, selanjutnya dipartisi dengan n-heksan kemudian dipartisi dengan etil asetat. Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan eluen n-heksan : etil asetat (6:4) menggunakan standart kuersetin. Aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode perendaman radikal bebas DPPH. Rendemen yang diperoleh dari ekstraksi metanol sebesar 2,847% dan partisi etil asetat sebesar 0,903% b/b. Hasil analisis Kromatografi Lapis Tipis pada ekstrak metanol biji labu kuning diperoleh nilai Rf 0,15 serupa dengan nilai Rf kuersetin sedangkan pada nilai Rf partisi etil asetat biji labu kuning lebih polar dari kuersetin sebesar 0,167. Konsentrasi penghambatan (IC50) yang dihasilkan pada ekstrak metanol adalah 29,113 µg/ml dan pada partisi etil asetat sebesar 27,893 µg/ml dan keduanya memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena nilai IC50 tidak lebih dari 50 µg/ml.

Kata kunci : Aktivitas Antioksidan, *Cucurbitae moschata*, biji labu kuning

ABSTRACT

Many degenerative diseases are appear. It generally occurs because of cell damage, fat tissue, and can also be affected due to increased free radicals from various sources. The purpose of this research is identify for existence of content of Flavonoid that serves as an Antioxidan. Cucurbita moschata seeds are extracted by maceration method with methanol then in the terraced partition with n-hexane and Ethyl acetate. The extract and partition of Cucurbitae moschata seeds was identified flavonoid compounds using Thin Layer Chromatography (TLC) methods with eluent n-hexane: ethyl acetate (6:4) with quercetin standard. Then do the antioxidant activity by using DPPH free radical immersion methods. The result of the immersion obtained of extraction is 2,847% and ethyl acetate partition is 0,903% b/b. In thin Layer Chromatography (TLC), the same Rf values were obtained on methanolic extract of Cucurbita moschata seeds and quercetin 0.15. On the ethyl acetate partition of Cucurbita moschata seed is more polar than quercetin 0.167. The inhibitory concentration (IC50) that results in the methanol extract is 29,113 µg/ml and on ethyl acetate partition of 27,893 µg/ml µg/ml and has strong antioxidant activity because IC50 value is kurang more than 50 µg/ml.

Keyword : Activity Antioxidan, Cucurbitae moschata, Pumpkin seeds.

PENDAHULUAN

Semakin berkembangnya zaman hal itu dibarengi oleh

meningkatnya sumber radikal bebas. Radikal bebas terlibat dalam Penyakit degeneratif umumnya

terjadi akibat kerusakan sel, jaringan lemak, protein, sistem kekebalan, dan DNA yang disebabkan oleh berbagai faktor baik terjadi secara alami, terkena radiasi, atau oleh zat-zat kimia yang bersifat karsinogenik (Atun, 2006). Stres oksidatif merupakan ketidak seimbangan antara radikal bebas (pro oksidan) dan antioksidan yang dipicu oleh dua kondisi umum yaitu kurangnya antioksidan dan kelebihan produksi radikal bebas (Kürkçü et al., 2010). Antioksidan mempunyai peranan penting dalam proses biologi untuk mencegah kerusakan karena adanya radikal bebas (Widyawati et al., 2010).

Buah labu kuning memiliki beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder seperti Alkaloid, Flavonoid, namun tidak mengandung senyawa Saponin, Tanin, Steroid serta Triterpenoid (Adlhani, 2014). Aktivitas biji *Cucurbitae moschata* memiliki kemampuan sebagai antioksidan sebesar 47,011% (Tasminatun S.dkk, 2012). Biji labu kuning (*Cucurbitae moschata*) juga memiliki aktivitas farmakologi seperti antidiabetes, antijamur, antibakteri, antiinflamasi dan efek antioksidan. Biji buah labu kuning (*Cucurbita moschata*) mengandung steroid, alkaloid, flavonoid dan tanin (Abd El-Aziz.dkk, 2011).

Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan disebabkan struktur senyawa flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas (Giorgio, 2000). Flavonoid merupakan antioksidan eksogen yang

mengandung gugus fenolik dan telah dibuktikan bermanfaat dalam mencegah kerusakan sel akibat stress oksidatif. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antoksidan adalah dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menstabilkan radikal bebas yang reaktif (Arora, et al., 1998).

