

AKTIVITAS SENYAWA ANTIOKSIDAN DAUN LABU KUNING (*Cucurbita maxima* Duch.)

Harmida¹, Salni², Desti Amanda Pratiwi³, Nita Aminasih⁴, Singgih Triwardana⁵

¹²³⁴⁵Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya
Jln. Palembang-Prabumulih, Km 32 Inderalaya Ogan Ilir, 30662

Article History

Received: May 7, 2024

Revised: June 24, 2024

Accepted: June 29, 2024

Correspondence

Harmida

e-mail:

harmidaharmida18@gmail.com

ABSTRACT

This study aimed to determine the activity and class of antioxidant compounds in pumpkin leaves. The research methods carried out were refining pumpkin leaves simplicia, extraction, fractionation, antioxidant activity test with TLC plate, purification, determination of compound class, and antioxidant activity test using the Difenilpikril Hidrazil Hidrat (DPPH) method. The results showed that the active fraction of pumpkin leaves is the ethyl acetate fraction, and the n-hexane fraction, column chromatography on the active fraction obtained six pure eluates that have antioxidant activity, namely N1, N2, E1, E2, and E3. Groups of compounds N1, N2, E1 are terpenoids, group E2 eluates compounds are flavonoids, while E3 eluates are included in the tannin group. The pure eluate antioxidant activity test with the DPPH method obtained IC₅₀ values of N1 are 25.02 ppm, N2 36.27 ppm and E1 40.04 ppm, E2 68.10 ppm and E3 105.38 ppm.

Keywords: Antioxidant, Pumpkin, Free Radical Molecules

PENDAHULUAN

Polusi udara, sinar UV, penggunaan gadget dan zat kimia berbahaya merupakan sumber radikal bebas serta ditambah radikal bebas alami yang berasal proses metabolisme tubuh manusia tentunya akan memiliki dampak negatif bagi tubuh manusia. Sistem pertahanan yang dimiliki tubuh dapat memproduksi antioksidan endogen yang berepesan sebagai penetralisir radikal bebas, akan tetapi jika kadarnya melebihi batas toleransi maka akan timbul stress oksidatif (Werdhasari, 2014). Radikal bebas yang masuk ke tubuh manusia akan mengambil elektron yang menyebabkan perubahan struktur DNA sehingga dapat menciptakan sel-sel mutan yang menyebabkan kerusakan sel, jaringan, serta organ tubuh (Fakriah et al., 2019).

Antioksidan adalah suatu senyawa aktif yang berfungsi menangkal radikal bebas dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat (Sayuti & Yenrina, 2015). Antioksidan dapat bersumber dari bahan alami maupun sintesis. Pemanfaatan antioksidan sintetik memberi dampak negatif pada kesehatan manusia antara lain berupa kerusakan fungsi organ dalam dan keracunan. Oleh karena itu penggunaan antioksidan alami yang biasanya terdapat pada semua tumbuhan lebih disarankan guna menghindari efek negatif dari penggunaan antioksidan sintetik yang berlebihan (Rahmi,

2017).

Antioksidan alami dapat digunakan untuk menangkal radikal bebas. Salah satu tumbuhan yang banyak tumbuh dan ditemui di berbagai negara termasuk di Indonesia yang telah dikenal sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan berbagai penyakit adalah daun labu kuning (*Cucurbita maxima* Duch.). Tumbuhan ini memiliki daya adaptasi tinggi dan dapat tumbuh pada dataran tinggi maupun dataran rendah secara menjalar. Sebagian masyarakat Indonesia juga memanfaatkan daun labu kuning sebagai pangan namun belum mengetahui manfaat daun labu kuning sebagai antioksidan, oleh karena itu diperlukan dilakukan penelitian untuk menambah informasi mengenai manfaat senyawa antioksidan tumbuhan yang bisa dikonsumsi setiap harinya.

Penggunaan ekstrak metanol, n-heksan, dan etil asetat daun labu kuning dengan cara mereaksikan ekstrak daun labu kuning dengan radikal bebas superoksida, radikal bebas hidrosil dan radikal bebas DPPH, didapatkan hasil aktivitas antioksidan yang kuat pada ekstrak etil asetat dibandingkan dengan ekstrak n-heksan dan ekstrak metanol daun labu kuning (Yenda et al., 2015). Berdasarkan latar belakang di atas dan masih kurangnya informasi tentang senyawa antioksidan daun labu kuning maka sangat baik jika dilaksanakan kajian lebih lanjut tentang aktivitas dan golongan senyawa antioksidan daun labu kuning.

