

**PENGARUH JENIS PELARUT DAN LAMA EKSTRAKSI TERHADAP  
EKSTRAK KAROTENOID LABU KUNING (*Cucurbita moschata*) DENGAN  
METODE *ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION***

**SKRIPSI**

oleh :

**DYAH TRI WAHYUNI**

**NIM 105100101111007**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**



**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN**

**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2014**

**PENGARUH JENIS PELARUT DAN LAMA EKSTRAKSI TERHADAP  
EKSTRAK KAROTENOID LABU KUNING (*Cucurbita moschata*) DENGAN  
METODE *ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION***

**SKRIPSI**

oleh :

**DYAH TRI WAHYUNI**

**NIM 105100101111007**

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh  
gelar Sarjana Teknologi Pertanian**



**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN**

**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2014**

## LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : Pengaruh Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi Terhadap Ekstrak Karotenoid Labu Kuning (*Cucurbita moschata*) dengan Metode *Ultrasonic Assisted Extraction*

Nama : Dyah Tri Wahyuni

NIM : 105100101111007

Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Teknologi Pertanian

disetujui,  
Pembimbing I

**Prof. Dr. Ir. Simon Bambang Widjanarko. M.App.Sc**  
NIP. 19521003 197903 1 002

Tanggal Persetujuan : .....

**LEMBAR PENGESAHAN**

Judul : Pengaruh Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi Terhadap Ekstrak Karotenoid Labu Kuning (*Cucurbita moschata*) dengan Metode *Ultrasonic Assisted Extraction*

Nama : Dyah Tri Wahyuni

NIM : 105100101111007

Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Teknologi Pertanian

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

**Dr . Ir. Yunianta, DEA.**  
NIP. 19590613 198601 1 001

**Kiki Fibrianto, STP. M.Phil,Ph.D**  
NIP. 19820206 200501 1 001

Pembimbing I

**Prof. Dr. Ir. Simon Bambang Widjanarko. M.App.Sc**  
NIP. 19521003 197903 1 002

Ketua Jurusan

**Dr. Agustín Krisna Wardani, STP. MSi**  
NIP. 19690807 199702 2 001

Tanggal Lulus : .....



## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Pati pada tanggal 23 Juni 1992 dari ayah bernama Sunardi dan Ibu bernama Sulatin. Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SDN Jatimulyo kemudian melanjutkan ke SMPN 1 Pati dan menyelesaikan Sekolah Menengan Atas di SMAN 1 Pati.

Pada tahun 2014 penulis telah berhasil menyelesaikan pendidikannya di Universitas Brawijaya Malang di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian. Pada masa pendidikannya, penulis aktif di berbagai Lembaga Kedaulatan Mahasiswa baik di tingkat Jurusan, Fakultas maupun Universitas. Di tingkat Jurusan penulis aktif di Himpunan Mahasiswa Teknologi Hasil Pertanian (HIMALOGISTA) sebagai Sekretaris Divisi Kewirausahaan periode 2011/2012. Di tingkat Universitas penulis aktif di Eksekutif Mahasiswa (EM-UB) sebagai Staf Advokasi dan Kesejahteraan Mahasiswa periode 2011/2012. Selanjutnya di tingkat Fakultas penulis menjabat sebagai Sekretaris Umum Badan Eksekutif Mahasiswa Fakultas Teknologi Pertanian (BEM FTP-UB) periode 2012/2013.

Selain mengikuti berbagai Organisasi di kampus, penulis juga aktif terlibat dalam berbagai kepanitian diantaranya menjadi Sekretaris dalam kegiatan HACCP tahun 2012, Dies Natalis Fakultas Teknologi Pertanian 2012, Himalogista Great Event 2012 dan Gathering Bidik Misi 2012.

**PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR**

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama Mahasiswa : Dyah Tri Wahyuni

NIM : 105100101111007

Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Teknologi Pertanian

Judul TA : Pengaruh Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi Terhadap Ekstrak Karotenoid Labu Kuning (*Cucurbita moschata*) dengan Metode *Ultrasonic Assisted Extraction*

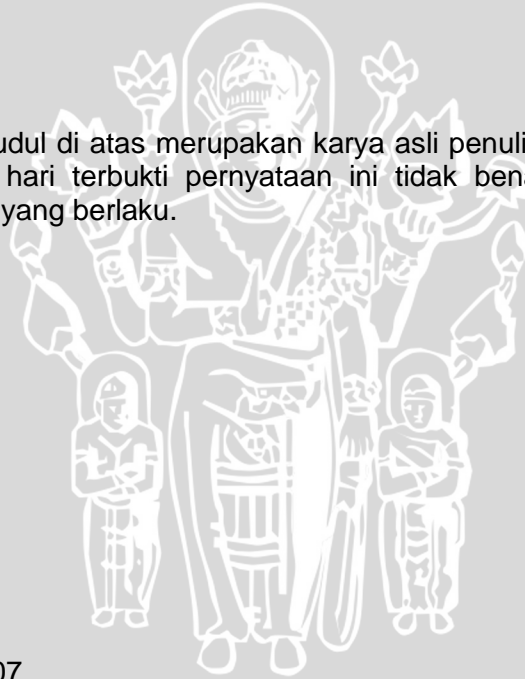
Menyatakan bahwa,

Tugas Akhir dengan judul di atas merupakan karya asli penulis tersebut di atas. Apabila di kemudian hari terbukti pernyataan ini tidak benar, saya bersedia dituntut sesuai hukum yang berlaku.

Malang, Mei 2014

Pembuat Pernyataan,

Dyah Tri Wahyuni  
NIM. 105100101111007



## *Kutulis Atas Nama Cinta untuk Ibunda dan Ayahanda Jercinta*



*Sebagai tanda bakti, hormat, dan rasa terima kasih yang tiada terhingga kupersembahkan karya kecil ini kepada Ibu dan Ayah yang telah memberikan kasih sayang, segala dukungan, dan cinta kasih yang tiada terhingga yang tiada mungkin dapat kubalas hanya dengan selembar kertas yang bertuliskan kata cinta dan persembahan. Semoga ini menjadi langkah awal untuk membuat Ibu dan Ayah bahagia karna kusadar, selama ini belum bisa berbuat yang lebih. Untuk Ibu dan Ayah yang selalu membuatku termotivasi dan selalu menyirami kasih sayang, selalu mendoakanku, selalu menasehatiku menjadi lebih baik,*

*Terima Kasih Ibu.... Terima Kasih Ayah...*

Dyah Tri Wahyuni. 105100101111007. **PENGARUH JENIS PELARUT DAN LAMA EKSTRAKSI TERHADAP EKSTRAK KAROTENOID LABU KUNING (*Cucurbita moschata*) DENGAN METODE ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION.** Skripsi

Pembimbing : Prof. Dr. Ir. Simon Bambang Widjanarko, M. App.Sc

---

### RINGKASAN

Labu kuning merupakan salah satu komoditas yang cukup melimpah di Indonesia. Data Badan Pusat Statistik tahun 2003 menunjukkan hasil rata-rata produksi labu kuning di Indonesia berkisar antara 20-21 ton per hektar. Labu kuning mengandung karotenoid tinggi antara 10-160 mg/100 gr (Nawirska *et al.*, 2011). Karotenoid memiliki efek positif bagi kesehatan karena berfungsi sebagai prekursor vitamin A dan antioksidan. Karotenoid dapat diambil melalui proses ekstraksi. Ekstraksi konvensional untuk mengambil senyawa karotenoid umumnya memakan waktu lama dan melibatkan proses termal yang dapat merusak karotenoid. Untuk itu diperlukan teknik ekstraksi yang lebih efisien dalam mengekstrak karotenoid, salah satunya dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction (UAE)*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis pelarut dan lama waktu ekstraksi terhadap karotenoid dan aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh labu kuning serta mendapatkan perlakuan terbaik. Penelitian dilakukan dengan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan 2 faktor. Faktor 1 adalah jenis pelarut yang terdiri dari 3 jenis pelarut yaitu aseton, etil asetat dan n-heksan. Faktor 2 adalah lama waktu ekstraksi yang terdiri dari 3 level yaitu 5, 15 dan 25 menit. Masing-masing perlakuan diulang 3 kali sehingga diperoleh 27 satuan unit percobaan. Data yang diperoleh kemudian dianalisa menggunakan *Analysis of Variance (ANOVA)*, dilanjutkan dengan uji DMRT atau uji lanjut BNT dengan selang kepercayaan 5%. Penentuan perlakuan terbaik dengan menggunakan metode *multiple attribute (Zeleny)*. Hasil perlakuan terbaik dibandingkan dengan kontrol (maserasi) menggunakan uji t.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut dan lama ekstraksi memberikan interaksi yang nyata ( $\alpha=0,05$ ) terhadap parameter total karotenoid dan aktivitas antioksidan  $IC_{50}$  dan berpengaruh nyata ( $\alpha=0,05$ ) terhadap rendemen, tingkat kecerahan ( $L^*$ ), tingkat kemerahan ( $a^*$ ) dan tingkat kekuningan ( $b^*$ ) namun tidak berpengaruh nyata terhadap pH. Perlakuan terbaik diperoleh dari jenis pelarut n-heksan dan lama ekstraksi 25 menit dengan total karotenoid 575,22 ( $\mu\text{g}/\text{gr}$ ), aktivitas antioksidan  $IC_{50}$  134,17 ppm, pH 6,51, rendemen 17,85%, tingkat kecerahan ( $L^*$ ) 18,13, tingkat kemerahan ( $a^*$ ) 13,70 dan tingkat kekuningan ( $b^*$ ) 13,04. Hasil uji t antara perlakuan terbaik dan kontrol menunjukkan perbedaan nyata ( $\alpha=0,05$ ) pada semua parameter selain pH. Hasil uji stabilitas menunjukkan terjadinya penurunan kestabilan akibat peningkatan suhu, lama penyinaran dan pH asam.

**Kata Kunci :** Karotenoid, Labu Kuning, Stabilitas Karotenoid, *Ultrasonic Assisted Extraction*



Dyah Tri Wahyuni. 105100101111007. **THE EFFECT OF DIFFERENT SOLVENT AND EXTRACTION TIME OF CAROTENOIDS EXTRACT FROM PUMPKIN (*Cucurbita moschata*) WITH ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION METHOD.** Essay.

Supervisor : Prof. Dr. Ir. Simon Bambang Widjanarko, M. App.Sc

---

### SUMMARY

Pumpkin is one of the commodities which abundant in Indonesia. According to Central Bureau of Statistics in 2003 showed an average yield of pumpkin production in Indonesia is between 20-21 tons per hectare. Pumpkin has contain high carotenoids. Total carotenoids in pumpkin is 10-160 mg/100 gr (Nawirska *et al.*, 2011). Carotenoids can be used as natural dyes and has a positive effect for health as precursor vitamin A and antioxidant. Carotenoid could take with extraction process. Conventional extraction to extract carotenoid compounds are generally took long time and involves a thermal process could damage the carotenoids. Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) is one of the alternative method to extract carotenoid.

This research aims to determine the effect of the different solvent and the time extraction of carotenoids and antioxidant activities produced of the pumpkin and get the best treatment. The research was prepared using a randomized block design with 2 factors. First factor is the type of solvent are 3 types of solvents are acetone, ethyl acetate and n-hexane. Second factor is time extraction consist of three levels (5, 15 and 25 minutes). Each treatment was repeated three times to obtain 27 experimental units. The data obtained was analyzed using Analysis of variants (ANOVA), followed by DMRT or LSD test with 5% confidence interval. The determination of the best treatment using multiple attributes (Zeleny) method. The best treatment results compared with controls (maceration) using the t test .

The results showed that the treatment of different solvent and time extraction gave significant interaction ( $\alpha=0.05$ ) on the parameters of total carotenoids and antioxidant activity of  $IC_{50}$  and significant effect ( $\alpha=0.05$ ) to yield, brightness ( $L^*$ ), the level of redness ( $a^*$ ) and the degree of yellowness ( $b^*$ ) but did not significantly affect the pH. The best treatment obtained from n-hexane and 25 minutes time extraction with 575.22 total carotenoids ( $\mu\text{g/g}$ ), antioxidant activity  $IC_{50}$  134.17 ppm, pH 6.51, yield 17.85 %, the level of brightness ( $L^*$ ) 18.13, degree of redness ( $a^*$ ) 13.70 and degree of yellowness ( $b^*$ ) 13.04. The results of t test between the best treatment and control showed significant differences ( $\alpha=0.05$ ) in all parameters except pH. The results showed a decrease in stability due to increased temperature, irradiation time and acidic pH.

**Keywords** : Carotenoids, Pumpkin, Stability of Carotenoids, Ultrasonic Assisted Extraction,

## KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penyusun dapat menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik.

Penulisan skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pertanian. Judul yang penulis ajukan adalah “Pengaruh Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi Terhadap Ekstrak Karotenoid Labu Kuning (*Cucurbita moschata*) dengan Metode *Ultrasonic Assisted Extraction*”.

Dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis dengan menyampaikan banyak terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Simon Bambang Widjanarko, M. App. Sc selaku dosen pembimbing saya yang telah sabar membimbing dan memberikan ilmu.
2. Bapak Kiki Fibrianto S.TP, M.Phil, Ph.D dan Bapak Dr. Ir. Yunianta DEA selaku dosen penguji saya terima kasih atas sanggahan dan masukannya.
3. Ibu Dr. Agustin Kusuma Wardani STP, M.Si, selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian.
4. Ibu dan Bapak serta keluargaku tercinta yang tak kenal lelah memberikan semangat dan doanya.
5. Cemara's Family terima kasih atas kebersamaan dan dukungannya.
6. Teman-teman seperjuangan THP 2010 yang selalu setia berbagi semangat.
7. Mas mub yang selalu memberikan dukungan dan motivasi.
8. Semua pihak yang telah membantu dalam penelitian dan penyusunan skripsi

Semoga Allah SWT memberikan balasan yang berlipat ganda kepada semuanya. Penulis berharap penelitian ini bukan hanya sekedar lembar tebal tanpa makna, karena itu penulis berharap penelitian ini bermanfaat bagi banyak pihak. Penulis juga memohon maaf apabila ada kesalahan dalam penelitian ini. Kritik dan saran yang membangun penulis tunggu untuk penelitian di masa mendatang.

Malang, Mei 2014

Penyusun

DAFTAR ISI

<b>RINGKASAN</b> .....	<b>i</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>ii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>iii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>iv</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.5 Hipotesis.....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1 Labu Kuning.....	8
2.2 Karotenoid.....	9
2.3 Antioksidan.....	12
2.4 Proses Ekstraksi.....	16
2.5 Pelarut.....	20
2.6 Metode Ultrasonik.....	21
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	<b>28</b>
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	28
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	28
3.3 Metode Penelitian.....	29
3.4 Pelaksana Penelitian.....	30
3.5 Analisis Data.....	32
3.6 Diagram Alir Penelitian.....	33
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>35</b>
4.1 Karakteristik Bahan Baku.....	35
4.2 Karakteristik Fisik dan Kimia Ekstrak Karotenoid.....	37
4.3 Perlakuan Terbaik.....	47
4.4 Uji Stabilitas Ekstrak Karotenoid.....	48
<b>BAB V PENUTUP</b> .....	<b>53</b>
5.1 Kesimpulan.....	53
5.1 Saran.....	53
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>54</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>62</b>

## DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1	Jenis atau Varietas dari Labu Kuning Lokal .....	5
2	Jenis atau Varietas Labu Kuning Import dari Negara Lain .....	6
3	Komponen dan Komposisi Kimia Labu Kuning.....	7
4	Konstanta Dielektrik Berbagai Jenis Pelarut.....	20
5	Perbandingan Ekstraksi Metode Soxhletasi dan UAE .....	25
6	Aplikasi Gelombang Ultrasonik .....	27
7	Tabel Kombinasi Perlakuan .....	30
8	Karakteristik Bahan Baku.....	35
9	Rerata Total Karotenoid dan Aktivitas Antioksidan IC50 Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Akibat Pengaruh Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi.....	38
10	Rerata pH Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Akibat Pengaruh Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi.....	41
11	Rerata Rendemen Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Akibat Pengaruh Jenis Pelarut.....	42
12	Rerata Rendemen Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Akibat Pengaruh Lama Ekstraksi.....	42
13	Rerata Warna ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ ) Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Akibat Pengaruh Jenis Pelarut .....	44
14	Rerata Warna ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ ) Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Akibat Pengaruh Lama Ekstraksi.....	45
15	Hasil Perlakuan Terbaik Terhadap Parameter Fisiko Kimia Ekstrak Karotenoid Labu Kuning .....	47
16	Presentase Retensi Warna Karotenoid Akibat Pengaruh Suhu dan Waktu Pemanasan .....	49
17	Presentase Retensi Warna Karotenoid Akibat Pengaruh Cahaya dan Lama Penyinaran .....	50

## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1	Labu Kuning ( <i>Cucurbita maxima</i> ).....	4
2	Struktur Kimia Jenis-jenis Karotenoid.....	9
3	Mekanisme Kerja Antioksidan dalam menetralkan radikal bebas.....	15
4	Struktur n-heksan.....	21
5	Struktur Aseton.....	22
6	Struktur Etil Asetat.....	23
7	Fenomena Kavitasi.....	24
8	<i>Horn Ultrasonic</i> .....	24
9	Diagram Alir Pembuatan Bubuk Labu Kuning.....	33
10	Diagram Alir Ekstraksi Antioksidan Labu Kuning.....	33
11	Grafik Hubungan Total Karotenoid ( $\mu\text{g}/\text{gr}$ ) dengan Aktivitas Antioksidan IC50 (ppm) Ekstrak Karotenoid Labu Kuning.....	40
12	Grafik Hubungan Tingkat kemerahan dengan Total Karotenoid Ekstrak Karotenoid Labu Kuning.....	46
13	Grafik Hubungan Tingkat kekuningan dengan Total Karoten Ekstrak Karotenoid Labu Kuning.....	46
14	Stabilitas Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Terhadap Pengaruh pH.....	51



## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1	Prosedur Analisa.....	67
2	Analisa Total Karoten ( $\mu\text{g/g}$ ) .....	73
3	Analisa Aktivitas Antioksidan $\text{IC}_{50}$ (ppm) .....	75
4	Perhitungan Aktivitas Antioksidan $\text{IC}_{50}$ .....	77
5	Analisa Ph.....	85
6	Analisa Rendemen (%) .....	87
7	Analisa Warna $L^*$ .....	89
8	Analisa Warna $a^*$ .....	91
9	Analisa Warna $b^*$ .....	93
10	Analisa Perlakuan Terbaik Metode Zeleny .....	95
11	Grafik Retensi Uji Stabilitas Ekstrak Karotenoid .....	96
12	Uji t .....	97



## I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Labu kuning (*Cucurbita moschata*) merupakan jenis tanaman tahunan dari keluarga *Cucurbitaceae*. Ketersediaan labu kuning di Indonesia relatif tinggi. Data Badan Pusat Statistik (2003) menunjukkan hasil rata-rata produksi labu kuning di Indonesia berkisar antara 20-21 ton per hektar. Labu kuning memiliki kandungan karotenoid yang tinggi sebesar 10-160 mg/100 gr (Nawirska *et al.*, 2009)

Karotenoid merupakan pigmen yang memberikan warna kuning, merah dan oranye pada tumbuhan. Karotenoid memiliki efek besar bagi kesehatan yaitu sebagai prekursor vitamin A dan antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas sehingga dapat mencegah kanker. Tinggi rendahnya karotenoid dipengaruhi beberapa faktor yaitu tingkat kematangan, jenis labu kuning, letak geografis dan lama penyimpanan (Sudarto, 1993). Karotenoid yang tinggi tersebut dapat dikeluarkan melalui cara ekstraksi.

Suatu proses ekstraksi diharapkan akan menghasilkan ekstrak yang optimal dan proses yang seefisien mungkin. Ekstraksi konvensional yang biasa dilakukan memiliki kelemahan yaitu membutuhkan waktu yang lama dan suhu ekstraksi yang tinggi dengan hasil ekstrak rendah namun konsumsi energi tinggi (Hemwimol *et al.*, 2006) sehingga diperlukan metode alternatif untuk mengekstrak karotenoid. Salah satu metode ekstraksi yang dapat digunakan untuk mengekstrak karotenoid adalah metode ultrasonik. Ultrasonik merupakan alternatif metode ekstraksi non termal yang efektif dan efisien. Efek mekanik dari gelombang ultrasonik yang ditimbulkan akan meningkatkan penetrasi dari cairan menuju dinding membran sel, mendukung pelepasan komponen sel dan meningkatkan transfer massa (Keil, 2007)

Parameter terpenting dalam suatu ekstraksi diantaranya adalah jenis pelarut dan lama ekstraksi. Penelitian sebelumnya mengenai ekstraksi diantaranya telah dilakukan oleh Dimara dkk, (2008) menggunakan aseton sebagai pelarut untuk mengekstrak karotenoid dari buah merah menghasilkan karotenoid sebesar 12.000 ppm, n-heksan pada kelapa sawit (Sahertian, 2012) dan etil asetat pada buah pepaya menghasilkan karotenoid 558 µg/100ml

(Meutia, 2013). Rupasinghe *et al.*, (2011) mengekstrak buah apel dengan ultrasonik dan didapatkan hasil terbaik yaitu waktu optimumnya selama 15 menit.

Penelitian tentang ekstraksi karotenoid dari labu kuning dengan menggunakan metode gelombang ultrasonik masih belum banyak dilakukan sehingga diharapkan ekstraksi dengan gelombang ultrasonik dapat menghasilkan ekstrak karotenoid yang lebih baik maka dari itu perlu diteliti pengaruh jenis pelarut yang digunakan dan lama ekstraksi terhadap ekstrak karotenoid yang dihasilkan.

### 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yang perlu dipecahkan adalah :

1. Bagaimana pengaruh jenis pelarut terhadap ekstrak karotenoid pada labu kuning (*Cucurbita moschata*) yang dihasilkan dengan metode ekstraksi gelombang ultrasonik?
2. Bagaimana pengaruh lama ekstraksi terhadap ekstrak karotenoid pada labu kuning (*Cucurbita moschata*) yang dihasilkan dengan metode ekstraksi gelombang ultrasonik?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui pengaruh jenis pelarut terhadap ekstrak karotenoid pada labu kuning (*Cucurbita moschata*) yang dihasilkan dari gelombang ultrasonik.
2. Mengetahui pengaruh lama ekstraksi terhadap ekstrak karotenoid pada labu kuning (*Cucurbita moschata*) yang dihasilkan dari gelombang ultrasonik.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang didapat dari penelitian ini adalah :

1. Menghasilkan ekstrak karotenoid dari labu kuning sehingga meningkatkan daya guna labu kuning yang selama ini kurang dimanfaatkan.
2. Memberikan informasi tentang jenis pelarut dan lama ekstraksi yang tepat untuk mengekstrak karotenoid dari labu kuning menggunakan metode



ekstraksi gelombang ultrasonik, sehingga didapatkan ekstrak terbaik yang diinginkan.

3. Memberikan informasi tentang kestabilan karotenoid labu kuning terhadap suhu, cahaya dan pH sehingga mempermudah jika diaplikasikan pada produk pangan.

### 1.5 Hipotesis

Jenis pelarut dan lama ekstraksi dengan metode ultrasonik diduga akan memberikan pengaruh terhadap ekstrak karotenoid yang dihasilkan dari labu kuning (*Cucurbita moschata*). Dimana semakin non polar pelarut dan semakin lama ekstraksi akan meningkatkan total karotenoid sehingga meningkatkan aktivitas antioksidan.



## II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Labu Kuning

Labu kuning atau *pumpkins* (*Cucurbita moschata*) termasuk jenis tanaman menjalar dari famili *Cucurbitaceae* yang telah dikenal diberbagai negara (Juna *et al.*, 2006). Ada tiga jenis labu yang paling terkenal di dunia yaitu *Cucurbita moschata*, *Cucurbita maxima* dan *Cucurbita pepo* (Lee *et al.*, 2003). Labu kuning merupakan salah satu jenis labu yang cukup populer di Indonesia meski buah ini berasal dari Mexico Tengah dan menyebar ke Benua Amerika. Labu kuning dapat tumbuh di daerah tropis dan sub tropis. Labu kuning merupakan sumber karotenoid, pektin, vitamin dan senyawa-senyawa lain yang bermanfaat bagi kesehatan (Juna *et al.*, 2006). Taksonomi tanaman labu kuning adalah sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub-Divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Ordo	: <i>Cucurbitales</i>
Famili	: <i>Cucurbitaceae</i>
Genus	: <i>Sechium</i>
Spesies	: <i>Cucurbita moschata</i>

(Noelia *et al.*, 2011)



**Gambar 2.1** Labu Kuning (*Cucurbita moschata*)

### 2.1.1 Jenis-Jenis Labu Kuning

Bentuk labu kuning bermacam-macam tergantung jenis dan varietasnya. Di Negara kita sudah terdapat beberapa jenis dan varietas labu kuning antara lain varietas lokal dan beberapa varietas introduksi dari beberapa negara seperti Taiwan dan Jepang. Varietas lokal yang sering ditanam oleh para petani dapat dilihat pada Tabel 2.1.

**Tabel 2.1** Jenis atau Varietas dari Labu Kuning Lokal

No	Jenis/Varietas	Ciri-ciri
1.	Jenis <i>Bokor cerme</i>	Terdapat alur Berbentuk bulat pipih Batangnya bersulur panjang (3-5m) Warna daging buah kuning dan tebal Rasanya gurih dan manis Berdaging halus dan padat Beratnya dapat mencapai 4-5 kg atau lebih
2.	Jenis Kelenting	Buah berbentuk lonjong oval dan memanjang Kulitnya berwarna kuning Daging buah juga berwarna kuning Beratnya dapat mencapai 2 -5kg/buah Sulurnya panjang (3-5 m) Masa panen antara 4,5-6 bulan
3.	Jenis Ular	Buahnya panjang ramping Warna daging buah kuning Beratnya 1-3 kg/buah Beberapa jenis labu ular tertentu kadang-kadang buahnya kasar dan rasanya tidak enak

Sumber : (Sudarto, 1993)

Selain jenis labu kuning dari lokal ada juga labu kuning yang diimpor dari negara-negara lain, dengan ciri khas labu kuning yang berbeda-beda, seperti pada Tabel 2.2.

**Tabel 2.2** Jenis atau Varietas Labu Kuning Import dari Negara Lain

No	Jenis atau Varietas	Ciri-ciri
1.	Labu kuning Taiwan ( <i>early price, first taste, mukua, pride phoenix, mixta pangalo</i> )	Buah berukuran kecil-kecil Berat berkisar 1-2 kg/ buah Rasa buah enak, padat, dan manis Memiliki kadar air yang rendah Warna buah kuning tajam dan menarik Umur panen 90 hari
2.	Labu kuning <i>Hai Je Pi</i> ( <i>vegetable spaggety squash</i> )	Bentuk buah oval Warna kulit putih susu Warna daging buah muda adalah kuning muda Warna daging buah tua adalah kuning tua
3.	Labu kuning Amerika	Tahan terhadap hama penyakit Bersulur pendek
4.	Labu kuning Australia dan Jepang	Daging buah muda terurai Berat buah 1-2 kg Ukuran buah besar
5.	Labu kuning <i>Zapello</i> dari Denmark	Termasuk jenis labu kuning <i>bokor</i> Bentuk buah bulat Warna kulit kuning Ukuran bijinya kecil dari pada labu kuning lokal
6.	Labu kuning <i>Kaboca</i> dari Jepang ( <i>Melanoformis makino, Tetsukabuto, Ohgata, tersumabuko, Miyoko</i> )	Bentuk buah mungil, berat 2 kg/ buah Kulitnya hijau berbecak kuning atau coklat muda Daging buah berwarna kuning keemasan, halus, dan <i>gempi</i> Rasanya manis

Sumber : (Sudarto, 1993)

### 2.1.2 Kandungan Gizi Labu Kuning

Salah satu faktor penting dari suatu bahan pangan adalah kandungan gizinya. Labu kuning termasuk salah satu jenis bahan pangan yang memiliki kandungan gizi cukup tinggi dan lengkap. Menurut Sudarto (1993) labu kuning adalah sumber  $\beta$ -karoten yang baik dan mengandung karbohidrat, vitamin serta

mineral. Kandungan labu kuning menurut Departemen Kesehatan RI (1996) dan Yuliani dkk. (2003) disajikan pada Tabel 2.3.

**Tabel 2.3** Komponen dan Komposisi Kimia Labu Kuning

Komponen	Labu segar	
	Referensi*)	Referensi**)
Kadar air (%)	92,69	89,47
Protein (%)	0,59	1,19
Abu (%)	0,46	0,70
Lemak (%)	0,05	0,16
Serat kasar (%)	0,46	0,87
Karbohidrat (%)	5,74	8,48
Pektin (%)	0,96	0,62
Gula (%)	1,06	-

Keterangan:

Sumber \*) Departemen Kesehatan RI (1996)

\*\* ) Yuliani dkk. (2003)

Labu kuning merupakan sumber vitamin A, khususnya pada daging labu yang berwarna kuning sampai oranye mengandung  $\beta$ -karoten tinggi. Pada penyimpanan selama tiga bulan kadar  $\beta$ -karoten di dalamnya akan meningkat secara tajam ditandai oleh warna daging buah yang semakin kuning tua atau oranye (Lee *et al.*, 2002). Total karotenoid pada labu kuning berkisar antara 10-160 mg/100 gr (Nawirska *et al.*, 2009). Seo *et al.*, (2005) memaparkan bahwa ekstrak karotenoid dari labu kuning menggunakan ekstraksi cair-cair dan fluida superkritis didapatkan hasil >80% adalah  $\beta$ -karoten.

