

PENGARUH JENIS PELARUT DAN LAMA EKSTRAKSI TERHADAP EKSTRAK KAROTENOID LABU KUNING DENGAN METODE GELOMBANG ULTRASONIK

The Effect of Different Solvent and Extraction Time of Carotenoids Extract From Pumpkin with Ultrasonic Method

Dyah Tri Wahyuni^{1*}, Simon Bambang Widjanarko¹

1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi, Email: dyahtriwahyu@gmail.com

ABSTRAK

Labu kuning merupakan salah satu komoditas yang melimpah di Indonesia. Labu kuning mengandung karotenoid yang tinggi mencapai 160 mg/100 gr. Karotenoid berfungsi sebagai prekursor vitamin A dan antioksidan. Karotenoid dapat diambil melalui proses ekstraksi. Ekstraksi konvensional umumnya memakan waktu lama dan suhu tinggi yang dapat merusak karotenoid, sehingga diperlukan teknik ekstraksi yang lebih efisien, salah satunya dengan metode gelombang ultrasonik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh jenis pelarut dan lama ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik sehingga dihasilkan ekstrak karotenoid terbaik. Penelitian disusun menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 2 faktor yaitu jenis pelarut (aseton, etil asetat, n-heksan) dan lama ekstraksi (5, 15, 25 menit). Perlakuan terbaik diperoleh dari pelarut n-heksan dan lama ekstraksi 25 menit dengan total karotenoid 575.22 µg/gr, aktivitas antioksidan IC₅₀ 134.17 ppm, pH 6.51, rendemen 17.85%, kecerahan (L*) 18.13, kemerahan (a*) 13.70 dan kekuningan (b*) 13.04.

Kata Kunci: Karotenoid, Labu Kuning, Gelombang Ultrasonik

ABSTRACT

Pumpkin is one of the commodities which abundant in Indonesia. Pumpkin has contain high carotenoids until 160 mg/100 gr. Carotenoids as a precursor of vitamin A and antioxidants. Carotenoids can be taken through the extraction process. Conventional extraction generally took long time and high temperature could damage the carotenoids. Ultrasonic is one of the alternative method to extract carotenoid. The aim of research was to determine the effect of different solvent and time extraction using ultrasonic to produce the best carotenoids extract. The research was prepared using a randomized block design with 2 factors namely the type of solvent (acetone, ethyl acetate, n-hexane) and extraction time (5, 15, 25 minutes). The best treatment was obtained from n-hexane and 25 minutes time extraction with total carotenoids 575.22 µg/gr, antioxidant activity IC₅₀ 134.17 ppm, pH 6.51, yield 17.85 %, the brightness (L) 18.13, redness (a*) 13.70 and yellowness (b*) 13.04.*

Keywords: Carotenoids, Pumpkin, Ultrasonic Assisted Extraction

PENDAHULUAN

Labu kuning (*Cucurbita moschata*) merupakan jenis tanaman tahunan dari keluarga *Cucurbitaceae*. Ketersediaan labu kuning di Indonesia relatif tinggi. Hasil produksi labu kuning di Indonesia rata-rata 21 ton per hektar [1]. Labu kuning memiliki kandungan karotenoid yang tinggi mencapai 160 mg/100 gr [2]. Karotenoid merupakan pigmen warna kuning, merah dan oranye pada tumbuhan. Karotenoid dapat berfungsi sebagai prekursor vitamin A dan antioksidan. Karotenoid yang tinggi tersebut dapat dikeluarkan melalui cara ekstraksi.

Ekstraksi konvensional memiliki kelemahan yaitu membutuhkan waktu yang lama dan suhu ekstraksi yang tinggi dengan hasil ekstrak rendah namun konsumsi energi tinggi [3] sehingga diperlukan metode alternatif untuk mengekstrak karotenoid. Salah satu metode ekstraksi yang dapat digunakan untuk mengekstrak karotenoid adalah metode gelombang ultrasonik. Ultrasonik merupakan 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 [4]. Parameter terpenting dalam suatu ekstraksi diantaranya adalah jenis pelarut dan lama ekstraksi. Penelitian sebelumnya mengenai ekstraksi karotenoid diantaranya menggunakan aseton sebagai pelarut untuk mengekstrak karotenoid dari buah merah [5] n-heksan pada kelapa sawit [6] dan etil asetat pada buah pepaya [7].

