

SKRIPSI

ANALISIS FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BISKUIT BIJI LABU KUNING (*Curcubita sp.*) SEBAGAI SNACK SEHAT

ANISA ISHAK
K211 16 703



*Skripsi Ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Ilmu Gizi*

**PROGRAM STUDI ILMU GIZI
FAKULTAS KESEHATAN MASYARAKAT
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2018**



PERNYATAAN PERSETUJUAN

Skripsi ini telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Ujian Skripsi dan disetujui untuk diperbanyak sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Gizi pada Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Hasanuddin Makassar.

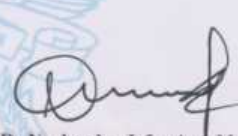
Makassar, 10 Agustus 2018


Tim Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II


Dr. Aminuddin Syam, SKM, M.Kes., M.Med.Ed
NIP. 19670617 199903 1 001


Dr. Nurhaedar Jafar, Apt., M.Kes
NIP. 19641231 199002 2 001


Mengetahui,
Ketua Program Studi Ilmu Gizi
Fakultas Kesehatan Masyarakat
Universitas Hasanuddin


Dr. dr. Citrakusumasari, M.Kes., Sp.GK
NIP. 19630318 199202 2 001



PENGESAHAN TIM PENGUJI

Skripsi ini telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Ujian Skripsi Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Hasanuddin Makassar pada hari Jumat, tanggal 10 Agustus 2018.

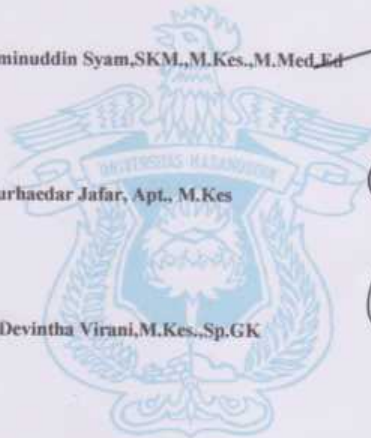
Ketua : Dr. Aminuddin Syam, SKM., M.Kes., M.Med.Ed (.....)

Sekretaris : Dr. Nurhaedar Jafar, Apt., M.Kes

Anggota : 1. dr. Devintha Virani, M.Kes., Sp.GK

2. Andi Imam Arundhana, S.Gz., MPH

3. Dr.rer.nat. Zainal, STP., M.Food.Tech



SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Anisa Ishak
NIM : K211 16 703
Fakultas/Prodi : Kesehatan Masyarakat/ Ilmu Gizi
HP : 08114204371
e-mail : anisaishak611@yahoo.com

Dengan ini menyatakan bahwa judul artikel "**Analisis Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Biskuit Biji Labu Kuning (*Cucurbita sp.*) sebagai *Snack Sehat***" benar bebas dari plagiat dan apabila pernyataan ini terbukti tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan yang berlaku.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 10 Agustus 2018

Yang membuat pernyataan



Anisa Ishak



RINGKASAN

Universitas Hasanuddin
Fakultas Kesehatan Masyarakat
Program Studi Ilmu Gizi

Anisa Ishak (K211 16 703)

**Analisis Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Biskuit Biji Labu Kuning
(*Curcubita sp.*) Sebagai *Snack* Sehat
(xiii + 69 + 11 Tabel + 2 Gambar + 8 Lampiran)**

Camilan sehat mulai banyak menjadi pembicaraan, karena masyarakat mulai menyadari akan pentingnya kualitas makanan yang dikonsumsi untuk menjaga kesehatan. Indonesia kaya akan berbagai jenis sumber daya alam hayati seperti labu kuning yang pemanfaatannya masih terbatas. Kandungan gizi biji labu kuning cukup tinggi dibuktikan dengan beberapa penelitian bahwa zat aktif biji labu kuning dapat mencegah dan mengobati berbagai penyakit degeneratif. Namun pemanfaatannya yang masih kurang sehingga dibutuhkan penelitian untuk mengembangkannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan biskuit berbasis tepung biji labu kuning.

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif observatif. Dalam penelitian ini digunakan satu formula produk, yaitu formula terpilih (F1) dari uji organoleptik sebelumnya. Konsentrasi tepung terigu 80% dan tepung biji labu kuning 20%. F1 diekstraksi dengan metode maserasi (perendaman) kemudian dianalisis senyawa fitokimianya secara kualitatif (uji warna senyawa flavonoid dan fenol), setelah itu dianalisis secara kuantitatif (uji kadar flavonoid total dan fenol total), dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).

Hasil penelitian menunjukkan F1 positif mengandung senyawa fitokimia yaitu, flavonoid dan fenol. Kadar flavonoid total 0,466 mg QE/g ekstrak (memenuhi 3,21% kebutuhan flavonoid total laki-laki dan 2,28% untuk perempuan) dan kadar fenol total 0,422 mg GAE/g ekstrak (memenuhi 7,03% kebutuhan fenol total laki-laki dan 2,79% untuk perempuan). Sedangkan untuk uji aktivitas antioksidan 35,36%.

Disimpulkan bahwa formula terpilih biskuit biji labu kuning merupakan *snack* sehat jika dilihat dari aktivitas antioksidannya yang tergolong sedang. Perlu diadakan penelitian lanjutan dengan parameter tambahan untuk identifikasi jenis senyawa golongan flavonoid dan fenol.

Buku Referensi : 74 (1984-2017)

Subjek: Fitokimia, antioksidan, biji labu kuning.



KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Kuasa, atas kasih dan penyertaannya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul: “**Analisis Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Biskuit Biji Labu Kuning (*Curcubita sp.*) Sebagai Snack Sehat**”. Penulisan skripsi ini diajukan untuk memenuhi persyaratan dalam menempuh ujian Program Strata-1 pada Jurusan Ilmu Gizi Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis sangat menyadari di dalam penulisan ini masih terdapat kekurangan-kekurangan yang disebabkan oleh keterbatasan dan kemampuan penulis. Oleh karena itu dengan segala kerendahan hati penulis ingin berterima kasih sebesar-besarnya dan memberikan penghargaan setinggi-tingginya kepada pihak-pihak terkait.

