

Optimasi Kondisi Ekstraksi Senyawa Total Fenolik Buah Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) Menggunakan *Response Surface Methodology*

Optimisation of Extraction Condition of Total Phenolic Compounds from Chayote (Sechium edule (Jacq.) Sw.) Using Response Surface Methodology

Idah Rosidah*, Zainuddin, Rima Mufidah, Hismiatiy Bahua, dan Muhamad Saprudin

Pusat Teknologi Farmasi dan Medika, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, Gedung 610-612 LAPTIAB, Kawasan PUSPIPTEK, Serpong, Banten 15314, Indonesia

*Korespondensi Penulis: idah.rosidahmahdi@gmail.com

Submitted: 12-11-2016, Revised: 29-05-2017, Accepted: 05-06-2017

<http://dx.doi.org/10.22435/mpk.v27i2.5706.79-88>

Abstrak

Labu siam (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) merupakan salah satu tanaman sayur yang dapat digunakan untuk obat tradisional dan memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi optimum ekstraksi buah labu siam terhadap senyawa total fenol. Metode untuk menentukan kondisi optimum menggunakan tehnik *Response Surface Methodology* (RSM). *Box-Behnken Design* (BBD) dipilih sebagai rancangan penelitian dengan tiga faktor dan tiga tingkat. Variabel bebas yang digunakan adalah waktu ekstraksi (2, 3, dan 4 jam), perbandingan simplisia-pelarut (1:5, 1:10, dan 1:15) dan konsentrasi pelarut (etanol kualitas pangan 30, 50, dan 70%), sedangkan variabel tidak bebas yang digunakan adalah kadar total fenol dan rendemen proses. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode perkolasi dan analisis kadar total fenol dilakukan dengan menggunakan ELISA reader. Simplisia yang digunakan adalah buah labu siam segar yang memiliki kadar susut pengeringan sebesar 90,47%; kadar air 93,69%; kadar abu total 0,44%; kadar abu tidak larut asam 0,02%; kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol 0,52%; dan kadar total fenol 4,75 mg EAG/g simplisia kering. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi optimum ekstraksi buah labu siam diperoleh pada waktu 2 jam, perbandingan simplisia-pelarut (1:14,35) dan konsentrasi etanol 66,22%, dengan nilai kadar total fenol 2,50 mg EAG/g ekstrak dan rendemen proses 2,20%. Kesimpulannya adalah senyawa total fenolik dalam buah labu siam telah berhasil dioptimasi menggunakan tehnik *Response Surface Methodology*. Kondisi optimum ekstraksi senyawa total fenolik buah labu siam berada pada kisaran faktor yang ditetapkan.

Kata kunci: labu siam (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.), ekstraksi, senyawa total fenol, *Response Surface Methodology*

Abstract

Chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) is one of the vegetable plants that can be used for traditional medicine and has activity as an antioxidant. The objective of the research is to know aims the optimum condition of fruit of chayote extract to total phenolic compound. The method for determining the optimum condition is by using the *Response Surface Methodology* (RSM). *Box-Behnken Design* (BBD) was selected as a research design with three factors parameters and three levels. The three variabls used are the extraction times (2, 3 and 4 hours), chayote-solvents ratio (1:5, 1:10 and 1:15) and solvent concentration (food quality ethanol 30, 50 and 70%). The total phenolic content and yield extraction were obtained as the non-dependent variables. The extraction was done by percolation method and total phenolic content was analyzed by using ELISA reader. The simplicis used is fresh fruit of chayote with dried up shrink rate of 90.47%, water content 93.69%, total ash content of 0.44%, 0.02% acid soluble ash content, 0.52% for soluble compound in water, 0.52% soluble in ethanol, and total phenol content of 4.75 mg EAG/g dry simplicia. The results showed that the optimum condition of extraction for

fresh fruit of chayote was obtained at 2 hours extraction with 1:14.35 chayote-solvent ratios and ethanol concentration 66.22% with total phenol value 2.50 mg EAG/g extract and 2.20% extraction yields. In conclusion, the total phenolic compounds of fruit chayote has been successfully optimized using the Response Surface Methodology technique. The optimum condition of total phenolic compound of fruit chayote is in the range of factors determined.

Keywords: Chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.), extraction, total phenolic content, Response Surface Methodology

Pendahuluan

Labu siam atau *Sechium edule* (Jacq.) Sw merupakan salah satu tumbuhan suku labu-labuan (*Cucurbitaceae*) yang umumnya digunakan sebagai sayuran. Labu siam mudah ditanam di mana saja, baik di dataran rendah maupun dataran tinggi dan tidak memerlukan perawatan yang rumit. Di Indonesia tanaman ini belum diusahakan secara komersil dan kebanyakan hanya sebagai tanaman pekarangan.¹ Kebanyakan orang menduga menanam buah labu siam kurang menguntungkan, padahal tanaman ini sangat berpotensi sebagai bahan obat tradisional.