Pada penelitian sebelumnya, telah dilakukan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol biji labu kuning (*Cucurbitae moschata*) yang kemampuan antioksidannya lebih rendah dari baku pembanding Kuersetin dengan menggunakan metode DPPH. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanolik biji *C. moschata* memiliki aktivitas lebih lemah dalam meredam radikal bebas DPPH(Akhmad, Bangunawati, Rahajeng and Salmah, Orbayinah, 2015). Sedangkan pada penelitian lain dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan pelarut etanol dan partisi etil asetat pada daun katuk memperoleh aktivitas antioksidan lebih kuat. Senyawa Flavonoid merupakan golongan senyawa yang cenderung larut dalam pelarut polar.

Oleh karena itu, dalam penelitian ini untuk meningkatkan kemampuan antioksidannya proses ekstraksi akan dilakukan menggunakan metanol 80%, kemudian untuk memisahkan senyawa flavonoidnya dilakukan partisi dengan n-heksan dan etil asetat. Dilakukan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol dan partisi etil asetat dari biji labu kuning untuk melihat perbandingan antara hasil ekstraksi dan hasil partisi. Hasil partisi etil asetat diharapkan dapat diperoleh senyawa flavonoid yang lebih optimal dalam meningkatkan kemampuan antioksidannya.

METODE PENELITIAN

Berdasarkan latar belakang penelitian, maka penelitian ini termasuk penelitian deskriptif, yaitu penelitian yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak metanol biji labu kuning dan partisi etil asetat biji labu kuning.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, gelas ukur, beaker glass, oven, botol, corong buchner, batang pengaduk, kertas saring, timbangan digital, blender, *rotary evaporator*, waterbatt, corong pisah, labu kuning, Spektrofotometer UV-Vis, Chamber dan Tutup chamber.

Bahan yang digunakan adalah biji labu kuning, metanol, aquades, n-heksan, etil asetat, DPPH, *kuersetin*, plat silica GF254, Kloroform, HCl, Mg, amoniak..

Ekstraksi dan partisi biji labu kuning (*Cucurbitae moschata*)

Serbuk biji labu kuning (*Cucurbita moschata*) yang telah diayak ditimbang sebanyak 500 g direndam dalam metanol 2,5 L (hingga serbuk terendam sepenuhnya) selama 48 jam. Kemudian dilakukan remaserasi hingga filtrat yang dihasilkan berwarna bening. Selama proses tersebut berlangsung dilakukan pengadukan berkala. Ekstrak metanol biji labu kuning yang diperoleh dibagi dua, dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 60° C sampai diperoleh ekstrak kental Metanol (alasan metanol) dan Kemudian dipartisi berturut-turut dengan n-heksan (1:1) terbentuk dua lapisan. Lapisan atas dipisahkan (tidak dilanjutkan) lapisan bawah ditambah etil asetat dan dikocok sampai

terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah dipisahkan (tidak dilanjutkan), lapisan atas yang di ambil.

Analisis KLT identifikasi Flavonoid

Identifikasi senyawa dilakukan dengan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Fase gerak yang digunakan pada proses KLT ini adalah larutan (n-heksan : etil asetat) dengan perbandingan 6 : 4. Selulosa sebagai fase diam, kuersetin sebagai baku pembanding, dan larutan amoniak sebagai pereaksi.

Uji daya antioksidan

Ekstraksi biji labu kuning dan hasil partisi n-heksan berturut-turut dibuat seri kadar 0,1 µg/ml, 0,2 µg/ml, 0,3 µg/ml, 0,4 µg/ml, 0,5 µg/ml. Sebanyak 9 ml ditambahkan 1 mL DPPH 0,1 mM dalam metanol. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit (operating time). Selanjutnya seri kadar biji labu kuning diukur dan dilakukan pengamatan absorbansi pada panjang gelombang maksimum yang didapatkan. Pengujian dilakukan dengan 2 kali replikasi. Besarnya aktifitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus

Perhitungan IC50

Setelah didapatkan persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, dilanjutkan dengan perhitungan secara regresi linier menggunakan persamaan $Y = A + BX$, dimana X adalah konsentrasi (µg/mL) dan Y adalah persentase inhibisi (%). Aktifitas antioksidan dinyatakan dengan harga IC50 yaitu konsentrasi sampel dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai harga IC50 didapatkan

dari nilai X setelah mengganti Y dengan 50.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi metanol dan Partisi etil Asetat