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh jenis pelarut dan lama ekstraksi terhadap ekstrak karotenoid pada labu kuning (*Cucurbita moschata*) yang dihasilkan dari ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik.

BAHAN DAN METODE

Bahan

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, alkohol 96%, petroleum dan aseton dengan kemurnian p.a, HCl, NaOH dan aquades yang didapatkan dari Toko Makmur Sejati Malang. Alumina, Na₂SO₄ anhidrat, gas N₂ dan DPPH 0.2 mM dalam etanol yang didapat dari Laboratorium Biokimia dan Analisis Pangan Universitas Brawijaya.

Alat

Alat yang digunakan dalam pembuatan bubuk labu kuning meliputi pisau, *slicer*, loyang, pengering kabinet otomatis (OVG-12), blender kering (National PBL-104), ayakan 60 mesh (ATE-126, 0.250 mm), termometer, kuas dan plastik.

Alat yang digunakan dalam ekstraksi karotenoid labu kuning adalah alat ultrasonik tanduk getar (Cole Palmer/CPX 130), *glass ware* (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 (pego-m78).

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), *glass ware* (Pyrex), cawan petri, desikator, bola hisap (Merienfiel), pipet volume (HG), lampu (Philip 23 watt), termometer, rak tabung kayu, aluminium foil, kuvet dan spektrofotometer UV-Vis (Jenway 6305).

Desain Penelitian

Penelitian disusun menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 2 faktor yaitu jenis pelarut (aseton, etil asetat, n-heksan) dan lama ekstraksi (5, 15, 25 menit). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 27 satuan percobaan. Data dianalisis dengan menggunakan metode analisis ragam (*Analysis of Variant* atau ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji lanjut BNT atau DMRT dengan selang kepercayaan 5%. Pemilihan perlakuan terbaik dilakukan dengan metode *Multiple Attribut* [8].

Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian dilakukan dengan dua tahapan yaitu pembuatan bubuk labu kuning dan pembuatan ekstrak karotenoid dari labu kuning menggunakan gelombang ultrasonik.

Metode

Analisis bahan baku labu kuning segar dan bubuk meliputi analisis kadar air [9], warna [10], total karotenoid [9] dan aktivitas antioksidan IC₅₀ [11]. Analisis ekstrak karotenoid labu kuning meliputi total karotenoid [9], aktivitas antioksidan IC₅₀ [11], pH [9], rendemen [10] dan warna [10] yang meliputi tingkat kecerahan (L*), tingkat kemerahan (a*) dan tingkat kekuningan (b*). Perlakuan terbaik dicari dengan menggunakan metode *multiple attribute* [8]. Hasil perlakuan terbaik kemudian diuji stabilitasnya terhadap suhu, cahaya dan pH [12].

Prosedur Analisis

1. Analisis Kadar Air

Cawan petri dimasukkan ke dalam oven (105°C) selama 24 jam setelah itu dimasukkan ke dalam eksikator selama 0,5 jam kemudian ditimbang. Sampel yang telah dihaluskan ditimbang 2-3 gram dalam wadah yang telah diketahui berat konstannya kemudian dioven pada suhu 100°C-105°C selama 5 jam. Setelah itu didinginkan dalam deksikator selama 0.5 jam dan ditimbang beratnya. Lalu dipanaskan lagi dalam oven 30 menit kemudian dinginkan dalam deksikator dan ditimbang. Perlakuan ini diulang sampai tercapai berat konstan.

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

2. Analisis Warna

Sampel ditempatkan dalam wadah plastik bening kemudian *color reader* dihidupkan. Tombol pembacaan diatur pada L* a* b* dimana L* untuk parameter kecerahan (lightness), a* dan b* untuk koordinat kromatisitas. Warna diukur dengan menekan tombol target.