Berdasarkan literatur labu siam memiliki berbagai aktivitas farmakologi diantaranya sebagai antikoolesterol, antibakteri, antihipertensi, antidiabetes, hepatoprotektor, antioksidan, antiepilepsi, dan penekan susunan saraf pusat.²⁻⁹ Labu siam mempunyai banyak kandungan zat gizi, salah satunya adalah senyawa fenolik yang bersifat antioksidan kuat. Senyawa fenolik berperan penting melindungi sel tubuh dari kerusakan radikal bebas sehingga mencegah terjadinya stres oksidatif.¹⁰ Stres oksidatif merupakan hasil ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan. Stres oksidatif dapat juga didefinisikan keadaan dimana radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) mencapai tingkat berlebih. Adanya stres oksidatif akan menyebabkan kerusakan protein, lipid, dan DNA. Stres oksidatif ini dapat menyebabkan disfungsi fisiologi, kematian sel, patologi seperti diabetes, kanker, dan penuaan.¹¹ Komponen polifenol telah terbukti memiliki efek antioksidan secara *in vivo* dan *in vitro*. Aktivitas antioksidan pada komponen polifenol berperan penting dalam mencegah berbagai masalah penyakit seperti jantung, diabetes, kanker, dan obesitas.¹² Komponen fenolik pada tanaman diketahui memiliki sifat multifungsi seperti pereduksi, penyumbang atom hidrogen sebagai antioksidan dan peredam terbentuknya singlet oksigen.¹³

Banyak penelitian telah melaporkan bahwa kandungan fenolik pada tanaman

berhubungan dengan aktivitas antioksidan. Penelitian Wu *et al.*³ membuktikan bahwa ekstrak etanol buah labu siam berpotensi untuk dikembangkan sebagai makan sehat dalam pencegahan dan penanggulangan perlemakan hati dengan kandungan total fenol 17,74%. Aini *et al.*¹⁴ membuktikan juga bahwa ekstrak etanol buah labu siam mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 191,55 bpj dan kadar total fenol 0,78%. Penelitian Findrianny *et al.*¹⁰ membuktikan bahwa labu siam memiliki aktivitas antioksidan dengan kandungan total fenol dalam daun, buah, dan tangkai bunga labu siam sebesar 0,88 – 3,21g EAG/100g dengan nilai IC₅₀ < 50 bpj.

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair. Proses ekstraksi secara umum dapat dilakukan dengan cara maserasi, perkolasi, refluks, ekstraksi dengan alat soxhlet, digesti, infusa dan dekok.¹⁵ Mutu ekstrak dalam proses ekstraksi dipengaruhi oleh teknik ekstraksi, waktu ekstraksi, temperatur, jenis pelarut, konsentrasi pelarut, dan perbandingan bahan-pelarut. Perkolasi merupakan proses ekstraksi yang umum digunakan di industri dan dipengaruhi oleh waktu dan perbandingan bahan-pelarut.¹⁶ Waktu atau lamanya proses ekstraksi menentukan kandungan senyawa yang keluar dari bahan. Begitu juga perbandingan bahan-pelarut, jumlah ekstrak yang terlibat dalam perpindahan menentukan tingkat perbedaan konsentrasi yang sangat penting dalam proses difusi yang akan mempengaruhi kandungan senyawa. Oleh karena proses ekstraksi dipengaruhi oleh berbagai faktor maka penelitian mengenai optimasi ekstraksi buah labu siam ini perlu dilakukan.

Untuk mendapatkan kondisi optimum ekstraksi buah labu siam dapat dilakukan dengan menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) atau metode respons permukaan. RSM merupakan kumpulan dari teknik matematika dan statistik yang digunakan untuk modeling dan

menganalisis masalah, dimana beberapa variabel mempengaruhi sebuah respons, tujuannya untuk mengoptimalkan respons tersebut.¹⁷ Keuntungan menggunakan metode RSM yaitu lebih cepat dan informatif dibanding dengan pendekatan satu variabel klasik atau desain faktorial lengkap.¹⁸ Dengan metode RSM dapat diketahui bagaimana kombinasi kondisi proses ekstraksi yang baik untuk mendapatkan kadar total fenol yang optimal. Selain itu dengan metode RSM dapat mengetahui pengaruh interaksi antar variabel. Pada penelitian ini ekstraksi buah labu siam dilakukan dengan metode perkolasi menggunakan tiga faktorial yaitu waktu ekstraksi, perbandingan atau nisbah simplisia-pelarut, dan konsentrasi pelarut.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kondisi optimum ekstraksi buah labu siam terhadap kadar senyawa total fenol menggunakan metode RSM. Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan pertimbangan dalam ekstraksi buah labu siam sebagai bahan baku obat tradisional.

Metode

Bahan uji yang digunakan buah labu siam segar yang diperoleh dari pasar Serpong, Tangerang Selatan, Banten. Bahan kimia yang digunakan etanol kualitas pangan (Multi Jaya Kimia, Indonesia), asam galat standar (Sigma, Jerman), *reagen Folin Ciocalteu* (Sigma, Jerman), sodium karbonat (Sigma, Jerman), dan metanol (Merck, Jerman).

Alat berupa neraca analitik (Radwag, Polandia), serangkaian perkolator skala 2,5 L, *vortex* (Heidolph, Jerman), *moisture balance* (Precisa HA60, Swiss), Karl-Fisher Moisture Titration MKS-520 (KEM, Japan), *ELISA reader* (Thermo Multiscan Ascent, Finland), mikropipet (Biorad, USA), tungku pembakaran (Thermolyne, USA), *microplate 96 well* (Biologix, USA), incubator shaker (Innova 43 incubator shaker, USA).

Desain penelitian dilakukan dengan menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM). *Box-Behnken Design* (BBD) dipilih sebagai rancangan dengan tiga faktor dan tiga tingkat (*levels*). Variabel bebas atau faktor yang digunakan pada proses ekstraksi yaitu waktu ekstraksi ($X_1 = 2, 3, \text{ dan } 4 \text{ jam}$), nisbah simplisia-pelarut ($X_2 = 1:5, 1:10, \text{ dan } 1:15$) dan konsentrasi etanol kualitas pangan ($X_3 = 30, 50, \text{ dan } 70\%$). Sedangkan variabel tidak bebas atau respons yang diamati berupa rendemen proses dan kadar total fenol.