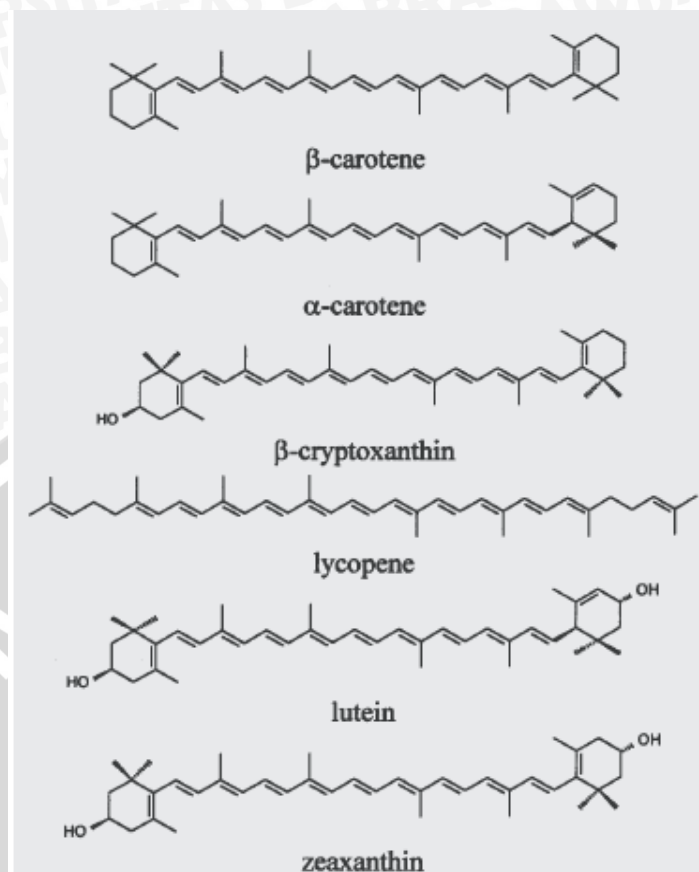
## 2.2 Karotenoid

Karotenoid merupakan polimer isoprenoid yang terbentuk dengan bergabungnya delapan unit  $C_5H_8$ . Secara struktural, karotenoid dibedakan ke dalam dua golongan besar berdasarkan keberadaan gugus fungsional spesifiknya, yaitu karotenoid hidrokarbon ( $C_{40}H_{56}$ ) yang hanya terdiri dari atom karbon dan hidrogen, serta oksikarotenoid atau xantofil.  $\beta$ -karoten,  $\alpha$ -karoten dan likopen merupakan anggota utama dari karotenoid hidrokarbon. Oksikarotenoid

merupakan turunan dari hidrokarbon karotenoid, lebih polar dan mengandung setidaknya satu atom oksigen. Anggota dari oksikarotenoid adalah cryptoxanthin, lutein, chantaanthin, zeaxanthin dan astaxanthin (Stahl *and* Sies, 1996).

Karotenoid tersebar luas di alam dan berkontribusi pada warna tumbuhan. Karotenoid mengakibatkan tanaman berwarna merah, orange atau kuning (Stahl *and* Sies, 2003). Sumber karotenoid dapat berasal dari buah-buahan dan sayuran seperti jeruk, semangka, wortel, jagung, tomat dan labu (Goodwin, 1992). Senyawa ini dikenal sebagai pewarna alami yang tidak bersifat racun pada bahan pangan. Karotenoid stabil dalam pH netral dan basa tetapi sensitif terhadap asam, oksigen, cahaya dan panas yang dapat menyebabkan perubahan pada ikatan rangkap dan isomerisasi cis-trans (Dimara dkk, 2008). Di alam, karotenoid bersifat stabil. Namun, isolatnya mudah mengalami perubahan molekul, isomerisasi, degradasi oleh panas, cahaya, oksigen dan asam.

Labu Kuning memiliki kandungan karotenoid yang tinggi. Total karotenoid pada labu segar berkisar antara 10-160 mg/100 gr (Nawirska *et al.*, 2009). Seo *et al.*, (2005) memaparkan bahwa ekstrak karotenoid dari labu kuning menggunakan ekstraksi cair-cair dan fluida superkritis didapatkan hasil >80% adalah  $\beta$ -karoten. Hasil tersebut berbeda dengan dengan penelitian yang dilakukan oleh Murkovic *et al.*, (2002) bahwa jenis labu kuning yaitu *C. Maxima* mengandung 0-17 mg/100 gr lutein, 0,06-7,4 mg/100 gr  $\beta$ -karoten dan 0-7,5 mg/100 gr  $\alpha$ -karoten. Perbedaan tersebut mungkin dikarenakan jenis labu yang berbeda atau metode ekstraksi yang digunakan. Fu *et al.*, (2006) menjelaskan bahwa kandungan karotenoid yang tinggi pada labu kuning berpotensi sebagai antioksidan dan meningkatkan kekebalan tubuh. Zat-zat alami yang bekerja sebagai antioksidan dapat berfungsi pada pencegahan perkembangan sel-sel kanker sekaligus mengatur keseimbangan hormon yang turut berperan dalam menimbulkan kanker. Struktur dari beberapa jenis karotenoid dapat dilihat pada Gambar 2.2.



**Gambar 2.2** Struktur Kimia Jenis-jenis Karotenoid (Rodriguez-Amaya and Mieko Kimura, 2004)

### 2.2.1 Stabilitas Karotenoid

β-karoten sebagaimana karotenoid lain di alam, sebagian besar berupa hidrokarbon yang larut dalam lemak, serta berikatan dengan senyawa yang strukturnya menyerupai lemak. Adanya struktur ikatan rangkap pada molekul β-karoten (11 ikatan rangkap pada 1 molekul β-karoten) menyebabkan bahan ini mudah teroksidasi ketika terkena udara. Oksidasi karotenoid akan lebih cepat dengan adanya sinar dan katalis logam, khususnya tembaga, besi dan mangan. Oksidasi dapat terjadi secara acak pada rantai karbon yang mengandung ikatan ganda. Pengaruh suhu terhadap oksidasi pada karotenoid dikemukakan oleh Worker (1957) dalam Muchtadi (1993) yaitu bahwa karotenoid belum mengalami kerusakan karena pemanasan pada suhu 60° C, sedangkan Limantara *et al.*,

(2006) berpendapat bahwa reaksi oksidasi karotenoid berjalan lebih cepat pada suhu yang relatif tinggi terutama jika terdapat prooksidan.

Marty *and* Berset (1990) melakukan penelitian dengan  $\beta$ -karoten all trans sintetis dan menyatakan bahwa ketahanan molekul tersebut pada suhu tinggi dipengaruhi oleh kondisi medium. Pemanasan yang lama pada suhu 80° C (pada kondisi tanpa oksigen) hanya menyebabkan sedikit kerusakan pada molekul ini, namun pada bahan pangan (dengan adanya komponen penyusun berupa pati, lemak, air dan lain-lain) serta dikombinasikan dengan pencampuran secara mekanis akan memberi kesempatan masuknya oksigen dan menyebabkan kerusakan molekul  $\beta$ -karoten all trans ini lebih besar hingga jauh lebih besar lagi.

Perubahan struktur karotenoid pada umumnya selama pengolahan dan penyimpanan dapat terjadi melalui beragam jalur, tergantung pada kondisi proses reaksinya. Beberapa macam kerusakan karotenoid yang mungkin terjadi antara lain :

a. Kerusakan pada suhu tinggi

Eskin (1979) menyebutkan bahwa karotenoid akan mengalami kerusakan pada suhu tinggi yaitu melalui degradasi termal sehingga terjadi dekomposisi karotenoid yang mengakibatkan turunnya intensitas warna karotenoid atau terjadi pemucatan warna. Hal ini terjadi dalam kondisi oksidatif.

b. Oksidasi

Eskin (1979) menyebutkan pula bahwa oksidasi dapat dikelompokkan menjadi 2 yaitu oksidasi enzimatis dan oksidasi non enzimatis. Oksidasi enzimatis dikatalis oleh enzim lipoksigenase. Hasil proses oksidasi ini berupa hidroksi  $\beta$ -karoten , semi karoten dan aldehid yang menyebabkan penyimpangan citarasa.

c. pH

Goodwin (1980) dalam Fardiaz dkk, (1995) menyatakan bahwa kebanyakan karotenoid stabil terhadap basa. Namun ada beberapa perkecualian untuk astaxanthin, aktinoeritrin, peridinin dan fukosantin yang tidak stabil terhadap basa walaupun dalam keadaan anaerobik. Karotenoid pada kondisi asam, isomerisasi dari all trans berubah menjadi campuran isomer cis-trans.

d. Isomerisasi

Bentuk all trans memberikan warna kuat. Makin banyak ikatan cis, warna makin terang. Rantai poliene pada karotenoid bertanggung jawab akan



ketidakstabilan karotenoid seperti kepekaannya terhadap oksidasi oleh oksigen dan peroksida, cahaya dan bahan kimia (Britton *et al.*, 1995).

## 2.2.2 Manfaat Karotenoid

Salah satu fungsi karotenoid adalah berperan sebagai prekursor vitamin A (Gross, 1991).  $\beta$ -karoten merupakan salah satu karotenoid yang mempunyai cincin  $\beta$  pada kedua sisi struktur molekulnya yang berarti bahwa  $\beta$ -karoten mampu menghasilkan provitamin A lebih banyak dari jenis karotenoid lainnya. Labu kuning mengandung >80%  $\beta$ -karoten sehingga mampu memenuhi kebutuhan tubuh akan vitamin A.

Karotenoid juga merupakan *scavenger* yang efisien untuk radikal bebas serta dapat secara signifikan mengurangi resiko dari penyakit kanker (Henrikson, 2009). Karotenoid yang memiliki aktivitas antioksidan sangat dibutuhkan untuk memadamkan radikal bebas tersebut, karena secara tidak langsung berfungsi sebagai antikanker, pencegahan dan pengurangan penyakit seperti penurunan fungsi otak, katarak, mencegah proses penuaan pada kulit, serta peningkatan sistem kekebalan tubuh (Shui *et al.*, 2004).

Karotenoid juga banyak digunakan sebagai bahan tambahan pada makanan yaitu sebagai pewarna makanan (Mortensen, 2006), seperti ekstrak dari kulit citrus digunakan sebagai pewarna pada orange jus. Preparasi dari tomat telah digunakan secara luas untuk menyediakan pewarna pada bahan-bahan makanan (Watson, 2007). Isler *et al.*, 1990 juga mengemukakan bahwa karotenoid dapat diaplikasikan pada beberapa makanan seperti *jelly*, *ice cream*, permen dan produk *beverage* lainnya sebagai pewarna alami, untuk mencegah oksidasi maupun menjaga kesehatan tubuh agar terhindar dari efek buruk dari radikal bebas.

Pada organisme fotosintesis, khususnya tanaman, karotenoid memegang peranan yang sangat penting dalam reaksi utama fotosintesis karena berpartisipasi dalam proses transfer energi atau melindungi reaksi utama dari *auto-oxidation* (Cogdell *et al.*, 2000). Pada organisme non-fotosintesis, khususnya manusia karotenoid berhubungan dengan mekanisme pencegahan oksidasi. Penelitian secara *in vivo* terhadap manfaat ekstrak labu kuning juga telah dijelaskan oleh Nurdiana dan Mukhramati (2012) bahwa ekstrak labu kuning (*Cucurbita mochatata D.*) yang diberikan pada tikus secara oral dapat

menurunkan kadar *malonaldehyde* dan secara *in vitro* oleh Ibrahim *et al.*, (2007) bahwa ekstrak karotenoid dari labu kuning (*Cucurbita pepo L.*) dapat dijadikan antimikrobia.

### 2.3 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menunda atau memperlambat proses oksidasi karena menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas dapat diredam. Kochar *and* Rossel (1990) menyatakan bahwa antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi lipid. Sedangkan menurut Halliwell *and* Gutteridge (1995) antioksidan adalah zat yang dalam konsentrasi kecil dapat mencegah atau memperlambat oksidasi radikal bebas. Dan sebaliknya, antioksidan dalam konsentrasi tinggi dapat bersifat sebagai prooksidan atau meningkatkan oksidasi. Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan dan berperan penting untuk mempertahankan mutu produk pangan karena oksidasi dapat dihambat oleh antioksidan.

Radikal bebas merupakan suatu molekul atau senyawa kimia yang keadaannya bebas dan memiliki satu atau lebih elektron bebas yang tidak berpasangan. Elektron dari radikal bebas yang tidak berpasangan ini sangat mudah menarik molekul lainnya sehingga radikal bebas tersebut menjadi lebih reaktif. Karena sangat reaktif, radikal bebas sangat mudah menyerang sel-sel yang sehat didalam tubuh. Bila tidak ada pertahanan yang cukup optimal maka sel-sel sehat tersebut menjadi tidak sehat atau rusak.

Radikal bebas yang merusak ini dapat dinetralisir dengan senyawa antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat oksigen reaktif dan radikal bebas dalam tubuh. Senyawa antioksidan ini akan menyerahkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas sehingga menjadi bentuk molekul yang normal kembali dan menghentikan berbagai kerusakan yang ditimbulkan. Sumber radikal bebas bisa berasal dari dalam tubuh itu sendiri (endogen), ada pula yang berasal dari luar tubuh (eksogen). Radikal endogen terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran) protein, karbohidrat dan lemak pada mitokondria, xantin oksidase, NADPH oksidase, mikrosom, membran inti sel dan peroksisom, sedangkan radikal eksogen adalah radikal yang berasal dari polusi udara, asap kendaraan bermotor, asap rokok,

radiasi sinar ultraviolet serta berbagai macam bahan kimia dan makanan yang diolah sampai hangus (*carbonated*) (Langseth, 1995).

Antioksidan memiliki beragam jenis, menurut (Kumalaningsih, 2006) terdapat tiga macam antioksidan yaitu :

- a. Antioksidan yang dibuat sendiri oleh tubuh berupa enzim antara lain superoksida dismutase, glutathione peroksidase, peroxidasi dan katalase
- b. Antioksidan alami yang dapat diperoleh dari tanaman atau hewan, yaitu: tokoferol, vitamin C,  $\beta$ -karoten, flavonoid dan senyawa fenolik. Antioksidan alami dalam makanan dapat berasal dari senyawa endogenous dari satu atau lebih komponen makanan, substansi yang terbentuk dari hasil reaksi selama pengolahan dan bahan tambahan makanan yang diisolasi dari sumber alami. Sebagian besar antioksidan alami berasal dari tanaman. Beberapa sumber umum antioksidan alami yang berasal dari tanaman diantaranya adalah alga, sereal, produk coklat, rempah-rempah, legume, biji-bijian berminyak dan ekstrak tanaman. Pada saat ini, sebagian besar penelitian tentang antioksidan alami terfokus pada tiga antioksidan utama, yaitu  $\alpha$ -tokoferol (vitamin E), vitamin C dan karotenoid sebagai sumber antioksidan alami.
- c. Antioksidan sintetik merupakan antioksidan yang dibuat dari bahan-bahan kimia seperti *Butil Hidroksi Anisol (BHA)*, *Butil Hidroksi Toluena (BHT)* dan *asam askorbat* yang ditambahkan ke dalam makanan untuk mencegah kerusakan lemak.

Ada beberapa sifat umum dari antioksidan diantaranya adalah sebagai berikut (Kumalaningsih, 2006) :

- a. Penggunaannya aman
- b. Tidak menyebabkan terjadinya perubahan warna, aroma, dan rasa pada produk
- c. Efektif pada konsentrasi yang rendah
- d. Tahan terhadap proses pengolahan produk

Sifat yang paling penting adalah sifat yang keempat karena sebagian proses akan menggunakan suhu tinggi. Pengolahan pada suhu tinggi akan menyebabkan kerusakan pada lipid dan stabilitas antioksidan yang ditambahkan sebagai bahan tambahan pangan. Kemampuan antioksidan untuk bertahan terhadap proses pengolahan sangat penting dan sangat diperlukan untuk

melindungi produk akhir. Ada beberapa kekurangan atau keterbatasan dari antioksidan. Diantaranya adalah sebagai berikut (Kumalaningsih, 2006) :

- a. Antioksidan tidak dapat memperbaiki flavor pada lipid yang berkualitas rendah.
- b. Antioksidan tidak dapat memperbaiki lipid yang sudah tengik.
- c. Antioksidan tidak dapat mencegah kerusakan hidrolisis, maupun kerusakan yang disebabkan oleh mikroorganisme.

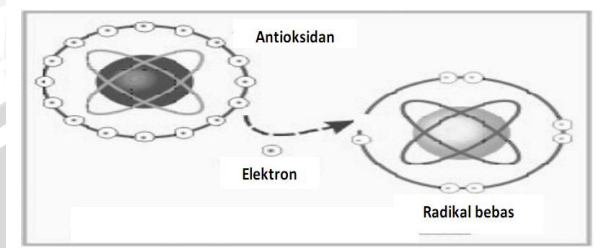
Menurut Kumalaningsih (2006), atas dasar fungsinya antioksidan dapat dibedakan menjadi 5 (lima) yaitu:

- a. Antioksidan primer : antioksidan yang berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru karena dapat merubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya, yaitu sebelum sempat bereaksi, contohnya enzim superoksida dismutase yang melindungi hancurnya sel-sel dalam tubuh akibat serangan radikal bebas.
- b. Antioksidan sekunder : antioksidan sekunder merupakan senyawa yang berfungsi menangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar, contohnya vitamin E, vitamin C dan  $\beta$ -karoten yang dapat diperoleh dari buah-buahan dan sayuran.
- c. Antioksidan tersier : senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas, contohnya enzim metionin sulfoksidan reduktase yang memperbaiki DNA dalam inti sel.
- d. *Oxygen scavenger* : antioksidan yang mampu mengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi, misalnya vitamin C.
- e. *Chelators* atau *sequestrants* : senyawa yang dapat mengikat logam sehingga logam tidak dapat mengkatalis reaksi oksidasi. Akibatnya kerugian dapat dicegah. Contoh senyawa tersebut adalah asam sitrat dan asam amino.

### 2.3.1 Mekanisme Kerja Antioksidan

Mekanisme kerja serta kemampuan antioksidan sangat bervariasi. Kombinasi beberapa antioksidan dapat memberikan perlindungan yang lebih baik terhadap oksidasi dibandingkan satu jenis antioksidan saja (Siagian, 2002). Reaksi antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak teroksidasi, dapat disebabkan oleh empat macam mekanisme reaksi yaitu (Ketaren 1986) :

- Pelepasan hidrogen dari antioksidan
- Pelepasan elektron dari antioksidan
- Adisi lemak ke dalam cincin aromatik dari antioksidan
- Pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan



**Gambar 2.3** Mekanisme Kerja Antioksidan dalam menetralkan radikal bebas (Ketaren 1986)

Menurut Winarsi (2007) antioksidan dapat dikelompokkan menjadi tiga kelompok berdasarkan mekanisme reaksinya, yaitu antioksidan primer, sekunder dan tersier.

- Antioksidan primer disebut juga antioksidan endogenous atau enzimatis. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan primer apabila dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera menjadi senyawa yang lebih stabil. Antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase. Enzim tersebut menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutus reaksi berantai (polimerisasi), kemudian mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil.
- Antioksidan sekunder disebut juga sebagai antioksidan eksogeneus atau non-enzimatis. Antioksidan kelompok ini juga disebut sistem pertahanan preventif, yaitu terbentuknya senyawa oksigen reaktif yang dihambat dengan cara pengkelatan metal atau dirusak pembentukannya. Kerja antioksidan sekunder yaitu dengan cara memotong reaksi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkapnya. Antioksidan sekunder meliputi vitamin E, vitamin C,  $\beta$ -karoten, flavonoid, asam urat, bilirubin dan albumin.
- Antioksidan tersier merupakan suatu antioksidan yang memperbaiki kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Kelompok antioksidan tersier meliputi sistem DNA-repair dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-

enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas. Sebagai contoh enzim yang memperbaiki DNA dan metionin reduktase.

## 2.4 Proses Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan dua zat atau lebih dengan menggunakan pelarut yang tidak saling campur. Berdasarkan fase yang terlibat, terdapat dua jenis ekstraksi, yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi padat-cair. Pemandangan komponen dari padatan ke pelarut pada ekstraksi padat-cair melalui tiga tahapan, yaitu difusi pelarut ke pori-pori padatan atau ke dinding sel, di dalam dinding sel terjadi pelarutan padatan oleh pelarut dan tahapan terakhir adalah pemindahan larutan dari pori-pori menjadi larutan ekstrak. Proses ekstraksi bertujuan mendapatkan bagian-bagian tertentu dari bahan yang mengandung komponen bioaktif.

Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai metode diantaranya ekstraksi dengan metode perkolasi, soxhletasi, maserasi, infusa, *Supercritical Fluid Extraction* (SFE), gelombang mikro dan gelombang ultrasonik. Metode yang banyak digunakan adalah ekstraksi menggunakan perkolasi, maserasi dan soxhletasi (Houghton and Raman, 1998). Hasil ekstrak yang diperoleh akan tergantung pada beberapa faktor, antara lain kondisi alamiah senyawa tersebut, metode ekstraksi yang digunakan, ukuran partikel bahan ekstrak, kondisi dan waktu penyimpanan, lama waktu ekstraksi dan perbandingan jumlah pelarut terhadap sampel (Darusman dkk, 1995). Jenis dan mutu pelarut yang digunakan menentukan keberhasilan proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan harus dapat melarutkan zat yang diinginkan, mempunyai titik didih rendah, murah, mudah didapat, tidak toksik dan tidak mudah terbakar (Ketaren, 1986).

### 2.4.1 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi dengan Ultrasonik

#### a. Frekuensi

Meningkatnya frekuensi akan memperkecil tekanan minimum sehingga energi lebih banyak diperlukan untuk pembentukan kavitasasi dalam sistem. Sebagai contoh, energi yang diperlukan untuk membuat kavitasasi dalam air sepuluh kali lebih besar dengan menggunakan frekuensi 400 kHz dibandingkan dengan menggunakan frekuensi 10 kHz. Dengan alasan inilah frekuensi yang

biasa digunakan pada ekstraksi ultrasonik berkisar antara 20-40 kHz (Wardiyati, 2004).

b. Viskositas Pelarut

Viskositas pelarut berpengaruh terhadap terjadinya proses kavitasi. Semakin kental pelarut maka kavitasi akan semakin sulit terbentuk sehingga efisiensi proses berkurang (Wardiyati, 2004).

c. Tegangan Permukaan dan Tekanan Uap

Tegangan permukaan dan tekanan uap berpengaruh terhadap terjadinya proses kavitasi. Semakin rendah tegangan permukaan pelarut, kavitasi akan semakin sulit terjadi. Pelarut yang lebih volatil sering digunakan dalam proses sonochemistry karena pelarut ini mempunyai tekanan uap yang tinggi yang bisa memudahkan terbentuknya gelembung. Uap pelarut ini akan mengisi gelembung tadi sehingga energi yang diperlukan untuk terbentuknya kavitasi lebih kecil (Wardiyati, 2004).

d. Intensitas

Intensitas sonikasi secara langsung sebanding dengan kuadrat amplitudo vibrasi sumber ultrasonik. Tinggi rendahnya amplitudo dipengaruhi oleh tenaga ultrasonik yang digunakan di dalam sistem. Dengan demikian besarnya intensitas berhubungan langsung dengan besarnya energi yang diberikan. Secara umum bertambahnya intensitas sonikasi akan meningkatkan proses ekstraksi akan tetapi hal ini dibatasi oleh energi ultrasonik yang masuk pada sistem (Wardiyati, 2004). Menurut Santos *et al.*, (2009) amplitudo yang besar biasanya digunakan pada media yang viskositasnya tinggi seperti darah karena jika amplitudo tidak sesuai dengan kondisi bahan yang diekstrak maka dapat merusak senyawa yang ada di dalam bahan tersebut.

e. Ukuran Bahan

Suatu ekstraksi dapat berlangsung dengan baik jika bahan yang akan diekstrak memiliki luas permukaan yang besar sehingga mempermudah kontak antara bahan dengan pelarut. Bahan yang akan diekstrak sebaiknya tidak digiling terlalu halus karena dapat menyebabkan pemampatan.

f. Suhu

Pengaruh suhu pada proses sonochemistry sangatlah besar, tingginya suhu akan menaikkan tekanan uap dalam medium, sehingga kavitasi akan mudah terbentuk. Gejala ini akan disertai dengan penurunan viskositas dan tegangan permukaan. Pada suhu yang tinggi (mencapai titik didih pelarut),

gelembung-gelembung dihasilkan secara bersamaan. Hal ini dapat menjadi penghalang transmisi suara yang masuk ke media sehingga mengurangi efektifitas ultrasonik (Wardiyati, 2004).

g. Waktu Ekstraksi

Waktu merupakan parameter penting dalam ekstraksi. Umumnya, waktu ekstraksi berkorelasi positif terhadap jumlah senyawa target, walaupun terdapat resiko terjadinya degradasi senyawa target itu sendiri. Waktu ekstraksi tergantung pada bahan yang diekstrak. Penelitian optimasi waktu ekstraksi penting dilakukan karena waktu ekstraksi mungkin bervariasi terhadap bagian bahan yang berbeda.

h. Jenis Pelarut

Dalam pemilihan jenis pelarut yang digunakan harus memperhatikan daya larut, titik didih, sifat toksik, mudah tidaknya terbakar dan sifat korosif terhadap peralatan ekstraksi. Menurut Jain *et al.*, (2009) pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi adalah aseton, etil diklorida, etanol, n-heksan, aseton, isopropil alkohol dan metanol. Hal-hal lain yang perlu dipertimbangkan dalam pemilihan pelarut adalah selektivitas, kapasitas, kemudahan untuk diuapkan dan harga pelarut tersebut. Prinsip kelarutan adalah "*like dissolve like*", yaitu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, demikian juga sebaliknya pelarut non-polar akan melarutkan senyawa non-polar serta pelarut organik akan melarutkan senyawa organik (Khopkar, 2003).

i. Rasio Pelarut dan Bahan Baku

Jika rasio pelarut dan bahan baku besar maka akan memperbesar pula jumlah senyawa yang terlarut. Akibatnya laju ekstraksi akan semakin meningkat. Akan tetapi semakin banyak pelarut, proses ekstraksi juga semakin mahal.

#### 2.4.2 Ekstraksi Karotenoid

Ekstraksi karotenoid dengan pelarut akan menghasilkan ekstrak karotenoid kasar karena sistem pelarut yang digunakan untuk ekstraksi pada umumnya tidak spesifik untuk karotenoid, sehingga menyebabkan adanya pengotor (*impurity*) yang ikut terekstrak dan terkonsentrasi dalam ekstrak karotenoid. Senyawa pengotor ini dapat berupa gula, asam-asam organik dan senyawa fenol lain (Rodriguez-Saona *et al.*, 2001). Sumber pigmen karotenoid



dalam labu kuning terkandung sejumlah substansi pigmen yaitu  $\beta$ -karoten,  $\alpha$ -karoten dan lutein (Murkovic *et al.*, 2002).

Metode ekstraksi karotenoid yang biasa digunakan yaitu dengan menggunakan satu pelarut atau kombinasi dua pelarut yang berbeda tingkat kelarutannya. Hongmin *et al.*, (1996) menggunakan aseton sebagai pelarut untuk mengekstrak karotenoid pada ubi jalar kuning. Beberapa penelitian sebelumnya untuk ekstraksi karotenoid telah dilakukan dengan menggunakan pelarut n-heksan (Sahertian, 2012), kloroform (Burns *et al.*, 2003) dan asetonitril (Lee *et al.*, 2004). Penelitian lain mengenai ekstraksi karotenoid juga telah dilakukan oleh Ofori and Lee (2000) dalam mengekstrak minyak kelapa sawit menggunakan metode ultrasonik dengan pelarut etanol, n-heksan dan aseton dan hasil terbaik diperoleh dengan ekstraksi menggunakan pelarut n-heksan selama 20 menit. Selain itu Tarhan *et al.*, (2007) juga melakukan penelitian dengan mengekstrak labu kuning (*Cucurbita pepo*) dengan menggunakan pelarut etil asetat selama 15 menit dan Meutia (2013) mengekstrak karotenoid dari buah pepaya dengan etil asetat selama 25 menit.

## 2.5 Pelarut

Banyak faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi, sehingga memerlukan optimasi untuk mendapatkan hasil maksimum. Faktor-faktor tersebut adalah ukuran partikel, jenis pelarut, pH media ekstraksi, waktu dan temperatur ekstraksi. Diantara faktor-faktor tersebut, jenis pelarut merupakan salah satu faktor yang paling penting karena mempengaruhi jumlah dan jenis komponen yang diekstrak. Menurut Jain *et al.*, (2009) pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi adalah aseton, etil diklorida, etanol, n-heksan, isopropil alkohol dan metanol. Pelarut yang digunakan untuk penelitian ini adalah n-heksan, etil asetat dan aseton. Konstanta dielektrikum dari ketiga pelarut tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.4.

**Tabel 2.4** Konstanta Dielektrik Berbagai Jenis Pelarut

Pelarut	Konstanta Dielektrik
N-heksan	1,89
Toluene	2,4
Etil Asetat*	6,02*
Diklrometana	18,9
Aseton	20,7
Etanol	24,3
Metanol	32,6
Air	78,5

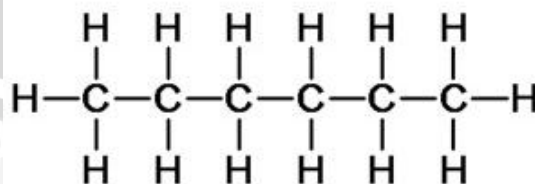
Sumber : (Kaufmann, 2002)

\*(Jain *et al.*, 2009)

### 2.5.1 N-heksan

N-heksan adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia  $C_6H_{14}$ . Awalan heks- merujuk pada enam karbon atom yang terdapat pada n-heksan dan akhiran -ana berasal dari alkana, yang merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. N-heksan merupakan jenis pelarut non polar dan termasuk dalam pelarut kelas 2, dimana pelarut ini memiliki batas residu yaitu sebesar 290 ppm atau PDE (*Permitted Dose Exposure*) sebanyak 2,9 mg/hari (Countrymen, 2007). Karakteristik n-heksan adalah sebagai berikut :

- Nama lain : caproyl hydride, hexyl hydride
- Rumus molekul :  $CH_3(CH_2)_4CH_3$
- Berat molekul : 86,17 kg/mol
- Warna : berwarna
- Melting point* : - 94 °C
- Boiling point* : 69 ( P = 1 atm)
- Specific gravity* : 0,659
- Kelarutan dalam 100 bagian air : 0,014 ( 15°C )



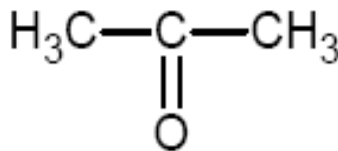
**Gambar 2.5** Struktur n-heksan (Countrymen, 2007)

### 2.5.2 Aseton

Aseton dikenal sebagai propanon, dimetil keton, 2-propanon, propan-2-on, dimetilformaldehida dan  $\beta$ -ketopropana, adalah senyawa berbentuk cairan yang tidak berwarna dan mudah terbakar. Aseton termasuk dalam gugus fungsi Keton ( $R-CO-R'$ ). Keton tergolong senyawa karbonil karena memiliki gugus fungsional  $C=O$ , dan atom karbon pada gugus karbonil dihubungkan dengan dua residu alkil ( $R$ ), dan atau aril ( $Ar$ ). Aseton termasuk ke dalam pelarut kelas 3 yaitu pelarut dengan potensi toksisitas yang rendah (Countrymen, 2007). Pelarut kelas 3 ini tidak memiliki efek jangka panjang bagi kesehatan dan memiliki PDE (*Permitted Dose Exposure*) sebesar 50 mg lebih per hari (Countrymen, 2007).