1. Ibu saya terkasih, Dina, semua kakak dan adik saya yang senantiasa memberikan dukungan dan doa yang tulus dengan penuh kasih sayang tak henti-hentinya dipanjatkan.
2. Dr. dr. Citrakesumasari, M.Kes.,Sp.GK selaku ketua program studi Ilmu Gizi Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Hasanuddin.
3. Dr. Healthy Hidayanty, SKM.,M.Kes selaku pembimbing akademik yang telah membimbing dari awal hingga akhir semester.

4. Dr. Aminuddin Syam, SKM.,M.Kes.,M.Med.Ed, Ibu Dr. Nurhaedar, Apt.,M.Kes selaku pembimbing I dan Pembimbing II yang telah angkan waktunya untuk membimbing penulis.



5. Ibu dr. Devintha Virani, M.Kes.,Sp.GK selaku penguji I, bapak Andi Iman Arundhana, S.Gz.,MPH selaku penguji II, dan Bapak Dr.rer.nat. Zainal, STP.,M.Food.Tech selaku penguji III yang telah memberikan saran dan masukan dalam penulisan skripsi ini.
6. Seluruh staf prodi ilmu gizi khususnya ibu Yessi Kurniati dan akademik yang telah banyak membantu kami dalam hal keperluan administrasi.
7. Teman-teman seangkatan Tubel Ilmu Gizi 2016, terimakasih atas kebersamaan dalam perbedaan yang telah terjalin, semoga tidak pernah memudar.
8. Tim Biji Labu Kuning yang sudah sama-sama berjuang dari awal (Ian, Anti, Atma dan Indra).
9. Teman-teman seperjuangan di Toraja Utara, Selvi dan Gian, *The Ladys* di Pangli (Kak Ita, Oppol, dan Lady) terimakasih untuk dukungan doa dan persahabatan yang tulus.
10. Semua pihak yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung penulis mengucapkan banyak terimakasih.

Untuk *Holy Spirit* sumber segala ilham selama penulisan skripsi ini, sumber pengetahuan utama, sumber inspirasi, sumber semangat, sumber sukacita, sumber kekuatan, kepada Dia, Yesus dan Allah Bapa di Surga. Harapan penulis, skripsi ini dapat bermanfaat bagi masyarakat, baik dari segi Pendidikan maupun dari segi kesehatan. Terimakasih.

Makassar, Agustus 2018

Anisa Ishak



DAFTAR ISI

SAMPUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT	iv
RINGKASAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR GRAFIK.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	6
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tinjauan Umum Labu Kuning.....	9
B. Tinjauan Umum tentang <i>Snack</i>	12
C. Bahan Tambahan Pembuatan Biskuit.....	14
D. Tinjauan Umum Keamanan Pangan	18
E. Tinjauan Umum Daya Terima Produk	19



F. Pengertian Masa Simpan	20
G. Tinjauan Umum Fitokimia	21
H. Kerangka Teori	35
BAB III KERANGKA KONSEP	
A. Kerangka Konse.....	36
B. Definisi Operasional	36
BAB IV METODE PENELITIAN	
A. Jenis Penelitian	38
B. Lokasi Penelitian	39
C. Instrumen Penelitian	39
D. Populasi dan Sampel.....	40
E. Tahapan Penelitian.....	40
F. Diagram Alur Penelitian	46
G. Pengumpulan Data.....	48
H. Pengolahan dan Analisis Data	48
I. Penyajian Data.....	48
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Penelitian.....	49
B. Pembahasan	54
BAB VI PENUTUP	
A. Kesimpulan.....	69
an	69

R PUSTAKA
AN



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Kandungan Gizi Bubuk Biji Labu Kuning	12
Tabel 2.2	Hasil Analisis Senyawa Fitokimia Biji Labu Kuning	12
Tabel 2.3	Syarat Mutu Makanan Ringan	13
Tabel 2.4	Komposisi Kimia Biskuit per 100 g.....	14
Tabel 2.5	Standar Nasional Indonesia Tepung Terigu Berdasarkan SNI 01-375-2006	15
Tabel 2.6	Klasifikasi Fitokimia dan Efek Utama Fitokimia	21
Tabel 4.1	Bahan yang Digunakan dalam Proses Pembuatan Biskuit.....	41
Tabel 5.1	Hasil Uji Fitokimia Biskuit Biji Labu Kuning.....	50
Tabel 5.2	Kadar Flavonoid Total	51
Tabel 5.3	Kadar Fenol Total	53
Tabel 5.4	Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Biskuit Biji Labu Kuning	53
Tabel 5.5	Perbandingan Flavonoid Total/ g Ekstrak.....	59
Tabel 5.6	Perbandingan Aktivitas Antioksidan	63



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1	Morfologi Biji Kering Labu Kuning	10
Gambar 5.1	Biskuit BLK (Formula 1)	50



DAFTAR GRAFIK

Grafik 5.1	Kurva Standar Asam Galat pada Uji Total Flavonoid	51
Grafik 5.2	Kurva Standar Asam Galat pada Uji Total Fenol	52



DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Hasil Perhitungan %Daya Hambat DPPH
- Lampiran 2. Hasil Pengukuran Kurva Baku untuk Penetapan Kandungan Flavonoid Total
- Lampiran 3. Hasil Pengukuran Kurva Baku untuk Penetapan Kandungan Fenol Total
- Lampiran 4. Foto Kegiatan
- Lampiran 5. Surat Ijin Penelitian di Laboratorium Terpadu Peternakan
- Lampiran 6. Surat Ijin Penelitian di Laboratorium Kimia Organik
- Lampiran 7. Hasil Analisis Bahan Uji Aktivitas Antioksidan
- Lampiran 8. Daftar Riwayat Hidup



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia adalah negara dengan tingkat konsumsi camilan yang tinggi. Seiring berjalannya waktu, pola pikir masyarakat mulai berubah bahwa konsumsi pangan bukan hanya terasa enak dan hanya berfungsi untuk mengenyangkan tubuh saja, tetapi konsumsi pangan juga harus memberikan efek kesehatan bagi tubuh. Sehingga camilan, atau yang lumrah disebut *snack* yang sehat mulai dicari oleh masyarakat (LISA, 2016).

Camilan atau *snack* adalah makanan ringan yang dikonsumsi diantara waktu makan utama. Camilan disukai oleh anak-anak dan orang dewasa, yang umumnya dikonsumsi kurang lebih 2-3 jam diantara waktu makan utama, yaitu pada pukul 10 pagi dan pukul 4 sore. Camilan sehat mulai banyak menjadi pembicaraan, karena masyarakat mulai menyadari akan pentingnya kualitas makanan yang dikonsumsi untuk menjaga kesehatan (Adi et al., 2016).