Sebelum dilakukan ekstraksi, simplisia buah labu siam terlebih dahulu dideterminasi dan dikarakterisasi untuk melihat mutu simplisia yang akan digunakan. Determinasi dilakukan di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong, Jawa Barat. Pengujian simplisia meliputi penentuan organoleptik, kadar susut pengeringan, kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air dan etanol mengikuti prosedur Farmakope Herbal Indonesia.¹⁹

Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode perkolasi menurut standar prosedur Departemen Kesehatan Republik Indonesia.¹⁵ Perlakuan bahan baku meliputi penyortiran, pencucian, dan pemotongan buah labu siam berbentuk dadu dengan kisaran ukuran 2x2 cm. Timbang simplisia buah labu siam sebanyak 1 kg, masukkan ke dalam perkolator, dan tambahkan etanol kualitas pangan dengan cara mengalirkan pelarut ke dalam tumpukan simplisia. Rendam simplisia selama 15 menit dan sirkulasi dengan kecepatan 120 mL per menit. Proses ekstraksi 2 jam (perendaman 15 menit dan sirkulasi 105 menit), proses ekstraksi 3 jam (perendaman 15 menit dan sirkulasi 75 menit, diulang dua kali), dan proses ekstraksi 4 jam (perendaman 15 menit dan sirkulasi 105 menit, diulang dua kali). Setelah proses ekstraksi selesai, ekstrak cair diuapkan menggunakan penguap berputar pada suhu 50°C dan tekanan 100-60 mBar hingga diperoleh ekstrak kental. Proses penguapan diberhentikan ketika sudah tidak ada destilat yang menetes.

Penentuan kadar total fenol dilakukan menurut Rosidah *et al.*²⁰ yang dimodifikasi. Pengukuran kadar total fenol ekstrak buah labu siam dilakukan dengan menggunakan alat *ELISA reader*. Ekstrak buah labu siam ditimbang secara seksama 10 mg dan dilarutkan dalam 1 mL metanol p.a kemudian disonikasi hingga larut dan disentrifugase. Masukkan 20 μL larutan ekstrak dan 75 μL pereaksi Folin Ciocalteu ke dalam sumuran *microplate*, goyangkan hingga homogen dan diamkan pada suhu kamar selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 75 μL larutan natrium karbonat 6% dan didiamkan pada suhu kamar selama 90 menit. Selanjutnya larutan campuran reaksi diukur absorbansi dengan *ELISA reader* pada panjang gelombang 725 nm. Absorbansi yang diperoleh kemudian digunakan untuk menghitung kadar total fenol dalam ekstrak dengan menggunakan persamaan linier yang diperoleh dari kurva kalibrasi. Kurva kalibrasi

dibuat dengan cara ditimbang sejumlah tertentu asam galat standar kemudian dilarutkan dalam metanol p.a hingga diperoleh konsentrasi 25, 50, 100, 150 dan 200 bpj. Total fenol yang diperoleh dinyatakan sebagai Ekvivalen Asam Galat (EAG) dalam mg per g ekstrak (mg EAG/g ekstrak). Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik dengan menggunakan perangkat lunak MINITAB release.¹⁷

Hasil

Identifikasi/determinasi simplisia sudah dilakukan oleh Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa simplisia yang digunakan untuk penelitian adalah buah labu siam, *Sechium edule* (Jacq.) Sw, suku

Cucurbitaceae.

Simplisia buah labu siam secara makroskopis berupa buah segar, berwarna hijau hingga hijau kekuningan, permukaan berlekuk, dan beralur-alur membujur. Hasil pengujian simplisia buah labu siam yang digunakan memiliki kadar susut pengeringan 90,47%, kadar air 93,69%, kadar abu total 0,44%, kadar abu tidak larut asam 0,02%, kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol masing-masing 0,52% dan kadar total fenol 4,75 mg EAG/g simplisia kering. Karakteristik dan kandungan senyawa kimia dalam simplisia dan ekstrak buah labu siam belum tercantum dalam buku Farmakope Herbal Indonesia. Hasil pengujian simplisia buah labu siam dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengujian Simplisia Buah Labu Siam

Parameter	Hasil
Nama simplisia	Labu siam
Nama latin	<i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw.
Bagian tanaman yang digunakan	Buah
Pemerian	Berupa buah segar, berwarna hijau hingga hijau kekuningan, permukaan berlekuk dan beralur-alur membujur
Kadar susut pengeringan	90,47%
Kadar air	93,69%
Kadar abu total	0,44%
Kadar abu tidak larut asam	0,02%
Kadar sari larut air	0,52%
Kadar sari larut etanol	0,52%
Kadar total fenol	4,75 mg EAG/g simplisia kering

Tabel 2. Desain Penelitian dan Hasil Respon Pengukuran Ekstrak Buah Labu Siam

No.	X ₁	X ₂	X ₃	Waktu (jam)	Nisbah simplisia-pelarut	Etanol (%)	Rendemen proses (%)	Kadar total fenol (mg EAG/g ekstrak)
1	-1	-1	0	2	1:5	50	2,19	0,98
2	-1	0	-1	2	1:10	30	1,80	1,18
3	-1	0	1	2	1:10	70	2,09	1,17
4	-1	1	0	2	1:15	50	2,01	1,99
5	0	-1	-1	3	1:5	30	1,92	1,29
6	0	-1	1	3	1:5	70	1,79	2,26
7	0	0	0	3	1:10	50	1,40	1,08
8	0	1	-1	3	1:15	30	1,90	1,14
9	0	1	1	3	1:15	70	1,78	2,85
10	0	0	0	3	1:10	50	1,94	0,58
11	0	0	0	3	1:10	50	1,33	0,72
12	1	-1	0	4	1:5	50	2,40	2,78
13	1	0	-1	4	1:10	30	1,53	2,09
14	1	0	1	4	1:10	70	0,99	2,08
15	1	1	0	4	1:15	50	2,12	1,34