Karakteristik aseton adalah sebagai berikut :

- Rumus molekul :  $CH_3COCH_3$
- Berat molekul : 50,1 kg/mol
- Melting point* :  $-94,6\text{ }^\circ\text{C}$
- Spesifik gravity* : 0,7863 ( $25\text{ }^\circ\text{C}$ )

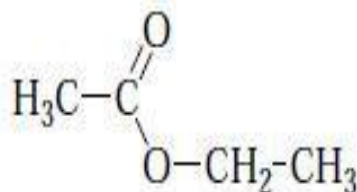


Gambar 2.5 Struktur Aseton (Countrymen, 2007)

### 2.5.3 Etil Asetat

Etil asetat adalah pelarut yang memiliki sifat transparan, tidak berwarna dan baunya sedikit menyengat. Etil asetat merupakan pelarut polar menengah (semi polar) yang mudah menguap, tidak beracun dan tidak higroskopis. Etil asetat tak berwarna dengan bau yang semerbak dan bertitik didih  $77^\circ\text{C}$  (Arsyad, 2001). Etil asetat termasuk dalam kelompok gugus fungsi ester ( $R-COOR'$ ). Ester adalah senyawa yang dapat dianggap turunan dari asam karboksilat dengan mengganti ion hidrogen pada gugus hidroksil oleh radikal hidrokarbon. Etil asetat termasuk ke dalam pelarut kelas 3 yaitu pelarut dengan potensi

toksitas yang rendah (Countrymen, 2007). Pelarut kelas 3 ini tidak memiliki efek jangka panjang bagi kesehatan dan memiliki PDE (*Permitted Dose Exposure*) sebesar 50 mg lebih per hari (Countrymen, 2007).



**Gambar 2.6** Struktur Etil Asetat (Arsyad, 2001)

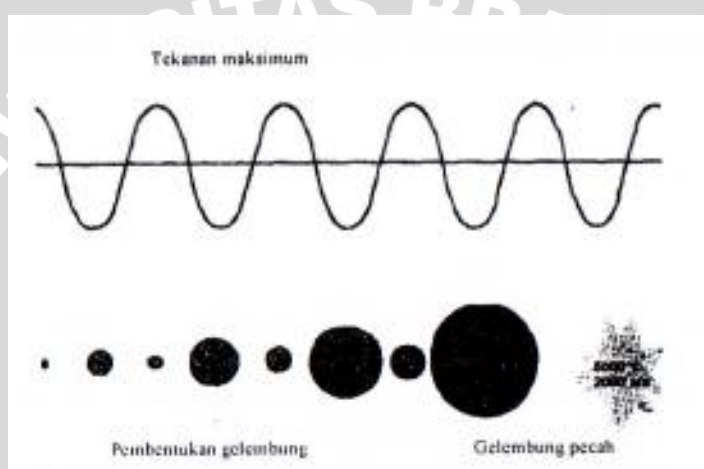
Etil asetat merupakan pelarut dengan kepolaran sedang yang memungkinkan untuk mengekstrak senyawa semi polar. Berikut ini adalah karakteristik dari etil asetat (Lomempuow dkk, 2012) :

- a. Nama Sistematis : Etil etanoat, Etil asetat
- b. Nama Alternatif : Etil ester, Ester asetat, Ester etanol
- c. Rumus Molekul : C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>
- d. Massa Molar : 88.12 g/mol
- e. Densitas dan Fase : 0.897 g/cm<sup>3</sup>, cairan
- f. Titik Lebur : -83,6°C (189.55 K)
- g. Titik Didih : 77.1°C (350.25 K)
- h. Penampilan : Cairan tidak berwarna

## 2.6 Metode Ultrasonik

Ultrasonik adalah salah satu bentuk dari energi yang dihasilkan gelombang suara dengan frekuensi yang sangat tinggi di atas deteksi telinga manusia, yaitu antara 20 kHz – 2 MHz (Wardiyati, 2004). Hal tersebut menyebabkan ultrasonik dapat diaplikasikan pada rentang disiplin ilmu yang cukup luas. Pemanfaatan ultrasonik salah satunya diterapkan pada bidang kimia contohnya pada proses ekstraksi, kristalisasi, sintesis bahan dan pembuatan katalis (Wardiyati, 2004). Ultrasonik pada intensitas rendah dan frekuensi tinggi, biasanya diaplikasikan untuk evaluasi non-destruktif, sebaliknya pada intensitas tinggi dan frekuensi rendah merupakan jenis ultrasonik untuk aplikasi sonokimia (Thompson *and* Doraiswamy, 1999).

Tenaga ultrasonik pada proses-proses kimia seperti ekstraksi tidak secara langsung kontak dengan medan yang bersangkutan, akan tetapi melalui perantara yang berupa cairan. Gelombang bunyi yang dihasilkan oleh tenaga listrik (lewat transduser) diteruskan oleh media cair ke medan yang dituju melalui fenomena kavitasi. Fenomena kavitasi merupakan terbentuknya gelembung kecil pada media perantara yang lama kelamaan gelembung-gelembung akan bertambah besar dan akhirnya akan pecah atau collapse dan mengeluarkan tenaga besar, tenaga inilah yang digunakan untuk proses kimia. Fenomena kavitasi dapat digambarkan seperti pada Gambar 2.8.



**Gambar 2.7** Fenomena Kavitasi

Sumber : (Wardiyati, 2004)

Terdapat efek ganda yang dihasilkan dari ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik yaitu pengacauan dinding sel sehingga membebaskan kandungan senyawa yang ada di dalamnya dan pemanasan lokal pada cairan dan meningkatkan difusi ekstrak. Energi kinetik dilewatkan ke seluruh bagian cairan, diikuti dengan munculnya gelembung kavitasi pada dinding atau permukaan sehingga meningkatkan transfer massa antara permukaan padat-cair. Efek mekanik yang ditimbulkan adalah meningkatkan penetrasi dari cairan menuju dinding membran sel, mendukung pelepasan komponen sel dan meningkatkan transfer massa (Keil, 2007). Liu (2010) menyatakan bahwa kavitasi ultrasonik menghasilkan daya patah yang akan memecah dinding sel secara mekanis dan meningkatkan transfer material.

Ultrasonik merupakan alternatif metode ekstraksi yang efektif dan efisien, rendah energi, waktu dan material serta rendemen yang dihasilkan lebih tinggi (Vinatoru, 2001). Ultrasonik memiliki kemampuan yang lebih cepat dan lebih sempurna dalam proses ekstraksi dibandingkan dengan metode maserasi dan soxhlet. Menurut Brennan (2006), efek mekanis yang ditimbulkan oleh gelombang ultrasonik dapat meningkatkan kemampuan penetrasi pelarut ke dalam sel bahan sehingga meningkatkan jumlah komponen sel yang berdifusi ke dalam pelarut. Metode ini telah diaplikasikan dalam ekstraksi karotenoid pada jagung (Ye *et al.*, 2011) dan tomat (Lianfu *and* Zelong 2008) 2008) dimana rendemen yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan metode konvensional.

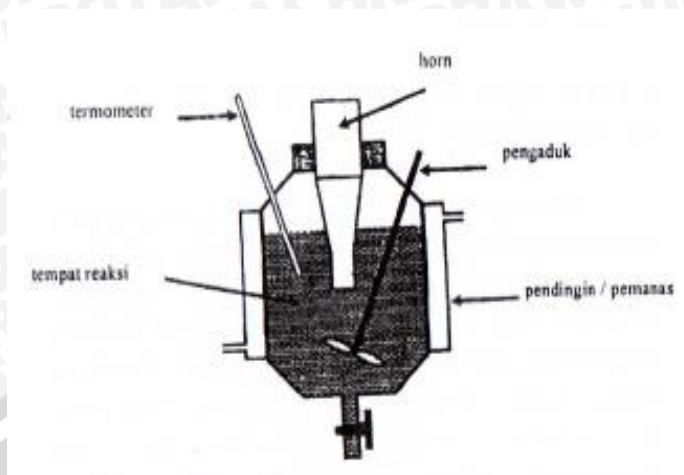
**Tabel 2.5** Perbandingan Ekstraksi Metode Soxhletasi dan UAE

Parameter	Soxhletasi	UAE
Berat bahan (gram)	5-10	5-30
Volume pelarut (ml)	>300	300
Suhu (°C)	Titik didih	Ruang
Waktu	16 jam	30 menit
Tekanan (atm)	Ruang	Ruang
Konsumsi energi relative	1	0,05

Sumber : (Jain *et al.*, 2009)

### 2.6.1 Ultrasonik Sistem Tanduk Getar

Jenis konfigurasi reaktor gelombang ultrasonik antara lain adalah *Cleaning Bath Ultrasonic*, *Submersible Transducers Ultrasonic* dan *Probe Ultrasonik* atau biasa disebut dengan ultrasonik tanduk getar (Wardiyati, 2004). Salah satu jenis ultrasonik yang sering digunakan adalah ultrasonik tanduk getar. Ultrasonik tanduk getar menggunakan gelombang yang ditransmisikan dengan frekuensi 16-30 kHz dengan daya hingga 240 W. Luas penampang iradiasi tergantung dari kedalaman celup tanduk getar dan bisa digunakan untuk mengatur intensitas iradiasi. Konfigurasi ultrasonik sistem tanduk getar ini bisa digunakan untuk kebutuhan merusak jaringan sel tanaman, homogenisasi dan proses-proses percepatan reaksi kimia (Susilo, 2007). Kelebihan dari ultrasonik ini adalah dayanya dapat dikontrol, karena menggunakan horn yang telah dimodifikasi maka tidak ada kontaminasi oleh fragmen logam dari probe yang dicelup. Namun kekurangan dari jenis ini adalah ukuran dari wadah reaksinya terbatas (Wardiyati, 2004).



**Gambar 2.8** *Horn Ultrasonic*

Sumber : (Wardiyati, 2004)

Peralatan ultrasonik sistem tanduk getar terdiri dari generator pembangkit gelombang, tanduk getar, pengatur frekuensi, pengatur amplitudo dan tanduk getar. Penyangga tanduk getar bisa menggunakan rangka atau statif (Susilo, 2007). Efisiensi pembangkit gelombang ultrasonik jenis ini paling rendah dibandingkan jenis lain yang telah berkembang.

### 2.6.2 Aplikasi Ultrasonik

Aplikasi gelombang ultrasonik di industri pangan untuk meningkatkan proses dan produk belum begitu populer namun telah banyak diaplikasikan pada industri lain. Keuntungan dari penggunaan ultrasonik diantaranya adalah mempermudah proses ekstraksi, transfer massa, distrupsi sel dan meningkatkan efek penetrasi. Beberapa penelitian telah dilakukan sebelumnya yaitu pada penelitian Mason *et al.*, (1996) yang menyebutkan bahwa ekstraksi senyawa dengan ultrasonik pada *adas*, *hops*, *marigold*, daun mint dan lemon dapat meningkatkan 20-40% hasil ekstraksi dibanding dengan metode ekstraksi biasa. Penelitian lain yang dilakukan oleh Cameron *and* Wang (2006) menyebutkan bahwa jagung yang diekstrak dengan ultrasonik selama 2 menit mendapatkan hasil 55,2-67,8% hampir sama dengan rendemen yang didapat dari pemanasan air selama 1 jam yaitu 53,4%.

Beberapa keuntungan dari metode ultrasonik adalah mempermudah proses ekstraksi, transfer masa, distrupsi sel dan meningkatkan efek penetrasi

(Kuldiloke, 2002). Dengan penggunaan ultrasonik proses ekstraksi senyawa organik pada tanaman dan biji-bijian dengan pelarut organik dapat berlangsung lebih cepat. Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Mason *et al.*, (1996) pada proses ekstraksi gula bit diketahui bahwa getaran ultrasonik dapat memecah dinding sel bahan sehingga kandungan yang ada di dalamnya dapat keluar dengan mudah. Berikut ini adalah beberapa aplikasi dari penggunaan gelombang ultrasonik yang dapat dilihat pada Tabel 2.6.

**Tabel 2.6** Pemanfaatan Ultrasonik di Bidang Industri

No	Bidang	Aplikasi
1	<i>Plastic welding</i>	<i>Pabrik thermoplastic</i>
2	<i>Cleaning</i>	Peralatan medis
3	<i>Cutting</i>	Semua material dari keramik sampai makanan
4	<i>Therapeutic medicane</i>	<i>Chemotherapy</i>
5	<i>Processing</i>	Pelepasan pigmen tanaman, kristalisasi, filtrasi, pengeringan, <i>degassing</i> , <i>defoaming</i> , homogenisasi, emulsifikasi, ekstraksi, dsb.
6	<i>Sonochemistry</i>	Elektro kimia, katalis, simtesis sederhana, perlindungan lingkungan.

Sumber : Wardiyati, (2004)





### III METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia dan Analisis Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya, Laboratorium Teknologi Pengolahan Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya dan Laboratorium Pengujian dan Analisa Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya. Waktu pelaksanaan penelitian pada bulan September 2013 sampai Maret 2014.

#### 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

##### 3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini dibagi menjadi alat pembuatan bubuk labu kuning, alat ekstraksi dan alat analisis. Alat yang digunakan dalam pembuatan bubuk labu kuning meliputi pisau, talenan, loyang, pengering kabinet otomatis (OVG-12), blender kering (National PBL-104), ayakan 60 mesh (ATE-126, 0.250 mm), termometer, kuas, sendok dan plastik.

Alat yang digunakan dalam ekstraksi karotenoid labu kuning adalah alat ultrasonik tanduk getar (Cole Palmer/CPX 130), *beaker glass* (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), corong kaca (Pyrex), pengaduk, kertas saring halus, penyaring vakum (Butchi V500), *rotary evaporator* (Buchi B-490), *freezer* (Gea AB-396-T-X), *shaker waterbath* (Memmert WNB 14 W/Ring) timbangan analitik (Denver M-310), pipet tetes, botol gelap, aluminium foil dan alat semprot nitrogen (pegom78).

Alat yang digunakan dalam analisis ekstrak karotenoid meliputi oven listrik (Memmert UNE 600), statif, kolom, pH meter (PHS-3CB), timbangan analitik (Denver M-310), spatula besi, *colorreader* (Minolta CR-100), *beaker glass* (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), corong kaca (Pyrex), pengaduk, erlenmeyer (Pyrex), cawan petri, desikator, bola hisap (Merienfiel), pipet volume (HG), tabung reaksi (Pyrex), lampu (Philip 23 watt), termometer, rak tabung kayu, aluminium foil, kuvet dan spektrofotometer UV-Vis (Jenway 6305).

##### 3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bahan untuk ekstraksi dan bahan untuk analisis. Bahan untuk ekstraksi meliputi buah labu

kuning matang jenis labu kuning *bokor* (*Cucurbita moschata*) yang didapatkan dari daerah Tumpang Malang dengan karakteristik kulit labu berwarna oranye dengan rata-rata berat 3-4kg, pelarut aseton, etil asetat, n-heksan dengan kemurnian teknis yang didapatkan dari Toko Makmur Sejati Malang. Bahan kimia yang digunakan untuk analisis meliputi alkohol 96%, petroleum eter dan aseton dengan kemurnian p.a, HCl, NaOH dan aquades yang didapatkan dari Toko Makmur Sejati Malang. Alumina, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat, gas N<sub>2</sub> dan DPPH 0,2 mM dalam etanol yang didapat dari Laboratorium Biokimia dan Analisis Pangan Universitas Brawijaya.

### 3.3 Metode Penelitian

Pada penelitian pemisahan karotenoid dari buah labu kuning terdiri dari 3 tahapan yaitu perlakuan pendahuluan, ekstraksi dan analisis. Perlakuan pendahuluan awal meliputi 2 tahap yaitu analisis bahan baku dan pembuatan bubuk labu kuning. Analisis bahan baku meliputi analisis kadar air, warna, total karotenoid dan aktivitas antioksidan IC<sub>50</sub>. Pembuatan bubuk labu kuning dilakukan dengan cara dikeringkan dalam pengering kabinet selama 6 jam kemudian di blender kering hingga halus kemudian diayak agar ukurannya seragam. Tahapan selanjutnya adalah ekstraksi yang menggunakan pelarut pelarut aseton, etil asetat, n-heksan dengan ultrasonik tanduk getar yang telah diatur frekuensi dan amplitudonya serta diatur pada beberapa level waktu ekstraksi. Tahap analisis meliputi analisis total karotenoid, aktivitas antioksidan IC<sub>50</sub>, pH, rendemen dan warna yang meliputi tingkat kecerahan (L\*), tingkat kemerahan (a\*) dan tingkat kekuningan (b\*). Setelah itu mencari perlakuan terbaik dengan menggunakan metode *multiple attribute* (Zeleny, 1982). Hasil perlakuan terbaik kemudian diuji stabilitasnya terhadap suhu, cahaya dan pH.

#### 3.3.1 Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri dari 2 faktor. Faktor 1 adalah jenis pelarut yang digunakan meliputi pelarut aseton, etil asetat dan n-heksan. Faktor 2 adalah lama ekstraksi yang digunakan adalah 5 menit, 15 menit dan 25 menit dengan 3 kali ulangan. Dari faktor-faktor tersebut didapatkan 27 satuan percobaan diantaranya adalah sebagai berikut :

Faktor I (P) : Jenis Pelarut

P1 = aseton

P2 = etil asetat

P3 = n-heksan

Faktor 2 (T) : Lama ekstraksi

T1= 5 menit.

T2= 15 menit.

T3= 25 menit.

Dengan pengulangan 3 kali sehingga didapatkan 27 satuan percobaan.

Kombinasi kedua faktor tersebut adalah sebagai berikut :

**Tabel 3.1** Tabel Kombinasi Perlakuan

Lama Ekstraksi	Jenis Pelarut		
	P1	P2	P3
T1	P1T1	P2T1	P3T1
T2	P1T2	P2T2	P3T2
T3	P1T3	P2T3	P3T3

Keterangan :

P1T1 = pelarut aseton, lama ekstraksi 5 menit

P1T2 = pelarut aseton, lama ekstraksi 15 menit

P1T3 = pelarut aseton, lama ekstraksi 25 menit

P2T1 = pelarut etil asetat, lama ekstraksi 5 menit

P2T2 = pelarut etil asetat, lama ekstraksi 15 menit

P2T3 = pelarut etil asetat, lama ekstraksi 25 menit

P3T1 = pelarut n-heksan, lama ekstraksi 5 menit

P3T2 = pelarut n-heksan, lama ekstraksi 15 menit

P3T3 = pelarut n-heksan, lama ekstraksi 25 menit

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.4.1 Pembuatan Bubuk Labu Kuning (Modifikasi Ikawati, 2005)

1. Labu kuning matang dan tua dikupas dan dicuci bersih.
2. Pada pembuatan bubuk labu kuning, buah labu kuning dipotong-potong tipis  $\pm 2$  mm menggunakan *slicer*.

3. Labu kuning yang telah diiris tipis kemudian ditata dalam loyang kemudian dikeringkan dalam pengering kabinet selama 6 jam dengan suhu 50° C.
4. Labu kuning yang sudah kering dikecilkan ukurannya dengan menggunakan blender kering dan diblender ±10 menit kemudian diayak menggunakan ayakan 60 mesh untuk menyeragamkan ukuran.
5. Labu kuning yang telah menjadi bubuk kemudian dianalisis kadar air, warna, rendemen, total karotenoid dan aktivitas antioksidannya.

#### 3.4.2 Pelaksanaan Ekstraksi Labu Kuning (Modifikasi Ikawati, 2005)

1. Bubuk labu kuning ditimbang sebanyak 30 gr dengan timbangan analitik kemudian dimasukkan dalam beaker glass.
2. Ditambahkan berbagai jenis pelarut (aseton, etil asetat, n-heksan) ke dalam sampel (5:1 v/b) dan diekstraksi menggunakan metode ultrasonik selama 5, 15 dan 25 menit yang telah diatur frekuensinya sebesar 20 kHz dan amplitudo sebesar 40%.
3. Kontrol dibuat dengan mengekstrak sampel yang sama dengan *shaker waterbath* (maserasi) selama 2 jam dengan pelarut terbaik yang didapatkan dari ekstraksi yang menggunakan metode ultrasonik.
4. Ekstrak yang telah didapatkan lalu dipisahkan antara filtrat dengan residu dengan penyaring vakum yang corongnya telah dialasi dengan kertas saring halus.
5. Filtrat kemudian dipisahkan dari pelarut dengan menggunakan *rotary evaporator* pada 60 rpm, tekanan 200 mbar dan suhu 40°C sampai didapatkan ekstrak pekat.
6. Ekstrak dimasukkan ke dalam botol sampel gelap yang telah diketahui beratnya.
7. Ekstrak dalam botol sampel kemudian disemprot menggunakan gas nitrogen untuk menghilangkan residu pelarut yang masih terdapat pada ekstrak.
8. Ekstrak yang diperoleh kemudian disimpan pada suhu -4°C dan siap di analisis.

### 3.4.3 Pengamatan Penelitian

Pengamatan penelitian dilakukan terhadap labu kuning segar, bubuk labu kuning dan ekstrak karotenoid labu kuning. Parameter yang diamati meliputi :

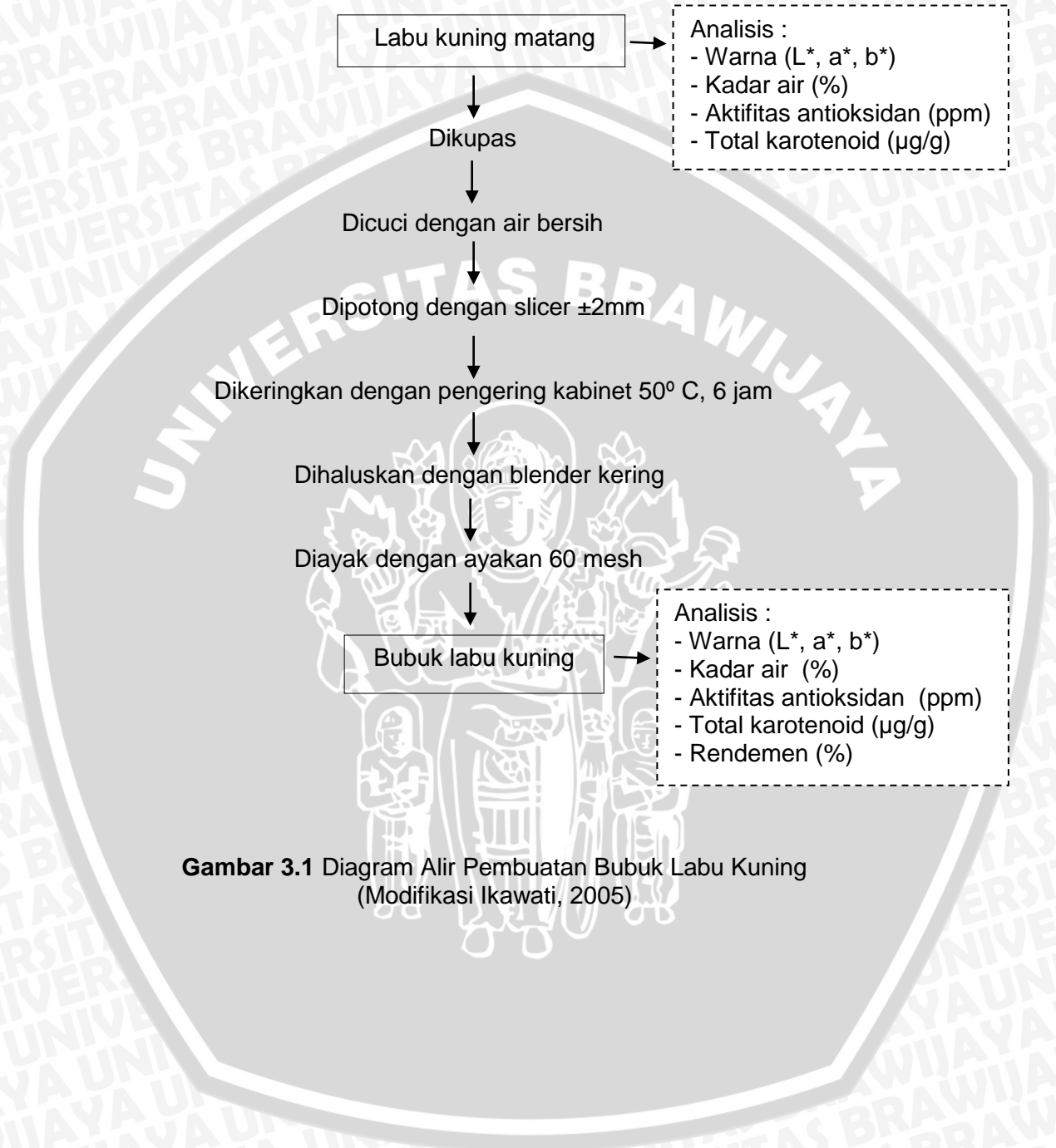
1. Analisis Kadar Air (AOAC, 1995)
2. Warna ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) *Color Reader* (Yuwono dan Susanto, 1998)
3. Uji aktivitas antioksidan  $IC_{50}$  dengan DPPH (Godow *et al.*, 1997).
4. Total Karotenoid (AOAC, 1995)
5. Rendemen (Yuwono dan Susanto, 1998)
6. Analisis pH (AOAC, 1995)
7. Perlakuan Terbaik (Zeleny, 1982)
8. Uji stabilitas karotenoid terhadap suhu (Dimara dkk, 2008)
9. Uji stabilitas karotenoid terhadap cahaya (Dimara dkk, 2008)
10. Uji stabilitas karotenoid terhadap pH (Dimara dkk, 2008)

### 3.5 Analisis Data

Analisis data yang akan dilakukan yaitu dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA). dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) jika terdapat interaksi antara kedua faktor atau dilakukan uji lanjut BNT dengan selang kepercayaan 5%. Penentuan perlakuan terbaik dengan menggunakan metode *Zeleny* (1982). Perbandingan antara perlakuan terbaik dengan kontrol menggunakan uji t dengan selang kepercayaan 5%.

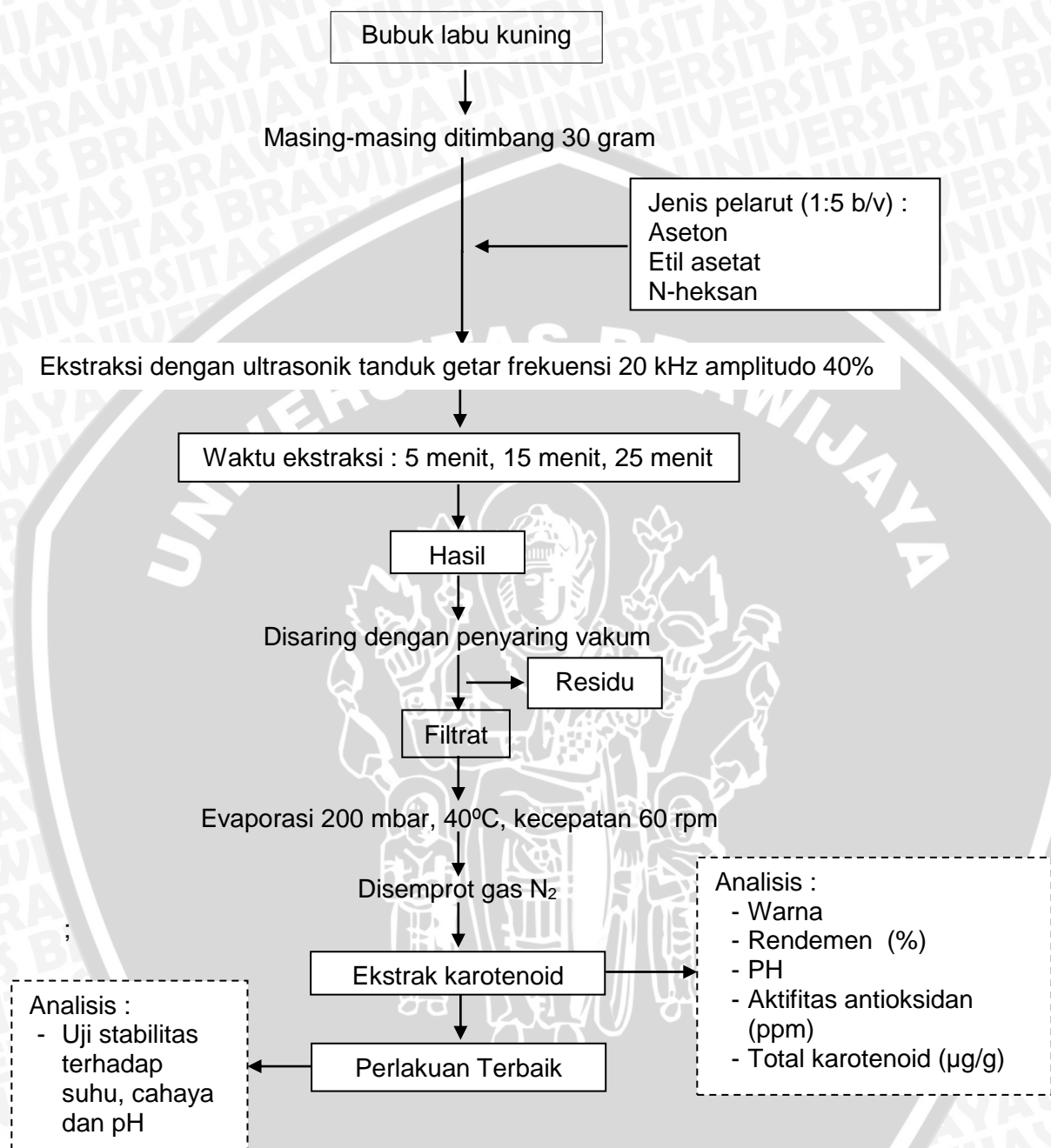
### 3.6 Diagram Alir Penelitian

#### 3.6.1 Diagram Alir Pembuatan Bubuk Labu Kuning



**Gambar 3.1** Diagram Alir Pembuatan Bubuk Labu Kuning (Modifikasi Ikawati, 2005)

### 3.6.2. Diagram Alir Ekstraksi Karotenoid Labu Kuning



**Gambar 3.2** Diagram Alir Ekstraksi Karotenoid Labu Kuning (Modifikasi Ikawati, 2005)

## IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Karakteristik Bahan Baku

Parameter-parameter yang dianalisis terhadap labu kuning segar dan bubuk labu kuning meliputi kadar air, warna, total karotenoid, aktivitas antioksidan IC<sub>50</sub> dan rendemen labu kuning yang telah dikeringkan. Analisis warna meliputi tingkat kecerahan (L\*), tingkat kemerahan (a\*) dan tingkat kekuningan (b\*). Data analisis labu kuning segar dan bubuk labu kuning ditunjukkan dalam Tabel 4.1.