METODE

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, botol vial, corong, corong pisah, erlenmeyer, gelas beaker, gelas ukur, gunting, *hot plate*, kaca arloji, kertas saring, label kertas, pipet mikro atau pipet kapiler, pipet tetes, plat KLT, *rotary evaporator*, spektrometer *UV-Visible*, tabung reaksi dan timbangan digital. Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain akuades, asam askorbat, asam sulfat dan daun labu kuning (*Cucurbita maxima* Duch.), *Difenilpikril Hidrazil Hidrat* (DPPH), etil asetat, metanol, n-heksan, plat KLT silika gel.

Daun labu kuning yang telah dikeringkan sebanyak 300 gr dihaluskan dengan menggunakan blender. Proses ekstraksi daun labu kuning dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol sebanyak 1,5 liter dengan waktu 2x24 jam. Selanjutnya dilakukan proses evaporasi pada filtrat daun labu menggunakan alat *rotary evaporator*. Proses penguapan dilakukan untuk memisahkan senyawa aktif dari pelarut metanol sehingga akan didapatkan ekstrak kental dari daun labu kuning (Dewatisari et al., 2017). Proses fraksinasi ekstrak kental metanol daun labu kuning dilakukan secara partisi dengan metode fraksinasi cair-cair. Fraksinasi dilakukan secara berturut-turut menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan akuadest yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda-beda. ekstrak hasil fraksinasi ini kemudian diuapkan dengan alat *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental dari fraksi n-heksan, fraksi etil, dan fraksi metanol akuadest. Ekstrak yang didapat di simpan untuk dilakukan uji lebih lanjut (Uthia et al., 2017). Analisis aktivitas senyawa antioksidan hasil fraksinasi dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Lokasi noda warna dapat dilihat dengan bantuan cahaya UV dan dicatat nilai Rf-nya (Oktaviantari et al., 2019). Plat KLT yang telah dielusi kemudian disemprot dengan DPPH dengan konsentrasi 0,008 % lalu diangin-anginkan dan diamati adanya perubahan warna pada bercak menjadi kuning atau jingga atau putih dengan latar ungu yang berarti terdapatnya aktivitas antioksidan sehingga terjadi pereduksian radikal bebas oleh antioksidan (Sukandar et al., 2010). Nilai Rf (Faktor retardasi) dihitung dengan rumus sebagai berikut (Oktaviantari et al., 2019).

$$\text{Nilai } R_f = \frac{\text{Jarak Tempuh Senyawa}}{\text{Jarak Tempuh Pelarut}}$$

Ekstrak fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat masing-masing dimurnikan dengan metode kromatografi kolom gravitasi. Isolat-isolat dari fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan hasil pemurnian kromatografi kolom diuji kemurniannya dengan kromatografi lapis tipis yang menggunakan beberapa macam eluen dengan perbandingan yang baik. Jika isolat tetap menunjukkan pola noda tunggal, maka dapat dikatakan bahwa isolat relatif murni (Wati et al., 2017). Metode ini menggunakan fasa diam berupa plat silika gel G60F254 yang dipotong 1 cm × 6 cm dan diberi garis batas bawah dan atas sebesar. Ekstrak kental masing masing fraksi kemudian ditotolkan menggunakan pipet kapiler di atas plat dan kemudian dielusi di dalam chamber dengan perbandingan pelarut (fasa gerak) yang sesuai sampai batas atas lempeng yang telah ditentukan sehingga mendapatkan hasil pemisahan dan noda warna yang bagus. Lokasi noda warna dapat dilihat dengan bantuan cahaya UV dan dicatat nilai Rf nya (Oktaviantari et al., 2019). Plat KLT yang telah dielusi kemudian disemprot dengan DPPH dengan konsentrasi 0.008 % lalu diangin-anginkan dan diamati adanya perubahan warna pada bercak menjadi kuning atau jingga atau putih dengan latar ungu yang berarti terdapatnya aktivitas antioksidan sehingga terjadi pereduksian radikal bebas oleh antioksidan (Sukandar et al., 2010).