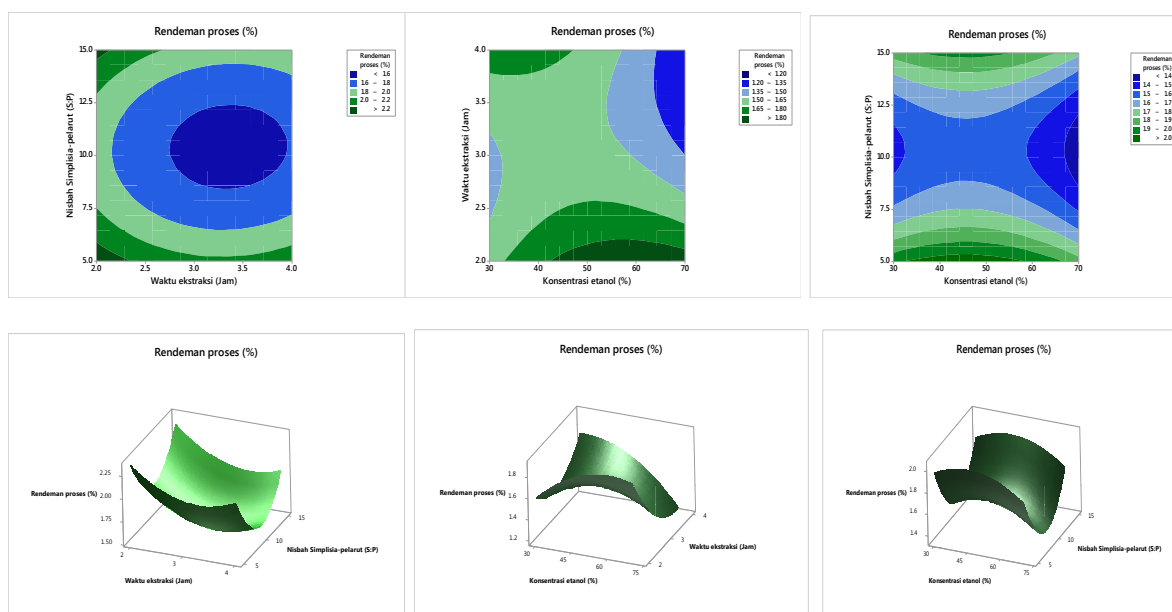
Keterangan: X₁ = waktu ekstraksi (jam), X₂ = nisbah simplisia-pelarut, X₃ = konsentrasi etanol (%)

Hasil ekstraksi dan pengujian buah labu siam pada berbagai kondisi waktu ekstraksi, nisbah simplisia-pelarut dan konsentrasi etanol disajikan pada Tabel 2. Dari data Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai rendemen proses ekstraksi tertinggi (2,40%) diperoleh pada waktu 4 jam, nisbah simplisia-pelarut 1:5 dengan menggunakan pelarut etanol 50%. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa nilai rendemen proses tidak ada perbedaan yang signifikan untuk semua faktor dengan nilai *F-value* dan *P-value* lebih dari 0,05. Nilai koefisien determinasi (R_2) pada model ini diperoleh 68,17%.

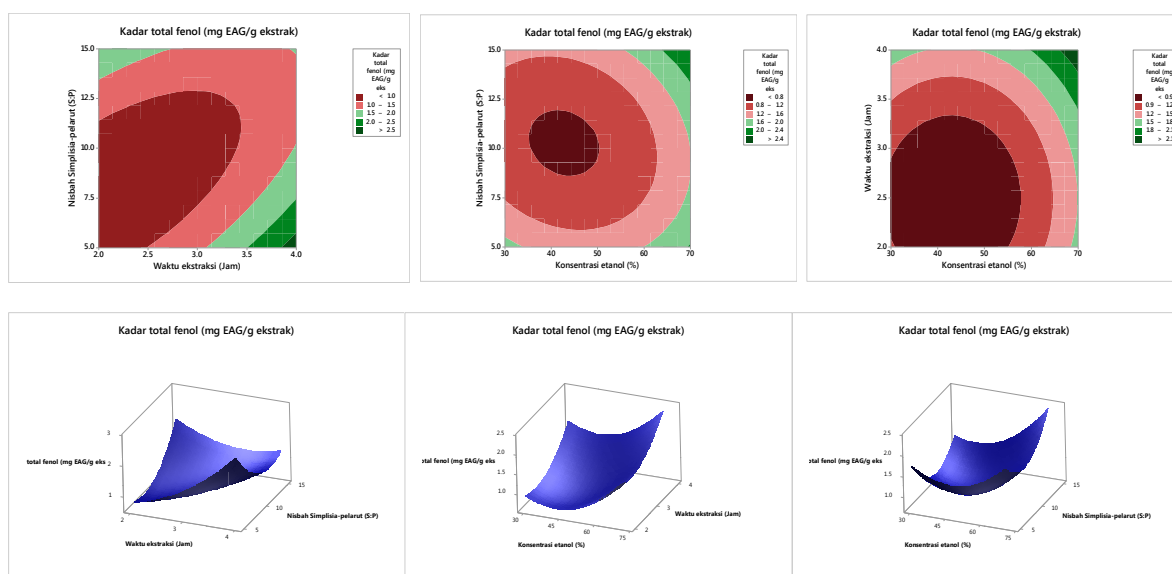
Sementara itu, nilai kadar total fenol tertinggi ekstrak (2,85mg EAG/gr ekstrak)