**Tabel 4.1** Karakteristik Bahan Baku

Parameter	Labu Segar		Bubuk Labu	
	Hasil Analisis	Literatur	Hasil Analisis	Literatur
Kadar Air (%)	91,28	92,24 <sup>a</sup>	8,66	10,96 <sup>a</sup>
Tingkat Kecerahan (L*)	48,70	63,95 <sup>b</sup>	44,00	69,07 <sup>c</sup>
Tingkat Kemerahan (a*)	31,17	10,93 <sup>b</sup>	26,67	5,20 <sup>c</sup>
Tingkat Kekuningan (b*)	45,27	48,89 <sup>b</sup>	43,43	24,42 <sup>c</sup>
Total Karotenoid (µg/gr)	93,90	24,40 <sup>d</sup>	155,24	73,00 <sup>d</sup>
Aktivitas Antioksidan (ppm)	244,42	-	206,72	-
Rendemen (%)	-	-	14,70	-

Sumber : <sup>a</sup>(Saeleaw and Schleining, 2012)

<sup>b</sup>(Yuliani dkk., 2003)

<sup>c</sup>(Purwanto dkk., 2013)

<sup>d</sup>(Bhat and Bhat, 2013)

Hasil analisis pada Tabel 4.1 untuk kadar air labu kuning segar menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda dengan literatur. Menurut literatur kadar air labu segar adalah 92,24% sedangkan hasil analisis 91,28%. Noelia *et al.*, 2011 juga menyebutkan bahwa kadar air labu kuning berkisar antara 79,00-93,00%, namun kadar air pada bubuk labu kuning menunjukkan adanya perbedaan hasil analisis dengan literatur. Hasil analisis kadar air bubuk labu kuning adalah 8,66% sedangkan literatur kadar airnya lebih tinggi 2,30% yaitu 10,96%. Perbedaan tersebut dimungkinkan karena perbedaan metode pengeringan, suhu dan waktu yang digunakan saat proses pengeringan. Sudarto (1993) menyebutkan bahwa faktor yang mempengaruhi kandungan di dalam labu kuning antara lain varietas labu kuning, lokasi geografis, tingkat kematangan dan perlakuan yang diberikan. Proses pengeringan sendiri berfungsi untuk



menguapkan air yang ada pada bahan sehingga kadar air bahan menurun, selain itu proses pengeringan akan merusak dinding sel buah yang akan mempermudah proses ekstraksi. Kerusakan membran dan dinding sel saat pengeringan akan mempermudah pelarut masuk ke dalam dan menembus sel tumbuhan (Astuti, 2006).

Rerata tingkat kecerahan ( $L^*$ ) labu kuning segar adalah 48,70, tingkat kemerahan ( $a^*$ ) 31,17 dan tingkat kekuningan ( $b^*$ ) 45,27, dibandingkan dengan literatur nilai  $L^*$  hasil analisis lebih besar,  $a^*$  lebih kecil dan  $b^*$  lebih besar. Perbedaan warna ini dikarenakan jenis labu yang mungkin berbeda umur panennya dan lama waktu penyimpanannya. Labu yang semakin tua akan menghasilkan nilai  $L^*$  yang semakin kecil namun nilai  $a^*$  dan  $b^*$  semakin besar (Yuliani dkk, 2005). Pada bubuk labu kuning, nilai  $L^*$ ,  $a^*$  dan  $b^*$  semuanya mengalami penurunan dari warna labu kuning segar karena terjadi proses pengeringan sebelumnya. Nilai  $L^*$  turun dikarenakan terjadi reaksi pencoklatan pada labu kuning yang memiliki kandungan gula. Nilai  $a^*$  dan  $b^*$  turun karena dipengaruhi oleh hilangnya pigmen karotenoid yang terdapat pada labu kuning karena proses pengeringan. Madhavi *et al.*, (1996) menyatakan bahwa karotenoid sangat sensitif terhadap udara dan cahaya, khususnya suhu tinggi. Kerusakan karotenoid disebabkan oleh dekomposisi atau modifikasi struktur pigmen, terutama isomerasi cis-trans dipacu oleh pemanasan (Britton *et al.*, 1995). Hasil analisis warna bubuk labu kuning dibandingkan dengan literatur juga menunjukkan perbedaan. Hal ini dapat disebabkan oleh perlakuan dan metode yang berbeda saat pengeringan sehingga warna yang dihasilkan juga berbeda.

Total karotenoid hasil analisis juga mengalami perbedaan dengan literatur yang ada. Menurut literatur, total karotenoid pada labu kuning segar adalah 24,40%, sementara pada penelitian didapatkan 93,90%. Sedangkan untuk total karoten bubuk labu kuning menurut literatur adalah 73,00% dan menurut hasil penelitian adalah 155,24%. Meskipun labu kuning yang digunakan berasal dari jenis yang sama yaitu *Cucurbita moshata*, namun perbedaan ini dapat disebabkan karena berbagai faktor. Sudarto (1993) menyatakan bahwa faktor yang mempengaruhi total karotenoid pada labu kuning antara lain antara lain varietas labu kuning, lokasi geografis, tingkat kematangan dan perlakuan yang diiberikan. Pada labu kuning terdapat warna kuning hingga orange terang yang menandakan bahwa labu kuning mengandung pigmen karotenoid yang tinggi.

Total karotenoid labu kuning bubuk lebih tinggi daripada labu kuning yang masih segar. Hal ini disebabkan karena pada labu kuning yang telah dibubukkan kadar airnya berkurang sehingga pada saat dilakukan uji total karotenoid hasilnya lebih tinggi. Hongmin *et al.*, (1996) menyatakan bahwa ubi jalar segar mengandung air sekitar 80% akan lebih mempersulit ekstraksi sehingga perlu dikeringkan terlebih dahulu. Begitu pula dengan labu kuning segar yang kadar airnya 91,28%, keberadaan ini akan mempersulit terjadinya proses ekstraksi dan total karotenoid yang didapat akan berjumlah sedikit, sedangkan pada bubuk labu kuning kadar airnya sudah banyak dihilangkan melalui proses pengeringan, sehingga total karotenoid yang didapat semakin tinggi.

Aktivitas antioksidan  $IC_{50}$  labu kuning adalah sebesar 244,62 ppm sedangkan labu kuning bubuk 206,72 ppm. Nilai  $IC_{50}$  yang semakin kecil menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan pada labu kuning bubuk lebih besar. Hal ini sebanding dengan total karotenoid dimana pada bubuk labu total karotenoidnya lebih tinggi dari pada labu yang masih segar. Karotenoid memiliki sifat sebagai penangkal radikal bebas sehingga jika karotenoid semakin tinggi maka aktivitas antioksidannya juga semakin naik atau nilai  $IC_{50}$  semakin kecil. Henrikson (2009) menyatakan bahwa karotenoid merupakan scavenger yang efisien untuk radikal bebas sehingga dapat berfungsi sebagai antioksidan.

Rendemen bubuk labu kuning yang didapat sebesar 14,70%. Rendemen ini termasuk kecil, hal ini dikarenakan kadar air labu kuning yang tinggi mencapai 91,28% sehingga setelah dikeringkan akan menghasilkan jumlah padatan (*dry matter*) yang sedikit.

## **4.2 Karakteristik Fisik dan Kimia Ekstrak Karotenoid Labu Kuning**

### **4.2.1 Total Karotenoid dan Aktivitas Antioksidan $IC_{50}$**

Rerata total karotenoid ekstrak karotenoid labu kuning berkisar antara 186,90-575,22  $\mu\text{g}/\text{gr}$  sedangkan aktivitas antioksidan  $IC_{50}$  berkisar antara 134,17-192,73 ppm. Hasil analisis garam (Lampiran 2 dan 3) menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara jenis pelarut dan lama ekstraksi terhadap total karotenoid dan aktivitas antioksidan  $IC_{50}$  ekstrak karotenoid labu kuning sehingga dilakukan uji DMRT ( $\alpha=0,05$ ) serta berpengaruh nyata ( $\alpha=0,05$ ). Hasil uji lanjut DMRT ( $\alpha=0,05$ ) interaksi jenis pelarut dan lama ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 4.2.

**Tabel 4.2** Rerata Total Karotenoid dan Aktivitas Antioksidan IC<sub>50</sub> Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Akibat Pengaruh Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi

Jenis Pelarut	Lama Ekstraksi (menit)	Total Karotenoid (µg/gr)	Aktivitas Antioksidan IC <sub>50</sub> (ppm)
Aseton	5	186,90 a	192,730 e
	15	240,57 b	178,880 d
	25	287,91 c	168,461 c
Etil Asetat	5	285,65 c	177,706 d
	15	338,03 d	168,463 c
	25	449,18 f	150,975 b
N-heksan	5	399,12 e	166,535 c
	15	489,28 g	146,313 b
	25	575,22 h	134,173 a
DMRT 5%		33,82-38,61	4,816-5,497

Keterangan :  
 - Data merupakan rerata 3 Ulangan  
 - Angka yang didampangi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ( $\alpha = 0,05$ )

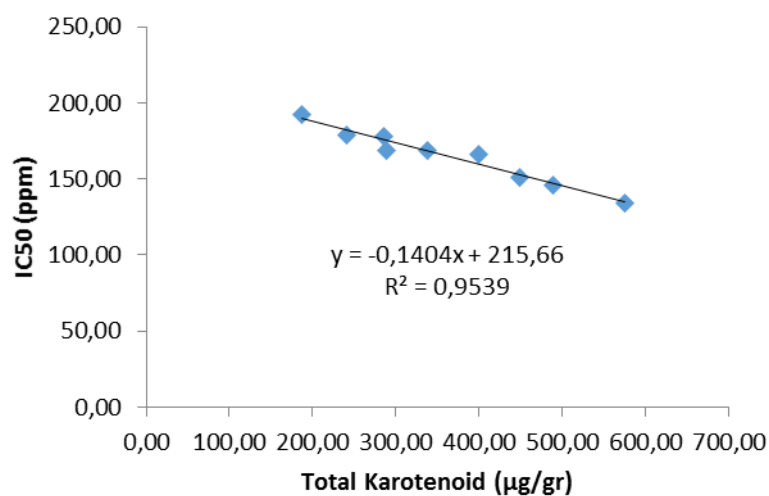
Hasil interaksi pada Tabel 4.2 menunjukkan bahwa total karotenoid dan aktivitas antioksidan IC<sub>50</sub> berpengaruh nyata ( $\alpha = 0,05$ ) artinya ekstraksi dengan menggunakan jenis pelarut n-heksan dan semakin bertambahnya waktu ekstraksi akan meningkatkan total karotenoid dan menurunkan aktivitas antioksidan IC<sub>50</sub>. Hal ini menunjukkan kecenderungan dimana semakin non polar pelarut dan semakin lama ekstraksi maka total karotenoid semakin meningkat sedangkan aktivitas antioksidan IC<sub>50</sub> menurun. Hasil ini membuktikan bahwa kepolaran n-heksan mendekati kepolaran karotenoid dari pada pelarut aseton dan etil asetat. N-heksan memiliki konstanta dielektrikum sebesar 1,89 sedangkan aseton dan etil asetat memiliki kepolaran berturut turut 20,7 dan 6,02 sehingga n-heksan termasuk pelarut non polar. Gross (1991) menyatakan bahwa komponen karotenoid larut dalam pelarut non polar seperti n-heksan dan petroleum eter sedangkan kelompok xantofil larut dalam pelarut polar seperti alkohol. Semakin tinggi total karotenoid maka aktivitas antioksidan IC<sub>50</sub> semakin menurun. Nilai IC<sub>50</sub> yang semakin kecil menunjukkan semakin tingginya aktivitas antioksidan (Molyneux, 2004). Ekstrak karotenoid dari n-heksan, etil asetat dan aseton termasuk mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat, karena menurut Hanani (2005) ekstrak yang memiliki nilai IC<sub>50</sub> kurang dari 200 ppm tergolong mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat. Di dalam labu kuning mengandung  $\beta$ -karoten >80% (Seo *et al.*, 2005).  $\beta$ -karoten merupakan salah satu jenis karotenoid yang bersifat non polar sehingga ketika diekstrak menggunakan pelarut non polar akan lebih banyak karotenoid yang terekstrak sehingga dapat meningkatkan aktivitas antioksidannya. Henrikson (2009) menyatakan bahwa

karotenoid merupakan scavenger yang efisien untuk radikal bebas sehingga dapat berfungsi sebagai antioksidan. Hal ini juga didukung oleh pernyataan Rodriguez-Amaya and Kimura (2001) bahwa karotenoid dapat berfungsi sebagai pemadam oksigen singlet dan pendeaktifasi radikal bebas.

Pengaruh waktu dalam ekstraksi adalah semakin lama ekstraksi maka semakin banyak pula karotenoid yang terekstrak sehingga aktivitas antioksidan  $IC_{50}$  yang dihasilkan semakin turun.. Wicaksono (2013) menyatakan bahwa semakin lama waktu ekstraksi maka kesempatan untuk bersentuhan makin besar sehingga hasilnya juga bertambah sampai titik jenuh larutan. Bernasconi *et al.*, (1995) juga menyatakan bahwa dengan semakin lamanya waktu ekstraksi maka terjadinya kontak antara pelarut dengan bahan akan semakin lama sehingga dari keduanya akan terjadi pengendapan massa secara difusi sampai terjadi keseimbangan konsentrasi larutan di dalam dan diluar bahan ekstraksi.

Aktivitas antioksidan  $IC_{50}$  hasil ekstraksi labu kuning dibandingkan dengan aktivitas antioksidan  $IC_{50}$  asam askorbat (vitamin C) hasilnya masih sangat jauh. Hasil  $IC_{50}$  asam askorbat adalah sebesar 11,118 ppm. Tingginya nilai  $IC_{50}$  untuk ekstrak kasar karotenoid labu kuning dibandingkan asam askorbat (vitamin C) disebabkan karena ekstrak kasar karotenoid labu kuning bukan senyawa murni seperti asam askorbat. Hal ini dikarenakan pada ekstrak karotenoid labu kuning masih terdapat senyawa-senyawa yang tidak memiliki aktivitas antioksidan sehingga menghambat reaksi antioksidan seperti gula dan asam-asam organik.

Hubungan antara total karotenoid dan aktivitas antioksidan  $IC_{50}$  ekstrak karotenoid labu kuning terlihat pada Gambar 4.1.



**Gambar 4.1** Grafik Hubungan Total Karotenoid (µg/gr) dengan Aktivitas Antioksidan IC<sub>50</sub> (ppm) Ekstrak Karotenoid Labu Kuning

Dari Gambar 4.1 dapat dilihat bahwa total karotenoid mempunyai hubungan positif dengan nilai aktivitas antioksidan IC<sub>50</sub> pada persamaan  $y = -0,1404x + 215,66$ , dimana jika total karotenoid meningkat maka aktivitas antioksidan juga akan meningkat ditandai dengan nilai IC<sub>50</sub> yang semakin turun. Semakin tinggi total karotenoid maka nilai IC<sub>50</sub> semakin rendah yang berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi. Total karotenoid memberikan pengaruh sebesar 95,39% terhadap perubahan aktivitas antioksidan IC<sub>50</sub> yang ditunjukkan oleh koefisien determinasi  $R^2=0,9539$ . Hal ini berkaitan dengan peran karotenoid yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Kemampuan karotenoid yang cukup tinggi sebagai penangkap radikal bebas berkaitan erat dengan fungsinya sebagai antioksidan sekunder yang menangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai dari radikal bebas.

#### 4.2.3 pH

Nilai pH ekstrak karotenoid labu kuning berkisar antara 6,49-6,55. Rerata nilai pH ekstrak karotenoid labu kuning dengan perlakuan jenis pelarut dan lama ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 4.3.

**Tabel 4.3** Rerata pH Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Akibat Pengaruh Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi

Jenis Pelarut	Lama Ekstraksi (menit)	pH
Aseton	5	6,49
	15	6,52
	25	6,53
Etil Asetat	5	6,52
	15	6,55
	25	6,53
N-heksan	5	6,54
	15	6,53
	25	6,51

Keterangan : - Data merupakan rerata 3 Ulangan

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa jenis pelarut dan lama ekstraksi tidak berpengaruh terhadap pH. Nilai pH tertinggi diperoleh pada jenis pelarut etil asetat dengan lama ekstraksi 15 menit sedangkan nilai pH terendah diperoleh dari ekstrak dengan pelarut aseton dengan lama waktu ekstraksi 10 menit. Hasil analisis ragam (Lampiran 4) menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut dan lama ekstraksi tidak memberikan pengaruh nyata ( $\alpha=0,05$ ) terhadap nilai pH pada ekstrak yang dihasilkan. Sedangkan pada perlakuan kontrol maserasi diperoleh nilai pH 6,57. Ando and Tanaka (1996), menyatakan bahwa pH karotenoid bersifat antara asam hingga basa (pH 2-8) dimana kestabilan pH akan berpengaruh pada warna yang dihasilkan oleh karotenoid. Sedangkan menurut Noelia *et al.*, (2011) pH labu kuning berkisar antara 5,4-6,4. Pada penelitian menunjukkan bahwa pH yang didapat bersifat asam lemah dan mendekati pH netral. Murkovic *et al.*, (2002) menyatakan bahwa kandungan karotenoid labu kuning sebagian besar adalah  $\beta$ -karoten,  $\alpha$ -karoten dan lutein. Limantara *et al.*, (2006) menyatakan bahwa  $\beta$ -karoten dan lutein adalah senyawa yang tidak selabil karotenoid yang lain sehingga lebih tahan terhadap kondisi asam. Dari kedua pernyataan tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak karotenoid labu kuning dengan pH kisaran 6 masih bisa dikatakan stabil.

#### 4.2.4 Rendemen

Hasil analisis rendemen ekstrak karotenoid labu kuning akibat perbedaan jenis pelarut dan lama waktu ekstraksi berkisar antara 5,53% sampai 17,85%. Hasil analisis ragam (Lampiran 5) menunjukkan bahwa semakin non polar pelarut dan lama waktu ekstraksi berpengaruh nyata ( $\alpha=0,05$ ) terhadap

rendemen ekstrak karotenoid labu kuning, namun tidak terjadi interaksi antara kedua perlakuan tersebut sehingga dilakukan uji lanjut BNT. Hasil pengujian BNT ( $\alpha=0,05$ ) dapat ditunjukkan pada Tabel 4.5.

**Tabel 4.4** Rerata Rendemen Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Akibat Pengaruh Jenis Pelarut

Jenis Pelarut	Rendemen (%)
Aseton	7,86 a
Etil Asetat	11,98 b
N-heksan	15,01 c
BNT 5%	0,70

Keterangan : - Data merupakan rerata 3 Ulangan  
- Angka yang didampingi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ( $\alpha=0,05$ )

Tabel 4.4 menunjukkan bahwa rerata rendemen tertinggi diperoleh pada perlakuan ekstrak karotenoid menggunakan pelarut n-heksan yaitu 15,01%, sedangkan yang terendah diperoleh dari ekstrak dengan menggunakan pelarut aseton yaitu 7,86%. Hal tersebut membuktikan bahwa karotenoid di dalam labu kuning sebagian besar bersifat non polar sehingga lebih banyak yang terekstrak pada pelarut non polar seperti n-heksan, karena banyak senyawa yang terekstrak sehingga rendemen dapat meningkat. Menurut (Rodriguez-Saona *et al.*, 2001) ekstraksi dengan pelarut masih berupa ekstrak kasar sehingga dalam ekstrak yang dihasilkan masih banyak senyawa-senyawa pengotor yang berpengaruh terhadap rendemen yang didapat.

**Tabel 4.5** Rerata Rendemen Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Akibat Pengaruh Lama Ekstraksi

Lama Ekstraksi (menit)	Rendemen (%)
5	8.72 a
15	11.49 b
25	14.65 c
BNT 5%	0,70

Keterangan : - Data merupakan rerata 3 Ulangan  
- Angka yang didampingi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ( $\alpha=0,05$ )

Ekstraksi selama 25 menit memberikan hasil rendemen tertinggi yaitu 14,65 sedangkan lama ekstraksi 5 menit memberikan hasil terendah yaitu 8,72%. Hal ini diduga karena ekstraksi selama 25 menit memberikan waktu yang cukup banyak bagi pelarut untuk menembus dinding sel dan menarik keluar senyawa-senyawa yang terkandung dalam bahan, sehingga dihasilkan rendemen dengan

hasil yang tinggi. Vinotoru (2001) menyatakan bahwa ultrasonik merupakan alternatif metode ekstraksi yang efektif dan efisien, rendah energi, waktu dan material serta rendemen yang dihasilkan lebih tinggi. Ultrasonik memiliki kemampuan yang lebih cepat dan lebih sempurna dalam proses ekstraksi dibandingkan dengan metode maserasi dan soxhlet. Brennan (2006) menyatakan bahwa efek mekanis yang ditimbulkan oleh gelombang ultrasonik dapat meningkatkan kemampuan penetrasi pelarut ke dalam sel bahan sehingga meningkatkan jumlah komponen sel yang berdifusi ke dalam pelarut. Metode ini telah diaplikasikan dalam ekstraksi karotenoid pada jagung (Ye *et al.*, 2011), dimana rendemen yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan metode konvensional. Pernyataan ini sesuai dengan hasil kontrol pada penelitian ini yang menggunakan metode maserasi dimana hasil rendemennya lebih rendah dari pada menggunakan ultrasonik yaitu sebesar 10,67 %.

#### 4.2.5 Warna ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ )

Nilai  $L^*$  (tingkat kecerahan) menyatakan tingkat gelap sampai terang dengan kisaran 0-100. Nilai 0 menyatakan kecenderungan warna gelap, sedangkan nilai 100 menyatakan kecenderungan warna terang/putih/cerah. Nilai  $a^*$  (tingkat kemerahan) menyatakan tingkat warna hijau sampai merah dengan kisaran nilai -100 sampai +100. Dimana semakin tinggi nilai  $a^*$ , maka kecenderungan warna merah pada produk semakin kuat. Nilai  $b^*$  (tingkat kekuningan) menyatakan tingkat warna biru sampai kuning kisaran nilai -100 sampai +100. Dimana semakin tinggi nilai  $b^*$ , maka kecenderungan warna kuning pada produk semakin kuat (Pomeraz dan Meloan, 1994). Hasil analisis ragam (Lampiran 6, 7 dan 8) menunjukkan bahwa pengaruh jenis pelarut dan lama waktu ekstraksi berpengaruh nyata ( $\alpha=0,05$ ) terhadap tingkat kecerahan ekstrak karotenoid labu kuning namun tidak terjadi interaksi yang nyata dari kedua perlakuan tersebut sehingga dilakukan uji lanjut BNT. Rerata warna nila ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) ekstrak karotenoid labu kuning akibat perlakuan jenis pelarut disajikan pada Tabel 4.6.



**Tabel 4.6** Rerata Warna (L\*, a\*, b\*) Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Akibat Pengaruh Jenis Pelarut

Jenis Pelarut	Tingkat Kecerahan (L*)	Tingkat Kemerahan (a*)	Tingkat Kekuningan (b*)
Aseton	22,93 c	8,81 a	9,97 a
Etil Asetat	20,88 b	10,51 b	11,90 b
N-heksan	19,73 a	11,53 c	13,35 c
BNT 5%	0,80	0,44	1,25

Keterangan : - Data merupakan rerata 3 Ulangan  
- Angka yang didampingi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ( $\alpha = 0,05$ )

Dari Tabel 4.7 dapat dilihat bahwa nilai L\* ekstrak karotenoid labu kuning semakin turun dari pelarut aseton sampai n-heksan. Hal ini menunjukkan bahwa labu kuning yang diekstrak menggunakan pelarut n-heksan memiliki tingkat kecerahan yang paling rendah dibandingkan aseton dan etil asetat karena pigmen pada ekstrak karotenoid labu kuning dengan pelarut aseton maupun etil asetat belum terekstrak sempurna sehingga menghasilkan kadar warna yang lebih cerah. Khuluq dkk, (2007) menyatakan bahwa kandungan pigmen yang tinggi mempengaruhi tingkat kecerahan. Maka dari hasil yang didapat terlihat bahwa pelarut n-heksan yang mampu mengekstrak karotenoid dengan hasil paling tinggi akan cenderung memiliki intensitas warna yang dihasilkan semakin gelap (pekat).

Tingkat kemerahan (a\*) dan kekuningan (b\*) tertinggi diperoleh dari ekstrak dengan pelarut n-heksan Hal ini dikarenakan ekstrak karotenoid dengan pelarut n-heksan mengalami ekstraksi yang lebih optimal dibandingkan dengan pelarut aseton dan etil asetat. Tingkat kemerahan dan kekuningan ini dipengaruhi oleh pigmen karotenoid dimana pigmen ini bersifat non polar, artinya hanya akan larut pada pelarut non polar. Dari ketiga jenis pelarut tersebut, pelarut n-heksan adalah yang sifatnya paling non polar karena memiliki nilai koefisien dielektrikum paling rendah sebesar 1,86. Gross (1991) berpendapat  $\beta$ -karoten merupakan pigmen alami berwarna merah, kuning atau orange. Oleh karena itu semakin banyak  $\beta$ -karoten yang terekstrak maka kepekatannya semakin meningkat, hal ini menyebabkan intensitas warna merah (a\*) dan kuning (b\*) ekstrak  $\beta$ -karoten meningkat. Mortensen (2006) juga menambahkan bahwa nilai a\* (merah) dan b\* (kuning) merupakan indikator yang tepat untuk menunjukkan intensitas warna dari karotenoid.

**Tabel 4.7** Rerata Warna (L\*, a\*, b\*) Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Akibat Pengaruh Lama Ekstraksi

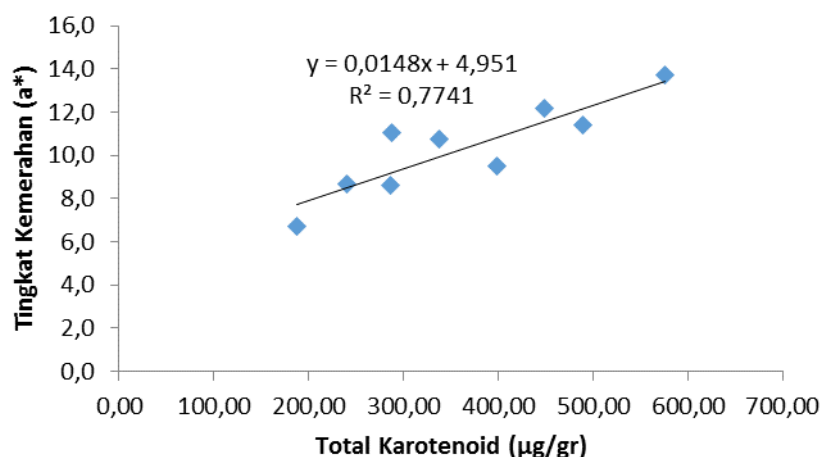
Lama Ekstraksi (menit)	Tingkat Kecerahan (L*)	Tingkat Kemerahan (a*)	Tingkat Kekuningan (b*)
5	22,98 c	8,81 a	10,66 a
15	20,95 b	10,51 b	11,91 b
25	19,61 a	11,53 c	12,67 c
BNT 5%	0,80	0,44	1,25

Keterangan : - Data merupakan rerata 3 Ulangan  
- Angka yang didampingi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ( $\alpha = 0,05$ )

Dari Tabel 4.7 diketahui bahwa terjadi penurunan tingkat kecerahan ekstrak karotenoid labu kuning dengan semakin meningkatnya waktu ekstraksi. Hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan lama ekstraksi berbeda nyata ( $\alpha = 0,05$ ) terhadap tingkat kecerahan. Hal tersebut terjadi karena semakin lama diekstraksi maka hasil yang terekstrak akan semakin banyak dan hal tersebut menyebabkan ekstrak semakin pekat. Kepekatan suatu ekstrak dapat menurunkan tingkat kecerahan. Khuluq dkk, (2007) menyatakan bahwa kandungan pigmen yang tinggi mempengaruhi tingkat kecerahan.

