

KANDUNGAN TOTAL FENOLIK DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL KULIT LABU KUNING (*Cucurbita moschata*)

Yuliana Purwaningsih*, Diyan Wigati, Erwin Indriyanti

Stifar "Yayasan Pharmasi Semarang"

Jl. Letjend Sarwo Edie Wibowo KM1 Plamogansari Pucanggading Semarang

*Email: yulianapurwaningsih56@gmail.com

Abstrak

Penelitian tentang kandungan total fenolik dan aktivitas antioksidan telah dilakukan pada kulit labu kuning (*Cucurbita moschata*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan total fenolik dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit labu kuning (*Cucurbita moschata*). Ekstrak kulit labu kuning diperoleh dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Kandungan total fenolik dapat diketahui dengan uji menggunakan metode kolorimetrik Folin Ciocalteu. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit labu kuning diuji menggunakan metode spektrofotometri dengan radikal bebas DPPH. Hasil Penelitian menunjukkan bahwa kandungan total fenolik pada ekstrak etanol kulit labu kuning sebesar 56,62 mg GAE/g dan IC₅₀ terhadap radikal bebas DPPH diperoleh pada konsentrasi ekstrak sebesar 64,8238 ppm.

Kata Kunci: antioksidan, *Cucurbita moschata*, DPPH, kulit labu kuning, total fenolik

PENDAHULUAN

Radikal bebas bertanggung jawab terhadap berbagai macam penyakit termasuk kanker, penyakit jantung, kelainan syaraf, penyakit Alzheimer, Parkinson, liver, penuaan dini dan kelainan pada tulang belakang. Perlindungan terhadap radikal bebas dapat diperoleh dengan menggunakan antioksidan (Alam, dkk, 2013). Antioksidan merupakan molekul yang dapat mendonorkan elektronnya atau atom hidrogennya untuk menangkap radikal bebas penyebab kerusakan sel (Prochazkova, dkk, 2011). Antioksidan adalah penghambat proses oksidasi, bahkan pada konsentrasi yang relatif kecil memiliki peran fisiologis yang beragam dalam tubuh. Kandungan antioksidan dari bahan tanaman bertindak sebagai penangkap radikal, dan membantu dalam mengubah radikal menjadi spesies kurang reaktif. Berbagai antioksidan penangkap radikal bebas ditemukan dalam sumber makanan seperti buah-buahan, sayuran dan teh, dll (Kumar, 2014).

Antioksidan terlibat dalam mekanisme pertahanan organisme terhadap patologi yang terkait dengan serangan radikal bebas (Pisoschi dan Negulescu, 2011). Tanaman adalah sumber potensial antioksidan alami. Karotenoid, flavonoid, asam sinamat, asam benzoat, asam folat, asam askorbat, tocopherol, tocotrienol adalah beberapa metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan yang diproduksi oleh tanaman (Ramamoorthy dan Bono, 2007). Bahan alam yang mengandung senyawa seperti antioksidan (contohnya vitamin C, vitamin E), flavonoid, karotenoid dan asam fenolat memainkan peranan penting dalam melawan spesies radikal bebas yang menyebabkan sejumlah perubahan negatif pada kulit (Anitha, dkk., 2016).

Sayuran berwarna dan buah-buahan dikenal sebagai sumber fenolat yang baik, termasuk flavonoid, antosianin, dan karotenoid. Labu kuning termasuk dalam keluarga Cucurbitaceae dan dibudidayakan di daerah yang hangat di seluruh dunia. Tanaman ini tumbuh tidak hanya sebagai tanaman pangan tapi juga untuk makanan hewani (Riaz, dkk, 2015). Tanaman labu kuning adalah sejenis tanaman sayuran buah yang banyak tumbuh di Indonesia dengan kemampuan daya adaptasi yang tinggi pada berbagai kondisi lingkungan. Buah labu kuning mempunyai keunggulan daya awet yang tinggi dan memiliki aroma dan citarasa yang khas. Labu kuning (*Cucurbita moschata*) di Indonesia dikenal dengan nama lain yaitu labu parang. Pemanfaatannya saat ini sebagian besar masih terbatas pada skala rumah tangga yaitu diolah menjadi sayur dari buah yang masih muda, dan dibuat kolak, dodol, cake, dan kue-kue kering dari buah yang sudah tua (Hamdi, dkk, 2017).