3. Analisis pH

Sampel ditempatkan pada botol kaca. 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. Analisis Rendemen

Ekstrak pekat hasil evaporasi yang telah disemprot gas nitrogen, ditimbang dalam wadah yang telah diketahui beratnya kemudian 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

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-picryllhydrazil (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-picryllhydrazil (DPPH) 0.2 mM

Sebagai pembanding hasil dari sampel dibuat kontrol dengan cara asam askorbat dilarutkan dengan etanol 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. a. Analisis Total Karotenoid

Sampel yang telah dihaluskan ditimbang 10 gram kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan 7.5 ml petroleum eter (PE) dan 7.5 ml aseton. Dishaker selama

4 jam, kemudian disaring. Filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ulangi prosedur 2 - 3 sebanyak 3 kali menggunakan residu sampel sebagai bahan. 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.

b. Menyiapkan Kolom Kromatografi

Bagian bawah kolom disumbat dengan kapas 1.5 cm. Dalam kolom melalui bagian atas diisi campuran aluminium oxide 10 cm (± 15 gr) dan natrium sulfat anhidrit setinggi 2 cm (± 3 gr). Kolom tersebut dipasang vertikal pada statif kemudian disiapkan dibagian bawah kolom sebuah labu ukur. 10 ml ekstrak pigmen dimasukkan ke dalam kolom kromatografi. Setelah ekstrak pigmen dalam kolom habis, masukkan PE: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 β -Karoten

Dibuat larutan β -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) kemudian diambil masing-masing 0, 0.2, 0.4, 0.6, 1.0 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml kosong. Masing-masing 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.

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

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Karakteristik Bahan Baku

Data analisis karakteristik bahan baku labu kuning segar dan bubuk labu kuning ditunjukkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Bahan Baku

Parameter	Labu Segar		Bubuk Labu	
	Hasil Analisis	Literatur	Hasil Analisis	Literatur
Kadar Air (%)	91.28	92.24 *	8.66	10.96 *
Tingkat Kecerahan (L*)	48.70	63.95 **	44.00	69.07 ***
Tingkat Kemerahan (a*)	31.17	10.93 **	26.67	5.20 ***
Tingkat Kekuningan (b*)	45.27	48.89 **	43.43	24.42 ***
Total Karotenoid (μ g/gr)	93.90	24.40 ****	155.24	73.00 ****
Aktivitas Antioksidan (ppm)	244.42	-	206.72	-

Sumber : *[13], **[14], ***[15], ****[16]

Tabel 1. menunjukkan bahwa hasil analisis menunjukkan perbedaan dengan literatur. Perbedaan tersebut dimungkinkan karena perbedaan metode pengeringan, suhu dan waktu yang digunakan saat proses pengeringan. Faktor yang mempengaruhi kandungan di dalam labu kuning antara lain varietas labu kuning, lokasi geografis, tingkat kematangan dan perlakuan yang diberikan [17].

2. Total Karotenoid dan Aktivitas Antioksidan IC₅₀ Ekstrak Karotenoid Labu Kuning

Hasil analisis rerata total karotenoid dan aktivitas antioksidan IC₅₀ ekstrak karotenoid labu kuning dengan metode ultrasonik akibat perlakuan jenis pelarut dan lama ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 2. Perlakuan jenis pelarut dan lama ekstraksi memberikan interaksi dan pengaruh nyata terhadap total karotenoid dan aktivitas antioksidan IC₅₀.

Tabel 2. Rerata Total Karotenoid dan Aktivitas Antioksidan IC₅₀ Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Akibat Pengaruh Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi

Jenis Pelarut	Lama Ekstraksi (menit)	Total Karotenoid (µg/gr)	Aktivitas Antioksidan IC ₅₀ (ppm)
Aseton	5	186.90 a	192.73 e
	15	240.57 b	178.88 d
	25	287.91 c	168.46 c
Etil Asetat	5	285.65 c	177.70 d
	15	338.03 d	168.46 c
	25	449.18 f	150.97 b
N-heksan	5	399.12 e	166.53 c
	15	489.28 g	146.31 b
	25	575.22 h	134.17 a
DMRT 5%		33.82-38.61	4.81-5.49

Keterangan : - Data merupakan rerata 3 Ulangan
 - Angka yang didampingi huruf sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($\alpha = 0.05$)