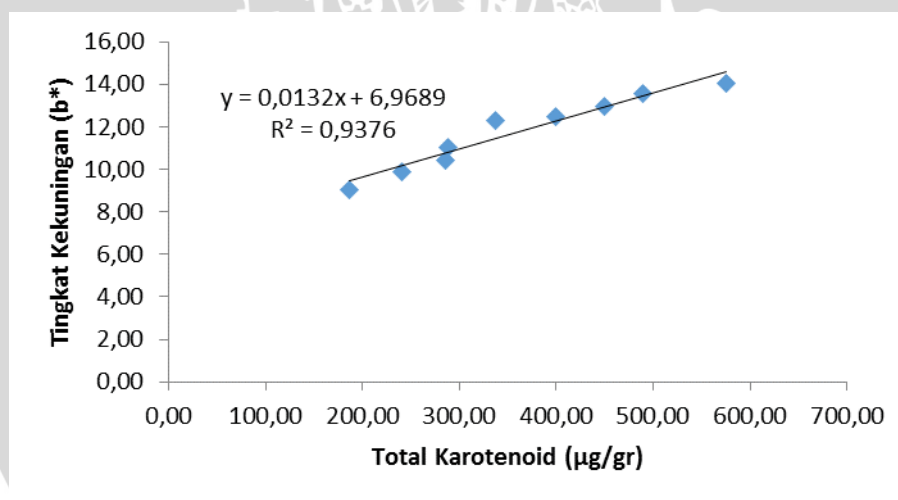
Tingkat kemerahan (a\*) dan kekuningan (b\*) ekstrak karotenoid labu kuning semakin meningkat seiring bertambahnya waktu ekstraksi. Labu kuning mengandung >80%  $\beta$ -karoten (Seo *et al.*, 2005).  $\beta$ -karoten merupakan pigmen berwarna kuning-oranye, dimana semakin pekat warnanya maka pigmen karotenoid yang terkandung akan semakin tinggi. Ini sesuai dengan pernyataan Wicaksono (2013) bahwa semakin lama waktu ekstraksi maka kesempatan untuk bersentuhan makin besar sehingga hasilnya juga bertambah sampai titik jenuh larutan. Meningkatnya intensitas warna a\* dan b\* berkaitan dengan semakin besar kelarutan karotenoid. Semakin rendah kadar  $\beta$ -karoten akan menurunkan warna a\* (kemerahan) dan b\* (kekuningan) dengan pengujian intensitas warna menggunakan color reader, sebagaimana teori Rohman dkk, (2010).

Hubungan antara total karotenoid dan tingkat kemerahan ekstrak karotenoid labu kuning terlihat pada Gambar 4.2



**Gambar 4.2** Grafik Hubungan Tingkat kemerahan dengan Total Karotenoid Ekstrak Karotenoid Labu Kuning

Hubungan antara total karotenoid dan tingkat kekuningan ekstrak karotenoid labu kuning terlihat pada Gambar 4.3.



**Gambar 4.3** Grafik Hubungan Tingkat kekuningan dengan Total Karotenoid Ekstrak Karotenoid Labu Kuning

Gambar 4.2 dan 4.3 menunjukkan bahwa terjadi korelasi positif antara total karotenoid dengan tingkat kemerahan maupun tingkat kekuningan. Tingkat kemerahan dan kekuningan ditunjukkan pada persamaan  $y = 0,0148x - 4,951$  dan  $y = 0,132 - 6,9689$  dimana jika total karotenoid meningkat maka tingkat kemerahan dan kekuningan juga semakin tinggi. Total karotenoid memberikan pengaruh sebesar 77,41% terhadap perubahan tingkat kemerahan dan 93,76% terhadap tingkat kekuningan. Karotenoid merupakan pigmen yang berkontribusi

terhadap warna kuning, oranye dan merah pada buah dan sayuran. Arianti (2008) mengatakan bahwa semakin pekat warna jingga ubi jalar, maka semakin tinggi kadar  $\beta$ -karotennya dan semakin pekat warna pada kuning dagingnya, maka semakin mengandung pigmen karotenoid. Begitu pula pada labu kuning, jika semakin pekat warnanya, jumlah karotenoidnya juga semakin tinggi.

### 4.3 Perlakuan Terbaik

Perlakuan terbaik ditentukan dengan memberikan nilai ideal pada parameter-parameter yang diuji berdasarkan analisis multiple attribute (Zeleny, 1982). Parameter yang memiliki nilai ideal maksimal diantaranya adalah total karotenoid dan aktivitas antioksidan. Parameter yang memiliki nilai ideal minimal diantaranya adalah rendemen, pH, warna ( $L^*$ ,  $a^*$  dan  $b^*$ ). Perlakuan dengan jarak kerapatan maksimal terkecil merupakan perlakuan terbaik dari hasil analisis pada Lampiran 9. Berdasarkan perhitungan tersebut, didapatkan perlakuan terbaik adalah perlakuan dengan pelarut n-heksan dan waktu ekstraksi selama 25 menit.

Sebagai perlakuan kontrol, dilakukan ekstraksi karotenoid labu kuning dengan menggunakan metode konvensional yaitu maserasi. Ekstraksi dilakukan menggunakan *shaker waterbath* bersuhu  $35^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam. Suhu ini disesuaikan dengan suhu ekstrak saat diekstrak menggunakan ultrasonik tanduk getar dengan lama waktu 25 menit. Pelarut yang digunakan disamakan dengan pelarut perlakuan terbaik. Nilai parameter perlakuan terbaik dan perlakuan kontrol dapat dilihat pada Tabel 4.8.

**Tabel 4.8** Hasil Perlakuan Terbaik Terhadap Parameter Fisiko Kimia Ekstrak Karotenoid Labu Kuning

Parameter	Perlakuan Terbaik	Kontrol Maserasi	t hitung	t tabel 5%	Notasi
Total Karotenoid ( $\mu\text{g}/\text{gr}$ )	575.22	415.48	13.49		*
Aktivitas antioksidan $\text{IC}_{50}$ (ppm)	134.17	182.41	32.86		*
pH	6.51	6.57	1.50	2.12	tn
Rendemen (%)	17.85	10.67	12.58		*
Tingkat Kecerahan (L)	18.13	22.52	18.24		*
Tingkat Kemerahan ( $a^*$ )	13.70	12.28	6.15		*
Tingkat Kekuningan ( $b^*$ )	13.04	13.07	2.85		*

Keterangan : tn = tidak berbeda nyata, \* = berbeda nyata ( $\alpha=0,05$ )

Dari Tabel 4.8 dapat terlihat bahwa ekstrak karotenoid hasil perlakuan terbaik memiliki nilai parameter yang lebih baik dibandingkan ekstrak karotenoid hasil ekstraksi konvensional (macerasi). Hasil statistik dengan uji t (Lampiran 10) menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $\alpha=0,05$ ) pada semua parameter kecuali pH yang diuji antara ekstraksi dengan ultrasonik dengan ekstraksi konvensional macerasi. Hal ini membuktikan bahwa teknik ekstraksi ultrasonik dapat digunakan sebagai alternatif yang lebih baik dalam mengekstrak karotenoid dari bahan alami. Kuldiloke (2002) menyatakan bahwa beberapa keuntungan dari metode ultrasonik adalah mempermudah proses ekstraksi, transfer masa, distrupsi sel dan meningkatkan efek penetrasi. Selain itu menurut penelitian Cameron dan Wang (2006) tentang ekstraksi pati jagung menyebutkan rendemen pati jagung yang didapat dari proses ultrasonik selama 2 menit adalah sekitar 55,2-67,8 % hampir sama dengan rendemen yang didapat dari pemanasan dengan air selama 1 jam yaitu 53,4 %. Hal ini juga didukung oleh hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Mason *et al.*, (1996) pada proses ekstraksi gula bit diketahui bahwa getaran ultrasonik dapat memecah dinding sel bahan sehingga kandungan yang ada di dalamnya dapat keluar dengan mudah.

#### **4.4 Uji Stabilitas Warna Ekstrak Karotenoid**

##### **4.4.1 Uji Stabilitas Warna Ekstrak Karotenoid Terhadap Suhu**

Untuk mengetahui stabilitas warna karotenoid labu kuning terhadap suhu maka dilakukan pemanasan ekstrak karotenoid labu kuning pada suhu 60, 80 dan 100°C selama 5 jam dan setiap 1 jam diukur absorbansinya. Karena warnanya mempunyai kisaran dari kuning sampai merah, maka deteksi panjang gelombangnya diperkirakan antara 430 – 480 nm (Fennema, 1996) dan pada penelitian ini panjang gelombang maksimal untuk ekstrak karotenoid labu kuning adalah 470 nm. Data absorbansi presentase retensi akibat pengaruh pemanasan dapat dilihat pada Tabel 4.15, sedangkan grafik presentase retensi warna karotenoid akibat pengaruh suhu dan lama pemanasan dapat dilihat pada Gambar 4.9.

**Tabel 4.9** Presentase Retensi Warna Karotenoid Akibat Pengaruh Suhu dan Waktu Pemanasan

Perlakuan		Absorbansi 470 nm	% retensi
Suhu °C	Lama Pemanasan (jam)		
	Kontrol	0.877	100.00
60	1	0.871	99.32
	2	0.856	97.61
	3	0.845	96.35
	4	0.835	95.21
	5	0.813	92.70
80	1	0.847	96.58
	2	0.817	93.16
	3	0.798	90.99
	4	0.760	86.66
	5	0.733	83.58
100	1	0.809	92.25
	2	0.765	87.23
	3	0.717	81.76
	4	0.673	76.74
	5	0.602	68.64

Dari Tabel 4.9 dapat dilihat bahwa secara umum, absorbansi karotenoid pada panjang gelombang 470 nm mengalami penurunan seiring dengan semakin meningkatnya suhu dan waktu pemanasan. Penurunan absorbansi ini menandakan sebagian karotenoid mengalami degradasi karena panas. Pada pemanasan suhu 60°C penurunan nilai retensi tidak terlalu signifikan, namun pada suhu 80 dan 100°C, penurunan retensi terjadi cukup tinggi, dimana retensi terendah pada suhu 100°C selama pemanasan 5 jam mencapai 68.64%. Pemanasan sampai dengan suhu 60°C tidak mengakibatkan terjadinya dekomposisi karotenoid tetapi stereoisomer mengalami perubahan. Pengaruh suhu terhadap oksidasi pada karotenoid dikemukakan oleh Worker (1957) dalam Muchtadi (1993) yaitu bahwa karotenoid belum mengalami kerusakan karena pemanasan pada suhu 60° C. Histifarina dan Musaddad (2004), menyatakan bahwa degradasi karotenoid yang terjadi selama pengolahan diakibatkan oleh proses oksidasi pada suhu tinggi yang mengubah senyawa karotenoid menjadi senyawa ionon berupa keton yang disebabkan oleh adanya sejumlah ikatan rangkap dalam struktur molekulnya.

Selama pemanasan, ekstrak karotenoid labu kuning berubah dari warna orange pekat menjadi kuning muda yang menunjukkan terjadinya degradasi karotenoid. Semakin tinggi suhu dan semakin lama pemanasan, semakin pudar pula warna ekstrak. Isomerasi karotenoid dari bentuk trans menjadi cis menyebabkan terjadinya penurunan intensitas warna karotenoid. Warna karotenoid mulai menghilang jika sudah terbentuk produk-produk degradasi oksidatif seperti turunan-turunan epoksidanya (Khoo *et al.*, 2011).

#### 4.5.2 Uji Stabilitas Warna Ekstrak Karotenoid Terhadap Cahaya

Pengujian stabilitas ekstrak karotenoid labu kuning dilakukan dengan penyinaran menggunakan cahaya lampu. Ekstrak tersebut diletakkan di depan lampu selama 5 jam dan tiap 1 jam diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal 470 nm. Data absorbansi presentase retensi akibat pengaruh cahaya dapat dilihat pada Tabel 4.16 sedangkan grafik presentase retensi warna karotenoid akibat cahaya dan lama penyinaran dapat dilihat pada Gambar 4.15.

**Tabel 4.10** Presentase Retensi Warna Karotenoid Akibat Pengaruh Cahaya dan Lama Penyinaran

Perlakuan	Lama penyinaran (jam)	Suhu (°C)	Absorbansi 470	% Retensi
Kontrol			0.877	100.00
Cahaya Lampu 23 watt	1	37	0.858	97.83
	2	40	0.761	86.77
	3	45	0.704	80.27
	4	51	0.658	75.03
	5	56	0.595	67.84

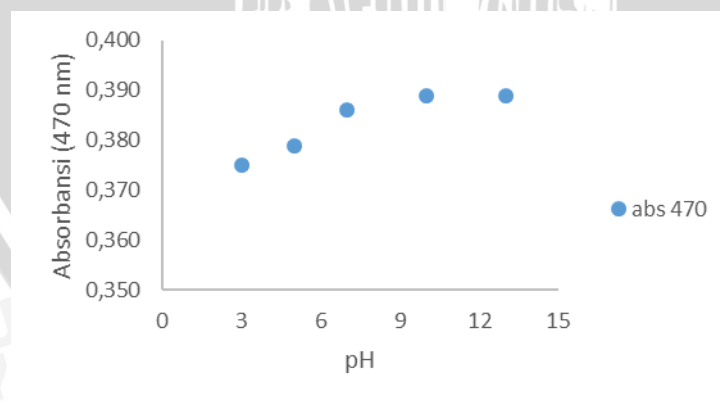
Berdasarkan Tabel 4.10 absorbansi dari ekstrak karotenoid labu kuning yang terpapar oleh cahaya lampu semakin lama semakin turun. Penurunan retensi pada jam ke 5 cukup tinggi yaitu sebesar 67,84%. Penurunan absorbansi dan nilai retensi pada ekstrak karotenoid ini menunjukkan bahwa pigmen karotenoid telah mengalami degradasi akibat pengaruh iradiasi cahaya. Suhu yang dihasilkan dari paparan cahaya tersebut juga mempengaruhi penurunan karotenoid dalam ekstrak meskipun suhu tersebut masih dibawah 60°C yang

artinya suhu tersebut hanya memberikan sedikit pengaruh karena karotenoid mulai tidak stabil pada suhu di atas 60°. Karotenoid memiliki sifat tidak stabil terhadap cahaya sehingga akan mengalami penurunan absorbansi dan peluang terjadinya produk degradasi yang lebih kecil dari molekul awalnya bisa terbentuk (Limantara *et al.*, 2006).

Sajilata dan Singhal (2006) melaporkan bahwa radiasi cahaya dengan intensitas tinggi dalam waktu yang lama akan menyebabkan degradasi pigmen yang ditandai dengan perubahan warna pigmen yang berbeda dari warna sebelum diiradiasi. Energi cahaya yang diabsorpsi menyebabkan karotenoid labu kuning terdegradasi membentuk molekul baru dengan struktur kimia yang lebih sederhana dibandingkan molekul karotenoid pada awalnya dan menyebabkan perubahan struktur serta sifat-sifat kimia karotenoid. Belitz *et al.*, (2009) mengatakan bahwa stabilitas karotenoid berkaitan dengan keberadaan ikatan rangkap dan ikatan tidak jenuh dalam struktur molekul karotenoid, menyebabkan mudah pisah akibat degradasi oksidatif oleh zat kimia, enzim, suhu, oksigen dan cahaya.

#### 4.5.3 Uji Stabilitas Warna Ekstrak Karotenoid Terhadap pH

Pengujian stabilitas warna karotenoid dari labu kuning terhadap pH dapat dilakukan pengujian dengan beberapa titik pH yaitu pH asam diwakili dengan pH asam 3, 5, pH netral 7 dan pH basa 10 dan 13. Grafik stabilitas warna karotenoid terhadap pengaruh pH dapat dilihat pada Gambar 4.4.



**Gambar 4.4** Stabilitas Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Terhadap Pengaruh pH

Berdasarkan Gambar 4.4 dapat diketahui bahwa absorbansi karotenoid labu kuning yang diatur dengan pH 7, 10 dan 13 tampak tidak memberikan



pengaruh signifikan terhadap degradasi pigmen karotenoid labu kuning. Artinya pigmen karotenoid labu kuning cukup stabil terhadap larutan pH yang bersifat netral dan basa. Namun pada pH 3 dan 5 absorbansi cenderung turun yang menandakan bahwa warna pada karotenoid memudar. Hal ini sesuai dengan pernyataan Legowo (2005) yang menyebutkan bahwa karotenoid stabil pada pH netral, alkali namun tidak stabil pada kondisi asam, adanya udara atau oksigen, cahaya dan panas. Karotenoid tidak stabil karena mudah teroksidasi oleh adanya oksigen dan peroksida. Selain itu, dapat mengalami isomerisasi bila terkena panas, cahaya dan asam. Isomerisasi dapat menyebabkan penurunan intensitas warna dan titik cair. Mortensen (2006) menyatakan bahwa kebanyakan karotenoid stabil terhadap basa namun beberapa karotenoid seperti misalnya astaksantin dan fukosantin peka terhadap alkali. Murkovic *et al.*, (2002) menyatakan bahwa kandungan karotenoid labu kuning sebagian besar adalah  $\beta$ -karoten,  $\alpha$ -karoten dan lutein sehingga pada pH basa karotenoid labu kuning dapat dikatakan stabil.



## V KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah :

Jenis pelarut dan lama ekstraksi memberikan interaksi yang nyata ( $\alpha=0,05$ ) terhadap parameter total karotenoid dan aktivitas antioksidan  $IC_{50}$  dan berpengaruh nyata ( $\alpha=0,05$ ) terhadap rendemen, tingkat kecerahan ( $L^*$ ), tingkat kemerahan ( $a^*$ ) dan tingkat kekuningan ( $b^*$ ) namun tidak berpengaruh nyata terhadap pH.

Perlakuan terbaik diperoleh dari jenis pelarut n-heksan dan lama ekstraksi 25 menit dengan total karotenoid 575,22 ( $\mu\text{g}/\text{gr}$ ), aktivitas antioksidan  $IC_{50}$  134,17 ppm, pH 6,51, rendemen 17,85%, tingkat kecerahan ( $L^*$ ) 18,13, tingkat kemerahan ( $a^*$ ) 13,70, tingkat kekuningan ( $b^*$ ) 13,04. Hasil uji t antara perlakuan terbaik dan kontrol menunjukkan perbedaan nyata ( $\alpha=0,05$ ) pada semua parameter selain pH yang tidak berbeda nyata.

Uji stabilitas karotenoid menunjukkan bahwa pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$  karotenoid masih stabil namun pada suhu  $80^{\circ}\text{C}$  dan  $100^{\circ}\text{C}$ , retensi penurunan warna terlihat signifikan. Pengaruh iradiasi cahaya lampu selama 5 jam terhadap stabilitas karotenoid menyebabkan degradasi sebesar 32,16%. Sedangkan pengaruh pH menunjukkan bahwa ekstrak karotenoid tidak stabil pada pH 3 dan 5 namun stabil pada pH 7, 10 dan 13.

### 5.2 Saran

1. Dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menganalisa sisa pelarut dalam ekstrak sehingga diketahui tingkat keamanan dari ekstrak tersebut.
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai optimasi ekstrak karotenoid labu kuning ditinjau dari parameter lain seperti frekuensi, intensitas dan rasio bahan:pelarut yang tepat.
3. Dilakukan penelitian lebih lanjut tentang penerapan atau aplikasi ekstrak karotenoid tersebut sebagai pewarna atau bahan tambahan pangan yang alami.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ando, S and Y, Tanaka. 1996. **Carotenoid form in the Exoskeleton of Crawfish and Kuruma Prawn**. Mem. Fac.Kagoshima. Univ. Vol 45. P:5-12
- AOAC. 1995. **Official Methods of Analysis of The Association of Analytical Chemist**. Washington D.C
- Arianti, C.Y. 2008. **Ekstraksi Pigmen Karotenoid Ubi Jalar Kuning (*Ipomoea batatas L.*) dan Aplikasinya Pada Butter Cream: Kajian Klon Ubi Jalar Kuning dan Jenis Pelarut**. Skripsi. Universitas Muhamaddiyah. Malang
- Arsyad, M. N. 2001. **Kamus Kimia**. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. hal. 228-229
- Astuti, M. S. 2006. **Isolasi dan Identifikasi Komponen Minyak Atsiri Umbi Teki (*Cyprus rotundus L.*)**. Skripsi. FMIPA. UNS: Surakarta
- Badan Pusat Statistik. 2003. **Statistik Pertanian 2003**. BPS: Jakarta. Desember 2003
- Belitz H.D., W. Grosch and P. Schieberle. 2009. **Food Chemistry**. 4th Revised and Extended ed. Springer-Verlag Heidelberg, Berlin
- Bernasconi, G., H. Gerster, H. Hauser, H. Stauble and E. Scheneifer. 1995. **Teknologi Kimia**. Bagian 2. Penerjemah: Handjojo L dan Pradnya Paramita. Jakarta
- Bhat, M. A. and A. Bhat. 2013. **Study on Physico-Chemical Characteristics of Pumpkin Blended Cake**. Department of Post Harvest Technology. SKUAST-Jammu. Campus Chatha. Jammu. India
- Brennan, J.G. 2006. **Food Processing Handbook**. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA Weinheim. Germany
- Britton, G.S., L. Jensen and H. Pfander. 1995. **Carotenoids : Isolation and Analysis**. Volume IA. Basel : Birkhauser Verlag
- Burns, J., P.D. Fraser and P.M. Bramley. 2003. **Identification and Quantification of Carotenoids, Tocopherols and Chlorophyll in Commonly Consume Fruits and Vegetables**. Phytochem 62: 939-947
- Caili, F., Huan, S. and L. Quanhong. 2006. **A review on Pharmacological Activities and Utilization Technologies of Pumpkin**. Plant Foods Hum Nutr 61: 73–80
- Cameron, D.K and Wang. 2006. **Application of Protease and High-Intensity Ultrasound in Corn Starch Isolation from Degermed Corn Flour**. Journal Food Sience University Of Arkansas : September/October 2006. Volume 83. Number 5. Page 505-509

- Cogdell, R. J., H. Tina, R. Bittl, E. Schlodder, I. Geisenheimer and L. Wolfgang. 2000. **How Carotenoids Protect Bacterial Photosynthesis**. Phil.Trans. R. Soc. Lond. B, 355, pp. 1345-1349
- Countrymen, S. 2007. **Understanding the Revision to USP Monograph 467; Residual Solvents**. phenomenex Inc. Torrance. CA. USA
- Darusman L.K., D. Sutriah dan K. Pamungkas. 1995. Naskah Seminar: **Ekstraksi komponen bioaktif sebagai bahan obat dari karang-karangan, bunga karang dan ganggang laut di perairan Pulau Pari Kepulauan Seribu**. Buletin Kimia. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Dimara, L., F. S. Rondonuwu dan L. Limantara. 2008. **Uji fisika kimia pigmen karotenoid pada ekstrak kasar buah merah papua (*Pandanus conoideus* Lim) : Potensi sebagai pewarna alami**. Universitas Kristen Satya Wacana : Salatiga
- Direktorat Gizi Depkes RI. 1996. **Daftar Komposisi Bahan Makanan**. Bhratara
- Eskin. 1979. **Plant Pigment, Flavor and Texture**. New York : Academic Press
- Fardiaz, S., K. Helda and N. Lilis. 1995. **Pengaruh Faktor Fisik dan Kimia terhadap Stabilitas Pigmen Karotenoid dari Kapang Oncom Merah**. Buletin Teknologi Pangan. IPB: Bogor.
- Fennema, O.R. 1996. **Food Chemistry**, 3<sup>rd</sup> ed. Marcel Dekker. New York
- Fu, C., H. Shi and Q. Li. 2006. **A Review on Pharmacological Activities and Utilization Technologies of Pumpkin**. Plant Foods for human nutrition (formerly qualitas plantarum). Springer Netherlands, 61(2), 73–80
- Godow, A V., C.F. Hansman and E. Joubet. 1997. **Comparison of the Antioksidant Activity of A Spalathin with Other Plant Phenol of Roubos Tea of *Aspalathus linieris*,  $\alpha$ -tocopherol, BHT and BHA**. J.Agric Food Chem 45 (3) : 632-638
- Goodwin, T. W. 1992. **Biosynthesis of carotenoids: an overview, Method. Enzymol.** 214 part B): 330–340
- Gross, J. 1991. **Pigments In Vegetables (Chlorophylls and Carotenoids)**. Van Nostrand Reinhold. New York. 7. 75
- Halliwell B, and J.M. Gutteridge. 1995. **The Definition and Measurement of Antioxidants in Biological Systems**. Free Radic Biol Med. Jan;18(1):125–126
- Hanani, E. 2005. **Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam *Spons callispongia Sp.*, dari Kepulauan Seribu**, Majalah Ilmu Kefarmasian Vol. II No. 3, 2005, p. 127-133
- Hemwimol S., P. Pavasant and A. Shotipruk. 2006. **Ultrasonic**. Sonochemistry. 13, 543

- Henrikson, R. 2009. **Earth Food Spirulina How this Remarkable Blue-Green Algae can Transform Your Health and Our Planet**. Ronore Enterprises. Inc., Hawaii. USA
- Histifarina, D. dan D. Musaddad. 2004. **Penggunaan sulfit dan kemasan vakum untuk mempertahankan mutu tepung bawang merah selama penyimpanan**. Jurnal Hortikultura 14(1): 67-73.
- Hongmin, L., G. Xiaoding and M. Daifu. 1996. **Orange-flesh Sweet Potato, a Potential Source for beta-karoten Production**. In E.t. Rasco and V.R. Amante (Eds). Selected Research Papers July 1995-June 1996. Vol. 2: Sweetpotato. ASPRAD. Manila, Philippines. p. 126-130
- Houghton, P.J. and A. Raman. 1998. **Laboratory Handbook for The Fractionation of Natural Extracts**. London : Thomson Science
- Ibrahim, S. E., Q. Yuan., I. F. Ahmed., O. Khalil, El Badri and A. Osman. 2007. **In Vitro Antimicrobial Activity of Summer Squash (*Cucurbita pepo L.*)**. University of Africa Journal of Science (U.A.J.S., Vol. 1, No. 1, 77-89)
- Ikawati, R, 2005. **Optimization of Carotenoid Extraction from Carrot (*Daucus Carota L.*) using Response Surface Methodology (RSM)**. Journal of Agricultural Technology. 14-22, Agustus 2005
- Isler, O., R. Ruegoo and U. Schwieter. 1990. **Carotenoid as Food Colourant**. Chemical Research Departement. F. Hoffmann-La Roche. Co., Ltd. Basle. Switzerland
- Jain, T., V. Jain, R. Pandey, A. Vyas and S.S. Shukla. 2009. **Microwave Assisted Extraction for Phytoconstituents**. An Overview. Asian Journal Research Chemistry , 1 (2), 19-25
- Juna, H., C.H. Leeb, G.G. Songc and Y.S. Kima. 2006. **Characterization of the pectin polysaccharides from pumpkin peel**. LWT - Food Science and Technology, 39, 554–561. Karya Aksara. Jakarta
- Kaufmann, B. 2002. **Recent Extraction Techniques for Natural Products: Microwave-assisted Extraction and Pressurised Solvent Extraction. Phytochemical Analysis**. 13. 105-113.
- Keil, F. J. 2007. **Modeling of Process Intensification**. In Alupului, A., Ioan Calinescu and Vasile
- Ketaren, S. 1986. **Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan**. Jakarta: UI Press
- Khoo, H. E., K.N. Prasad, K.W. Kong, Y. Jiang and A. Ismail. 2011. **Carotenoids and their isomers: Color pigments in fruits and vegetables**. Molecules, 16: 1710-1738
- Khopkar, S.M. 2003. **Konsep Dasar Kimia Analitik**. UI Press, Jakarta

- Khuluq, A. D., S. B. Widjanarko dan E.S. Murtini. 2007. **Ekstraksi dan Stabilitas Betasianin Daun Darah (*Alternanthera dentata*) (Kajian Perbandingan Pelarut Air : Etanol dan Suhu Ekstraksi)**. Jurnal Teknologi Pertanian. Volume 8 No.3 Desember 2007
- Kochhar, S.P and S.B. Rossel. 1990. **Detection, Estimation and Evaluation of Antioxidant in Food System**. Food Antioxidant. Elsevier Sci Publ Ltd. London, New York
- Kuldiloke, J. 2002. **Effect of Ultrasound, Temperature and Pressure Treatments on Enzyme Activity and Quality Indicators of Fruit and Vegetable Juices**. Doctoral dissertation, Technical University of Berlin
- Kumalaningsih, S. 2006. **Antioksidan Alami: Penangkal Radikal Bebas, Sumber, Manfaat, Cara Penyediaan dan Pengolahan**. Surabaya: Trubus Agrisarana
- Langseth, L. 1995. **Oxidants, Antioxidants and Disease Prevention**. ILSI Europe, Belgium
- Lee, B.L., J. Su and C.N. Ong. 2004. **Monomeric Chromatographic Method for the Liquid Chromatographic Determination of Lipophilic Antioxidant in Plant**. J Chromatogr A 1048: 263-267
- Lee, C.H., J. K. Cho, S. J. Lee, W. Koh, W. Park and C. H. Kim. 2002. **Enhancing  $\beta$ -carotene in Asian Noodles by Adding Pumpkin Powder**. Cereal Chem. 79(4): 593-595
- Lee, Y.K., W.I. Chung and H. Ezura. 2003. **Efficient Plant Regeneration via Organogenesis in Winter Squash (*Cucurbita maxima Duch.*)**. Plant Science 164, 413 -418
- Legowo, A. 2005. **Pengaruh Blanching terhadap Sifat Sensoris dan Kadar Provitamin Tepung Labu Kuning**. Yogyakarta. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Gadjah Mada
- Lianfu, Z. and L. Zelong. 2008. **Optimization and Comparison of Ultrasound/Microwave Assisted Extraction (UMAE) and Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) of Lycopene from Tomatoes**. Ultrason. Sonochem. 15:731-737
- Limantara, L., P. Koehler, B. Wilhelm, R.J. Porra and H. Scheer. 2006. **Photostability of Bacteriochlorophyll a and Derivatives: Potential Sensitiser for Photodynamic Tumor Therapy**, Photochemistry and Photostability 82: 770-780
- Liu, Q. M. 2010. **Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Chlorogenic Acid from *Maria van Iersel*, M.** Sensible Sonochemistry. Doctor of Philosophy Dissertation, Eindhoven: Eindhoven University of Technology

- Lomempuow, L.I., E. Suryanto dan J. Paendong. 2012. **Aktivitas Anti UVB Ekstrak Fenolik dari Tongkol Jagung (*Zea mays L.*)**. Jurnal Mipa Online. 1:1-4
- Madhavi, D. L., S.S. Despande and D.K. Salunkhe. 1996. **Food Antioxidants**. Macell Dekker, Inc. New York
- Marty, C. and C. Berset. 1990. **Factors Affecting the Thermal Degradation of all-trans  $\beta$ -carotene**. J. Agric. Food Chemistry, 38:1063-1067
- Mason, T.J., L. Paniwnyk and J.P. Lorimer. 1996. **The Uses of Ultrasound in Food Technology**. Sonochemistry Centre, School of Natural and Environmental Studies, Coventry University, Coventry CV1 5FB, UK
- Meutia, A. A. 2013. **Antioxidants Extraction from Pepaya (*Carica papaya L.*) using Bath Ultrasonic (Study on Ripening Stage and Amount of Papaya's Sample: Solvent Volume Ratio)**. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang
- Molyneux, P. 2004. **The Use of the Stable Free Radikal Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity**. Journal Science of Technology 26(2):211-219
- Mortensen, A. 2006. **Carotenoids and Other Pigments as Natural Colorants**, Pure Appl. Chem., Vol. 78, No. 8, pp. 1477-1491
- Muchtadi T.R. 1993. **Karakterisasi komponen intrinsik utama buah sawit (*Elaeis guineensis, Jacq.*) dalam rangka optimalisasi proses ekstraksi minyak dan pemanfaatan provitamin A**. disertasi. Bogor : Fakultas Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor
- Murkovic, M., U. Mulleder and H. Neunteuflw. 2002. **Carotenoid Content in Different Varieties of Pumpkins**. Journal of Food Composition and Analysis, 15, 633-638
- Nawirska A., A. Figiel, A. A. Kucharska, A. Z. Sokoł-Letowska and A. Biesiada. 2009. **Drying Kinetics and Quality Parameters of Pumpkin Slices Dehydrated Using Different Methods**. Journal of Food Engineering, 94, 14-20
- Noelia J.V, M.J.M. Roberto, Z.M.J. de Jesus and G.I.J. Alberto. 2011. **Physicochemical, technological properties and health-benefits of *Cucurbita moschata Duchense* vs. *Cehualca***. Review Food Research International 44 (2011). 2587-2593
- Nurdiana, I. K dan Mukhramati. 2012. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Labu Kuning (*Cucurbita Moshata D.*) Secara Oral Terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) Hepar Tikus (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) Model Diabetes Melitus Tipe 2**. Thesis. Fakultas Kedokteran. Universitas Andalas. Padang
- Ofori, B. C. and K. T. Lee. 2000. **Response Surface Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Carotenoids from Oil Palm (*Elaeis***

*guineensis* Jacq.) fronds, Food Science & Nutrition Volume 1, Issue 3, pages 209–221

Pomeranz, S.Y and C.E. Meloand. 1994. **Food Analysis, Theory and Practice**. The AVI Publishing Company Inc. Wesport Connecticut.