Menurut Setiavani (2015), camilan sehat adalah makanan selingan yang dapat memenuhi 3B-A yaitu beragam, bergizi, berimbang dan aman serta memiliki kandungan gizi seperti karbohidrat, lemak, protein, serat dan kalori yang cukup. Camilan sehat merupakan makanan ringan yang dapat menghilangkan rasa lapar seseorang sementara waktu dan jika dikonsumsi

memberikan efek positif bagi kesehatan, aman dan tidak berbahaya bagi n (Adi et al., 2016).



Masyarakat Indonesia memiliki kebiasaan tidak bisa berhenti ngemil. Kebiasaan tersebut menjadi peluang bisnis bagi industri camilan untuk memproduksi berbagai jenis camilan. Produk camilan makin membanjiri pasar dengan pilihan yang semakin beragam, dari berbasis tepung terigu, tepung kedelai, coklat, buah, dan kacang-kacangan (Trisnawati et al., 2014).

Indonesia kaya sumber daya alam hayati maupun non hayati. Salah satu sumber daya alam hayati yang melimpah adalah tumbuhan. Walaupun, cukup banyak jenis tumbuhan yang telah dimanfaatkan sebagai sumber pangan yang kaya gizi dan mempunyai komponen bioaktif yang baik, namun masih lebih banyak yang belum termanfaatkan secara maksimal, salah satunya adalah biji labu kuning.

Pemilihan bahan baku yang tepat dapat meningkatkan kandungan gizi dan komponen bioaktif produk. Pemilihan bahan baku didasarkan pada ketersediaan dan kandungan zat gizinya. Labu kuning merupakan bahan pangan lokal yang ketersediaannya berlimpah dan memiliki kandungan gizi lengkap, seperti karbohidrat, protein, lemak, mineral dan vitamin, sumber serat pangan dan antioksidan. Pemanfaatan bijinya di Indonesia masih terbatas pada produksi kuaci biji labu sedangkan biji labu kuning ternyata mengandung senyawa fenolik yang dapat menjadi sumber antioksidan. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Primawati, diperoleh kadar fenolik total dan aktivitas antioksidan pada biji labu kuning berturut-turut sebesar 3,9489 mg

galat/g sampel dan 47,011% (Primawati, 2007).



Biji labu juga digunakan sebagai anti inflamasi dan kardioprotektif. Kegunaan labu kuning di Indonesia masih sebatas daging buah yang dapat diolah menjadi panganan seperti kue basah, kolak dan sayur berkuah. Sedangkan untuk pemanfaatan biji waluh kurang maksimal, hanya sebatas kuaci waluh (Hargono, 1999).

Hal senada yang dilakukan oleh Pabesak dkk (Delahaut and Newenhouse) penelitian tentang aktivitas antioksidan dan fenolik total pada tempe dengan penambahan biji labu kuning (*Cucurbita moschata ex Poir*) didapatkan semakin meningkat seiring bertambahnya presentase serbuk biji labu kuning yang ditambahkan aktivitas antioksidan pada tempe dengan penambahan biji labu kuning (*Cucurbita moschata ex Poir*) sebanyak 0-10% mengalami peningkatan dari $85,82 \pm 5,24\%$ hingga $91,55 \pm 1,50\%$. Selain itu kadar fenolik totalnya mengalami peningkatan pula, yaitu dari $2,75 \pm 1,18$ g/5g hingga $3,75 \pm 0,69$ g/5g (Pabesak et al., 2013).

Biji labu kuning (*Curcubita moschata*) mengandung senyawa alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid, flavonoid, fenolik, kukurbitasin, lesitin, resin, stearin, senyawa fitosterol, asam lemak, squalen, β -tokoferol, tirosol, asam vanilat, vanillin, luteolin dan asam sinapat. Senyawa-senyawa tersebut dapat berefek antioksidan dan antibakteri (Patel, 2013).

Senyawa fenolik merupakan senyawa bahan alam yang cukup luas penggunaannya saat ini. Kemampuannya sebagai senyawa biologik aktif

berikan suatu peran yang besar terhadap kepentingan manusia. Salah satunya sebagai antioksidan untuk pencegahan dan pengobatan penyakit



degeneratif, kanker, penuaan dini dan gangguan sistem imun tubuh (Alfian and Susanti, 2013).

Flavonoid hampir terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk buah, biji, akar, daun dan kulit luar batang. Sejumlah tanaman obat yang mengandung flavonoid telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi, dan antikanker (Miller, 1996).

Mengingat pentingnya fungsi senyawa fenolik dan flavonoid maka penelitian kadar fenolik dan flavonoid total yang terkandung dalam biji perlu dilakukan. Dengan demikian pemanfaatan biji labu kuning dapat lebih maksimal untuk dijadikan sebagai alternatif pangan fungsional seperti *snack* sehat yang dapat bermanfaat bagi kesehatan.

Berdasarkan studi *in silico* dan *in vivo* yang dilakukan oleh Lestari dkk (2014), bahwa efek estrogenik biji labu kuning dapat digunakan sebagai sumber fitoestrogen yang terbukti memodulasi profil lipid darah secara parsial dan meningkatkan densitas tulang secara signifikan (Lestari et al., 2014).

Selain itu, biji labu kuning telah lama diaplikasikan sebagai antihelmintik dalam pengobatan tradisional oleh masyarakat Cina dan suku Indian di Amerika Utara (Adams et al. 2008). Penelitian ilmiah terhadap efek biji labu kuning sebagai antihelmintik telah beberapa kali dilakukan, baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Efek antihelmintik biji labu kuning

asal dari kandungan zat aktifnya, yaitu tanin (GANESTYA et al., 2012).



Biskuit merupakan makanan yang cukup populer dikalangan masyarakat. Biskuit merupakan makanan praktis karena dapat dimakan kapan saja, biskuit juga memiliki daya simpan yang relatif lama. Berbagai jenis biskuit telah dikembangkan untuk menghasilkan biskuit yang tidak hanya enak tapi juga menyehatkan (Wibowo, 2016). Biskuit disukai banyak orang karena mudah dikonsumsi dalam bentuk makanan panggang dengan potongan kecil yang memiliki tekstur yang kering dan renyah. Biskuit akan lebih diminati apabila memiliki suatu kelebihan. Salah satunya adalah memiliki aktivitas antioksidan.