Isolat yang telah murni dari fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat dan telah dilakukan uji KLT dengan perbandingan eluen yang baik setelah dikeringkan kemudian disemprot dengan asam sulfat (H₂SO₄) yang selanjutnya dipanaskan di atas hot plate sampai muncul bercak warna pada lempeng KLT. Bercak atau noda ini dihitung berapa nilai Rf nya yang akan menentukan salah satu faktor dalam identifikasi senyawa antioksidan (Salni et al., 2011). Setelah selesai diinkubasi semua sampel larutan uji dan larutan pembanding dan blanko diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Handayani et al., 2014). Aktivitas antioksidan sampel oleh besarnya hambatan serapan radikal bebas dalam hal ini DPPH dapat diketahui lewat perhitungan persentase inhibisi (Purwanto et al., 2017).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak dan Fraksi Daun Labu Kuning

Hasil ekstraksi maserasi 300 gram simplisia kering daun labu kuning menggunakan pelarut metanol sebanyak 1500 ml disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Berat Ekstrak Kental dan Persentase Rendemen Ekstrak Metanol Daun Labu Kuning

Berat Simplisia (gr)	Berat Ekstrak Kental (gr)	Persentase Rendemen (%)
300	131,22	43,74

Hasil penelitian menunjukkan bahwa proses ekstraksi 300 gram daun labu kuning menghasilkan rendemen sebesar 43,74%, ekstrak kental yang diperoleh 131,22 gram. Penggunaan pelarut metanol pada proses ekstraksi maserasi menghasilkan persen rendemen yang cukup tinggi, hal ini dikarenakan metanol bersifat polar sehingga mampu menarik senyawa yang bersifat semi polar dan polar yang terdapat pada daun labu kuning. Hasil rendemen ada hubungannya dengan senyawa aktif dari suatu sampel sehingga apabila jumlah rendemen semakin banyak maka jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam sampel juga semakin banyak (Wijaya et al., 2018). Setelah dilakukan fraksinasi pada ekstrak daun labu kuning, diperoleh persentase rendemen fraksi yang didapatkan disajikan pada Tabel 2.

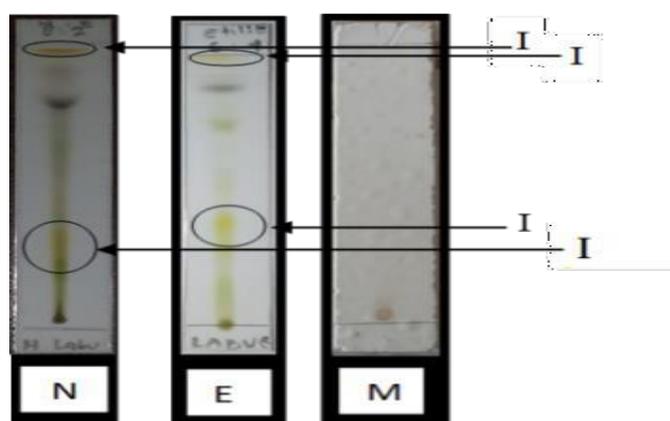
Tabel 2. Berat Fraksi dan Persentase Rendemen Fraksi Daun Labu Kuning

Jenis Fraksi	Berat Fraksi (gr)	Rendemen Fraksi (%)
N-heksan	51,35	41,80
Etil asetat	47,38	38,40
Metanol air	23,76	19,70

Tabel 2 menjelaskan bahwa hasil fraksinasi ekstrak daun labu kuning mempunyai rasio efisiensi tertinggi pada fraksi n-heksana yaitu sebesar 41,80%, disusul fraksi etil asetat sebesar 38,40% dan rasio efisiensi rendemen terendah terdapat pada fraksi metanol yaitu 19,70 %. Hasil proses pemisahan daun labu kuning menunjukkan bahwa senyawa aktif biologis yang paling banyak terdapat adalah senyawa non polar dan semi polar. Hal ini dinyatakan dengan persen rendemen n-heksana daun labu kuning yang mempunyai nilai lebih tinggi dibandingkan persen rendemen fraksi etil asetat dan fraksi metanol-air. Hasil dari fraksinasi daun labu kuning didapatkan senyawa bioaktif yang paling banyak adalah senyawa yang bersifat non polar dan semi polar. Fraksinasi dengan menggunakan pelarut n-heksana untuk menarik senyawa nonpolar, sedangkan pelarut etil asetat untuk menarik senyawa semipolar. Menurut Hermawan et al. (2016), fraksinasi cair-cair bertujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan sifat kepolarannya. Hasil uji aktivitas antioksidan fraksi menggunakan metode plat KLT disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan dan Nilai Rf Fraksi Daun Labu Kuning.