Tabel 2. menunjukkan bahwa ekstraksi dengan menggunakan jenis pelarut n-heksan dan lama ekstraksi 25 menit menghasilkan total karotenoid dan aktivitas antioksidan IC₅₀ tertinggi. Hal ini menunjukkan kecenderungan dimana semakin non polar pelarut dan semakin lama ekstraksi maka total karotenoid dan aktivitas antioksidan semakin meningkat ditandai dengan nilai IC₅₀ yang menurun. Hasil ini membuktikan bahwa kepolaran n-heksan mendekati kepolaran karotenoid dari pada pelarut aseton dan etil asetat. Komponen karotenoid larut dalam pelarut non polar seperti n-heksan dan petroleum eter sedangkan kelompok xantofil larut dalam pelarut polar seperti alkohol [18]. Nilai IC₅₀ yang semakin kecil menunjukkan semakin tingginya aktivitas antioksidan [19]. Ekstrak karotenoid dari n-heksan, etil asetat dan aseton termasuk mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat karena ekstrak yang memiliki nilai IC₅₀ kurang dari 200 ppm tergolong mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat [20]. Karotenoid merupakan *scavenger* yang efisien untuk radikal bebas sehingga dapat berfungsi sebagai antioksidan [21]. Pengaruh waktu dalam ekstraksi adalah semakin lama ekstraksi maka semakin banyak pula karotenoid yang terekstrak sehingga aktivitas antioksidan IC₅₀ yang dihasilkan semakin turun. 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 [22].

3. pH Ekstrak Karotenoid Labu Kuning

Hasil analisis rerata pH ekstrak karotenoid labu kuning dengan gelombang ultrasonik akibat perlakuan jenis pelarut dan lama ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 3. Perlakuan jenis pelarut dan lama ekstraksi tidak memberikan pengaruh nyata terhadap pH.

Tabel 3. menunjukkan bahwa nilai pH ekstrak karotenoid berkisar antara 6.49-6.55. pH karotenoid bersifat antara asam hingga basa (pH 2-8) dimana kestabilan pH akan berpengaruh pada warna yang dihasilkan oleh karotenoid [23] sedangkan pH labu kuning berkisar antara 5.4-6.4 [24]. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa pH yang didapat bersifat asam lemah dan mendekati pH netral. Kandungan karotenoid labu kuning sebagian besar adalah β -karoten, α -karoten dan lutein [25]. β -karoten dan lutein adalah senyawa yang tidak selabil karotenoid yang lain sehingga lebih tahan terhadap kondisi asam [26].

Tabel 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

4. Rendemen Ekstrak Karotenoid Labu Kuning

Hasil analisis rerata rendemen ekstrak karotenoid labu kuning dengan gelombang ultrasonik akibat perlakuan jenis pelarut dan lama ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 4. dan 5. Perlakuan jenis pelarut dan lama ekstraksi memberikan pengaruh nyata terhadap rendemen ekstrak karotenoid labu kuning.

Tabel 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 sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($\alpha = 0.05$)

Tabel 4. menunjukkan bahwa rerata rendemen tertinggi diperoleh pada perlakuan ekstrak karotenoid menggunakan pelarut n-heksan yaitu 15.01%. 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. Ekstraksi dengan pelarut masih berupa ekstrak kasar sehingga dalam ekstrak yang dihasilkan masih banyak senyawa-senyawa pengotor yang berpengaruh terhadap rendemen yang didapat [27].

Tabel 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 sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($\alpha = 0.05$)

Ekstraksi selama 25 menit memberikan hasil rendemen tertinggi. Hal ini dikarenakan 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. Ultrasonik memiliki kemampuan yang lebih cepat dan lebih sempurna dalam proses ekstraksi dibandingkan dengan metode

maserasi dan soxhlet. 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 [28].

5. Warna (L^* , a^* , b^*) Rendemen Ekstrak Karotenoid Labu Kuning

Nilai L^* (tingkat kecerahan) menyatakan tingkat gelap sampai terang dengan kisaran 0-100. Nilai a^* (tingkat kemerahan) menyatakan tingkat warna hijau sampai merah dengan kisaran nilai -100 sampai +100. Nilai b^* (tingkat kekuningan) menyatakan tingkat warna biru sampai kuning kisaran nilai -100 sampai +100. [29]. Rerata tingkat kecerahan (L^*), tingkat kemerahan (a^*) dan tingkat kekuningan (b^*) dapat dilihat pada Tabel 6. dan 7.