Penambahan zat-zat gizi makanan merupakan strategi dan suatu solusi bagi pemanfaatan suatu bahan tambahan makanan yang ditujukan pada masyarakat secara umum atau ditujukan pada segmen yang spesifik dari suatu konsumen. Berdasarkan uraian diatas maka perlu dilakukan penelitian diversifikasi pangan berupa pembuatan produk biskuit dengan bahan dasar dari tepung biji labu kuning (*Curcubita sp.*).

Tanaman merupakan salah satu sumber berbagai jenis senyawa-senyawa kimia yang memiliki khasiat. Kandungan senyawa kimia yang ada dalam tanaman disebut dengan fitokimia (Pradhan et al., 2013). Untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dalam tanaman dilakukan analisis fitokimia. Pada penelitian ini dilakukan identifikasi senyawa fitokimia dan aktifitas antioksidan pada biskuit berbasis tepung biji labu kuning (*Curcubita*

Skrining fitokimia perlu dilakukan untuk mencirikan senyawa aktif yang



mungkin berperan dalam kemampuan yang ditunjukkan oleh ekstrak tanaman (Harborne, 2006).

Studi ini penting untuk dilakukan karena mendukung capaian renstra dan peta jalan penelitian Universitas Hasanuddin (Unhas). Unhas sendiri tengah mengembangkan keunggulan melalui kajian terhadap bahan-bahan alami yang berpotensi menjadi obat-obatan ataupun pangan fungsional yang dapat mencegah ataupun mengobati penyakit menular dan tidak menular.

Penelitian ini merupakan bagian dari Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi oleh Dr. Aminuddin Syam, SKM.,M.Kes.,M.Med.Ed dengan judul penelitian “Pengembangan Biji Labu Kuning (*Curcubita Moschata Durch*) Sebagai *Snack* Sehat Untuk Mengatasi Defisiensi Zink Pada Anak Sekolah”.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang sudah disusun, maka perumusan masalah yang dapat ditarik, yaitu bagaimana hasil analisis senyawa fitokimia dan aktivitas penghambatan radikal bebas biskuit berbasis tepung biji labu kuning (*Curcubita sp.*) sebagai *snack* sehat.

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui analisis senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan biskuit berbasis tepung biji labu kuning (*Curcubita sp.*) sebagai *snack* sehat.



2. Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui kadar flavonoid total biskuit berbasis tepung biji labu kuning (*Curcubita sp.*) melalui uji fitokimia
- b. Untuk mengetahui kadar fenol total biskuit berbasis tepung biji labu kuning (*Curcubita sp.*) melalui uji fitokimia
- c. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan biskuit berbasis tepung biji labu kuning (*Curcubita sp.*)

D. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Manfaat Ilmiah

Hasil penelitian ini secara teoritis diharapkan memberi kontribusi dan pengetahuan khususnya tentang pemanfaatan bahan pangan sebagai pangan fungsional dalam bentuk diversifikasi pangan *snack* sehat sehingga dapat menjadi acuan dalam penentuan kebijakan program gizi dalam pemanfaatan bahan.

2. Manfaat Institusi

Hasil dari penelitian ini diharapkan menjadi salah satu informasi penting bagi civitas akademika FKM Unhas untuk melakukan pengkajian dan penelitian berkelanjutan mengenai keamanan bahan pangan.

3. Manfaat Praktis

Hasil dari penelitian ini secara praktis dapat digunakan sebagai bahan referensi bagi khalayak dan sebagai bahan informasi kepada peneliti



lainnya dalam penyusunan suatu karya ilmiah dan pengaplikasian ilmu pengetahuan yang diperoleh yang terkait dengan penelitian ini.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Labu Kuning (*Curcubita Moschata* *Durch*)

1. Sistematika Tanaman

Labu kuning (*Cucurbita moschata* *Durch*) termasuk dalam famili *Cucurbitaceae*. Labu kuning memiliki karakteristik pertumbuhan batang yang bercabang dan menjalar. Hampir seluruh tubuhnya dilingkupi oleh bulu halus yang tajam. Ciri morfologi *C. moschata* secara umum antara lain memiliki sistem perakaran tunggang, batangnya *herbaceus* dan berongga dengan sisi-sisi menyudut membentuk segi tiga, daun berlobus lima dengan variasi ornamen warna permukaan hijau polos hingga hijau bertotol putih, bunga monoceous uniseksual berwarna kuning (Delahaut and Newenhouse, 1997); (Agbagwa and Ndukwu, 2004).

Buah labu kuning merupakan jenis tanaman menjalar dari famili *cucurbitaceae* yang banyak tumbuh di Indonesia. Buah labu kuning berbentuk pipih, lonjong, atau panjang dengan banyak alur (15-20 alur) dan mempunyai bobot rata-rata 3-5 kg. Adapun taksonomi dari tumbuhan labu kuning adalah sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Cucurbitales
Familia	: Cucurbitaceae



Genus : *Curcubita*
 Spesies : *Curcubita Moschata* Duch.



Gambar 1.1 Morfologi biji kering labu kuning (Hutapea and Syamsuhidayat, 1993)

2. Komposisi Zat Gizi Labu Kuning

Biji labu kuning memiliki kandungan yang berkhasiat seperti asam amino, Zn (seng), Mg (magnesium), asam lemak utama (linoleat, oleat, palmitat, dan stearat), vitamin E (tokoferol), karetenoid, sterol, kriptoxantin, sesquit terpenoid monosiklik dan inhibitor tripsin yang dapat menghambat peroksida yang berubah menjadi radikal bebas dan mampu mengoksidasi asam lemak tidak jenuh dalam membran sel (Kim et al., 2012).

Kandungan zat gizi biji labu kuning (*Cucurbita moschata*) meliputi fitokimia (fitosterol), vitamin (vitamin C, vitamin E dan beta karoten) dan mineral (magnesium, selenium dan zink) yang dapat menurunkan perkolesterolemia (Abuelgassim and Al-Showayman, 2012).