diperoleh pada kondisi 3 jam, nisbah simplisia-pelarut (1:15) menggunakan etanol 70%. Hasil kadar total fenol pada berbagai waktu, nisbah simplisia-pelarut dan konsentrasi etanol menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dengan *F-value* dan *P-value* lebih dari 0,05. Nilai koefisien determinasi (R_2) diperoleh sebesar 83,47%.

Selanjutnya hasil data pengukuran dilakukan analisis statistik dengan menggunakan bantuan program MINITAB ver.17. Hasil respon plot kontur dan respon permukaan untuk rendemen proses dan kadar total fenol ekstrak buah labu siam dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Grafik Plot kontur dan Respons Permukaan Rendemen Proses Ekstrak Buah Labu Siam



Gambar 2. Grafik Plot Kontur dan Respon Permukaan Kadar Total Fenol Ekstrak Buah Labu Siam

Hasil persamaan regresi berdasarkan data percobaan dan model matematika dari data rendemen proses dan kadar total fenol dapat dilihat pada Tabel 3, dimana Y = respon (rendemen proses atau kadar total fenol), X_1 = waktu ekstraksi, X_2 = nisbah simplisia -pelarut dan X_3 = waktu ekstraksi. Untuk mengetahui signifikansi dari masing-masing faktor dilakukan analisis statistik dengan menggunakan ANOVA seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4 dan 5.

Pada Tabel 4, ditunjukkan koefisien regresi pada rendemen proses tidak ada perbedaan signifikan untuk masing-masing faktor kecuali pada persamaan interaksi antara waktu ekstraksi dan nisbah simplisia-pelarut (X_1X_2) dengan nilai p -value = 0,05. Nilai p dan T digunakan untuk mengetahui signifikan atau tidaknya masing-masing faktor. Semakin kecil nilai p , semakin signifikan harga koefisiennya, dan semakin berperan terhadap hasil yang diperoleh. Sementara itu, berdasarkan hasil

persamaan pada Tabel 5 linier, kuadratik dan interaksi menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan untuk semua faktor dengan nilai F -value dan P -value lebih dari 0,05. Nilai harga koefisien determinasi (R^2) dan koefisien determinasi *adjust* (R^2 *adjust*) pada model persamaan diperoleh masing-masing sebesar 68,17% dan 10,89%.

Hasil koefisien regresi pada kadar total fenol menunjukkan adanya perbedaan signifikan untuk waktu ekstraksi (X_1) dan interaksi nisbah simplisia-pelarut dengan konsentrasi etanol (X_2X_3), p -value 0,03 ($p < 0,05$). Nilai koefisien regresi kadar total fenol ditunjukkan pada Tabel 4. Namun, hasil analisa persamaan linier, kuadratik, dan interaksi menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dengan F -value dan p -value lebih dari 0,05. Nilai harga koefisien determinasi (R^2) dan koefisien determinasi *adjust* (R^2 *adjust*) pada model diperoleh masing-masing sebesar 83,47% dan 53,56%.

Table 3. Persamaan Regresi Rancangan Faktorial

Respon	Persamaan regresi
Rendemen proses (%)	$Y = 3,08 - 0,70X_1 - 0,34X_2 + 0,06X_3 + 0,18X_1^2 + 0,02X_2^2 - 0,0003X_3^2 - 0,005X_1X_2 - 0,01X_1X_3 + 0,00003X_2X_3$
Kadar total fenol (mg EAG/gr ekstrak)	$Y = 4,79 - 0,58X_1 - 0,218X_2 - 0,12X_3 + 0,36X_1^2 + 0,02X_2^2 + 0,001X_3^2 - 0,12X_1X_2 + 0,00X_1X_3 + 0,001X_2X_3$

Tabel 4. Hasil Koefisien Regresi dan Standar Error

	Koefisien	Standar Error	T -value	P -value
Rendemen proses				
Intersep	0,79	0,28	2,81	0,04
X_1	0,37	0,17	2,15	0,08
X_2	0,00	0,17	0,01	1,00
X_3	0,33	0,17	1,92	0,11
X_1X_1	0,36	0,25	1,42	0,21
X_2X_2	0,62	0,25	2,43	0,06
X_3X_3	0,48	0,25	1,87	0,12
X_1X_2	-0,61	0,24	-2,51	0,05
X_1X_3	0,00	0,24	0,00	1,00
X_2X_3	0,19	0,24	0,76	0,48
Kadar total fenol				
Intersep	41,35	5,62	7,35	0,00
X_1	10,69	3,44	3,11	0,03
X_2	4,38	3,44	1,27	0,26
X_3	-5,93	3,44	-1,72	0,15
X_1X_1	11,86	5,07	2,34	0,07
X_2X_2	4,04	5,07	0,80	0,46
X_3X_3	8,51	5,07	1,68	0,15
X_1X_2	-11,42	4,87	-2,35	0,07
X_1X_3	2,99	4,87	0,61	0,57
X_2X_3	15,08	4,87	3,10	0,03