Tabel 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 sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($\alpha = 0.05$)

Gambar 4 menunjukkan bahwa labu kuning yang diekstrak menggunakan pelarut n-heksan memiliki tingkat kecerahan yang paling rendah dibandingkan aseton dan etil asetat. Hal ini dikarenakan pigmen pada ekstrak karotenoid labu kuning dengan pelarut aseton maupun etil asetat belum terekstrak sempurna sehingga menghasilkan kadar warna yang lebih cerah. Kandungan pigmen yang tinggi mempengaruhi tingkat kecerahan [30]. 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 dan lama waktu ekstraksi 25 menit 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. β -karoten merupakan pigmen alami berwarna merah, kuning atau orange [18]. Oleh karena itu semakin banyak β -karoten yang terekstrak maka kepekatannya semakin meningkat, hal ini menyebabkan intensitas warna merah (a^*) dan kuning (b^*) ekstrak β -karoten meningkat.

Tabel 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 sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($\alpha = 0.05$)

Dari Tabel 7. diketahui bahwa terjadi penurunan tingkat kecerahan ekstrak karotenoid labu kuning dengan semakin meningkatnya waktu ekstraksi. Tingkat kemerahan (a^*) dan kekuningan (b^*) ekstrak karotenoid labu kuning semakin meningkat seiring bertambahnya

waktu ekstraksi. Labu kuning mengandung >80% β -karoten [31]. β -karoten merupakan pigmen berwarna kuning-oranye, dimana semakin pekat warnanya maka pigmen karotenoid yang terkandung akan semakin tinggi. Semakin lama waktu ekstraksi maka kesempatan untuk bersentuhan makin besar sehingga hasilnya juga bertambah sampai titik jenuh larutan [32].

6. Perlakuan Terbaik

Perlakuan terbaik ditentukan dengan memberikan nilai ideal pada parameter-parameter yang diuji berdasarkan analisis *multiple attribute* [8]. Parameter yang memiliki nilai ideal maksimal diantaranya adalah total karotenoid dan aktivitas antioksidan. Perlakuan dengan jarak kerapatan maksimal terkecil merupakan perlakuan terbaik dari hasil analisis. 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°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 kontrol dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 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 IC_{50} (ppm)	134.17	182.41	32.86		*
pH	6.51	6.57	1.50		tn
Rendemen (%)	17.85	10.67	12.58	2.12	*
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 ($\alpha=0.05$)

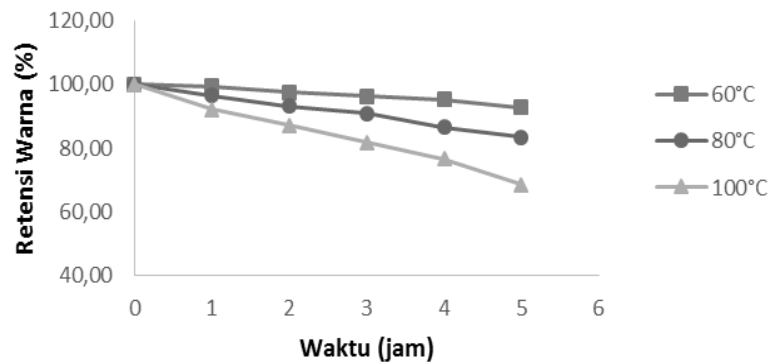
Dari Tabel 8. dapat terlihat bahwa ekstrak karotenoid hasil perlakuan terbaik memiliki nilai parameter yang lebih baik dibandingkan ekstrak karotenoid hasil ekstraksi konvensional (maserasi). Hasil statistik dengan uji t menunjukkan perbedaan yang signifikan ($\alpha=0.05$) pada semua parameter kecuali pH yang diuji antara ekstraksi dengan ultrasonik dengan ekstraksi konvensional maserasi. Hal ini membuktikan bahwa teknik ekstraksi ultrasonik dapat digunakan sebagai alternatif yang lebih baik dalam mengekstrak karotenoid dari bahan alami. Beberapa keuntungan dari metode ultrasonik adalah mempermudah proses ekstraksi, transfer masa, disruptsi sel dan meningkatkan efek penetrasi [33].