Purwanto, C. Chrisandy, D. Ishartani dan D. Rahadian. 2013. **Kajian Sifat Fisik dan Kimia Tepung Labu Kuning (*Cucurbita moschata*) dengan Perlakuan Blanching dan Perendaman Natrium Metabisulfat ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ )**. Jurnal Teknosains Pangan. Vol 2 No 2. April 2013

Rodriguez-Amaya and M. Kimura. 2004. **Harvestplus Handbook for Carotenoid Analysis**. HarvestPlus Technical Monograph 2. Washington, DC and Cali: International Food Policy Research Institute (IFPRI) and International Center for Tropical Agriculture (CIAT)

Rodriguez-Saona, L.E., M.M. Giusti, W.D. Robert and W.E. Ronald. 2001. **Development and process optimization of red radish concentration extract as potential natural red colorant**, Journal of Food Processing Preservation, 25 : 165–182

Rohman, A., S. Riyanto, N. Yuniarti, W.R. Saputra dan W. Mulatsih. 2010. **Antioxidant activity, total flavonoid, and total phenolic of extracts and fraction of fruid (*Pandanus conoideus*)**. International Food Research Journal 17: 97-106

Roura, S. I., Del Valle, C. E., Aguero, L. and L.A. Davidovich. 2007. **Changes in apparent viscosity and vitamin C retention during thermal treatment of Butternut Squash (*Cucurbita moschata Duch*) pulp: Effect of ripening stage**. Journal of Food Quality, 30, 538–551

Rupasinghe, H.P.V., A. Warnakulasuriya and P. Kathrivel. 2011. **Concentration-Depended Effect of Selected Apple Flavonoids on PUFA Oxidation**. Plant Canada 2011. Halifax, NS (July 17-21, 2011)

Sahertian, E. 2012. **Kajian Karotenoid, Vitamin A, dan Stabilitas Ekstrak Karotenoid Serabut Buah Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis*) Segar dan Pasca-Perebusan**. Thesis. Universitas Kristen Satya Wacana. Salatiga

Sajilata and Singhal. 2006. **Isolation and stabilization of natural pigment for food application**. Stewart Postharvest. A Review. 2006. 5:1

Santos, H. M, C. Lodeiro and J. Capelo-Mart Rnez. 2009. **The Power of Ultrasound**. Ultrasound in Chemistry: Analytical Applications. ISBN: 978-3-527-31934-3

Sealeaw, M and G. Schleining. 2012. **A review: Crispness in dry foods and quality**. International Journal of Foods Studies. October 2012. Volume 1

Seo, J.S., B.J. Burri, Z. Quan and T.R. Neidlinger. 2005. **Extraction and Chromatography of Carotenoids From Pumpkin**. Journal of Chromatography, 1073, 371-375



Shui, G., S.P. Wong and L. P. Leong. 2004. **Characterization of Antioxidants and Change of Antioxidant Levels During Storage of *Manilkara zapota* L.** *Agricultural and Food Chemistry*. 52. 7834-7841

Siagian, A. 2002. **Bahan Tambahan Makanan**, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Sumatera Utara

Stahl, W dan H. Sies. 1996. **Biological activity of carotenoids and their bioavailability in human organism**. Di dalam : JT Kumpulainen dan JT Solanen. Eds. **Natural Antioxidant and Food Quality in Atherosclerosis and Cancer Prevention**. The Royal Society of Chemistry, Cambridge

\_\_\_\_\_. 2003. **Antioxidant Activity of Carotenoids**. *Molecular Aspects of Medicine*. 24, 345-351

Sudarto, Y. 1993. **Budidaya Waluh**. Yogyakarta : Penerbit Kanisius

Susilo, B. 2007. **Studi Penggunaan Ultrasonik untuk Transesterifikasi Minyak**. Pengembangan Industri Integratednya. Hotel Senayan Jakarta. SBRC LPPM – IPB Bogor. ISBN 978-979-1312-11-0

Tarhan, L., H. A, Kayali and R. O. Urek. 2007. **In Vitro Antioxidant Properties of *Cucurbita pepo* L. Male and Female Flowers Extracts**. *Plant food Hum Nutr.*;62:49–51

Tee, E.S. and C.L. Lim. 1991. **Carotenoid Composition and Content of Malaysian Vegetables and Fruits by the AOAC and HPLC Methods**. *Food Chem*. 41:309-339

Thompson, L. H. and L. K. Doraiswamy. 1999. **Sonochemistry: Science and Engineering**. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 38 : 1215–1249

Vinatoru, M. 2001. **An Overview of the Ultrasonically Assisted Extraction of Bioactive Principles from Herbs**. *Ultrason. Sonochem*. 8:303–313

Wardiyati, S. 2004. **Pemanfaatan Ultrasonik dalam Bidang kimia**. Puslitbang. IPTEK Bahan (P3IB). Batan

Watson, D. 2007. **Buku Ajar Untuk Mahasiswa dan Praktisi Kimia Farmasi**. Edisi 2 Kedokteran Jakarta: EGC

Wicaksono, L. A. 2013. **Ekstraksi Limbah Kulit Ubi Jalar Ungu dengan Microwave Assisted Extraction (Kajian Lama Waktu dan Rasio Bahan : Pelarut)**. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.

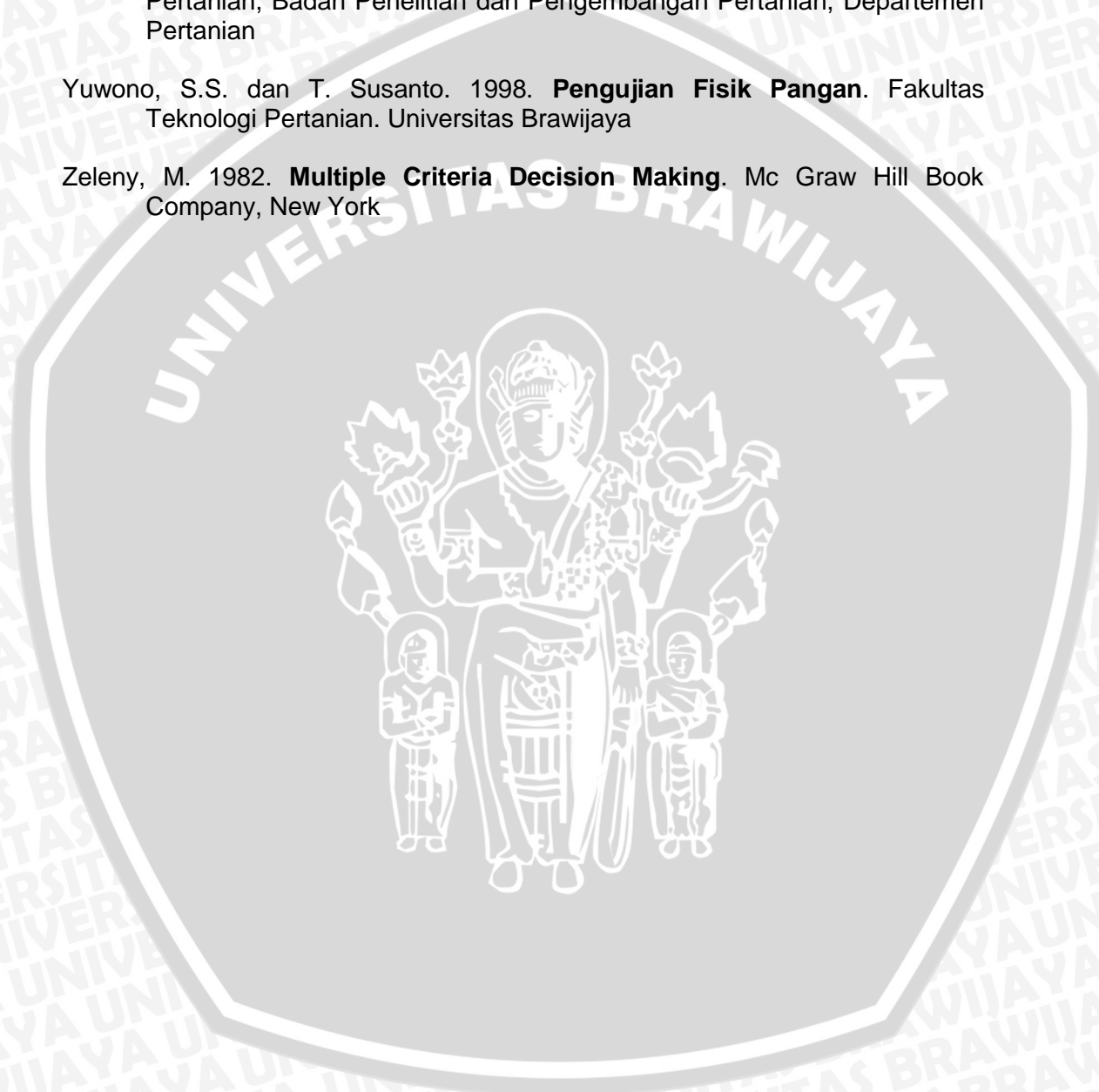
Winarsi, H. 2007. **Antioksidan Alami dan Radikal Bebas**. Penerbit Kanisius. Yogyakarta

Ye, J., L. Feng, J. Xiong and Y. Xiong. 2011. **Ultrasound Assisted Extraction of Corn Carotenoids in Ethanol**. Int. J. Food Sci. Technol. 46:2131–2136

Yuliani, S., E. Y. Purwani, H. Setiyanto, S. Usmiati dan P. Raharto. 2003. **Pengembangan Agroindustri Aneka Tepung dari Bahan Pangan Sumber Karbohidrat Lokal: Kegiatan Penelitian Labu Kuning**. (Laporan Akhir). Balai Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian

Yuwono, S.S. dan T. Susanto. 1998. **Pengujian Fisik Pangan**. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya

Zeleny, M. 1982. **Multiple Criteria Decision Making**. Mc Graw Hill Book Company, New York



## Lampiran 1. Prosedur Analisa

### 1. Analisa Kadar Air (AOAC, 1995)

- Botol timbang dimasukkan ke dalam oven (105°C) selama 24 jam.
- Botol timbang dimasukkan ke dalam eksikator selama 0,5 jam, setelah itu ditimbang dengan timbangan analitik.
- Ditimbang contoh 2-3 gram bahan yang telah dihaluskan dalam botol timbang yang telah diketahui beratnya konstan.
- Dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C-105°C selama 3-5 jam.
- Didinginkan dalam deksikator selama 0,5 jam dan timbang.
- Dipanaskan lagi dalam oven 30 menit.
- Dinginkan dalam deksikator dan ditimbang.
- Panaskan lagi dalam oven 30 menit.
- Didinginkan dalam eksikator dan ditimbang.
- Perlakuan ini diulang sampai tercapai berat konstan (selisih penimbangan berturut-turut kurang dari 0,2 mg).
- Persentase kadar air bahan dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{berat awal} - \text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100 \%$$

### 2. Warna (Yuwono dan Susanto, 1998)

- Sampel ditempatkan dalam wadah plastik bening
- Hidupkan color reader
- Tombol pembacaan diatur pada L\* a\* b\* dimana L\* untuk parameter kecerahan (*lightness*), a\* dan b\* untuk koordinat kromatisitas
- Ukur warna dengan menekan tombol target

### 3. Analisa pH (AOAC, 1995)

- Ditimbang 20 gram sampel berupa bahan padat yang telah dihaluskan atau bahan cair kedalam *beaker glass* 50 ml.
- Untuk sampel berupa bahan padat ditambahkan aquades hingga volume 50 ml, homogenkan dan biarkan selama 15 menit.
- Sampel yang telah dihomogenkan diambil kurang lebih 30 ml dan ditempatkan pada *beaker glass* 50 ml.

- pH meter dikalibrasi dengan menggunakan buffer pH 4 dan pH 7, kemudian dibilas dengan aquades dan dikeringkan dengan tisu.
- Dilakukan pengukuran pH sampel dan dicatat hasilnya.
- Setiap kali akan mengukur pH sampel yang lain, sebelumnya probe dibersihkan dengan aquades terlebih dahulu dan dikeringkan dengan tisu.

#### 4. Rendemen Ekstrak Kasar Karotenoid (Yuwono dan Susanto, 1998)

- Ekstrak pekat hasil evaporasi yang telah disemprot gas nitrogen, ditimbang dalam wadah yang telah diketahui beratnya
- Berat ekstrak pekat dibandingkan dengan berat awal bubuk labu kuning

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat bubuk labu kuning}} \times 100 \%$$

#### 5. Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (Godow, 1997)

- Sampel diencerkan menggunakan etanol 96% pada konsentrasi 100, 200, 300 dan 400 ppm dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi.
- Sampel yang telah diatur konsentrasinya kemudian ditambahkan diphenil-2-picrylhydrazil (DPPH) 0,2 mM sebanyak 1 ml dan dibiarkan selama 30 menit.
- Setelah 30 menit, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm setelah diukur absorbansi blanko. Blanko dibuat dengan cara membuat larutan 4 ml etanol 96% dengan 1 ml larutan 1,1 diphenil-2-picrylhydrazil (DPPH) 0,2 mM
- Sebagai pembanding hasil dari sampel dibuat kontrol dengan cara asam askorbat dilarutkan dengan ethanol 96% dengan konsentrasi 10, 20, 30 dan 40 ppm.
- Aktivitas scavenger radikal bebas dihitung sebagai presentase berkurangnya warna DPPH dengan perhitungan :

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = 1 - \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

#### 6. Analisa Total Karoten (AOAC, 1995)

- a. Mengekstrak pigmen dalam bahan
  - Timbang teliti lebih kurang 10 gram sampel yang telah dihaluskan

- Masukkan ke dalam erlenmeyer, tambahkan 7,5 ml petroleum eter (PE) dan 7,5 ml aseton
- Shaker selama 4 jam, kemudian disaring, filtrate dimasukkan ke dalam tabung reaksi.
- Ulangi prosedur 2 - 3 sebanyak 3 kali menggunakan residu sampel sebagai bahan (hingga warna kekuningan sampel hilang)
- Filtrat yang dihasilkan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml dan ditambahkan PE : aseton (1:1) hingga tanda batas
- 25 ml filtrat dimasukkan ke erlenmeyer dan ditambahkan 25 ml aquades. Terbentuk lapisan air-aseton dan lapisan eter. Lapisan air-aseton dibuang.
- Hasil lapisan eter dicuci sebanyak 2 kali dengan 25 ml aquades
- Filtrat hasil pencucian, ditambahkan natrium sulfat anhidrit 1,25 g per 25 ml
- Filtrat yang dihasilkan dimasukkan labu ukur 10 ml dan ditambahkan pe:aseton hingga tanda batas (ekstrak pigmen)

b. Menyiapkan Kolom Kromatografi

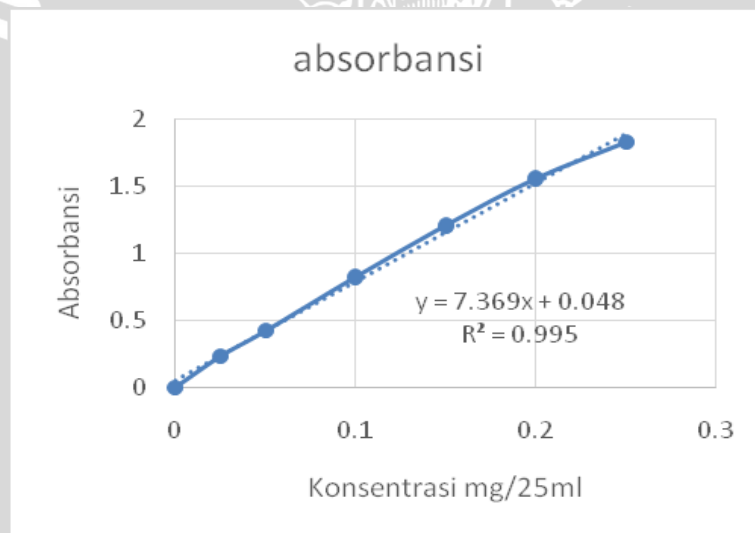
- Bagian bawah kolom disumbat dengan kapas 1,5 cm
- Dalam kolom melalui bagian atas diisi campuran aluminium oxide 10 cm ( $\pm 15$  gr) dan natrium sulfat anhidrit setinggi 2 cm ( $\pm 3$  gr).
- Kolom tersebut dipasang vertikal pada statif
- Siapkan dibagian bawah kolom sebuah labu ukur (untuk menampung cairan yang keluar dari kolom)
- Masukkan 10 ml ekstrak pigmen kedalam kolom kromatografi
- Setelah ekstrak pigmen dalam kolom habis, masukkan petroleum eter : aseton kedalam kolom, sampai larutan keluar dari kolom menjadi tidak berwarna
- Eluat dalam labu ukur ditambah ditambahkan petroleum eter-aseton (10:1) sampai tanda tera
- Eluat yang mengandung karoten dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 450 nm

c. Membuat Kurva Standar  $\beta$ -Karoten

- Buat larutan  $\beta$ -karoten (5 mg/ml) : 10 mg beta karoten standar dilarutkan dalam 2 ml PE-aseton (1:1),
- Larutan tersebut diencerkan sampai 25 ml dengan menambahkan pe-aseton (10:1)
- Diambil masing-masing 0, 0,2, 0,4, 0,6, 1,0 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml kosong
- Masing-msing diencerkan dengan PE : aseton (10:1) sampai tanda batas
- Absorbansi diukur pada panjang gelombang 450 nm
- Dibuat kurva regresi antara konsentrasi beta karoten dan absorbansi

Perhitungan :  $\%karoten = \frac{Xmg/100ml}{berat\ sampel\ x\ 1000mg} \times volume\ larutan \times fp \times 100$

Kurva Standar  $\beta$ -karoten



7. Uji Stabilitas Karotenoid Terhadap Suhu (Dimara dkk, 2008)

- Ekstrak karotenoid sebanyak 4 ml diencerkan menggunakan aseton sebanyak 16 ml sehingga didapatkan 20 ml ekstrak hasil pengenceran.
- Larutan uji tersebut dimasukkan dalam botol vial.
- Botol vial yang telah berisi larutan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang telah di isi aquades kemudian dimasukkan dalam shaker waterbath.
- Suhu shaker diatur 60, 80 dan 100°C dan di dalam erlenmeyer dimasukkan thermometer untuk mengontrol suhunya.

- Uji stabilitas pigmen karotenoid terhadap suhu ini dilakukan selama 5 jam dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 470 nm setiap 1 jam sekali.
- Ekstrak sebelum dimasukkan ke dalam shaker waterbath terlebih dahulu diukur absorbansinya sebagai pembanding.

#### 8. Uji Stabilitas Karotenoid Terhadap Cahaya (Dimara dkk, 2008)

- Ekstrak karotenoid sebanyak 4 ml diencerkan menggunakan aseton sebanyak 16 ml sehingga didapatkan 20 ml ekstrak hasil pengenceran.
- Larutan uji tersebut dimasukkan dalam botol vial.
- Botol vial kemudian diletakkan di depan lampu (Philips 23 Watt) sebanyak 4 buah dalam tempat tertutup.
- Uji stabilitas pigmen karotenoid terhadap cahaya ini dilakukan selama 5 jam dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 470 nm setiap 1 jam sekali.
- Ekstrak sebelum dimasukkan ke dalam shaker waterbath terlebih dahulu diukur absorbansinya sebagai pembanding.

#### 9. Uji Stabilitas Karotenoid Terhadap pH (Dimara dkk, 2008)

- Ekstrak karotenoid sebanyak 4 ml diencerkan menggunakan aseton sebanyak 16 ml sehingga didapatkan 20 ml ekstrak hasil pengenceran.
- Masing-masing ekstrak diatur pH nya pada pH 3,5,7,10 dan 13
- Pengaturan pH dilakukan dengan menambahkan NaOH bila ingin basa atau HCL bila ingin pH nya asam.
- Pengaturan pH dikontrol menggunakan pH meter hingga mencapai pH yang dimaksud.
- Setelah mencapai pH yang diinginkan kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 470 nm.

#### 10. Pemilihan Perlakuan Terbaik (Zeleny,1982)

Untuk menentukan kombinasi perlakuan terbaik digunakan metode *multiple atribut* dengan prosedur pembobotan sebagai berikut:

- Menentukan nilai ideal pada masing-masing parameter

Nilai ideal adalah nilai yang sesuai dengan pengharapan yaitu nilai maksimal atau nilai minimal dari setiap parameter. Untuk parameter dengan

rerata semakin tinggi semakin baik, maka nilai terendah sebagai nilai terjelek dan nilai tertinggi sebagai nilai terbaik. Begitu sebaliknya.

- Menghitung derajat kerapatan (dk)

Derajat kerapatan dihitung berdasarkan nilai ideal dari masing-masing parameter.

Bila nilai ideal minimal maka :

$$dk = \frac{\text{Nilai kenyataan yang mendekati ideal}}{\text{Nilai ideal dari masing-masing alternatif}}$$

Bila nilai ideal maksimal maka :

$$dk = \frac{\text{Nilai ideal dari masing-masing alternatif}}{\text{Nilai kenyataan yang mendekati ideal}}$$

- Menghitung jarak kerapatan (L)

Dengan asumsi bahwa semua parameter penting, jarak kerapatan ( $\lambda$ ) dihitung berdasarkan jumlah parameter pada masing-masing perlakuan.

$$\lambda = 1/\text{jumlah parameter}$$

$$L_1 = 1 - \sum(\lambda \times dk)$$

$$L_2 = \sum(\lambda^2 \times (1 - dk)^2)$$

$$L_\infty = \text{nilai maks}(\lambda \times (1-dk))$$

- Perlakuan terbaik dipilih dari perlakuan yang mempunyai nilai  $L_1$ ,  $L_2$ ,  $L_\infty$  maksimal



Lampiran 2. Analisa Total Karoten ( $\mu\text{g/g}$ )

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	I	II	III		
P1T1	171,077	195,030	194,578	560,69	186,90
P1T2	254,761	234,380	232,571	721,71	240,57
P1T3	276,926	296,797	290,012	863,74	287,91
P2T1	248,880	276,896	331,171	856,95	285,65
P2T2	319,537	352,067	342,479	1014,08	338,03
P2T3	428,100	468,760	450,668	1347,53	449,18
P3T1	395,531	371,968	429,862	1197,36	399,12
P3T2	492,333	493,184	482,329	1467,85	489,28
P3T3	562,899	563,742	599,021	1725,66	575,22
<b>Total</b>	3150,04	3252,82	3352,69	9755,56	

Tabel Dua Arah

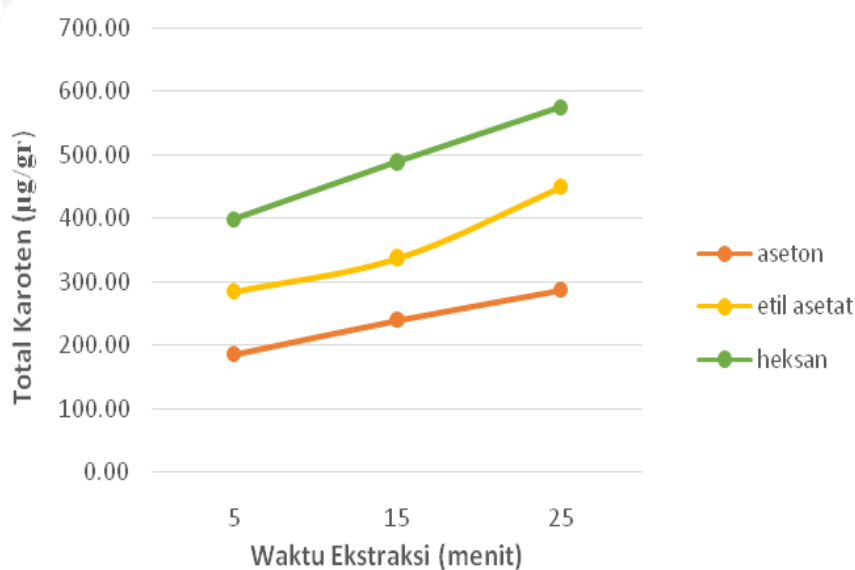
Perlakuan	P1	P2	P3	Total
T1	560,69	856,95	1197,36	2614,99
T2	721,71	1014,08	1467,85	3203,64
T3	863,74	1347,53	1725,66	3936,92
<b>Total</b>	2146,13	3218,56	4390,87	9755,56

Analisa Keragaman  
FK = 3524849,44

SK	db	JK	KT	F Hit	F tabel 0.05	F tabel 0.01	notasi (5%)
ulangan	2	2281,63	1140,81	2,99	3,63	6,23	tn
perlakuan	8	383811,4156	47976,43	125,65	2,59	3,89	*
<b>P</b>	<b>2</b>	<b>280120,6249</b>	<b>140060,31</b>	<b>366,81</b>	<b>3,63</b>	<b>6,23</b>	<b>*</b>
<b>T</b>	<b>2</b>	<b>97470,73343</b>	<b>48735,37</b>	<b>127,64</b>	<b>3,63</b>	<b>6,23</b>	<b>*</b>
<b>P x T</b>	<b>4</b>	<b>6220,06</b>	<b>1555,01</b>	<b>4,07</b>	<b>3,01</b>	<b>4,77</b>	<b>*</b>
galat	16	6109,28	381,83				
<b>total</b>	26	392202,32					

Uji Lanjut DMRT (PxT)

Data	Urutan	rp	sd	Rp	Notasi
186,90	186,90	3,00	15,95	33,82	a
240,57	240,57	3,14		35,47	b
287,91	285,65	3,24		36,50	c
285,65	287,91	3,30		37,20	c
338,03	338,03	3,34		37,71	d
449,18	399,12	3,38		38,09	e
399,12	449,18	3,40		38,38	f
489,28	489,28	3,42		38,61	g
575,22	575,22			0,00	h



**Grafik Rerata Total Karotenoid Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Akibat Pengaruh Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi**



Lampiran 3. Analisa Aktivitas Antioksidan IC50 (ppm)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	I	II	III		
P1T1	190,25	194,11	193,83	578,19	192,73
P1T2	178,72	175,15	182,77	536,64	178,88
P1T3	164,52	166,07	174,79	505,38	168,46
P2T1	176,17	177,25	179,70	533,12	177,71
P2T2	169,38	166,57	169,44	505,39	168,46
P2T3	150,09	151,71	151,12	452,92	150,97
P3T1	166,57	163,55	169,49	499,61	166,54
P3T2	144,50	149,18	145,26	438,94	146,31
P3T3	136,06	135,03	131,43	402,52	134,17
<b>Total</b>	1476,25	1478,62	1497,83	4452,71	