Labu kuning (*Cucurbita moschata*) merupakan sayuran penting karena nilai nutrisinya dan manfaat kesehatannya. Tanaman ini adalah sumber karotenoid yang kaya, vitamin larut air, fenolat, flavonoid polisakarida, garam mineral, dan vitamin yang semuanya bermanfaat bagi

kesehatan (Aukkanit dan Sirichokworrakit, 2017). Selama ini kulit labu kuning dianggap hanya sebagai sampah yang tidak terpakai. Penelitian-penelitian terhadap kulit buah labu kuning juga sangat jarang dilakukan padahal kulit labu kuning kaya akan senyawa metabolit sekunder. Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan total fenolik menggunakan metode kolorimetrik Folin-Ciocalteu dan mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit labu kuning (*Cucurbita moschata*) menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dengan radikal bebas DPPH.

METODOLOGI

Sampel Tanaman

Buah labu kuning diperoleh dari pasar tradisional di Semarang. Buah labu kuning di cuci bersih dan dikupas, selanjutnya dikeringkan. Kulit buah labu kuning kering diperkecil ukurannya dengan blender menjadi serbuk kemudian diayak dengan ayakan nomor 30/40 mesh. Serbuk ini yang selanjutnya digunakan dalam proses ekstraksi.

Bahan-bahan penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bahan-bahan kimia pro analis diantaranya adalah asam galat, rutin, etanol 96%, Folin-Ciocalteu, natrium karbonat, methanol, DPPH.

Alat-Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat gelas seperti labu takar, pengaduk gelas, Erlenmeyer, dan tabung reaksi, *waterbath*, sonikator, spektrofotomeri Uv-Vis, *evaporator vacuum*, maserator, aluminium foil, timbangan analitik,

Ekstraksi Kulit Labu Kuning

Sebanyak 208 gram serbuk kulit buah labu kuning diekstraksi dengan cara maserasi selama 5 hari dengan 1500 mL pelarut etanol 96%. Hasil maserasi disaring dan dihilangkan pelarut etanolnya dengan menggunakan *evaporator vacuum* sehingga diperoleh ekstrak pekat etanol kulit labu kuning.

Uji Total Fenolik

Prosedur uji total fenolik berdasarkan Ahmed, dkk, (2015) dengan sedikit modifikasi. Ekstrak pekat etanol kulit labu kuning dilarutkan dalam methanol. Campuran disonikasi selama 5 menit untuk menghomogenkan larutan. Sebanyak 300 μ L larutan ini dimasukkan dalam tabung reaksi, dan ditambah 1 mL methanol, 3,16 mL akuades dan 200 μ L reagen Folin-Ciocalteu. Campuran ini diinkubasi selama 8 menit pada suhu ruang, kemudian ditambahkan 600 μ L larutan natrium karbonat 10%. Tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi di *waterbath* pada suhu 40°C selama 30 menit. Blanko disiapkan sama seperti prosedur dengan menghilangkan ekstrak etanol labu kuning. Absorbansi sampel diukur menggunakan spektrofotometri visible pada panjang gelombang 765 nm. Baku standar asam galat disiapkan seperti pada sampel dengan konsentrasi antara 20 -100 ppm. Total fenol dihitung sebagai μ g asam galat per mL, yang dihitung dengan formula $y = bx + a$, dimana y adalah absorbansi sampel pada 765 nm dan x adalah jumlah ekuivalen asam galat (μ g/mL). Perhitungan kandungan fenolik total (TPC) dengan menggunakan persamaan 1.

$$TPC = \frac{C.V. \cdot fp}{g} \quad (1)$$

Keterangan : C = konsentrasi fenolik (nilai x)
 V = volume sampel yang digunakan (mL)
 fp = faktor pengenceran
 g = berat sampel yang digunakan (g)