7. Uji Stabilitas Warna Ekstrak Karotenoid Terhadap Suhu

Stabilitas warna ekstrak karotenoid labu kuning terhadap suhu dilakukan dengan pemanasan ekstrak karotenoid pada suhu 60, 80 dan 100°C selama 5 jam. Grafik persentase retensi warna ekstrak karotenoid dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar 1 menunjukkan bahwa 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

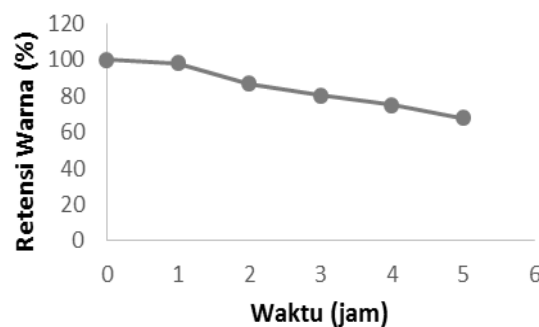
signifikan, namun pada suhu 80 dan 100°C, penurunan retensi terjadi cukup tinggi, dimana retensi terendah pada suhu 100°C selama pemanasan 5 jam mencapai 68.64%. Pemanasan sampai dengan suhu 60°C tidak mengakibatkan terjadinya dekomposisi karotenoid tetapi stereoisomer mengalami perubahan. Pengaruh suhu terhadap oksidasi pada karotenoid yaitu karotenoid belum mengalami kerusakan karena pemanasan pada suhu 60° C [34]. 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 [35].



Gambar 1. Persentase Retensi Warna Ekstrak Karotenoid Akibat Pengaruh Suhu dan Lama Pemanasan

8. Uji Stabilitas Warna Ekstrak Karotenoid Terhadap Cahaya

Stabilitas warna ekstrak karotenoid labu kuning terhadap cahaya dilakukan dengan penyinaran ekstrak karotenoid dengan lampu philip 23 watt sebanyak 4 buah selama 5 jam. Grafik persentase retensi warna ekstrak karotenoid dapat dilihat pada Gambar 2.



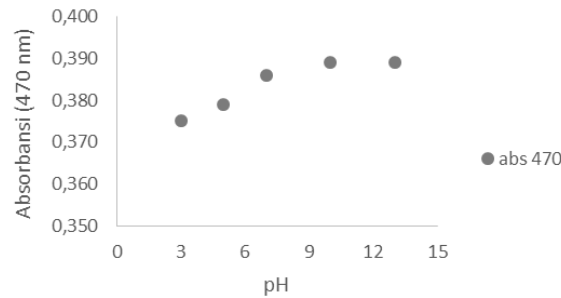
Gambar 2. Persentase Retensi Warna Ekstrak Karotenoid Akibat Pengaruh Cahaya dan Lama Penyinaran

Berdasarkan Gambar 2, 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 [26]. 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 [36].

9. Uji Stabilitas Warna Ekstrak Karotenoid Terhadap pH

Stabilitas warna ekstrak karotenoid labu kuning terhadap pH dilakukan dengan pengujian dengan beberapa titik pH yaitu pH 3, 5, 7, 10 dan 13 pada suhu ruang dan kondisi gelap. Grafik stabilitas warna ekstrak karotenoid labu kuning terhadap pengaruh pH dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Persentase Retensi Warna Ekstrak Karotenoid Akibat Pengaruh pH

Berdasarkan Gambar 3. 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. Karotenoid stabil pada pH netral, alkali namun tidak stabil pada kondisi asam, adanya udara atau oksigen, cahaya dan panas [37]. 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. Kebanyakan karotenoid stabil terhadap basa namun beberapa karotenoid seperti misalnya astaksantin dan fukosantin peka terhadap alkali [38].

SIMPULAN

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 yang tidak berbeda nyata.