Tabel 5. Hasil Analisis ANOVA

	<i>Sum of square</i>	<i>Degree of freedom</i>	<i>Mean square</i>	<i>F-value</i>	<i>P-value</i>
Rendemen proses					
<i>Model</i>	1,29	9	0,14	1,19	0,45
<i>Linier</i>	0,20	3	0,07	0,55	0,67
<i>Square</i>	0,92	3	0,31	2,54	0,17
<i>Interaction</i>	0,17	3	0,06	0,48	0,71
<i>Residual error</i>	0,60	14	0,13		
<i>Lack-of-fit</i>	0,38		0,13	1,14	0,49
<i>Pure error</i>	0,22		0,11		
<i>Total</i>	1,89				
<i>R²</i>	68,17%				
<i>R² adjusted</i>	10,89%				
Kadar total fenol					
<i>Model</i>	6,01	9	0,67	2,79	0,14
<i>Linier</i>	1,99	3	0,66	2,77	0,15
<i>Square</i>	2,38	3	0,79	3,33	0,11
<i>Interaction</i>	1,64	3	0,55	2,28	0,19
<i>Residual error</i>	1,20	14	0,24		
<i>Lack-of-fit</i>	1,06		0,35	5,32	0,16
<i>Pure error</i>	0,13		0,07		
<i>Total</i>	7,20				
<i>R²</i>	83,47%				
<i>R² adjusted</i>	53,56%				

Tabel 6. Kondisi Optimum Ekstraksi Buah Labu Siam Berdasarkan Target

Respon	Hasil pengukuran terendah	Nilai target	Hasil pengukuran tertinggi
Kadar total fenol (mg EAG/g ekstrak)	0,58	2,50	2,85
Rendemen proses (%)	0,99	2,20	2,40
Variabel	Nilai prediksi		
Waktu ekstraksi (jam)	2		
Nisbah simplisia-pelarut (S:P)	1:14,35		
Konsentrasi etanol (%)	66,22		

Setelah dilakukan analisis statistik menggunakan ANOVA selanjutnya dilakukan analisis *response optimization* untuk mendapatkan kondisi optimum ekstraksi buah labu siam. Hasil kondisi optimum ekstraksi dilakukan berdasarkan prediksi target pada rentang nilai hasil pengukuran dapat dilihat pada Tabel 6. Pada Tabel 6 ditunjukkan bahwa kondisi optimum diperoleh pada waktu ekstraksi 2 jam, nisbah simplisia-pelarut (1:14,35) dan konsentrasi etanol kualitas pangan 66,22%, dengan nilai kadar total fenol 2,50mg EAG/g ekstrak dan rendemen proses 2,20%.

Pembahasan

Hasil pengujian simplisia buah labu siam ditunjukkan pada Tabel 1. Determinasi perlu dilakukan untuk mengetahui jenis simplisia yang akan digunakan pada penelitian. Hasil determinasi menunjukkan bahwa simplisia yang

digunakan adalah jenis *Sechium edule* (Jacq.) Sw dan suku *Cucurbitaceae*.

Penetapan kadar susut pengeringan simplisia buah labu siam bertujuan untuk mengetahui batas maksimal tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Susut pengeringan simplisia buah labu siam sebesar 90,47%. Hasil susut pengeringan menunjukkan bahwa sisa bahan yang mudah menguap/atsiri dalam simplisia buah labu siam maksimal 90,47%.

Kadar air simplisia buah labu siam sebesar 93,69%. Penentuan kadar air ditetapkan untuk menjaga kualitas simplisia yang digunakan. Pada penelitian ini simplisia yang digunakan berupa buah segar sehingga belum ada ketentuan batas persyaratannya.

Penetapan kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral yang terdapat dalam simplisia buah labu siam. Kadar

abu total diperoleh sebesar 0,44% dan kadar abu tidak larut asam sebesar 0,02%. Hasil ini menunjukkan bahwa dalam simplisia buah labu siam memiliki sisa anorganik sebesar 0,44% dan sisa anorganik yang tidak larut asam sebesar 0,02%.

Kadar sari larut air dan etanol dari simplisia buah labu siam diperoleh masing-masing sebesar 0,52%. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah simplisia yang dapat tersari dalam air dan etanol masing-masing sebesar 0,52%. Hasil ini menunjukkan bahwa simplisia buah labu siam memiliki kelarutan yang sama dalam pelarut air dan etanol.

Penetapan kadar senyawa marker dalam simplisia buah labu siam dilakukan terhadap kandungan senyawa polifenol/total fenol dengan menggunakan standar asam galat. Pada penetapan kadar total fenol, simplisia buah labu siam dihitung terhadap bobot kering buah labu siam. Kadar total fenol simplisia buah labu siam diperoleh sebesar 4,75 mg EAG/g simplisia kering. Penelitian kadar total fenol dalam buah labu siam hingga saat ini dilakukan terhadap bentuk ekstrak, sedangkan terhadap simplisia buah labu siam masih belum diketahui. Penelitian yang dilakukan oleh Aini *et al.*¹⁴, kadar total fenol dalam ekstrak etanol buah labu siam diperoleh sebesar 0,78%. Penelitian Fidrianny *et al.*²¹ tentang evaluasi aktivitas antioksidan dalam ekstrak buah labu siam dari beberapa lokasi (Lembang, Semarang, dan Malang) diperoleh kadar total fenol sebesar 1,43; 1,41 dan 1,93 g EGA/100 g ekstrak secara berturut-turut.