Uji antioksidan menggunakan DPPH (1,1-difenil-2-pikril hidrazil)

Aktivitas antioksidan ekstrak kulit labu kuning dengan metode DPPH sesuai yang digunakan oleh Ahmed, dkk, (2013) dengan sedikit modifikasi. Ekstrak etanol kulit labu kuning dilarutkan dalam etanol sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan tersebut dibuat seri larutan ekstrak etanol yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm. Masing-masing seri larutan dipipet 1 mL dan ditambah 1 mL larutan DPPH 0,1090 mM. Campuran diinkubasi selama 30 menit pada ruang gelap dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm. Blanko diukur pada panjang gelombang yang sama seperti sampel dengan meniadakan sampel pada pengukuran. Kontrol positif yang digunakan adalah larutan baku rutin dengan konsentrasi 2-10 ppm. Absorbansi yang diperoleh dari pengukuran dianalisa persentase aktivitas antioksidannya menggunakan persamaan 2.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{blanko}}} \times 100\% \quad (2)$$

Data yang diperoleh dibuat persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi senyawa uji (x) dengan persen aktivitas antioksidan. Dari persamaan regresi linear akan diketahui nilai IC_{50} dari sampel yaitu nilai yang menggambarkan besarnya konsentrasi dari ekstrak uji yang mampu menangkap 50% radikal bebas DPPH.

HASIL DAN PEMBAHASAN

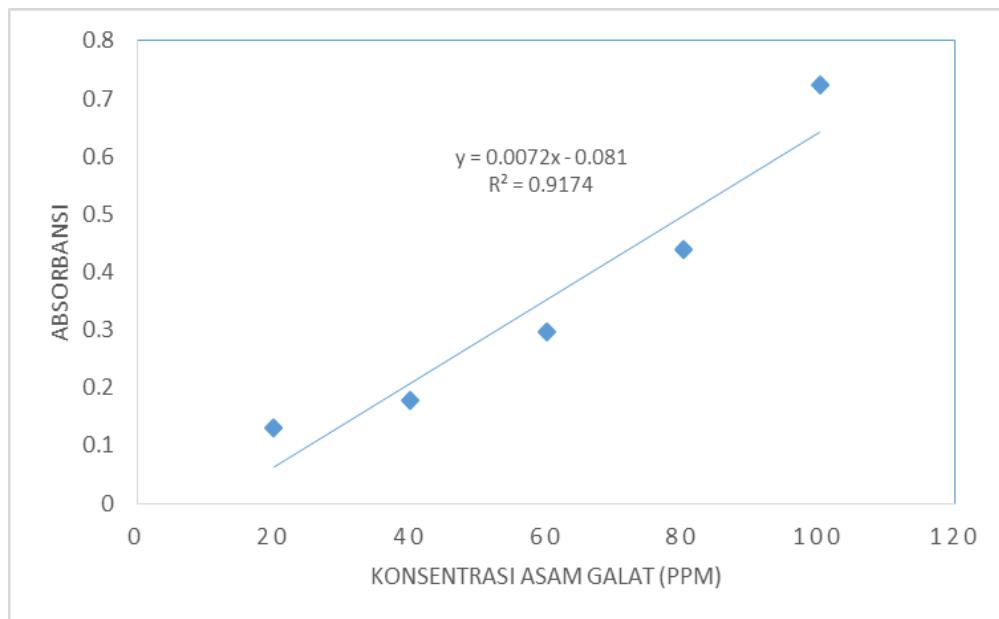
Ekstraksi kulit labu kuning pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena metode ini mudah, sederhana dan paling banyak digunakan dalam penelitian tanaman obat. Metode ini dilakukan dengan cara merendam sampel dengan pelarut etanol selama 5 hari. Hal ini dimaksudkan untuk melunakkan dan menghancurkan dinding sel tanaman sehingga melepaskan senyawa fitokimia yang dapat larut dalam pelarut yang digunakan (Azwanida, 2015). Ekstrak pekat kulit labu kuning diperoleh sebesar 31,6 gram dengan warna kuning kecoklatan dan bau khas labu kuning.