Uji stabilitas karotenoid menunjukkan bahwa pada suhu 60°C karotenoid masih stabil namun pada suhu 80°C dan 100°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.

DAFTAR PUSTAKA

- 1) Badan Pusat Statistik. 2003. Statistik Pertanian 2003. BPS: Jakarta. Desember 2003
- 2) Nawirska A., A. Figiel, A. A. Kucharska, A. Z. Sokol-Letowska and A. Biesiada. 2009. Drying Kinetics and Quality Parameters of Pumpkin Slices Dehydrated Using Different Methods. *Journal of Food Engineering*, 94, 14-20
- 3) Hemwimol S., P. Pavasant and A. Shotipruk. 2006. Ultrasonic. *Sonochemistry*. 13, 543
- 4) Keil, F. J. 2007. Modeling of Process Intensification. In Alupului, A., Ioan Calinescu and Vasile

- 5) 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
- 6) 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
- 7) 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
- 8) Zeleny, M. 1982. Multiple Criteria Decision Making. Mc Graw Hill Book Company, New York
- 9) AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of The Association of Analytical Chemist. Washington D.C
- 10) Yuwono, S.S. dan T. Susanto. 1998. Pengujian Fisik Pangan. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya
- 11) 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*, α -tocopherol, BHT and BHA. J.Agric Food Chem 45 (3) : 632-638
- 12) Dimara, L., F. S. Rondonuwu dan L. Limantara. 2008. Uji fisika kimia pigmen karotenoid
- 13) Sealeaw, M and G. Schleining. 2012. A review: Crispness in dry foods and quality. International Journal of Foods Studies. October 2012. Volume 1
- 14) 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
- 15) 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 Metabisulfit ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$). *Jurnal Teknosains Pangan*. Vol 2 No 2. April 2013
- 16) 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
- 17) Sudarto, Y. 1993. Budidaya Waluh. Yogyakarta : Penerbit Kanisius
- 18) Gross, J. 1991. Pigments In Vegetables (Chlorophylls and Carotenoids). Van Nostrand Reinhold. New York. 7. 75
- 19) Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal Science of Technology* 26(2):211-219
- 20) Hanani, E. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam *Spons callispongia* Sp., dari Kepulauan Seribu, *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. II No. 3, 2005, p. 127-133
- 21) Henrikson, R. 2009. Earth Food Spirulina How this Remarkable Blue-Green Algae can Transform Your Health and Our Planet. Ronore Enterprises. Inc., Hawaii. USA
- 22) Bernasconi, G., H. Gerster, H. Hauser, H. Stauble and E. Scheneifer. 1995. *Teknologi Kimia*. Bagian 2. Penerjemah: Handjojo L dan Pradnya Paramita. Jakarta
- 23) 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
- 24) 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
- 25) Murkovic, M., U. Mulleder and H. Neunteufl. 2002. Carotenoid Content in Different Varieties of Pumpkins. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15, 633-638
- 26) 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

- 27) 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
- 28) Brennan, J.G. 2006. *Food Processing Handbook*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA Weinheim. Germany
- 29) Pomeranz, S.Y and C.E. Meloand. 1994. *Food Analysis, Theory and Practice*. The AVI Publishing Company Inc. Westport Connecticut.
- 30) 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
- 31) 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
- 32) 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.
- 33) 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
- 34) Muchtadi T.R. 1993. Karakterisasi komponen intrinsik utama buah sawit (*Elaeis guineensis, Jacq.*) dalam rangka optimalisasi proses ekstraksi minyak dan pemanfaatan provitamin A. disertasi. Institut Pertanian Bogor : Bogor
- 35) 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.
- 36) Belitz H.D., W. Grosch and P. Schieberle. 2009. *Food Chemistry*. 4th Revised and Extended ed. Springer-Verlag Heidelberg, Berlin
- 37) Legowo, A. 2005. Pengaruh Blanching terhadap Sifat Sensoris dan Kadar Provitamin Tepung Labu Kuning. Yogyakarta. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Gadjah Mada
- 38) Mortensen, A. 2006. Carotenoids and Other Pigments as Natural Colorants, *Pure Appl. Chem.*, Vol. 78, No. 8, pp. 1477–1491