Biji labu kering mengandung protein 58,8% dan lemak 9,8%. Namun, nilai protein *lysine* hanya 65% dibandingkan dengan



standar protein FAO/WHO. Biji labu mengandung sejumlah *linoleic* (berat kering 92 $\mu\text{g/g}$ kering) dan unsur-unsur berikut ($\mu\text{g/g}$): kalium (5,790), magnesium (5,690), mangan (49,3), seng (113) , selenium (1,29), tembaga (15,4), kromium (2,84), dan molibdenum (0,81), namun jumlah kalsium dan zat besi rendah. Kecuali untuk kalium (5.573 $\mu\text{g/g}$ berat kering) dan kromium (2,88 $\mu\text{g/g}$ berat kering) (Glew et al., 2006).

Biji labu kuning diketahui mengandung senyawa *secoisolariciresinol* dan *lariciresinol* yaitu senyawa golongan lignan (Sicilia et al., 2003). Lignan merupakan salah satu golongan fitoestrogen.

Selain itu, biji labu kuning juga mengandung serat yang bermanfaat untuk menghambat absorpsi kolesterol di usus sehingga berpotensi menurunkan kadar kolesterol total (Elinge et al., 2012).

Ekstrak labu kuning (*Cucurbita moschata*) dan bubuk bijinya dapat memperbaiki selislet pankreas dan produksi insulin (Makni et al., 2010). Hasil penelitian menunjukkan bahwa biji labu kuning mengandung senyawa alkaloid, triterpenoid, steroid, dan fenol hidrokuinon. Ekstrak etil asetat biji labu kuning berefek antioksidan dalam meredam radikal bebas DPPH dengan nilai IC50 sebesar 453,35 $\mu\text{g/ml}$. Selain itu, ekstrak etil asetat biji labu kuning dapat menghambat bakteri (RUSTINA, 2016).



Tabel 2.1 Kandungan gizi bubuk biji labu kuning

Parameter	Bubuk Biji Labu Kuning Rataan±SD
Kadar air (%)	2,54±0,02
Kadar abu (%)	3,21±0,16
Protein (%)	36,47±0,48
Lemak (%)	51,01±0,28
Karbohidrat (%)	6,77±1,33
Serat kasar (%)	4,43±0,59
Total Karoten (ppm)	Td
Kromium (ppb)	491,33*
Total gula (%)	1,15*

*Hasil analisis: (El-Adawy and Taha, 2001); td: tidak dianalisis.

Tabel 2.2 Hasil Analisis Senyawa Fitokimia Biji Labu Kuning (*Curcubita sp.*)

Menurut Kim et al (2012) konsentrasi (g/kg berat mentah)	Menurut USDA National Nutrient Database (per 100 g) dalam Patel (2013)	Menurut Sitti Fara dkk (2014)	Menurut Rustina dan Sri (2016)
1. α -Tocopherol 25,74±0,73	1. β -Carotene 9 μ g	1. Steroid	1. Steroid
2. γ -Tocopherol 66,85±4,90	2. β -Cryptoxanthin 1 μ g	2. Alkaloid	2. Alkaloid
3. β -Carotene 7,15±1,50	3. Lutein-zeaxanthin 74 μ g	3. Flavonoid	3. Triterpenoid
		4. Tanin	4. Fenol hidrokuinon

Sumber: (Kim et al., 2012), (Patel, 2013), (Sitti Fara Diba Hamid, 2014), (RUSTINA, 2016)

B. Tinjauan Umum Tentang *Snack* (Biskuit)

1. Pengertian *Snack*

Makanan atau dikenal dengan sebutan *snack food* adalah makanan yang dikonsumsi selain atau antara waktu makan utama dalam sehari. *Snack* yang berarti sesuatu yang dapat mengatasi kelaparan dan memberikan suplai energi yang cukup untuk tubuh (Purwanti, 2005).

Makanan ringan merupakan bagian yang tidak dapat ditinggalkan dalam kehidupan sehari-hari, terutama pada kalangan anak-anak dan remaja. Harper (1981) menyatakan makanan ringan dibedakan menjadi



dua macam berdasarkan bahan dasarnya. Kelompok yang pertama adalah menggunakan bahan baku utama seperti produk ekstrusi dari jagung dan kemudian ditambah garam dan bumbu penyedap. Kelompok yang kedua, yaitu yang memakai campuran dari beberapa sumber pati seperti campuran jagung dan beras, bahkan dicampur dengan kedelai, kacang hijau, dan lain-lain. Kalsium dan fosfor dapat ditambahkan dalam pembuatan *snack* untuk meningkatkan kandungan gizi (Matz, 1984).

Syarat dan mutu makanan ringan menurut Badan Standarisasi Nasional 01-6630-2002 dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 2.3 Syarat Mutu Makanan Ringan

No.	Kriteria	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
1.1	Tekstur	-	Normal/dapat diterima
1.2	Aroma	-	Normal/dapat diterima
1.3	Rasa	-	Normal/dapat diterima
1.4	Warna	-	Normal/dapat diterima
2	Benda asing	-	Tidak boleh ada
3	Kadar air	%	Maksimal 7,0
4	Kadar protein	%	Maksimal 5,0

*) Badan Standarisasi Nasional Indonesia 01-6630-2002

2. Pengertian Biskuit

Biskuit adalah produk yang diperoleh dengan memanggang adonan yang berasal dari tepung terigu dengan penambahan makanan lain dan dengan atau penambahan bahan tambahan pangan yang diijinkan. Biskuit diklasifikasikan dalam empat jenis yaitu biskuit keras, *crackers*, *cookies* dan *wafer* (Badan Perencanaan Pembangunan Nasional, 2011).

Biskuit merupakan produk pangan praktis karena dapat dimakan kapan saja dan dengan pengemasan yang tepat selama penyimpanan dapat



memperpanjang masa simpan biskuit hingga mencapai lebih dari enam bulan (Kusnandar, 2006).

Tabel 2.4 Komposisi Kimia Biskuit per 100 g

Analisa Komposisi	Nilai Gizi
Protein (g)	10-17
Lemak (g)	4-12
Karbohidrat (g)	50-60
Mineral (g)	1-5
Air (g)	4-6
Energi (Kcal)	350-430

Sumber: Daftar Komposisi Bahan Makanan Gizi Depkes RI 1972

C. Bahan Tambahan dalam Pembuatan Biskuit

a. Tepung Terigu

Tepung terigu merupakan bahan dasar utama dalam segala jenis roti, kue kering, mie, biskuit, dan *spaghetti* serta mempunyai peranan yang penting dan beragam bergantung pada sifat turunannya, kondisi tumbuh dan pemanenan. Nilai gizi makanan asal gandum ini tergantung pada susunan kimia tepung murni pada bahan dasarnya (Karmas and Harris, 2012).