Hasil Uji Total fenolik

Penetapan kadar fenolik total ekstrak etanol kulit labu kuning dengan metode spektrofotometer menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu (Blainski, dkk, 2013; Lin Song, dkk, 2010). Prinsip metode ini adalah kemampuan reduksi gugus fungsional fenol. Reaksi Oksidasi dan reduksi ion fenolat terjadi pada kondisi basa. Reduksi kompleks fosfotungstat-fosfomolibdat dalam pereaksi Folin Ciocalteu yang terjadi dalam kondisi basa (penambahan natrium karbonat) oleh ion fenolat akan mengakibatkan terjadinya kompleks warna biru (Arbianti, dkk, 2007). Kompleks warna biru ini dapat diamati dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Blainski, dkk, 2013). Reduksi terhadap kompleks tersebut akan meningkat sejalan dengan banyaknya kandungan senyawa fenolik yang menyebabkan warna biru semakin pekat (Arbianti, dkk, 2007).

Kandungan total fenolik yang diperoleh merupakan ekstrapolasi dari kurva kalibrasi ($Y = 0,0072x - 0,081$; $R^2 = 0,9714$) pada gambar 1 yang disiapkan dari konsentrasi asam galat. Kandungan fenolik total dinyatakan dalam mg ekivalen asam galat (GAE). Berdasarkan Hasil uji total fenolik menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit labu kuning mengandung total fenolik sebesar 56,62 mg GAE/g. Hal ini berarti bahwa dalam setiap gram ekstrak etanol kulit labu kuning mengandung asam galat sebesar 56,62 mg.

Senyawa fenolik merupakan metabolit tanaman yang diketahui memiliki beberapa gugus fenol. Beberapa senyawa fenolik sangat reaktif dalam netralisasi radikal bebas dengan cara mendonasikan sebuah atom hidrogen atau elektronnya, dan sebagai pengkhelat ion logam dalam larutan (Lin Song, dkk, 2010). Senyawa fenolik diketahui sebagai antioksidan karena kemampuan mereka untuk menangkap radikal bebas. Penangkapan radikal bebas dikaitkan dengan penggantian gugus hidroksil dalam sistem cincin aromatis dari senyawa fenolik sebagai hasil dari kemampuan senyawa tersebut untuk mendonorkan hidrogennya (Farmagio, dkk, 2014).