Tabel Dua Arah

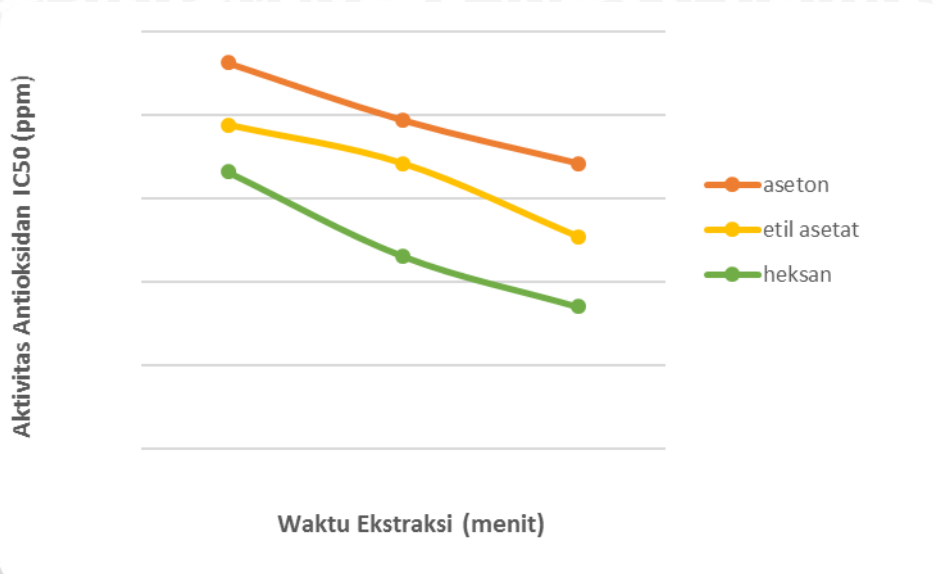
Perlakuan	P1	P2	P3	Total
T1	578,19	533,12	499,61	1610,91
T2	536,64	505,39	438,94	1480,97
T3	505,38	452,92	402,52	1360,82
<b>Total</b>	1620,21	1491,43	1341,06	4452,71

Analisa Keragaman  
FK = 734317,92

SK	Db	JK	KT	F Hit	F tabel 0.05	F tabel 0.01	notasi (5%)
ulangan	2	31,11	15,56	2,01	3,63	6,23	tn
perlakuan	8	7936,595945	992,07	128,14	2,59	3,89	*
P	2	4337,686789	2168,84	280,13	<b>3,63</b>	<b>6,23</b>	*
T	2	3476,510732	1738,26	224,51	<b>3,63</b>	<b>6,23</b>	*
P x T	4	122,40	30,60	3,95	<b>3,01</b>	<b>4,77</b>	*
galat	16	123,88	7,74				
<b>total</b>	26	8091,58					

Uji Lanjut DMRT (PxT)

Data	Urutan	rp	sd	Rp	Notasi
192,730	134,173	2,998	2,272	4,816	a
178,880	146,313	3,144		5,051	b
168,461	150,975	3,235		5,197	b
177,706	166,535	3,297		5,297	c
168,463	168,461	3,343		5,370	c
150,975	168,463	3,376		5,423	c
166,535	177,706	3,402		5,465	d
146,313	178,880	3,422		5,497	d
134,173	192,730				e



**Grafik Rerata Aktivitas Antioksidan IC<sub>50</sub> Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Akibat Pengaruh Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi**

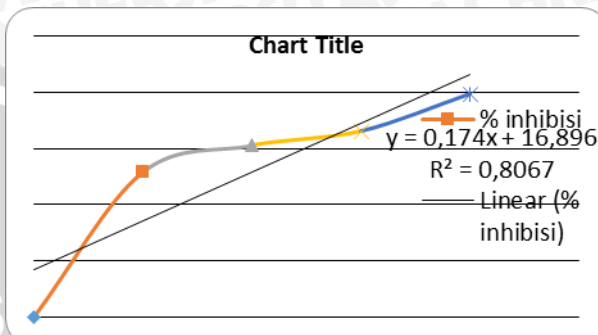


Lampiran 4. Perhitungan Aktivitas Antioksidan IC<sub>50</sub>

(Ulangan 1)

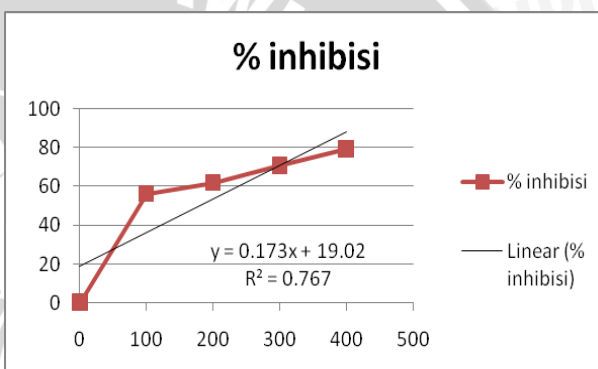
P1T1

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.741	0.00	190.252
100	0.359	51.55	
200	0.289	61.00	
300	0.25	66.26	
400	0.151	79.62	



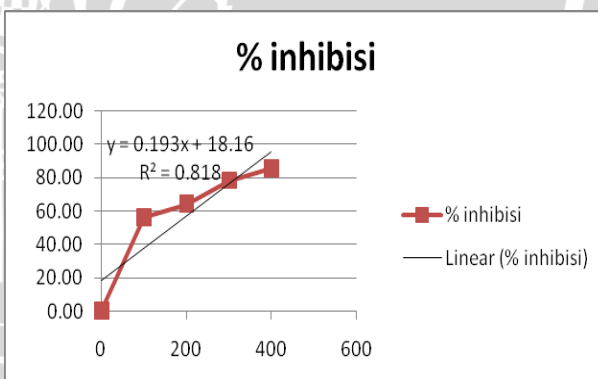
P1T2

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.741	0	178.719
100	0.324	56.28	
200	0.282	61.94	
300	0.216	70.85	
400	0.153	79.35	



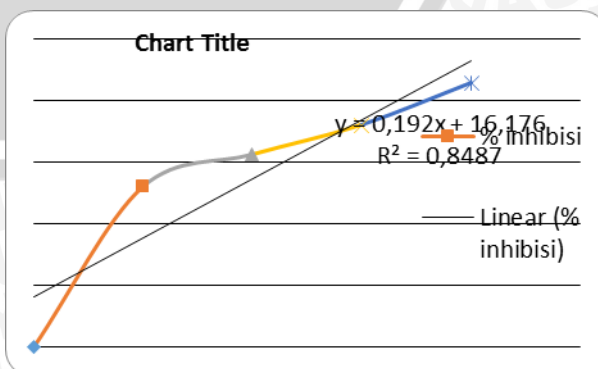
P1T3

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.741	0.00	164.522
100	0.325	56.14	
200	0.265	64.24	
300	0.161	78.27	
400	0.106	85.70	



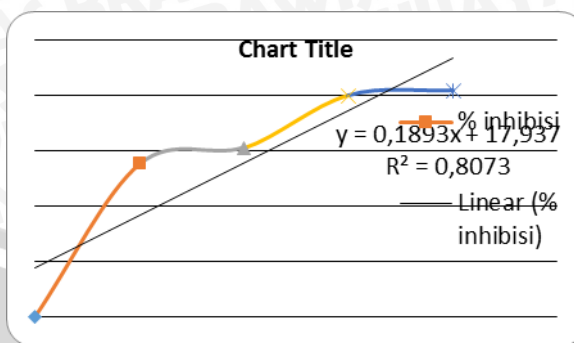
P2T1

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.727	0	176.166
100	0.349	51.99	
200	0.271	62.72	
300	0.201	72.35	
400	0.103	85.83	



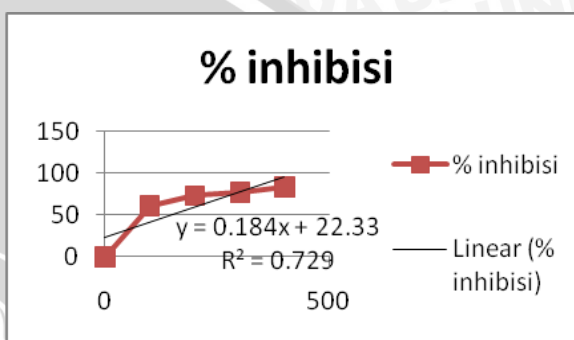
**P2T2**

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.727	0	169.376
100	0.325	55.30	
200	0.282	61.21	
300	0.143	80.33	
400	0.13	82.12	



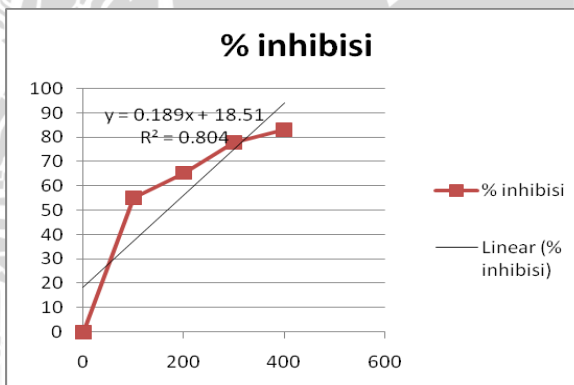
**P2T3**

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.727	0	150.0922
100	0.283	61.07	
200	0.193	73.45	
300	0.163	77.58	
400	0.117	83.91	



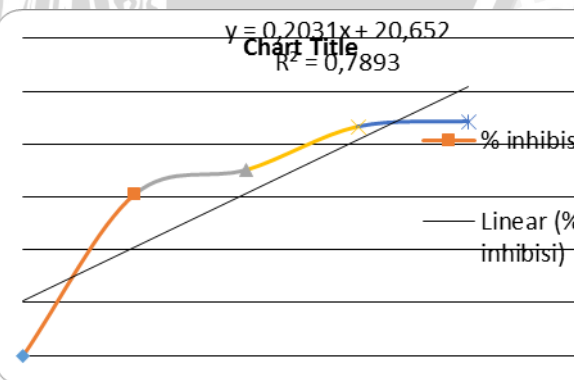
**P3T1**

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.797	0	166.5661
100	0.357	55.21	
200	0.276	65.37	
300	0.177	77.79	
400	0.134	83.19	



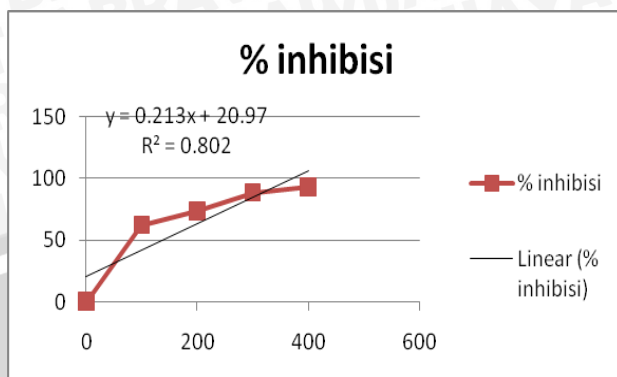
**P3T2**

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.797	0	144.500
100	0.312	60.85	
200	0.237	70.26	
300	0.107	86.57	
400	0.09	88.71	



**P3T3**

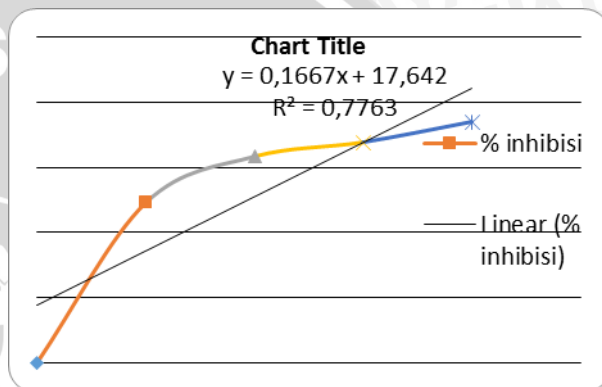
Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.797	0	136.057
100	0.3	62.36	
200	0.21	73.65	
300	0.09	88.71	
400	0.052	93.48	



**(ULANGAN 2)**

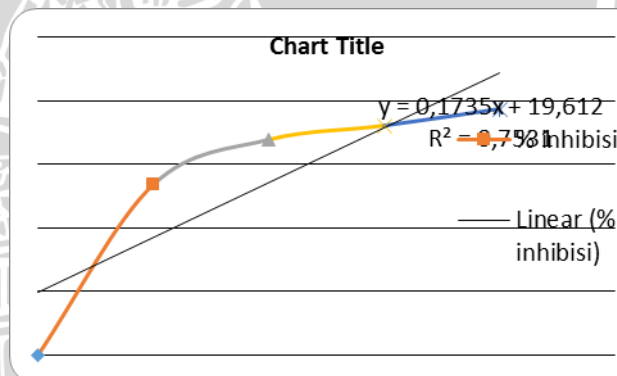
**P1T1**

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.721	0.00	194.1092
100	0.365	49.38	
200	0.263	63.52	
300	0.231	67.96	
400	0.187	74.06	



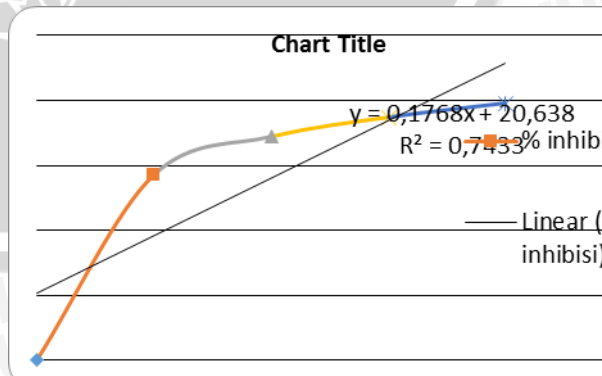
**P1T2**

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.721	0.00	175.147
100	0.333	53.81	
200	0.231	67.96	
300	0.2	72.26	
400	0.162	77.53	



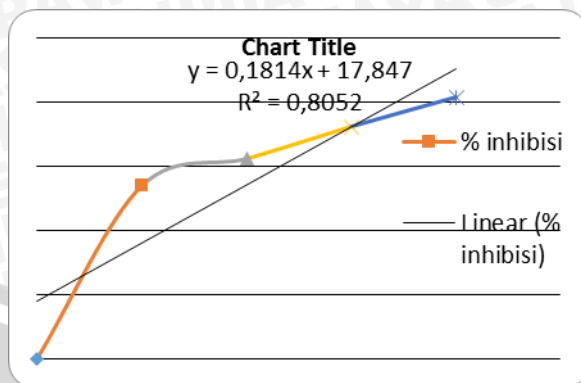
**P1T3**

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.721	0	166.074
100	0.311	56.87	
200	0.225	68.79	
300	0.18	75.03	
400	0.149	79.33	



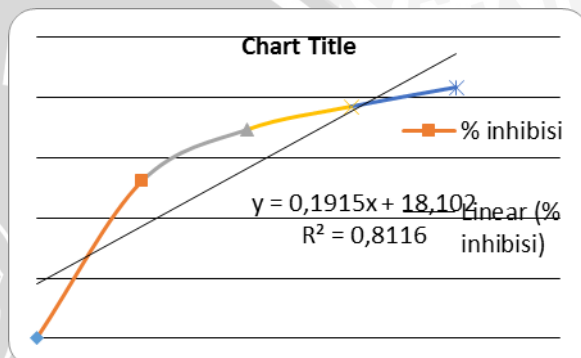
**P2T1**

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.706	0	177.249
100	0.324	54.11	
200	0.264	62.61	
300	0.195	72.38	
400	0.13	81.59	



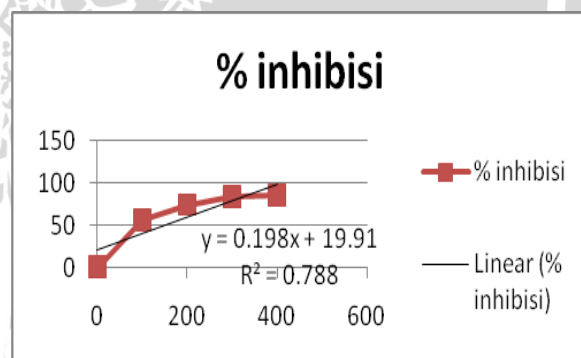
**P2T2**

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.706	0	166.569
100	0.337	52.27	
200	0.216	69.41	
300	0.163	76.91	
400	0.117	83.43	



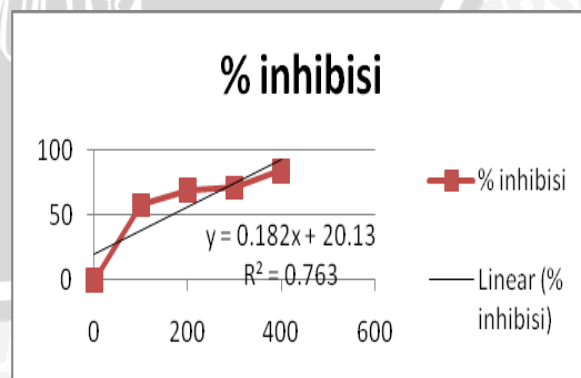
**P2T3**

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.706	0	151.7146
100	0.314	55.52	
200	0.185	73.80	
300	0.118	83.29	
400	0.104	85.27	



**P3T1**

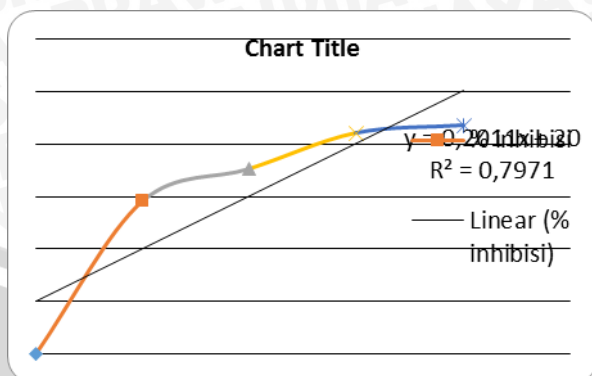
Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.734	0	163.5487
100	0.309	57.90	
200	0.225	69.35	
300	0.209	71.53	
400	0.114	84.47	





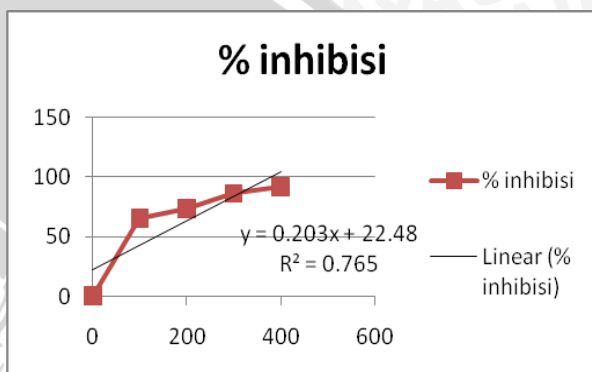
**P3T2**

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.734	0	149.1795
100	0.306	58.31	
200	0.214	70.84	
300	0.114	84.47	
400	0.092	87.47	



**P3T3**

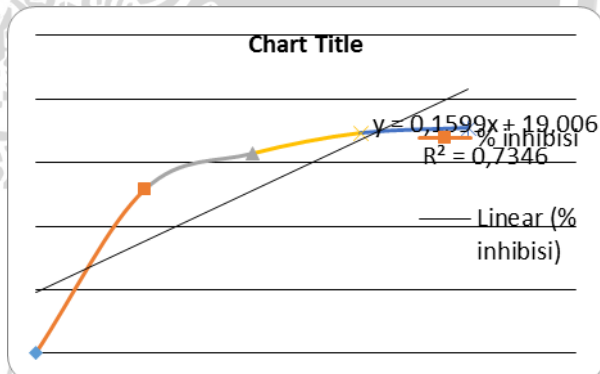
Kons. (ppm)	Abs,517	% inhibisi	IC50
0	0.734	0	135.0343
100	0.255	65.26	
200	0.195	73.43	
300	0.103	85.97	
400	0.062	91.55	



**(ULANGAN 3)**

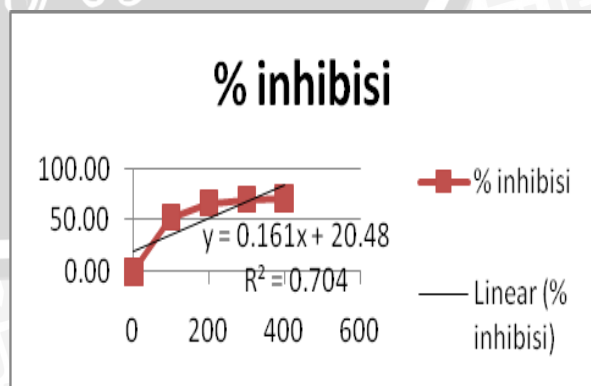
**P1T1**

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.704	0.00	193.83
100	0.34	51.70	
200	0.262	62.78	
300	0.216	69.32	
400	0.203	71.16	



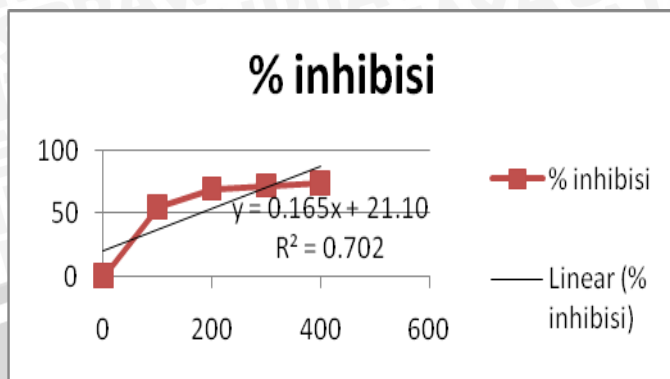
**P1T2**

Kons. (ppm)	absorbansi	% inhibisi	IC50
0	0.704	0.00	182.7678
100	0.327	53.55	
200	0.23	67.33	
300	0.204	71.02	
400	0.197	72.02	



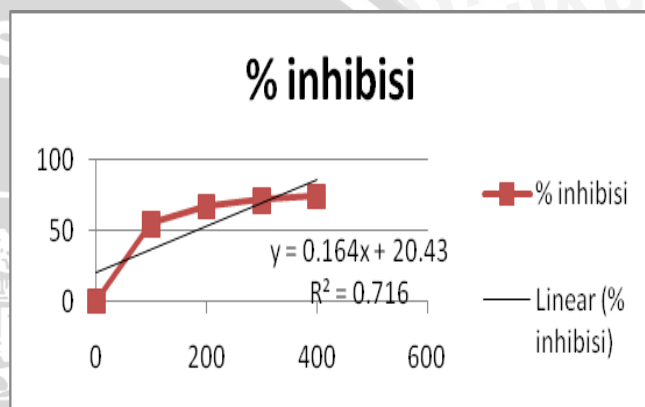
**P1T3**

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.704	0	174.785
100	0.316	55.11	
200	0.214	69.60	
300	0.198	71.88	
400	0.181	74.29	



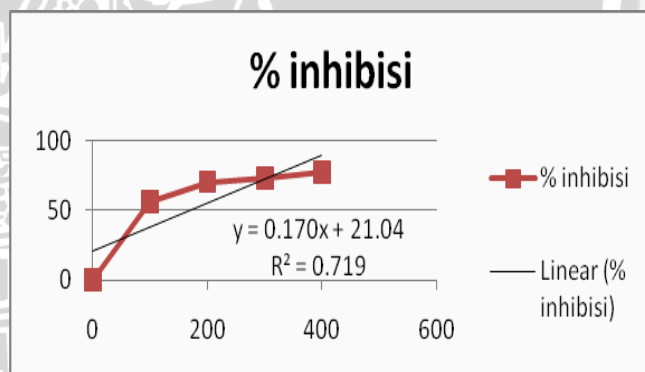
**P2T1**

Kons. (ppm)	Abs.517i	% inhibisi	IC50
0	0.729	0	179.7021
100	0.331	54.60	
200	0.241	66.94	
300	0.21	71.19	
400	0.19	73.94	



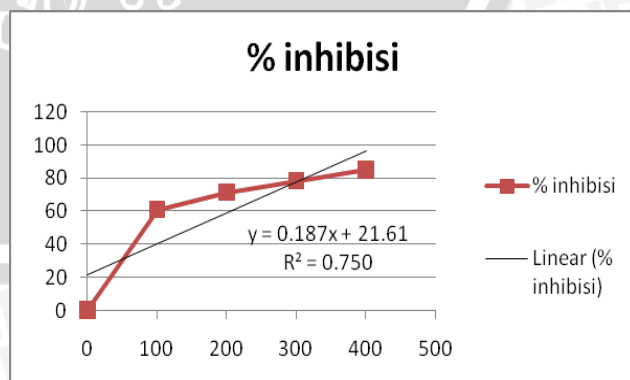
**P2T2**

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.729	0	169.4383
100	0.32	56.10	
200	0.217	70.23	
300	0.2	72.57	
400	0.166	77.23	



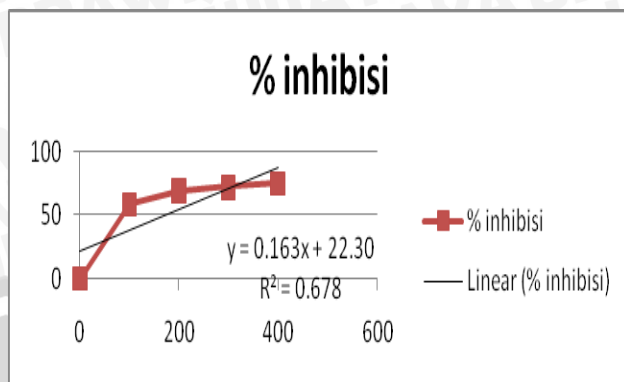
**P2T3**

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.729	0	151.1235
100	0.285	60.91	
200	0.208	71.47	
300	0.158	78.33	
400	0.108	85.19	



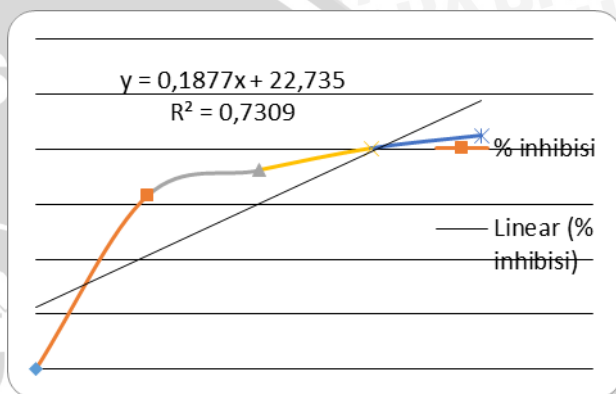
**P3T1**

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.746	0	169.4859
100	0.309	58.58	
200	0.229	69.30	
300	0.208	72.12	
400	0.187	74.93	



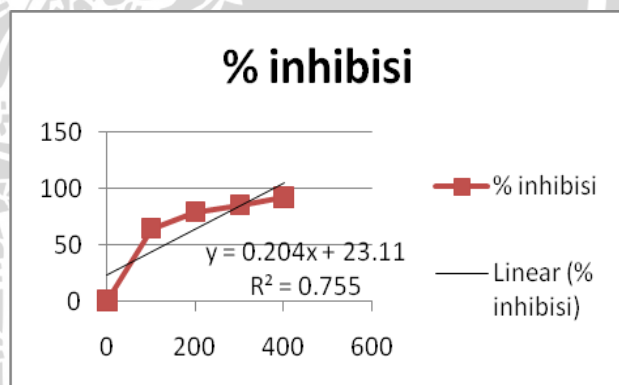
**P3T2**

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.746	0	145.2584
100	0.274	63.27	
200	0.206	72.39	
300	0.146	80.43	
400	0.11	85.25	



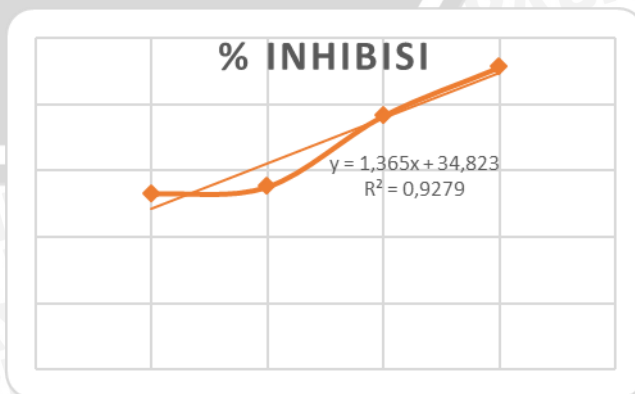
**P3T3**

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.746	0	131.4272
100	0.266	64.34	
200	0.158	78.82	
300	0.112	84.99	
400	0.06	91.96	



**Aktivitas Antioksidan IC<sub>50</sub> Asam Askorbat**

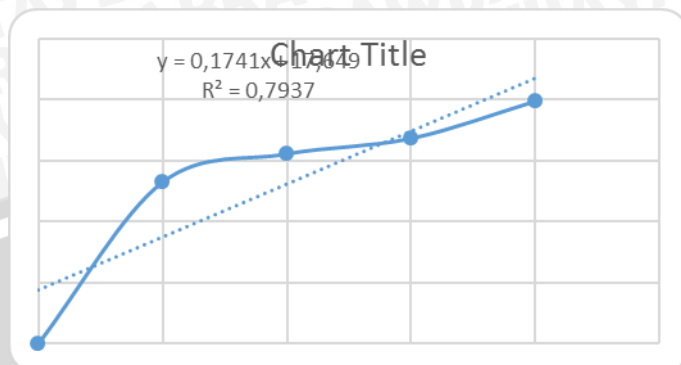
Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
10	0.253	52.886	11.118
20	0.241	55.121	
30	0.126	76.536	
40	0.047	91.248	



### Aktivitas Antioksidan IC<sub>50</sub> Kontrol (Maserasi)

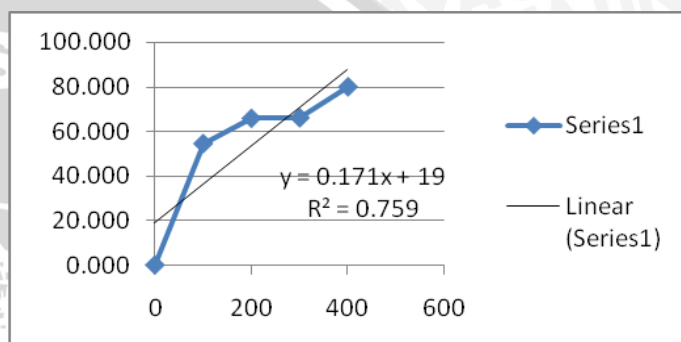
#### (Ulangan 1)