Pada penelitian ini dipelajari tiga faktor utama yang mempengaruhi ekstraksi buah labu siam yaitu waktu ekstraksi, nisbah simplisia-pelarut, dan konsentrasi etanol. Setiap faktor mempunyai tiga tingkat kode yaitu -1, 0, dan 1. Kode 0 mewakili level di setiap faktor yang memiliki nilai pengamatan mendekati titik optimum, sedangkan -1 dan 1 mewakili level di setiap faktor yang memiliki nilai pengamatan di bawah dan di atas titik optimum. Berdasarkan kode nilai masing-masing faktor, dilakukan optimasi kondisi ekstraksi kadar total fenolik menggunakan RSM. Pengaruh kondisi ekstraksi terhadap hasil rendemen proses dan kadar total fenol dapat dilihat pada Tabel 2.

Perhitungan perolehan ekstrak atau rendemen proses merupakan faktor penting untuk mengetahui keefektifan proses ekstraksi. Efektifitas ekstraksi dapat dipengaruhi berbagai faktor yaitu jumlah simplisia yang digunakan,

ukuran partikel simplisia, jenis pelarut, cara, dan lamanya waktu proses penyarian. Nilai rendemen proses diperoleh dengan membandingkan berat ekstrak yang diperoleh dengan jumlah simplisia yang digunakan pada proses ekstraksi. Hasil rendemen proses ekstrak buah labu siam pada berbagai variasi perlakuan berkisar 0,99-2,40%. Nilai rendemen proses ekstrak yang kecil dikarenakan bahan baku yang digunakan berupa simplisia buah segar dengan kadar susut pengeringan 90,47%. Gambar 1 menunjukkan bahwa rendemen proses ekstrak buah labu siam dipengaruhi oleh waktu ekstraksi, nisbah simplisia-pelarut, dan konsentrasi etanol yang digunakan. Semakin pendek waktu ekstraksi maka nilai rendemen proses semakin besar, tetapi pada waktu 4 jam rendemen proses mengalami peningkatan kembali. Demikian pula dengan nisbah simplisia-pelarut, semakin kecil nisbah simplisia-pelarut (1:5), rendemen proses semakin besar dan mengalami peningkatan kembali pada nisbah simplisia-pelarut (1:15). Hal ini mungkin disebabkan semakin lama buah labu siam kontak dengan pelarut, maka semakin banyak senyawa yang terlepas dari dinding sel dan menyebabkan rendemen proses semakin meningkat. Sementara itu, semakin tinggi konsentrasi etanol yang digunakan maka rendemen proses yang dihasilkan juga semakin meningkat. Hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi etanol maka semakin rendah tingkat kepolaran pelarut yang digunakan, yang pada akhirnya dapat meningkatkan kemampuan pelarut dalam menyari senyawa dalam buah labu siam.

Pada Tabel 2, hasil pengukuran kadar total fenol pada berbagai kondisi ekstraksi diperoleh 0,58-2,85 mg EAG/gram ekstrak. Hasil pengukuran kadar total fenol dalam berbagai kondisi ekstraksi meningkat secara jelas dengan meningkatkan waktu ekstraksi dan nisbah simplisia-pelarut seperti yang disajikan pada Gambar 2. Hal ini mungkin disebabkan semakin lama waktu ekstraksi dan semakin besar nisbah simplisia-pelarut akan menyebabkan kelarutan senyawa fenolik dalam pelarut semakin besar, sehingga kadar total fenol akan meningkat. Begitu juga hasil interaksi antara jumlah konsentrasi pelarut dan waktu ekstraksi memberi pengaruh yang baik terhadap kadar total fenol. Jumlah kadar total fenol dalam ekstrak buah labu siam meningkat dengan meningkatnya konsentrasi pelarut. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Do *et al.*²² menyatakan kadar total fenol dari hasil ekstraksi *Limnophila aromatic*

menggunakan etanol meningkat dengan semakin meningkatnya konsentrasi etanol. Hasil kadar total fenol dalam ekstrak etanol *L.aromatic* 50% (30,30 mg EAG/g ekstrak), ekstrak 70% (30,60 mg EAG/g ekstrak) dan etanol 100% (40,50 mg EAG/g ekstrak). Pada penelitian Sun *et al.*,²³ kadar total fenol ekstrak propolis meningkat dengan semakin meningkatnya konsentrasi etanol. Kadar total fenol dalam ekstrak etanol propolis 0,25; 50; dan 75% masing-masing sebesar 6,68; 15,79; 149,90 dan 164,20 mg EAG/g propolis. Dengan demikian kadar total fenol ekstrak buah labu siam dipengaruhi oleh waktu ekstraksi, nisbah simplisia-pelarut dan konsentrasi etanol.

Analisis *response optimization* bertujuan untuk mendapatkan kondisi optimum senyawa total fenolik buah labu siam. Penentuan kondisi optimum ekstraksi buah labu siam dilakukan berdasarkan prediksi target pada rentang nilai hasil pengukuran. Tabel 6 menunjukkan bahwa hasil prediksi target rendemen proses 2,2% dan kadar total fenol 2,5 mg EAG/g ekstrak diperoleh pada waktu 2 jam, nisbah simplisia-pelarut (1:14,35), dan konsentrasi pelarut 66,22%. Berdasarkan hasil prediksi target, kondisi optimum ekstraksi senyawa total fenolik buah labu siam berada pada kisaran faktor yang ditetapkan.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat diambil kesimpulan, kondisi optimum ekstraksi senyawa total fenolik buah labu siam menggunakan RSM diperoleh pada waktu ekstraksi 2 jam, nisbah simplisia-pelarut (1:14,35), dan konsentrasi etanol kualitas pangan 66,22% dengan nilai kadar total fenol 2,50 mg EAG/g ekstrak dan rendemen proses 2,20%. Buah labu siam memiliki kandungan senyawa total fenolik sehingga dapat dipertimbangkan sebagai salah satu sumber bahan baku obat tradisional di samping sebagai tanaman sayuran.