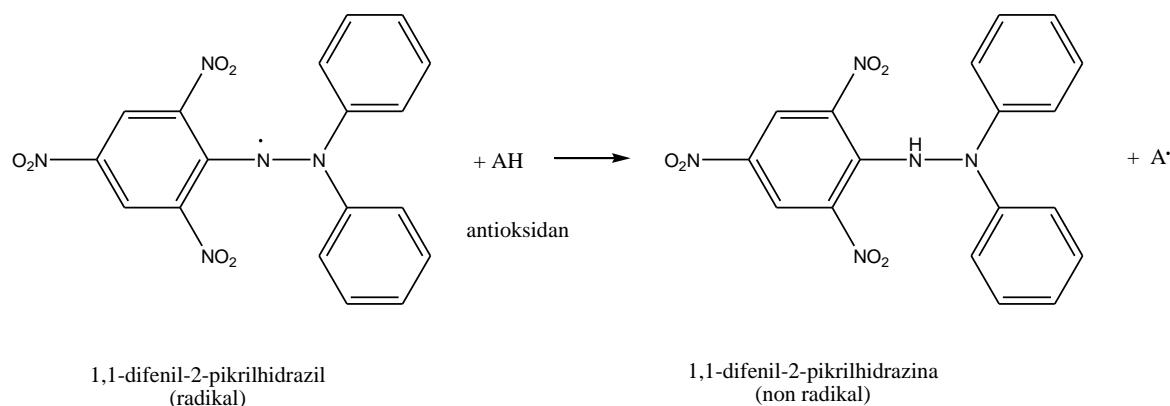


Gambar 1. Kurva baku asam galat

Hasil uji aktivitas antioksidan dengan spektrofotometer UV-Vis

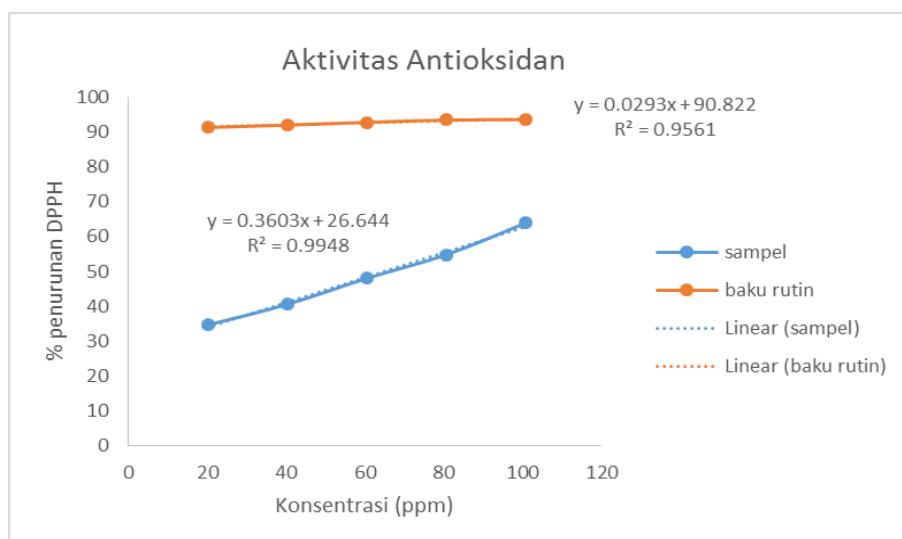
Penentuan aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan metode spektrofotometri visibel menggunakan radikal bebas DPPH. DPPH merupakan radikal bebas yang stabil, DPPH tidak mengalami dimerisasi seperti halnya radikal bebas lainnya (Pisoschi dan Negulescu, 2011). DPPH dapat menangkap satu elektron atau hidrogen menjadi molekul diamagnetik yang stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH dengan cara mentransfer elektron atau atom hidrogen ke DPPH dan mengubahnya menjadi 1,1 difenil-2-pikrilhidrazina (Amoussa, dkk, 2015).

Reduksi radikal DPPH oleh antioksidan dievaluasi melalui penurunan absorbansi DPPH pada panjang gelombang 515-520 nm (Molyneux, 2004). Penurunan absorbansi DPPH oleh antioksidan dengan cara transfer hidrogen oleh antioksidan kepada DPPH yang ditandai dengan perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning. Reaksi yang terjadi dapat dilihat pada gambar 2 (Molyneux, 2004; Alam, dkk, 2013).



Gambar 2. Reaksi antara antioksidan dengan DPPH

Pengukuran absorbansi dalam penelitian ini dilakukan pada panjang gelombang maksimum larutan DPPH yaitu 515 nm dengan absorbansi 1,034. Ekstrak etanol kulit labu kuning dibuat seri konsentrasi (20-100 ppm) dan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm dengan *operating time* 30 menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit labu kuning menunjukkan IC₅₀ terhadap DPPH pada konsentrasi 64,8238 ppm (Gambar 3). Hal ini berarti bahwa ekstrak etanol kulit labu kuning pada konsentrasi 64,8238 ppm mampu mereduksi DPPH sebesar 50 %. Dengan demikian ekstrak etanol kulit labu kuning sangat berpotensi sebagai antioksidan meskipun nilai IC₅₀ nya masih dibawah baku rutin.