Biji labu kuning (*Cucurbitae moschata*) dilakukan pengeringan dengan diangin-anginkan terlebih dahulu dengan tujuan menghilangkan kadar air, setelah proses tersebut biji labu kuning dihaluskan lalu di ekstraksi dengan metode maserasi dengan metanol. Ekstrak hasil maserasi dipisahkan dengan pelarut menggunakan rotary evaporator, kemudian dilakukan penguapan diatas penangas diatas kompor listrik lalu didapat ekstrak kental berwarna coklat kehitaman dengan rendemen sebesar 2,847% b/b. Pada penelitian yang dilakukan oleh jurnal sebelumnya dihasilkan rendemen dari ekstrak etanol sebesar 3,7561% b/b, rendemen yang dihasilkan dari ekstrak metanol lebih tinggi dibanding rendemen yang dihasilkan Tabel 1. Hasil KLT

No.	Sampel	Jarak senyawa (cm)	Jarak eluen (cm)	Rf
1.	Ekstrak metanol	0,9 cm	6 cm	0,15
2.	Partisi etil asetat	1 cm	6 cm	0,167
		2,4 cm	6 cm	0,4
3.	Standart kuersetin	0,9 cm	6 cm	0,15

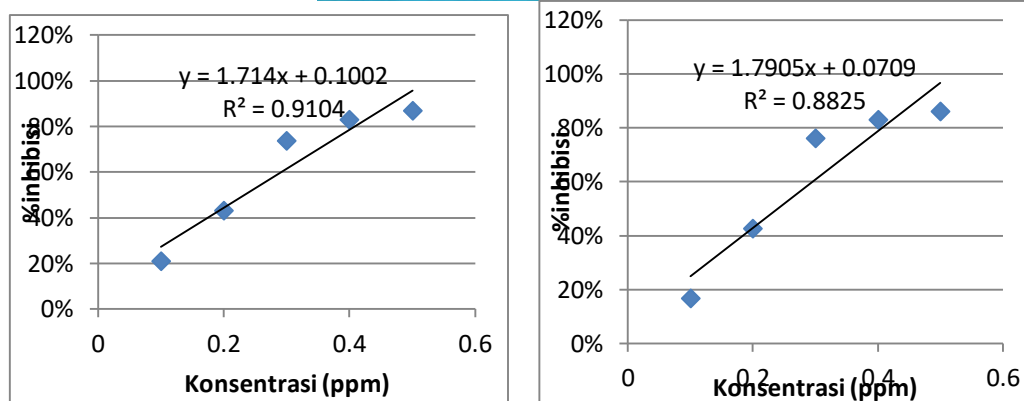
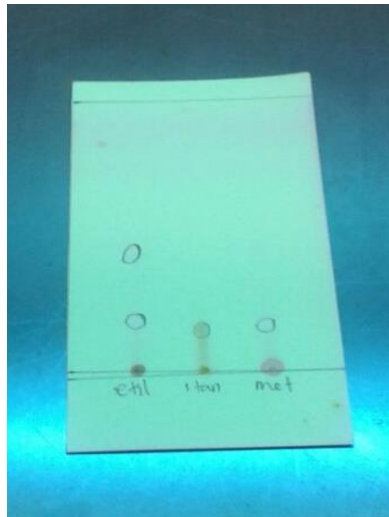
Gambar 1. Hasil KLT etil asetat : Kuersetin : Ekstrak Metanol

oleh ekstrak metanol hal itu bisa disebabkan karena kemungkinan pada penelitian sebelumnya banyak senyawa metabolit sekunder lain yang ikut tersari selain Flavonoid. Kemudian ekstrak kental metanol biji labu kuning diambil $\frac{3}{4}$ bagian untuk dilakukan partisi dengan n-heksan, selanjutnya partisi dengan etil asetat diperoleh rendemen sebesar 0,903% b/b.

Identifikasi Senyawa

Menggunakan metode KLT

Identifikasi yang dilakukan pada senyawa Flavonoid pada biji labu kuning dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Fase gerak yang digunakan eluen n-heksan : etil asetat (6:4). Dimulai dari kiri, etil asetat : Kuersetin : Ekstrak Metanol. Fase diam yang digunakan adalah selulosa dan plat silika GF234. Bercak pada fase diam bisa diamati dengan bantuan sinar UV Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 4.1



Gambar 2. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol biji labu kuning