Bahan pokok dalam pembuatan biskuit adalah tepung terigu. Dipasaran saat ini paling tidak ada 3 macam produk tepung terigu yaitu tepung terigu A (kandungan proteinnya 11-13%), tepung terigu B (kandungan proteinnya 9-11%), dan tepung terigu C (kandungan proteinnya 7-9%). Selama pengolahan biskuit menggunakan 100% tepung terigu. Perlu dikaji bahan baku yang digunakan untuk biskuit tidak hanya berasal dari tepung terigu saja, melainkan disubstitusikan (Rukmana, 1997).



Tabel 2.5 Standar Nasional Indonesia Tepung Terigu berdasarkan SNI 01-375-2006

No.	Jenis Uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
1.1	Bentuk	-	Serbuk
1.2	Bau	-	Normal (bebas bau asing)
1.3	Warna	-	Putih,khas terigu
2	Benda asing	-	Tidak ada
3	Serangga dalam semua bentuk stadia dan potongan-potongannya yang tampak	-	Tidak ada
4	Kehalusan, lolos ayakan 212 μm No. 70 (b/b)	%	Min 95
5	Kadar air (b/b)	%	Max 14,5
6	Kadar abu (b/b)	%	Max 0,6
7	Kadar peotein (b/b)	%	Min 7,0
8	Keasaman	mg KOH/100 g	Max 50
9	<i>Falling number</i> (atas dasar kadar air 14%)	detik	Min 300
10	Besi (Fe)	mg/kg	Min 50
11	Seng (Zn)	mg/kg	Min 30
12	Vitamin B1 (thiamin)	mg/kg	Min 2,5
13	Vitamin B12 (riboflavin)	mg/kg	Min 4
14	Asam folat	mg/kg	Min 2
15	Cemaran logam		
15.1	Timbal (Pb)	mg/kg	Max 1,00
15.2	Raksa (Hg)	mg/kg	Max 0,05
15.3	Tembaga (Cu)	mg/kg	Max 10
16	Cemaran arsen	mg/kg	Max 0,50
17	Cemaran mikroba		
17.1	Angka Lempeng Total	Koloni/g	Max 10^6
17.2	<i>E.Coli</i>	APM/g	Max 10
17.3	Kapang	Koloni/g	Max 10^4

Sumber: (Badan Standarisasi Nasional, 2002)

b. Telur

Telur yang dipakai pada pembuatan kue kering bisa kuning telur, putih telur atau keduanya. Kue yang menggunakan kuning telur saja akan lebih empuk, sebaliknya bila menggunakan putih telur untuk



memberi kelembaban, nilai gizi sekaligus membangun struktur kue. Telur juga sering dipakai untuk memoles dan untuk mengkilatkan kue. (Igfhar, 2012).

c. Gula

Gula merupakan senyawa organik yang penting sebagai bahan makanan, karena gula di dalam tubuh sebagai sumber kalori. Disamping sebagai bahan makanan, gula digunakan pula sebagai bahan pengawet makanan, bahan baku alkohol, dan pencampur obat-obatan. Gula merupakan senyawa kimia yang termasuk karbohidrat, memiliki rasa manis dan larut dalam air (Igfhar, 2012).

d. *Baking Powder*

Baking powder adalah bahan pengembang yang dipakai untuk meningkatkan volume dan memperingan tekstur makanan yang dipanggang seperti *muffin*, bolu, *scone*, dan biskuit. Bahan pengembang yang biasa digunakan dalam biskuit adalah *baking powder* dan amonium bikarbonat. *Baking powder* adalah campuran sodium bikarbonat (NaHCO_3) dan asam, seperti sitrat atau tartarat. *Baking powder* dalam pembuatan biskuit berfungsi dalam pembentukan volume, mengatur aroma, mengontrol penyebaran dan hasil produksi menjadi ringan (Hui, YH, 1992).

e. Margarin

Adapun margarin terbuat dari minyak tumbuh-tumbuhan yang dihidrogenasi. Dalam prosesnya, akan terjadi perubahan struktur



beberapa *polyunsaturated fatty acids* (asam lemak tak jenuh) menjadi *transfatty acids*. Lemak jenis *trans fatty acids* memiliki karakter serupa dengan lemak jenuh atau *saturated fats*. Asam lemak trans ini kerap dikaitkan dengan resiko tekanan darah tinggi. Margarin biasanya diperkaya dengan vitamin A dan minyak sayur yang mengandung vitamin E. Karena mengandung lebih sedikit lemak, margarin banyak digunakan sebagai pengganti mentega (Warta IPTEK, 2011).

Margarin adalah produk makanan berbentuk emulsi (w/o), baik semi padat maupun cair, yang dibuat dari lemak makan dan atau minyak makan nabati, dengan atau tanpa perubahan kimiawi termasuk hidrogenasi, interesterifikasi, dan telah melalui proses pemurnian, sebagai bahan utama serta mengandung air dan bahan tambahan pangan yang diizinkan (Standar Nasional Indonesia, 2002).

f. Vanili

Vanili mempunyai nama ilmiah *Vanilla planifolia*, termasuk familia *Orchidaceae* (bangsa anggrek). Tanaman ini berasal dari Meksiko, yang masuk ke Indonesia sekitar tahun 1819, dibawa oleh seorang ahli botani bernama Marchal, yang membawa bibit tanaman vanili ini dari kebun Botani Antweper Belanda. Di Indonesia tanaman vanili ini pertama kali ditanam di Kebun Raya Bogor. Tanaman vanili mempunyai arti ekonomis, karena buahnya mengandung zat vanillin yang menyebabkan aroma wangi. Aroma ini akan meningkat lagi setelah mengalami proses fermentasi (Henuhili, 2004).



D. Keamanan Pangan

Mutu bahan pangan tidak dapat ditingkatkan dan cenderung menurun dengan bertambahnya waktu. Upaya yang dapat kita lakukan hanya untuk menghambat atau menghentikan proses penurunan mutu tersebut. Pengetahuan mengenai sifat dan mutu bahan pangan akan banyak membantu dalam upaya menghambat atau menghentikan proses penurunan mutu (Afrianto, 2008).