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.740	0.000	185.818
100	0.349	52.838	
200	0.279	62.297	
300	0.241	67.432	
400	0.150	79.730	



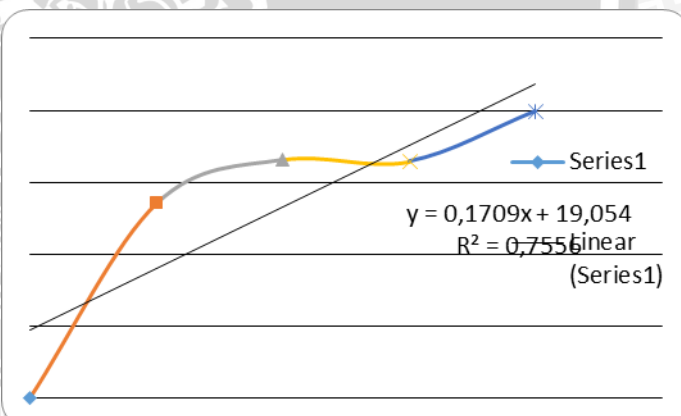
#### (Ulangan 2)

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.740	0.000	180.337
100	0.336	54.595	
200	0.252	65.946	
300	0.250	66.216	
400	0.147	80.135	



#### (Ulangan 3)

Kons. (ppm)	Abs.517	% inhibisi	IC50
0	0.740	0.000	181.077
100	0.338	54.324	
200	0.249	66.351	
300	0.253	65.811	
400	0.150	79.730	

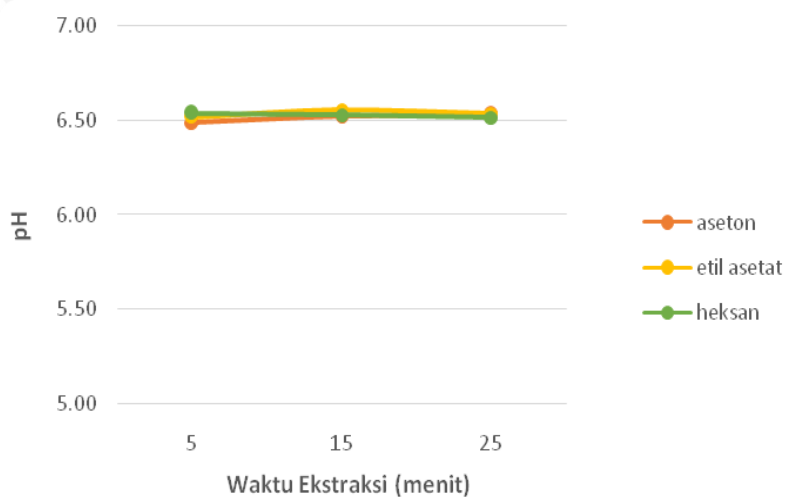


Lampiran 5. Analisa Ph

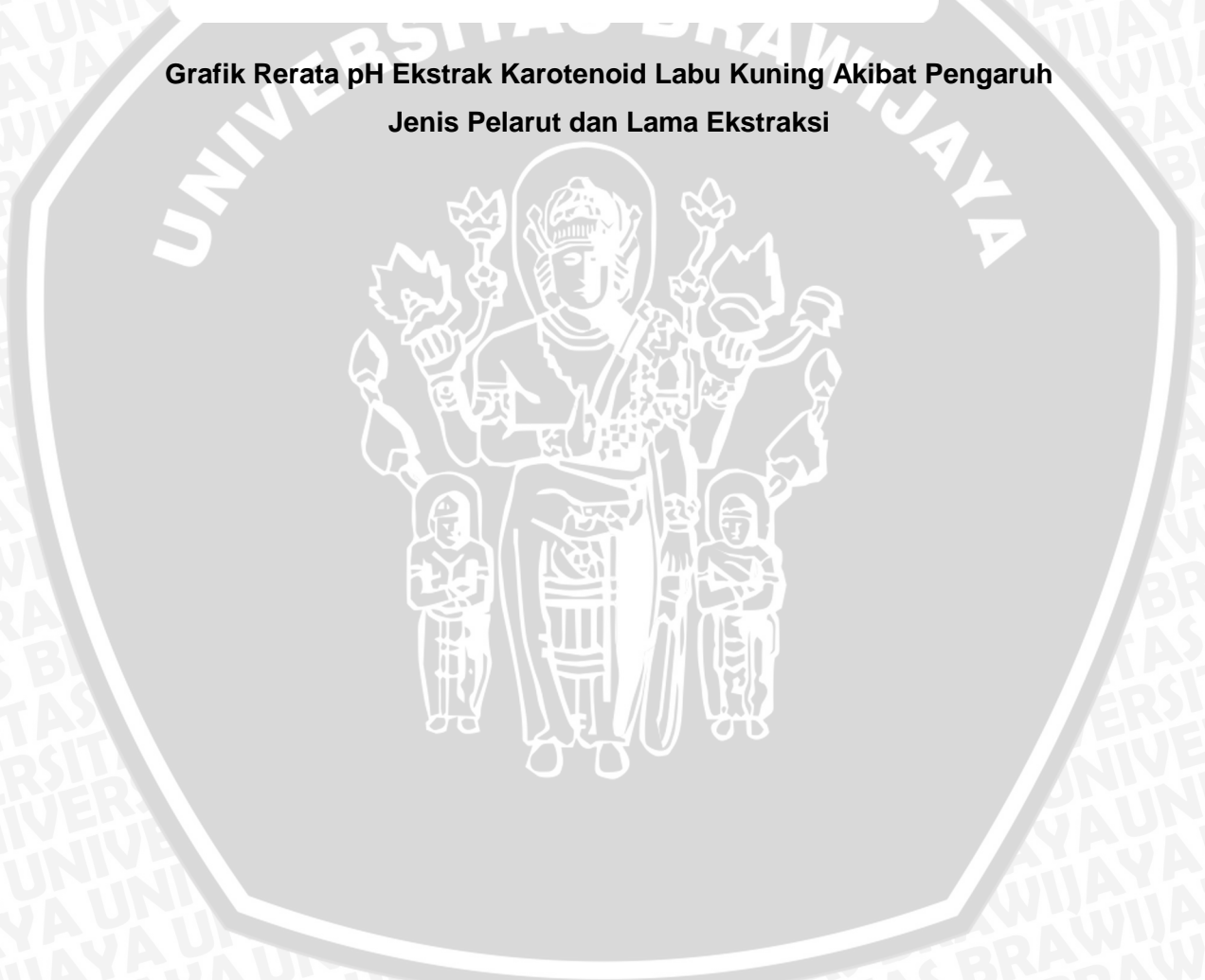
Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	I	II	III		
P1T1	6.42	6.51	6.53	19.46	6.49
P1T2	6,51	6.50	6.54	13.04	6.52
P1T3	6.39	6.62	6.58	19.59	6.53
P2T1	6.56	6.49	6.50	19.55	6.52
P2T2	6.58	6.51	6.57	19.66	6.55
P2T3	6.53	6.52	6.55	19.60	6.53
P3T1	6.55	6.55	6.51	19.61	6.54
P3T2	6.54	6.53	6.51	19.58	6.53
P3T3	6.38	6.63	6.53	19.54	6.51
<b>Total</b>	51.95	58.86	58.82	169.63	

Perlakuan	P1	P2	P3	Total
T1	19.46	19.55	19.61	58.62
T2	13.04	19.66	19.58	52.28
T3	19.59	19.60	19.54	58.73
<b>Total</b>	52.09	58.81	58.73	169.63

FK = 1065,72							
SK	db	JK	KT	F Hit	F tabel 0.05	F tabel 0.01	notasi (5%)
ulangan	2	3.52	1.76	1.13	3.63	6.23	tn
perlakuan	8	12.6569852	1.58	1.02	2.59	3.89	tn
<b>P</b>	<b>2</b>	<b>3.30571852</b>	<b>1.65</b>	<b>1.06</b>	<b>3.63</b>	<b>6.23</b>	<b>tn</b>
<b>T</b>	<b>2</b>	<b>3.03000741</b>	<b>1.52</b>	<b>0.97</b>	<b>3.63</b>	<b>6.23</b>	<b>tn</b>
<b>P × T</b>	<b>4</b>	<b>6.32</b>	<b>1.58</b>	<b>1.02</b>	<b>3.01</b>	<b>4.77</b>	<b>tn</b>
galat	16	24.90	1.56				
<b>total</b>	26	41.07					



**Grafik Rerata pH Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Akibat Pengaruh Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi**



Lampiran 6. Analisa Rendemen (%)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	I	II	III		
P1T1	5.711	5.804	5.060	16.575	5.53
P1T2	7.109	7.460	7.770	22.339	7.45
P1T3	10.060	10.681	11.148	31.889	10.63
P2T1	8.241	8.011	8.220	24.472	8.16
P2T2	12.009	12.343	12.570	36.922	12.31
P2T3	15.270	16.040	15.149	46.459	15.49
P3T1	13.154	12.070	12.227	37.451	12.48
P3T2	15.480	14.769	13.883	44.132	14.71
P3T3	16.112	18.582	18.843	53.537	17.85
<b>Total</b>	103.146	105.759	104.870	313.775	

Tabel 3 Arah

Perlakuan	P1	P2	P3	Total
T1	16.575	24.472	37.451	78.498
T2	22.339	36.922	44.132	103.393
T3	31.889	46.459	53.537	131.885
<b>Total</b>	70.803	107.853	135.120	313.775

Analisa Keragaman  
FK = 3646,48

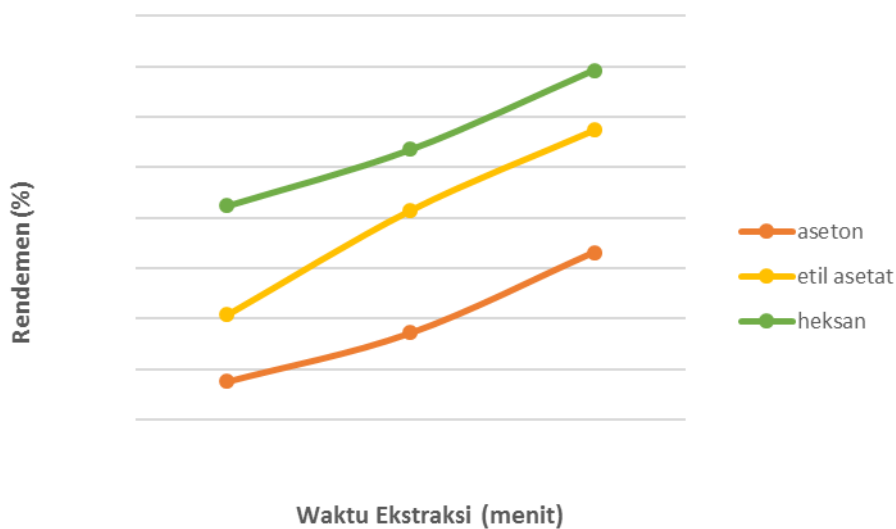
SK	db	JK	KT	F Hit	F tabel 0.05	F tabel 0.01	notasi (5%)
ulangan	2	0.39	0.20	0.40	3.63	6.23	tn
perlakuan	8	396.054257	49.51	100.03	2.59	3.89	*
<b>P</b>	<b>2</b>	<b>231.587956</b>	<b>115.79</b>	<b>233.96</b>	<b>3.63</b>	<b>6.23</b>	<b>*</b>
<b>T</b>	<b>2</b>	<b>158.584498</b>	<b>79.29</b>	<b>160.21</b>	<b>3.63</b>	<b>6.23</b>	<b>*</b>
<b>P × T</b>	<b>4</b>	<b>5.88</b>	<b>1.47</b>	<b>2.97</b>	<b>3.01</b>	<b>4.77</b>	<b>tn</b>
galat	16	7.92	0.49				
<b>total</b>	26	404.37					

Uji BNT Faktor Jenis Pelarut

Jenis Pelarut	Rendemen (%)	Urutan	BNT 5%	Notasi
P1	7.87	7.86696296	0.70	a
P2	11.98	11.9836667		b
P3	15.01	15.0132963		c

Uji BNT Faktor Waktu Ekstraksi

Waktu Ekstraksi	Rendemen (%)	Urutan	BNT 5%	Notasi
T1	8.72	8.72196296	0.70	a
T2	11.49	11.4880741		b
T3	14.65	14.6538889		c



**Grafik Rerata Rendemen Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Akibat Pengaruh Perbedaan Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi**





Lampiran 7. Analisa Warna L\*

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	I	II	III		
P1T1	24,1	25,7	25,1	74,9	25,0
P1T2	21,3	23,6	22,9	67,8	22,6
P1T3	20,7	21,7	21,3	63,7	21,2
P2T1	23,4	22,2	22,3	67,9	22,6
P2T2	19,7	20,6	21,4	61,7	20,6
P2T3	19,6	19,0	19,8	58,4	19,5
P3T1	22,8	20,6	20,7	64,1	21,4
P3T2	19,3	20,1	19,7	59,1	19,7
P3T3	18,2	18,0	18,2	54,4	18,1
<b>Total</b>	189,1	191,5	191,4	572,0	

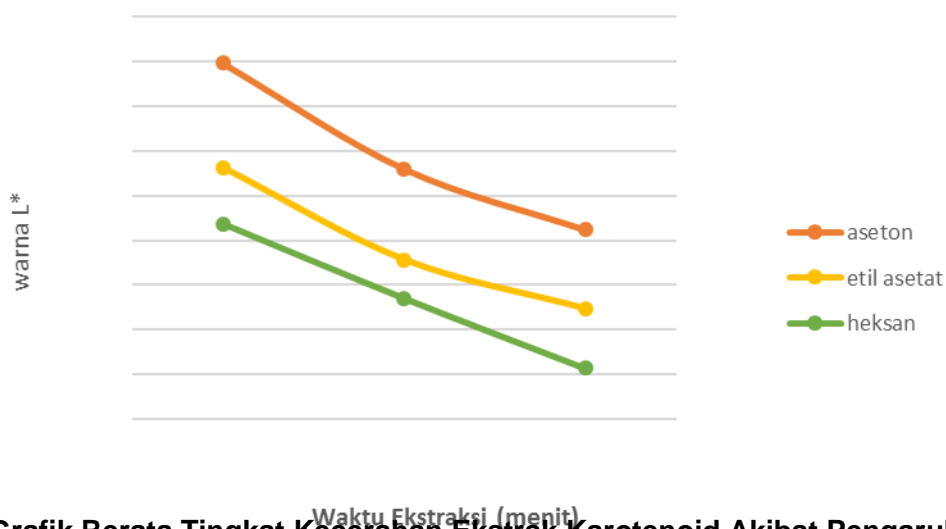
Perlakuan	P1	P2	P3	Total
T1	74,9	67,9	64,1	206,9
T2	67,8	61,7	59,1	188,6
T3	63,7	58,4	54,4	176,5
<b>Total</b>	206,4	188,0	177,6	572,0

FK = 12117,93

SK	db	JK	KT	F Hit	F tabel 0.05	F tabel 0.01	notasi (5%)
ulangan	2	0,41	0,20	0,32	3,63	6,23	tn
perlakuan	8	99,8674074	12,48	19,40	2,59	3,89	*
P	2	47,2651852	23,63	36,72	3,63	6,23	*
T	2	52,0540741	26,03	40,44	3,63	6,23	*
P × T	4	0,55	0,14	0,21	3,01	4,77	tn
galat	16	10,30	0,64				
total	26	110,57					

Jenis Pelarut	Warna L*	Urutan	BNT 5%	Notasi
P1	22,9	19,73	0,80	a
P2	20,9	20,88		b
P3	19,7	22,93		c

Waktu Ekstraksi	Warna L*	Urutan	BNT 5%	Notasi
T1	23,0	19,611	0,80	a
T2	21,0	20,95		b
T3	19,6	22,98		c



**Grafik Rerata Tingkat Kecerahan Ekstrak Karotenoid Akibat Pengaruh Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi**



Lampiran 8. Analisa Warna a\*

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	I	II	III		
P1T1	6,9	6,6	6,7	20,2	6,7
P1T2	8,7	8,4	8,9	26,0	8,7
P1T3	10,5	11,5	11,1	33,1	11,0
P2T1	8,5	8,9	8,4	25,8	8,6
P2T2	10,5	11,0	10,7	32,2	10,7
P2T3	12,1	13,0	11,5	36,6	12,2
P3T1	9,3	9,7	9,5	28,5	9,5
P3T2	10,6	11,5	12,1	34,2	11,4
P3T3	14,1	13,7	13,3	41,1	13,7
<b>Total</b>	91,2	94,3	92,2	277,7	

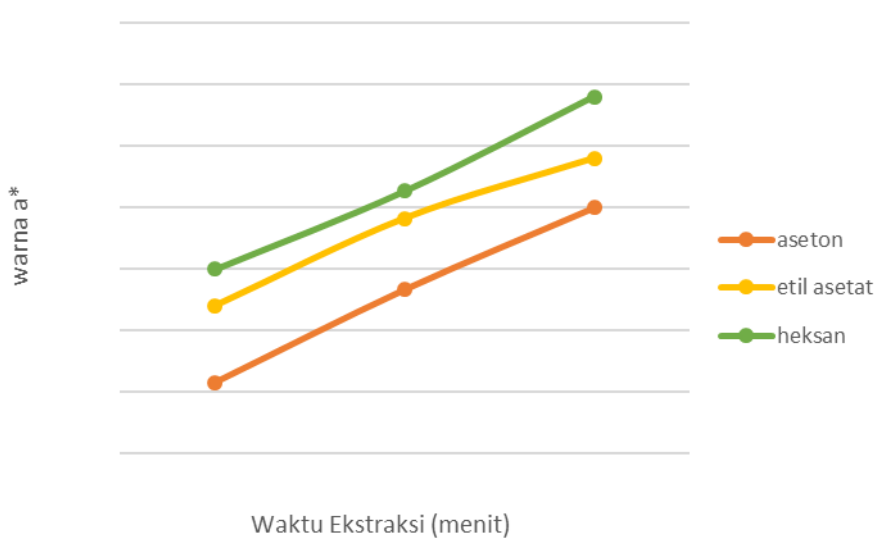
Perlakuan	P1	P2	P3	Total
T1	20,2	25,8	28,5	74,5
T2	26,0	32,2	34,2	92,4
T3	33,1	36,6	41,1	110,8
<b>Total</b>	79,3	94,6	103,8	277,7

FK = 2856,20

SK	db	JK	KT	F Hit	F tabel 0.05	F tabel 0.01	notasi (5%)
ulangan	2	0,56	0,28	1,45	3,63	6,23	tn
perlakuan	8	108,067407	13,51	70,39	2,59	3,89	*
<b>P</b>	<b>2</b>	<b>34,0362963</b>	<b>17,02</b>	<b>88,68</b>	<b>3,63</b>	<b>6,23</b>	<b>*</b>
<b>T</b>	<b>2</b>	<b>73,2096296</b>	<b>36,60</b>	<b>190,75</b>	<b>3,63</b>	<b>6,23</b>	<b>*</b>
<b>P x T</b>	<b>4</b>	<b>0,82</b>	<b>0,21</b>	<b>1,07</b>	<b>3,01</b>	<b>4,77</b>	<b>tn</b>
galat	16	3,07	0,19				
<b>total</b>	26	111,69					

Jenis Pelarut	Warna a*	Urutan	BNT 5%	Notasi
P1	8,8	8,8	0,44	a
P2	10,5	10,5		b
P3	11,5	11,5		c

Waktu Ekstraksi	Warna a*	Urutan	BNT 5%	Notasi
T1	8,3	8,28	0,44	a
T2	10,3	10,27		b
T3	12,3	12,31		c



**Grafik Rerata Tingkat Kemerahan Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Akibat Pengaruh Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi**



Lampiran 9. Analisa Warna b\*

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	I	II	III		
P1T1	9,8	7,6	9,7	27,1	9,0
P1T2	10,6	8,4	10,7	29,7	9,9
P1T3	12,1	9,9	11,0	33,0	11,0
P2T1	11,5	8,4	11,4	31,3	10,4
P2T2	12,2	13,6	11,1	36,9	12,3
P2T3	13,0	13,8	12,1	38,9	13,0
P3T1	12,1	13,5	11,9	37,5	12,5
P3T2	13,7	14,5	12,4	40,6	13,5
P3T3	14,2	15,3	12,6	42,1	14,0
<b>Total</b>	109,2	105,0	102,9	317,1	

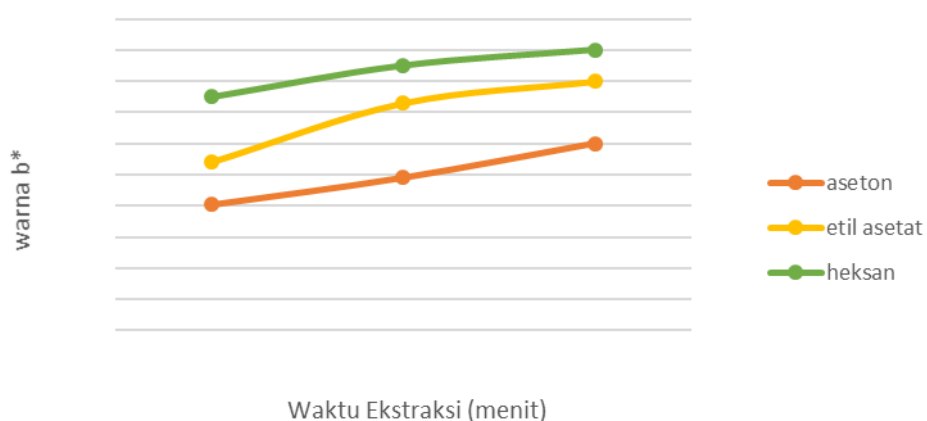
Perlakuan	P1	P2	P3	Total
T1	27,1	31,3	37,5	95,9
T2	29,7	36,9	40,6	107,2
T3	33,0	38,9	42,1	114,0
<b>Total</b>	89,8	107,1	120,2	317,1

FK = 3724,16

SK	db	JK	KT	F Hit	F tabel 0.05	F tabel 0.01	notasi (5%)
ulangan	2	2,29	1,14	0,74	3,63	6,23	tn
perlakuan	8	71,51333333	8,94	5,76	2,59	3,89	*
P	2	51,66888889	25,83	16,64	3,63	6,23	*
T	2	18,57555556	9,29	5,98	3,63	6,23	*
P × T	4	1,27	0,32	0,20	3,01	4,77	tn
galat	16	24,85	1,55				
total	26	98,65					

Jenis Pelarut	Warna b*	Urutan	BNT 5%	Notasi
P1	10,0	9,97	1,25	a
P2	11,9	11,90		b
P3	13,4	13,35		c

Waktu Ekstraksi	Warna b*	Urutan	BNT 5%	Notasi
T1	10,7	10,66	1,25	a
T2	11,9	11,91		b
T3	12,7	12,67		b



**Grafik Rerata Tingkat Kekuningan Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Akibat Pengaruh Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi**

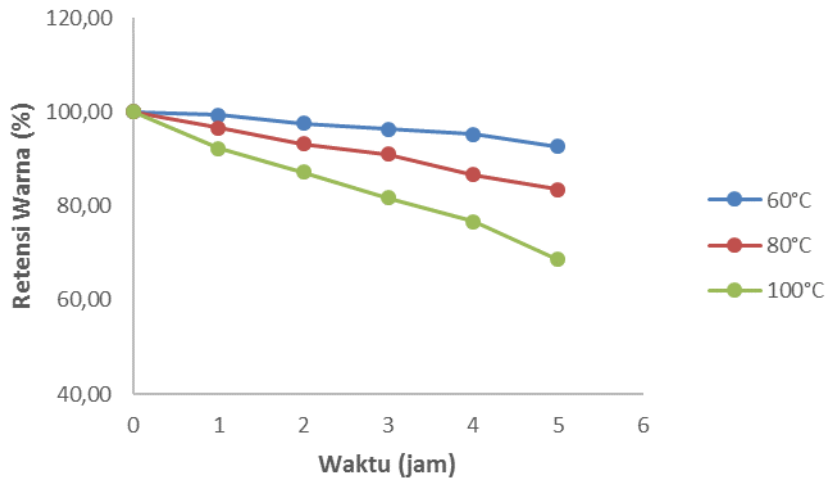


Lampiran 10. Analisa Perlakuan Terbaik Metode Zeleny

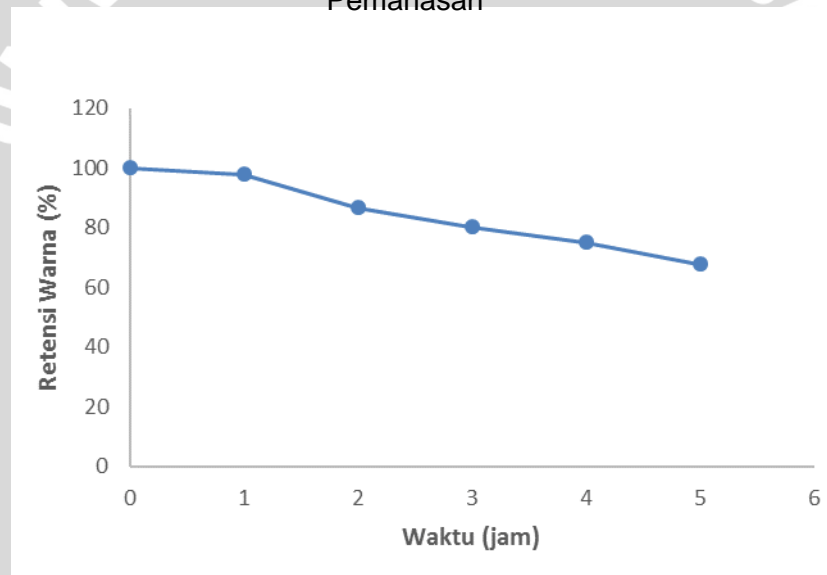
Parameter	Perlakuan								
	P1T1	P1T2	P1T3	P2T1	P2T2	P2T3	P3T1	P3T2	P3T3
<b>total karoten</b>	186.895	240.571	287.912	285.649	338.028	449.176	399.121	489.282	575.221
<b>antioksidan IC50</b>	192.730	178.880	168.460	177.707	168.463	150.973	166.537	146.313	134.173
<b>dk total karoten</b>	0.325	0.418	0.501	0.497	0.588	0.781	0.694	0.851	1.000
<b>dk antioksidan IC50</b>	1.436	1.333	1.256	1.324	1.256	1.125	1.241	1.090	1.000
<b>λ</b>	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500
<b>L1</b>	0.119	0.124	0.122	0.089	0.078	0.047	0.032	0.029	0.000
<b>L2</b>	0.162	0.112	0.079	0.090	0.059	0.016	0.038	0.008	0.000
<b>L Max</b>	0.119	0.124	0.122	0.089	0.078	0.047	0.032	0.029	0.000
<b>Perlakuan Terbaik</b>	0.400	0.361	0.323	0.269	0.216	0.110	0.103	0.067	0.000*



Lampiran 11. Grafik Retensi Uji Stabilitas Ekstrak Karotenoid



Presentase Retensi Warna Karotenoid Akibat Pengaruh Suhu dan Lama Pemanasan



Presentase Retensi Warna Karotenoid Akibat Pengaruh Cahaya dan Lama Penyinaran



Lampiran 12. Uji t

Parameter	Produk	ULANGAN			d la-bl	d2	d la-bl2	d la-bl2/n	d	JK	S2	S2/n	SD	t hitung	t tabel 5%	Notasi	Rerata
		1	2	3													
Total Karoten	A	562.90	563.74	599.02	479.23	77394.88	229659.52	76553.17	159.74	841.71	420.85	140.28	11.84	13.49	2.12	*	575.22
	B	410.62	419.73	416.08													415.48
aktivitas antioksidan IC50	A	136.06	135.03	131.43	144.71	6993.62	20942.09	6980.70	48.24	12.93	6.46	2.15	1.47	32.86	2.12	*	134.17
	B	185.82	180.34	181.08													182.41
pH	A	6.38	6.63	6.53	0.30	0.06	0.09	0.03	0.10	0.03	0.01	0.00	0.07	1.50	2.12	tn	6.51
	B	6.61	6.57	6.52													6.57
Rendemen	A	16.11	18.58	18.84	21.54	156.62	464.00	154.67	7.18	1.95	0.98	0.33	0.57	12.58	2.12	*	17.85
	B	10.06	10.71	11.22													10.67
Tingkat Kecerahan (L)	A	18.20	18.00	18.20	13.17	58.13	173.36	57.79	4.39	0.35	0.17	0.06	0.24	18.24	2.12	*	18.13
	B	22.40	22.87	22.30													22.52
Tingkat Kemerahan (a*)	A	14.10	13.70	13.30	4.27	6.39	18.20	6.07	1.42	0.32	0.16	0.05	0.23	6.15	2.12	*	13.70
	B	12.27	12.30	12.27													12.28
Tingkat Kekuningan (b*)	A	14.20	12.33	12.60	2.27	2.14	5.14	1.71	0.76	0.42	0.21	0.07	0.27	2.85	2.12	*	13.04
	B	13.10	13.27	12.83													13.07

Keterangan : A = Perlakuan Terbaik, B = Perlakuan Kontrol

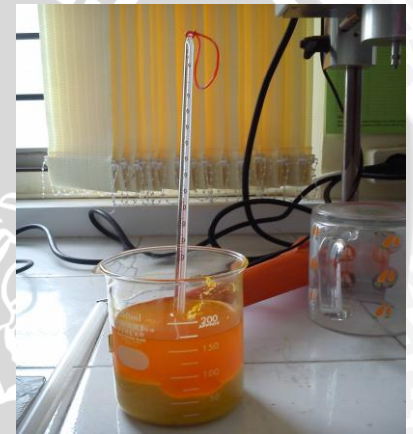
### Lampiran 13. Dokumentasi



Bubuk Labu Kuning



Ekstraksi dengan Ultrasonik



Analisa Suhu



Penyaringan dengan Vakum



Proses Evaporasi



Hasil Ekstrak



Analisa Total Karoten

Uji Stabilitas



Suhu



Cahaya



pH