Fraksi	Nilai Rf	Aktivitas Antioksidan	Keterangan
N-heksan	0,91	+++	Kuat
	0,36	++	Sedang
Etil asetat	0,95	+++	Kuat
	0,4	++	Sedang
Metanol air	0,13	-	Lemah



Gambar 1. Pola pemisahan pada plat KLT fraksi daun labu kuning. N: Fraksi N-heksan daun labu kuning; M: Fraksi Metanol-air daun labu kuning; E: Fraksi Etil Asetat daun labu kuning; I :Bercak kuning yang menunjukkan adanya aktivitas antioksidan.

Pada Tabel 3 terlihat bahwa uji aktivitas antioksidan menggunakan plat KLT dan setelah disemprot DPPH diperoleh dua fraksi aktif, yaitu fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat. Penyemprotan DPPH pada plat KLT n-heksan dan etil asetat menunjukkan reaksi positif yakni terbentuknya bercak warna kuning keputih-putihan pada plat KLT dengan latar ungu. Selanjutnya terlihat juga perbedaan nilai Rf senyawa-senyawa pada masing-

masing fraksi. Nilai Rf senyawa antiosidan pada fraksi n-heksan adalah 0,91 dan 0,36. Fraksi etil asetat 0,95 dan 0,40. Fraksi metanol-air nilai Rf nya adalah 0,13.

Pola pemisahan hasil fraksinasi daun labu kuning dapat dilihat pada Gambar 1. Pada plat KLT fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat terdapat bercak kuning yang menunjukkan adanya aktivitas antioksidan. Sebaliknya, pada fraksi metanol air tidak terdapat adanya bercak kuning yang menandakan tidak adanya aktivitas antioksidan pada fraksi metanol-air ini. Semakin tinggi intensitas warna kuning yang ditunjukkan pada plat KLT maka semakin kuat aktivitas antioksidan suatu senyawa.

Pemurnian Fraksi N-heksan Daun Labu Kuning

Pemurnian senyawa fraksi n-heksan menggunakan metode kromatografi kolom gravitasi. Hasil kromatografi kolom pada fraksi n-heksan didapatkan 9 subfraksi. Masing- masing eluat subfraksi di totol pada plat KLT dan dielusi dengan perbandingan eluen (8:2). Plat KLT yang berwarna ungu setelah disemprot DPPH berubah menjadi terdapat bercak warna kuning sampai keputihan berlatar ungu. Terjadinya perubahan warna dari ungu menjadi kuning keputihan ini disebabkan oleh proses tereduksinya senyawa radikal bebas DPPH dikarenakan pendonoran atom-H yang dilakukan oleh senyawa antioksidan yang terdapat di dalam fraksi N-heksan daun labu kuning. Menurut Nurhaeni et al. (2014), penurunan intensitas ungu DPPH ini disebabkan oleh berkurangnya kromofor atau ikatan rangkap terkonjugasi pada senyawa DPPH, yang disebabkan oleh adanya ekstrak sebagai penangkap radikal akan mendonorkan atom H pada DPPH menjadi DPPH-H tereduksi yang menjadi warna kuning.

Perbedaan aktivitas antioksidan dan Nilai Rf Subfraksiaktif N-heksan daun labu kuning dapat dilihat pada tabel 4. Perbedaan nilai Rf yang signifikan pada subfraksi 1 dengan subfraksi 3 sampai 9. Perbedaan nilai Rf ini tentunya berarti bahwa senyawa yang terdapat dalam subfraksi 1 dan subfraksi 3 sampai 9 memiliki perbedaan sifat dan karakteristik masing-masing senyawa yang berbeda-beda. Subfraksi 3 sampai 9 memiliki senyawa yang sama karena memiliki nilai Rf yang sama. Hal ini dapat dilihat dari visualisasi pada plat KLT sebelum dan setelah disemprot DPPH, bercak kuning yang timbul setelah disemprot DPPH pada subfraksi 3 sampai 9 adalah sama.