Gambar 3. Aktivitas antioksidan partisi etil asetat biji labu kuning

Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antiradikal bebas DPPH dilakukan secara Spektrofotometri dilakukan yaitu dengan cara penambahan sampel dengan sejumlah larutan DPPH (ml) untuk mereaksikan, metode ini dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. DPPH dapat memberi aktivitas antioksidan dengan adanya donor atom hidrogen (Hydrogen atom transfer) dari senyawa hidroksil sehingga DPPH mengalami reduksi menjadi DPPH-H (Marxen dkk., 2007) Pengukuran absorbansi sampel dengan panjang gelombang 515 nm dengan beberapa konsentrasi 0,1 µg/ml , 0,2 µg/ml , 0,3 µg/ml , 0,4 µg/ml , 0,5 µg/ml yang dibandingkan dengan kontrol (Blanko positif dan negatif), fungsi dari blanko yaitu untuk meyakinkan

sampel tidak tercampur oleh zat lain. Hasil yang diperoleh dihitung nilai %inhibisi, kemudian dibuat regresi linier antara konsentrasi sampel dengan %inhibisi sehingga didapatkan persamaan seperti pada Gambar 4.2 dan Gambar 4.3, persamaan tersebut digunakan untuk menghitung Inhibitor Concentration (IC50) yang merupakan konsentrasi suatu senyawa yang dapat menyebabkan aktivitas DPPH berkurang 50% (Tasminatun,sri.,2012). Semakin kecil nilai IC50 menunjukkan aktivitas antioksidan semakin tinggi(Molyneux, P.,2004). Setelah dilakukan perhitungan didapatkan nilai IC50 dari ekstrak metanol biji labu kuning yaitu sebesar 29,113 µg/ml yang berarti pada ekstrak metanol membutuhkan konsentrasi sebesar 29,113 µg/ml

untuk dapat menangkap radikal bebas dari DPPH sebesar 50% hasil dapat dilihat pada (Gambar 4.2) Sedangkan pada partisi etil asetat biji labu kuning nilai IC50 yaitu sebesar 27,893 $\mu\text{g/ml}$ (Gambar 4.3). Pada penelitian lain yang dilakukan oleh (Tasminatun, sri., 2012) digunakan baku pembanding kuersetin lalu setelah dilakukan perhitungan pembanding kuersetin didapatkan nilai IC50 sebesar 2,55 $\mu\text{g/ml}$. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol biji labu kuning dan partisi etil asetat jika dilihat dari nilai IC50 lebih kuat partisi etil asetat dibanding dengan ekstrak metanol, lalu jika keduanya dibandingkan dengan standart kuersetin tentu hal ini sangat jauh.

Nilai IC50 dikatakan kuat apabila kurang dari 50 $\mu\text{g/ml}$ dan dikatakan lemah jika lebih dari 150 $\mu\text{g/ml}$, jika dilihat dari klasifikasi tersebut maka aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol biji labu kuning dan partisi etil asetat biji labu kuning termasuk dalam kategori kuat karena aktivitas antioksidan kurang dari 50 $\mu\text{g/ml}$. Jika dilihat dari penelitian (Tasminatun, Sri, et al.2012) tentang uji aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak etanol biji labu kuning yang mendapat nilai IC50 sebesar 420,08 $\mu\text{g/ml}$ masuk dalam kategori lemah, hal ini berarti aktivitas antioksidan dari biji labu kuning memiliki aktivitas yang kuat sebagai antioksidan jika menggunakan partisi etil asetat. Kandungan flavonoid dalam ekstrak metanol biji labu kuning kemungkinan adalah flavonoid golongan flavonol glikosida (Tasminatun, Sri, et al.2012). Menurut senyawa flavonoid dalam bentuk ekstrak yang tidak murni kemungkinan masih berikatan

dengan gugus glikosida karena gugus glikosida yang berikatan dengan flavonoid dapat menurunkan aktivitas antioksidan (Ery A. 2013). Hasil KLT juga terlihat bahwa dalam penelitian ini, ekstrak metanol dan partisi biji labu kuning menunjukkan adanya senyawa Flavonoid. Umumnya senyawa flavonoid, seperti kuersetin merupakan senyawa anti radikal bebas dan bereaksi dengan reagen DPPH. Kemudian untuk analisis data digunakan metode Paired T-Test untuk meyakinkan hasil.