Gambar 3. Aktivitas antioksidan ekstrak kulit labu kuning dan baku rutin

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kandungan total fenolik ekstrak etanol kulit labu kuning adalah 56,62 mg GAE/g. Persen inhibisi (IC₅₀) ekstrak etanol kulit labu kuning terhadap DPPH pada konsentrasi 64,8238 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada LPPM Stifar “Yayasan Pharmasi Semarang” yang telah memberi bantuan dana untuk terselesainya penelitian ini, serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebut satu persatu.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, S., A. Ansari, A., Q., Waheed, M., A., and Juned, S., A., (2013), *Extraction and determination of antioxidant activity of Withania somnifera*, Euro.J.Exp.Bio., 3(5): 502-507
- Alam, M., N., Bristi, N. J., Rafiquzzaman, M., 2013, *Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity*, Saudi Pharmaceutical, 21, 143-152
- Aldhani, E., (2014), *Penapisan Kandungan Fitokimia pada Buah Labu Kuning (Cucurbita moschata)*, Jurnal Teknologi & Industri Vol. 3 No. 1; Juni 2014, hal 11-16
- Amoussa, a., M., O., Sanni, A., Lagnika, L., (2015), *Antioxidant activity and Total phenolic, Flavonoid and flavonol contents of bark extracts of Acacia ataxantha*, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 4(2): 172-178
- Anitha D., Reddy, K.Y., Venkatesh, P., Raani, M., J., (2016), *A Review-Herbal Sunscreen Agents on Skin Protection*, European Journal of Pharmaceutical and Medical Research (ejpmr), 3(11), 308-313
- Arbianti, R., Utami, T.S., Kurmana A., Sinaga A., (2007), *Comparison of Antioxidant Activity and Total phenolic Content of Dillenia indica Leaves Extract Obtained using Various Techniques*: Proceeding of 14th Regional Symposium on Chemical Engineering.
- Aukkanit, N., Sirichokworrakit, S., 2017, *Effect Of Dried Pumpkin Powder On Physical, Chemical, And Sensory Properties Of Noodle*, International Journal Of Advances In Science Engineering And Technology, 5(1), 14-18
- Azwanida, N.N., (2015), A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation, Med Aromat Plants, 4:3,p:1-6
- Blainski, A., Lopes, G. C., De Mello, J., C., P., (2013), *Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from Limonium brasiliense L.*, Molecules, 18, 6852-6865
- Farmagio, A., S., N., Volobuff, C., R., F., Santiago, M., Cardoso, C., A., L., Vieira, M., C., Pereira, Z., V., (2014), *Evaluation of Antioxidant Activity, Total Flavonoids, Tannins and Phenolic Compounds in Psychotria Leaf Extracts*, Antioxidants, 3, 745-757
- Hamdi, Andiyono, Mulyati, S., (2017), *Pengembangan Bahan Pangan Lokal Labu Kuning (Cucurbita Moschata) Di Kabupaten Sambas*, UNES Journal of Agricultural Scienties Vol.1 Issue 1, February 2017, hal 13-32
- Kumar, S., (2014), *The Importance Of Antioxidant And Their Role In Pharmaceutical Science - A Review*, Asian Journal of Research in Chemistry and Pharmaceutical Sciences. 1(1), 27 – 44.
- Lin Song, F., You Gan, R., Xiao, Q., Kuang, L., and Bin Li, H., (2010), *Total Phenolic Contents and Antioxidant Capacities of Selected Chinese Medical Plants*, Int. J. Mol. Sci. 11, 2362-2372
- Molyneux, P., (2004), *The Use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity*, Songklanarin J.Sci. Technol., 26(2):211-219.
- Pisoschi, A., M. and Negulescu, G., P., (2011), *Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review*, Biochem & Anal Biochem, 1(1), 1-10.
- Prochazkova, D., Bousava, I., Wilhelmova, N., 2011, *Antioxidant and prooxidant properties of Flavonoids*, Fitoterapia, 82, 513-523.
- Ramamoorthy, P., K., dan Bono, A., (2007), *Antioxidant Activity, Total Phenolic And Flavonoid Content Of Morinda Citrifolia Fruit Extracts From Various Extraction Processes*. Journal of Engineering Science and Technology Vol. 2, No. 1 (2007) 70 - 80
- Riaz, S., Malook, S., Shah, A., H., Sarfaraz, M., Kazmi, S., M., Z., Abad, Z., Jabeen, S., Uz Zaman, R. Q., Asif, M., Ali, Q., (2015), *Improvement of secondary metabolites for Cucurbita moschata through tissue culture tecnicas: an Overview*, Life Science Journal;12(4s)