Tabel 4. Aktivitas Antioksidan dan Nilai Rf Subfraksi Aktif N-heksan Daun Labu Kuning

Ni	Sub. Fraksi	Nilai Rf	Aktivitas Antioksidan	Ket
N-heksan	N1	0,91	+++	Kuat
	N2	0,89	++	Sedang
	N3	0,3	++	Sedang
	N4	0,3	++	Sedang
	N5	0,3	++	Sedang
	N6	0,3	++	Sedang
	N7	0,3	++	Sedang
	N8	0,3	++	Sedang
	N9	0,3	++	Sedang

Menurut Rusnaeni et al. (2016) nilai Rf merupakan parameter pada metode uji kualitatif menggunakan plat KLT. Dua atau lebih senyawa dikatakan sama apabila memiliki nilai Rf yang sama setelah dielusi pada kondisi yang sama diatas plat KLT. Melihat dari nilai Rf nya yang sama maka subfraksi 3 sampai 9 digabung untuk dilakukan pemurnian dengan kromatografi kolom gravitasi kembali untuk mengisolasi senyawa antioksidannya, sehingga menghasilkan satu senyawa murni.

Senyawa N1 dan N2 pada fraksi n-heksan memiliki perbedaan nilai Rf yakni 0,91 dan 0,89. Oleh karena itu dilakukan pemurnian masing-masing pada subfraksi 1 dan

subfraksi 2. Menurut Alen et al. (2017), prinsip metode analisis KLT merupakan pemisahan berdasarkan daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia, yaitu eluen yang digunakan, hal inilah yang menyebabkan terjadinya pemisahan noda-noda pada plat KLT. Proses pemurnian subfraksi 1 dan subfraksi 2 berhasil mengisolasi masing-masing satu senyawa murni yang ketika di elusi dengan plat KLT ternyata kedua senyawa ini merupakan senyawa yang sama sehingga kedua senyawa ini digabung. Menurut Rahmi (2017), suatu senyawa dikatakan sudah murni apabila pada plat KLT hanya muncul satu noda tunggal saja.

Pemurnian Fraksi Etil Asetat Daun Labu Kuning

Aktivitas antioksidan yang terdapat pada fraksi etil asetat daun labu kuning yang dilihat perbedaan sebelum dan ketika terbentuknya bercak kuning keputih-putihan setelah disemprot DPPH menunjukkan adanya pemisahan noda senyawa yang baik hasil dari proses elusi plat KLT menggunakan eluen dengan perbandingan 8:2 (n-heksan: etil asetat). Hasil ini menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang baik pada subfraksi 1, 2 dan 6 sampai 11. Hal ini ditandai oleh terlihatnya bercak kuning sampai keputih-putihan pada plat KLT subfraksi tersebut setelah disemprot DPPH. Pengamatan dilanjutkan dengan perhitungan nilai Rf senyawa masing-masing subfraksi yang disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Aktivitas Antioksidan dan Nilai Rf Subfraksi Aktif Etil Asetat Daun Labu Kuning

Fraksi	Subfraksi	Rf	Aktivitas antioksidan	Keterangan
Etil Asetat	E1	0,91	+++	Kuat
	E2	0,75	++	Sedang
	E6	0,25	++	Sedang
	E7	0,25	++	Sedang
	E8	0,25	++	Sedang
	E9	0,25	++	Sedang
	E10	0,25	++	Sedang
	E11	0,25	++	Sedang

Keterangan Omale dan Okafor (2009) :

+++ : Terdapat bercak kuning yang menandakan adanya kemampuan oksidatif kuat dalam menangkal radikal bebas.

++ : Terdapat bercak kuning yang memiliki aktivitas antioksidan yang sedang.