Hasil yang didapatkan jika dilihat dari perhitungan IC50 terdapat perbedaan kekuatan aktivitas antara ekstrak metanol biji labu kuning dan juga partisi etil asetat biji labu kuning yang mana lebih kuat aktivitas antioksidan dari partisi etil asetat dibanding ekstrak metanol biji labu kuning, namun setelah dianalisis data dengan menggunakan Paired T-test didapat hasil Thitung adalah -79.53774 sedangkan Ttabel 2,306004135, maka Thitung < Ttabel, maka dapat disimpulkan bahwa H0 diterima dan H1 ditolak yang berarti tidak ada perbedaan signifikan antara aktivitas antioksidan ekstrak metanol biji labu kuning dan partisi etil asetat.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian dan hasil analisa ekstrak metanol dan partisi etil asetat biji labu kuning mengandung senyawa Flavonoid yang dapat berfungsi sebagai antioksidan dengan kadar yang lemah karena nilai IC50 lebih dari 50 $\mu\text{g/ml}$ kekuatan antioksidan yang dimiliki yaitu 29,113 $\mu\text{g/ml}$ pada ekstrak metanol dan 27,893 $\mu\text{g/ml}$ pada partisi etil asetat, setelah dilakukan perhitungan dengan metode Paired T-Tes dapat

disimpulkan bahwa $T_{hitung} < T_{tabel}$, maka H_0 diterima dan H_1 ditolak berarti tidak ada perbedaan signifikan antara aktivitas antioksidan ekstrak metanol biji labu kuning dan partisi etil asetat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis dipersembahkan kepada Akademi Analisis Farmasi dan Makanan Putra Indonesia Malang yang telah memberikan kemudahan dalam sarana dan prasarana, serta Laboratorium Balai Penelitian Aneka Tanaman Kacang dan Umbi (BALITKABI) Malang yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd El-Aziz, A. B. and Abd El-Kalek, H. H. (2011) 'Antimicrobial proteins and oil seeds from pumpkin (*Cucurbita moschata*)', *Nature and Science*, 9(3), pp. 105–119.
- Adlhani, E. (2014) 'PENAPISAN KANDUNGAN FITOKIMIA PADA BUAH LABU KUNING (*Cucurbita moschata*)', 3(1), pp. 11–16.
- Akbar, H. R. (2010) 'ISOLASI DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN FLAVONOID DAUN DANDANG GENDIS (*Clinacanthus nutans*) BERPOTENSI SEBAGAI ANTIOKSIDAN'.
- Akhmad, N., Bangunawati, Rahajeng, M.Si., A. and Dra. Salmah, Orbayinah, M.Kes., A. (2015) 'Naskah publikasi karya tulis ilmiah 26', pp. 1–18.
- Armala, M. . (2009) 'Daya Antioksidan Fraksi Air Ekstrak Herba Kenikir (*Cosmos caudatus* H. B. K.) dan Profil KLT', p. 39.
- Atun, S. (2006) 'Hubungan Struktur Dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Senyawa Resveratrol Dan Turunannya', pp. 1–8.
- Chang, H. Y. et al. (2007) 'Antioxidant and free radical scavenging activities of *Phellinus merrillii* extracts', *Botanical Studies*, 48(4), pp. 407–417. doi: 310903500/34932.
- Kürkçü, R. et al. (2010) 'The effects of regular exercise on oxidative and antioxidative parameters in young wrestlers', *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 4(5), pp. 244–251. Available at: <http://www.academicjournals.org/ajpp>.
- Made Mega1) dan Dewa Ayu Swastini2 (1907) 'Screening fitokimia dan aktivitas antiradikal bebas ekstrak metanol daun gaharu ('), pp. 187–192.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Edisi VI, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, ITB Press, Bandung 212
- RUSTINA, 2016, *UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK ETIL ASETAT BIJI LABU KUNING (*Cucurbita moschata* Duch. Poir)*.
- Scott, J. W. et al. (1974) '6-Hydroxychroman-2-carboxylic acids: Novel antioxidants', *Journal of the American Oil Chemists Society*. Springer-Verlag, 51(5), pp. 200–203. doi: 10.1007/BF02632894.
- Susan, P., 2003, *Quercetin Monograph*, Pharm D, 1-2
- Widyawati, P. S. et al. (2010) 'PIKRILHIDRAZIL (

EKSTRAK DAN FRAKSI
DAUN BELUNTAS (*Pluchea
indica Less*)', (2007), pp. 1–7.

Yuhernita & Juniarti, 2011, Analisis
Senyawa Metabolit Sekunder
dari Ekstrak Metanol Daun
yang Berpotensi Sebagai
Antioksidan, Makara
Sains, Departemen Biokimia,
Fakultas Kedokteran
Universitas Yarsi: Jakarta. Hlm.
48-52