Saran

Perlu dilakukan validasi proses ekstraksi buah labu siam untuk mendapatkan kadar senyawa total fenolik yang optimum menggunakan metode perkolasi dengan waktu ekstraksi 2 jam, nisbah simplisia-pelarut (1:14,35), dan pelarut etanol kualitas pangan 66,22%.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Kementerian Riset dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia

atas dukungan dana penelitian melalui Program Insentif Riset Sistem Inovasi Nasional.

Daftar Pustaka

1. Daryono ED. Ekstraksi pektin dari labu siam. *Jurnal Teknik Kimia*. 2012;7 (1): 22-25.
2. Agustini K, Azizahwati, Marlina S. Pengaruh lama pemberian formula ekstrak buah labu siam (*Sechium edule*) terhadap penurunan kadar kolesterol total dan trigliserida tikus putih jantan. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. 2007;6(2):60-64.
3. Wu CH, Ou TT, Chang CH, Chang CH, Yang MY, Wang CJ. The polyphenol extract from *Sechium edule* shoots inhibits lipogenesis and stimulates lipolysis via activation of AMPK signals in HepG2 cells. *Journal Agriculture and Food Chemistry*. 2014;62:750-759.
4. Sibi G, Kaushik K, Dhananjaya K, Ravikumar KR, Mallesha H. Antibacterial activity of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz against gram negative food borne bacteria. *Advances in Applied Science Research*. 2013;4(2):259-261.
5. Lombardo-Earl G, et al. Extracts and fractions from edible roots of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. with antihypertensive activity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2014;1-9.
6. Firdous SM, Sravanthi K, Debnath R, Neeraja KA. Protective effect of ethanolic extract and its ethylacetate and n-butanol fractions of *Sechium edule* fruits against carbon tetrachloride induced hepatic injury in rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2011;4(1):354-359
7. Firdous SM, Ahmed S, Dey S. Antiepileptic and central nervous system depressant activity of *Sechium edule* fruit extract. *Bangladesh J Pharmacol*. 2012;7:199-20.
8. Maity S, Firdous SM, Debnath R. Evaluation of antidiabetic activity of ethanolic Extract of *Sechium edule* fruits in alloxan-induced diabetic rats. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2013;2(5):3612-3621.
9. Lukiati B, Siti IM, Nugrahaningsih. Potensi ekstrak etanol labu siam (*Sechium edule*) untuk perbaikan kerusakan sel beta pankreas dan kadar nitrogen oksida pada tikus yang mengalami diabetes mellitus. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 2016;10(1):24-27
10. Fidrianny I, Ayu D, Hartati R. Antioxidant

- capacities, phenolic, flavonoid and carotenoid content of various polarities extracts from three organs of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 2015;7(5):914-920
11. Monroy M, Mejia C. Oxidative stress in diabetes mellitus and the role of vitamins with antioxidant actions. Intech. 2013;9:209-231.
 12. Hyuan TK, Kim HC, Ko YJ, Kim JS. Antioxidant, α -glucosidase inhibitory and anti-inflammatory effects of aerial parts extract from Korean Crowberry (*Empetrum nigrum* var. japonicum). Saudi Journal of Biological Sciences. 2015; xxx: xxx-xxx
 13. Aberoumand A, Deeokul SS. Comparison of phenolic compounds of some edible plants of Iran and India. Pakistan Journal of Nutrition. 2008;7(4):582-585
 14. Aini K, Betty L, Balqis. Skrining fitokimia dan penentuan aktivitas antioksidan serta kandungan total fenol ekstrak buah labu siam (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.). [cited 2016 November 3]. Available from: <http://jurnal-online.um.ac.id/data/artikel/artikel13E84514B696622D-0D08DF9E3D231C0D3.pdf>.
 15. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Jakarta: Departemen Kesehatan; 2000.
 16. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and extraction: a review. Internationale Pharmaceutica Sciencia. 2011;(1):98-106
 17. Montgomery DC. Desain and analysis of experiments. 8th ed. New York: Jhon wiley&Sons, Inc. 2013. p.478-543.
 18. Singh B, Harish KS, Bhavesh CS. Optimization of extraction of antioxidants from wheat bran (*Triticum* spp.) using response surface methodology. J Food Sci Technol. 2012;49(3):294–308
 19. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Herbal Indonesia. Jakarta: Departemen Kesehatan; 2008.
 20. Rosidah I, Hismiayati B, Rima M, Olivia BP. Pengaruh kondisi proses ekstraksi batang brotowali (*Tinospora crispa* (L) Hook.f & Thomson) terhadap aktifitas hambatan enzim alfa glucosidase. Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2015;24(4):203-210.
 21. Fidrianny I, Kevin, Hartati R. Evaluation of antioxidant activities of fruit extracts of chayote (*Sechium edule* [Jacq.] Swartz) grown in different sites in Java - Indonesia. Asian J Pharm Clin Res. 2016;9(4):270-275.
 22. Do QD et al. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. Journal Food and Analysis. 2014;22:296-302.
 23. Sun C, Wu Z, Wang Z, Zhang H. Effect of ethanol/water solvents on phenolic profiles and antioxidant properties of Beijing propolis extracts. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2015;1-9.