- : Tidak terdapat bercak kuning yang menandakan adanya kemampuan antioksidatif menangkal radikal bebas

Subfraksi E6 sampai E11 memiliki nilai Rf yang samadan merupakan senyawa yang belum murni dikarenakan masih banyak terdapat noda-nodawarna lainnya. Oleh karena itu subfraksi E6 sampai E11 dilakukan pemurnian lagi dengan metode kromatografi kolom gravitasi untuk mengisolasi senyawa antioksidan yang murni. Proses pemurnian subfraksi ini menghasilkan senyawa antioksidan murni yaitu E2 dan E3. Sedangkan subfraksi 1 dan subfraksi 2 telah diketahui bahwa memiliki nilai Rf yang berbedaoleh karena itu dilakukan proses pemurnian masing-masing. Subfraksi 1 yang telah dimurnikan menghasilkan 2 isolat.. Kedua isolat ini setelah dielusi dengan pelarut perbandingan 8:2 (N-heksan : Etil Asetat) memiliki nilai Rf yang berbeda dimana pada botolvial 1 nilai Rf yang sama dengan senyawa murni fraksi N-heksan dan botol vial 2 memiliki nilai Rf yang sama dengan senyawa subfraksi 2 fraksi etil asetat. Oleh karena itu hanya diambil botol vial ke 2 dari subfraksi 1 etil asetat dan dian digabungkan dengan senyawa yang sudah murni dari subfraksi 2 etil asetat. Hasil dari pemurnian subfraksi 1 dan subfraksi 2 etil asetat menghasilkan satu senyawa murni yang sama yaitu E1. Proses pemurnian dilakukan sampai terlihat hanya ada satu noda pada plat KLT setelah dielusi

dengan perbandingan pelarut yang sesuai. Menurut Rahmi (2017), suatu senyawa dikatakan sudah murni apabila pada plat KLT hanya muncul satu noda tunggal saja.

Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan Daun Labu Kuning

Hasil identifikasi golongan senyawa dan nilai Rf Senyawa antioksidan daun labu kuning ditampilkan pada tabel 6.

Tabel 6. Golongan dan Nilai Rf Senyawa Antioksidan Daun Labu Kuning

Senyawa	Warna setelah disemprot DPPH	Warna setelah disemprot asam sulfat	Golongan senyawa	Nilai Rf
N1	Kuning	Biru	Terpenoid	0,92
N2	Kuning	Ungu	Terpenoid	0,6
E1	Kuning	Biru	Terpenoid	0,75
E2	Kuning Keputihan	Merah Bata (Jingga)	Flavonoid	0,46
E3	Kuning Muda	Coklat Tua	Tanin	0,1

Pada fraksi N-heksan didapatkan dua senyawa murni yang memiliki aktivitas antioksidan, yaitu senyawa N1 dan N2. Senyawa N1 dan N2 setelah disemprot dengan DPPH terdapat noda berwarna kuning yang berarti terjadi pereduksian DPPH oleh senyawa aktif. Selanjutnya dilakukan identifikasi terhadap senyawa N1 dan N2 menggunakan pereaksi H_2SO_4 . Senyawa murni N1 dan N2 yang merupakan senyawa golongan terpenoid yang memiliki nilai Rf yang berbeda yakni 0,6 dan 0,92. Perubahan warna ini mengindikasikan bahwa senyawa N1 dan N2 adalah golongan terpenoid yang memiliki nilai Rf yang berbeda yang berarti bahwa adanya perbedaan sifat dan karakteristik pada kedua senyawa tersebut. Dari hasil ini diketahui bahwa setelah disemprot 0,5% H_2SO_4 dan dipanaskan noda senyawa N1 berubah menjadi warna biru dan N2 berubah menjadi warna ungu. Menurut Forestryana dan Arnida (2020), nilai Rf yang diperoleh menunjukkan perbedaan sifat senyawa dan dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa. Senyawa yang mempunyai Rf lebih besar berarti mempunyai kepolaran yang rendah. Hal tersebut dikarenakan fasa diam bersifat polar. Senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fasa diam, sehingga menghasilkan nilai Rf yang rendah.

Pada fraksi etil asetat didapatkan tiga golongan senyawa antioksidan murni yakni E1, E2, dan E3 yang merupakan senyawa golongan terpenoid, flavonoid, dan tanin. Nilai Rf masing-masing senyawa murni tersebut adalah 0,75, 0,46, dan 0,1. Berdasarkan hasil visualisasi pada proses penggolongan senyawa murni yang memiliki aktivitas antioksidan, bercak kuning yang timbul setelah disemprot DPPH menunjukkan adanya aktivitas antioksidan pada senyawa aktif yang berhasil diisolasi yang dilihat pada plat KLT yang telah diuji.

Senyawa E1 berasal dari fraksi etil asetat yang telah dimurnikan. Plat KLT E1 menimbulkan perubahan bercak warna yang muncul pada plat KLT yakni dari warna kuning terang berubah menjadi menjadi warna biru terang. Perubahan warna ini menjelaskan bahwa senyawa E1 merupakan senyawa golongan terpenoid. Nilai Rf E1 yakni 0,75 ketika di elusi dengan eluen 8: 2 (n-heksan: etil asetat) mengindikasikan bahwa senyawa E1 memiliki sifat yang cenderung kepada non polar. Warna kuning terang yang muncul setelah disemprot DPPH pada plat KLT yang ditotal senyawa N1, N2, dan E1 yang merupakan senyawa golongan terpenoid mengindikasikan adanya aktivitas antioksidan yang kuat pada senyawa golongan terpenoid.

Hasil penelitian juga menunjukkan aktivitas antioksidan dari senyawa E2 yang berhasil diisolasi dari fraksi etil asetat. Penentuan golongan senyawa untuk senyawa E2 juga dilakukan dengan menggunakan plat KLT yang dielusi dengan perbandingan eluen 6:4 (n-heksan : etil asetat), selanjutnya plat disemprot dengan 0,5% H_2SO_4 dan

dipanaskan diatas *hot plate*, an warna bercak yang terbentuk pada plat adalah kuning jingga yang mengindikasikan bahwasenyawa E2 adalah golongan flavonoid. Penentuan golongan senyawa juga dilakukan pada senyawa E3 yang berasal dari fraksi etil asetat dan menunjukkan adanya aktivitas antioksidan setelah di semprot dengan larutan DPPH. Senyawa E3 ditotolkan pada plat KLT dan dielusi dengan perbandingan eluen 6:4 (n-heksan : etil asetat). Golongan senyawa pada senyawa E6 adalah tannin karena terbentuk bercak berwarna coklat tua.

Aktivitas Antioksidan dan Nilai IC₅₀ Senyawa Murni Daun Labu Kuning

Hasil uji aktivitas antioksidan pada masing-masing senyawa dinyatakan dalam nilai IC₅₀ senyawa murni N1 adalah 25,02 ppm, kemudian N2 yaitu 36,27 ppm, dan E1 yakni 40,04 ppm dimana ketiga senyawa ini tergolong kedalam kriteria antioksidan sangat kuat, sedangkan senyawa E2 memiliki 68,10 ppm yang tergolong kategori antioksidan kuat. Terakhir senyawa E3 memiliki nilai 105,38 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi senyawa murni yang digunakan maka semakin rendah nilai absorbansi yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi maka semakin banyak senyawa murni didalam larutan yang menyebabkan banyak terjadinya pendonoran elektron dari senyawa antioksidan kepada DPPH sehingga terjadi reduksi warna DPPH yang terlihat pada perubahan warna dari ungu menjadi kuning keputih-putihan. Menurut Menurut Setiawan et al. (2018), prinsip kerja metode DPPH adalah kehadiran atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada senyawa radikal sehingga menyebabkan perubahan dari radikal bebas (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) yang tidak stabil menjadi senyawa non-radikal (*diphenyl-picrylhydrazine*) stabil.

SIMPULAN

Fraksi aktif antioksidan dari ekstrak metanol daun labu kuning adalah fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat. Senyawa murni yang telah berhasil diisolasi dari daun labu kuning yaitu dari fraksi n-heksan yaitu senyawa N1 dan N2 golongan terpenoid, sedangkan dari fraksi etil asetat yaitu senyawa E1 golongan terpenoid, senyawa E2 golongan flavonoid dan senyawa E3 golongan tanin. Senyawa murni N1, N2, dan E3 memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ berturut-turut adalah 25,02 ppm, 36,27 ppm dan 40,04 ppm. Senyawa murni E2 memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC₅₀ 68,10ppm. Senyawa E3 memiliki aktivitas antioksidan yang masuk kedalam kategori sedang dengan nilai IC₅₀ 105,38 ppm.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada LPPM UNSRI yang telah memfasilitasi penelitian melalui dana PNPB skema : Sains Teknologi dan Seni.

REFERENSI

- Alen, Y. Agresa, F. L dan Yuliandra, Y. (2017). Analisis Kromatografi lapis Tipis (KLT) dan aktivitas Antihiperurusemia Ekstrak Rebung *Schizoostachyum brachycladum* Kurz (Kurz) pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains dan Farmasi Klinis*, 3(2), 146-152.
- Dewatisari, W. F., Rumiyan, L dan Rahmawati, I. (2017). Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sansevieria* sp. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 17(3), 197-202.

- Fakriah, K., E. Adriana dan Rusydi. (2019). Sosialisasi Bahaya Radikal Bebas dan Fungsi Antioksidan Alami bagi Kesehatan. *Jurnal Vokasi*, 2(1), 1-7.
- Forestryana, D dan Arnida. (2020). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Hydolea spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 113-124.
- Handayani, V. Ahmad, A. R dan Sudir, M. (2014) Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm) menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Pharmacy Science Research*, 1(2), 86-93.
- Hermawan, D. S., Lukmayani, Y dan Dasuki, U. A. (2016). Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Ekstrak dan Fraksi Yang Berasal Dari Buah Berenuk (*Crescentia cujete* L.). *Prosiding farmasi*. 2(2), 1-7.
- Nurhaeni F, Trilestari, Wahyuno S. (2014). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Berbagai Jenis Sayuran Serta Penentuan Kandungan Fenolik Dan Flavonoid Totalnya. *Media Farm*. 11(2), 67-178.
- Oktaviantari, D. E., N Feladita dan Risna A, R. (2019). Identifikasi Hidrokuinon dalam Sabun pemutih Pembersih Wajah pada Tiga Klinik Kecantikan di Bandar Lampung dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis dan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Analisis farmasi*, 4(2), 91-97.
- Omale, K and Okafor,P.N.(2009). Cytotoxicity and Antioxidant Screening of Some Selected Nigerian Medicinal Plants. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 2(4), 48-53.
- Purwanto, D., Syaiful, B., Ahmad, R. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Purnajiwa (*Kopsia Arborea* Blume.) Dengan Berbagai Pelarut. *Jurnal Riset Kimia*. 3(1), 34-32.
- Rahmi, H. (2017). Review: Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Sumber Buah-Buahan di Indonesia. *Jurnal Agrotek Indonesia*, 2(1), 34-38.
- Rusnaeni., Sinaga, D. I., Lanuru, F., Payungallo, I. M., Ulfiani, I. I. (2016). Identifikasi Asam Mefenammat Dalam Jamu Rematik Yang Beredar Di Distrik Heram Kota Jayapura, Papua. *Jurnal Farmasi*, 13(1), 84-91.
- Salni., Marisa, H. dan Mukti, W. (2011). Isolasi Senyawa Antibakteri Dari Daun Jengkol (*Pithecolobium lobatum* Benth) dan Penentuan Nilai KHM-nya. *Jurnal Penelitian Sains*, 14(1), 1-4.
- Sayuti, K dan Yenrina, R. (2015). *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press.
- Setiawan, F., Yunita, O., & Kurniawan, A. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *MPI (Media Pharmaceutica Indonesiana)*, 2(2): 82-89.
- Sukandar, D., Sandra, H., Imamah, A. (2010).Aktivitas Senyawa Antidiabetes Ekstrak Etil Asetat Daun Pandan Wangi (*Pandanus Amaryllifolius* Roxb.). *Jurnal Valensi*, 1(6), 269-273.
- Uthia, R. Arifin, H dan Efrianti, F. (2017). Pengaruh Hasil Fraksinasi Ekstrak Daun Kemangi (*Ocinum sanctum* L.) terhadap Aktivitas Susunan saraf pusat pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Farmasi Hidea*, 9(1): 1-7.
- Wati, N. F. N. (2014). Peningkatan Kualitas Minyak Nilam Melalui Proses Adsorpsi Menggunakan Adsorben Alumina Dengan Sistem Flow. *Indonesian Journal of Chemical Research*, 1(2), 84-95.
- Werdhasari, P. (2014). Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 3(2), 56-68.

- Wijaya, H., Novitasari dan Jubaidah, S. (2018). Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4(1), 79-83.
- Yenda, B. Bandaru V.R dan Ganga, B. R. (2015). In Vitro Antioxidant Activity Studies On Leaves Of *Cucurbita Maxima*. *International Journal of Advanced Research in Science and Technology*, 4(1), 241-244.