Dalam UU No. 18 tentang Pangan tahun 2012 dijelaskan bahwa mutu pangan adalah nilai yang ditentukan atas dasar kriteria keamanan pangan dan kandungan gizi pangan. Pangan adalah segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati produk pertanian, perkebunan, kehutanan, perikanan, peternakan, perairan dan air baik yang diolah maupun tidak diolah diperuntukkan sebagai makanan atau minuman bagi konsumsi manusia, termasuk bahan tambahan pangan, bahan baku pangan, dan bahan lainnya yang digunakan dalam proses penyiapan, pengolahan, dan/atau pembuatan makanan/minuman (Presiden Republik Indonesia, 2012).

Menurut BPOM (2007), kontaminasi atau pencemaran makanan dikelompokkan ke dalam 4 macam, yaitu:

- a. Pencemaran mikroba, seperti bakteri, jamur dan cendawan
- b. Pencemaran fisik, seperti rambut, debu, tanah dan kotoran lainnya

c. Pencemaran kimia, seperti pupuk, pestisida, merkuri, cadmium, arsen, dan sebagainya



d. Pencemaran radioaktif, seperti sinar alfa, gamma, radioaktif, dan sebagainya (Badan POM, 2007).

Jumlah mikroba yang terlalu tinggi dapat mengubah karakter organoleptik, mengakibatkan perubahan nutrisi/nilai gizi atau bahkan merusak makanan tersebut. Keracunan pangan oleh bakteri dapat berupa intoksifikasi atau infeksi. Intoksifikasi disebabkan oleh adanya toksin bakteri yang terbentuk di dalam makanan pada saat bakteri bermultiplikasi, sedangkan keracunan pangan berupa infeksi, disebabkan oleh masuknya bakteri ke dalam tubuh melalui makanan yang terkontaminasi dan tubuh memberikan reaksi terhadap bakteri tersebut (Obat, 2009).

E. Tinjauan Umum Tentang Daya Terima Produk

Menurut Wirakusumah (1990) yang dikutip oleh Mulyaningrum (2007), kesukaan terhadap makanan didasari oleh sensorik, sosial, psikologi, agama, emosi, budaya, kesehatan, ekonomi, cara persiapan dan pemasakan makanan, serta faktor-faktor lainnya. Penilaian seseorang terhadap kualitas makanan berbeda-beda tergantung selera dan kesenangannya. Perbedaan suku, pengalaman, umur, dan tingkat ekonomi seseorang mempunyai penilaian tertentu terhadap jenis makanan, sehingga standar kualitas makanan sulit untuk ditetapkan. Walaupun demikian ada beberapa aspek yang dapat dinilai, yaitu persepsi terhadap cita rasa makanan, nilai gizi dan *hygiene* atau kebersihan makanan tersebut (Yuningsih, 2015).

Penerimaan konsumen terhadap suatu produk diawali dengan penilaiannya terhadap penampakan, flavor dan tekstur. Oleh karena pada



akhirnya yang dituju adalah penerimaan konsumen, maka uji organoleptik yang menggunakan panelis (pencicip yang telah terlatih) dianggap yang paling peka dan karenanya sering digunakan dalam menilai mutu berbagai jenis makanan untuk mengukur daya simpannya atau dengan kata lain untuk menentukan tanggal kadaluwarsa makanan. Pendekatan dengan penilaian organoleptik dianggap paling praktis lebih murah biayanya (Koswara, 2006).

F. Pengertian Masa simpan

Menurut Floros dan Gnanasekharan (1993) menyatakan bahwa umur simpan tertentu untuk dapat mencapai tingkatan degradasi mutu tertentu. Jika melewati waktu tersebut, produk bisa dikatakan tidak layak dikonsumsi. Hal ini dikarenakan produk mengalami perubahan-perubahan baik fisik, kimia maupun mikrobiologis seperti kenampaan, citra rasa, dan kandungan gizi, bahkan bisa menyebabkan keracunan atau penyakit lain (Floros and Gnanasekharan, 1993).

Pendugaan umur simpan pada produk pangan dapat ditentukan dengan menggunakan metode ASS (*Accelerated Storage Studies*), yaitu dengan menyimpan produk pada kondisi lingkungan yang dapat mempercepat proses penurunan mutu produk pangan. Pendugaan umur simpan produk dengan metode ASS ini dapat dilakukan dengan dua model pendekatan, yaitu model pendekatan kadar air kritis dan model pendekatan Arrhenius (Floros dan Gnanasekharan, 1993).



G. Fitokimia

Metabolit tanaman yang utama merupakan substansi yang terutama berkontribusi terhadap metabolisme energi dan struktur sel tanaman, yaitu karbohidrat termasuk serat makanan, protein, serta lemak. Metabolit tanaman sekunder merupakan komponen makanan non gizi (tidak termasuk vitamin) yang telah dinamakan sebagai fitokimia. Metabolit tanaman sekunder mempunyai efek farmakologis yang potensial bagi manusia. Ilmuan gizi secara sistematis mulai menyelidiki efek zat tanaman ini dalam meningkatkan kesehatan (Leitzmann, 2012).

1. Klasifikasi Fitokimia

Fitokimia diklasifikasikan menurut struktur kimia dan ciri fungsionalnya. Kelompok utama fitokimia dan efek fisiologisnya menunjukkan perbedaan besar fitokimia tabel 2.6.

Tabel 2.6 Klasifikasi Fitokimia dan Efek Utama Fitokimia

No.	Fitokimia	Bukti untuk Efek berikutnya								
		A	B	C	D	E	F	G	H	I
1.	Karotenoid	X		X		X			X	
2.	Fitosterol	X							X	
3.	Saponin	X	X			X			X	
4.	Glukosinolat	X	X						X	
5.	Pilifenol	X	X	X	X	X	X	X		X
6.	Inhibitor protease	X		X						X
7.	Monoterpenes	X	X						X	
8.	Fito-estrogen	X		X		X				
9.	Sulfid	X	X	X	X	X	X	X	X	

Ket:

= antikarsinogenik

F= anti-inflamasi

= antimikrobal

G= pengaruh pada tekanan darah



C= antioksidatif

H= efek yang menurunkan kolesterol

D= antitrombotik

I = memodulasi kadar glukosa darah

E= sifat imunomodulasi

Sumber: Dimodifikasi dari Watzl, B. dan Leitzman, C (2005) Bioaktive Substanzen in Lebensmitteln. 3rd edn. Stuttgart, Hippokrates.

2. Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia adalah pemeriksaan kandungan kimia secara kualitatif untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam suatu tumbuhan. Pemeriksaan dilakukan pada senyawa metabolit sekunder yang memiliki khasiat bagi kesehatan seperti alkaloid, glikosida, flavonoid, terpenoid, tanin, dan saponin (Harborne, 2006).

a. Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Alkaloid mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan sebagai bagian dari sistem seklik. Alkaloid umumnya tidak berwarna, seringkali bersifat optis aktif, dan umumnya berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan pada suhu kamar, misalnya nikotin (Harborne, 2006).

Alkaloid dalam bentuk garam mudah larut dalam air. Sedangkan dalam bentuk bebas atau biasanya mudah larut dalam pelarut organik. Karena sifatnya yang mudah membentuk garam dengan asam klorida atau asam sulfat maka alkaloid dapat ditarik menggunakan pelarut asam klorida encer atau asam sulfat encer. Kemudian dibasakan dengan natrium hidroksida atau kalsium laktat (Sirait, 2007).



b. Flavonoid

Flavonoid adalah sekelompok besar senyawa polifenol tanaman yang tersebar luas dalam berbagai bahan makanan dan dalam berbagai konsentrasi. Flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh 3 atom karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga.

Kandungan senyawa flavonoid dalam tanaman sangat rendah, sekitar 0,25%. Komponen tersebut pada umumnya terdapat dalam keadaan terikat atau terkonjugasi dengan senyawa gula (Synder & Kwon, 1987). Lebih dari 4.000 jenis flavonoid telah diidentifikasi dan beberapa diantaranya berperan dalam pewarnaan bunga, buah, dan daun (de Groot & Rauen, 1998). Flavonoid secara alami juga dilaporkan sebagai derivat benzo- γ -pirene (Dr. Hery Winarsi, 2007).

Banyaknya senyawa flavonoid ini bukan disebabkan karena banyaknya variasi struktur, akan tetapi lebih disebabkan oleh berbagai tingkat hidrosilasi, alkoksilasi atau glikosilasi pada struktur tersebut. Flavonoid di alam juga sering dijumpai dalam bentuk glikosidanya. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat warna kuning yang terdapat dalam tanaman. Sebagai pigmen bunga, flavonoid jelas berperan dalam menarik serangga untuk membantu proses penyerbukan (Lully Hanni Endarini, 2016).



Beberapa kemungkinan fungsi flavonoid yang lain bagi tumbuhan adalah sebagai zat pengatur tumbuh, pengatur proses fotosintesis, zat antimikroba, antivirus dan antiinsektisida. Beberapa flavonoid sengaja dihasilkan oleh jaringan tumbuhan sebagai respon terhadap infeksi atau luka yang kemudian berfungsi menghambat fungsi menyeranganya (Lully Hanni Endarini, 2016).

c. Fenol

Fenolik merupakan senyawa kimia yang memiliki cincin aromatik berikatan dengan kelompok hidroksil (-OH). Senyawa fenolik tersebut dapat meredam reaksi berantai radikal bebas yang terjadi di dalam tubuh (Karunia, 2007 dalam Meindrawan, 2012).

Dari segi biogenetik, senyawa fenol pada dasarnya dapat dibedakan atas dua jenis utama. Yang pertama adalah senyawa fenol yang berasal dari jalur asetat malonat. Ditemukan juga golongan senyawa fenol lain yang berasal dari kombinasi antara kedua jalur biosintesis ini, yaitu senyawa flavonoid (Lully Hanni Endarini, 2016).

Kelompok senyawa fenol yang berasal dari jalur sikhimat yang utama adalah fenil propanoid. Senyawa fenol ini mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri atas cincin benzena (C_6) yang terikat pada ujung rantai karbon propana (C_3). Beberapa jenis senyawa yang termasuk fenil propanoid adalah turunan asam sinamat, turunan alifenol, turunan propenil fenol, turunan kumarin. Senyawa-senyawa turunan asam sinamat biasanya mempunyai konfigurasi trans. Pengaruh



sinar UV dapat menyebabkan terjadinya isomerisasi membentuk konfigurasi cis (Lully Hanni Endarini, 2016).

d. Tanin

Tanin adalah kelas utama dari metabolit sekunder yang tersebar luas pada tanaman. Tanin merupakan polifenol (dengan rasa pahit atau sepat) yang larut dalam air dengan berat molekul biasanya berkisar 1000-3000. Tanin merupakan zat organik yang sangat kompleks dan terdiri dari senyawa fenolik. Tanin terdiri dari sekelompok zat-zat kompleks yang terdapat secara meluas dalam dunia tumbuh-tumbuhan, antara lain terdapat pada bagian kulit kayu, batang, daun dan buah-buahan (Fitriyani, 2009).

Di dalam tanaman, letak tanin terpisah dari protein dan enzim sitoplasma, tetapi bila jaringan rusak, misalnya bila hewan memakannya, maka reaksi penyamakan dapat terjadi. Reaksi ini menyebabkan protein lebih sukar dicapai oleh cairan pencernaan hewan. Pada kenyataannya, sebagian besar tanaman yang banyak bertanin dihindari oleh hewan pemakan tanaman karena rasanya yang sepat (Lully Hanni Endarini, 2016).

e. Terpenoid dan steroid tak jenuh

Terpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik, yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang kebanyakan berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat



(Harborne, 2006). Senyawa ini paling umum ditemukan pada tumbuhan berbiji, bebas, dan sebagai glikosida. Triterpenoid yang paling penting dan paling tersebar luas adalah triterpenoid pentasiklik (Robinson, 1995).

f. Glikosida

Glikosida adalah suatu senyawa, bila dihidrolisis akan terurai menjadi gula (glikon) dan senyawa lain (aglikon atau genin). Glikosida dibedakan menjadi α -glikosida dan β -glikosida. Pada tanaman, glikosida biasanya terdapat dalam bentuk beta. Umumnya glikosida mudah terhidrolisis oleh asam mineral atau enzim. Hidrolisis oleh asam memerlukan panas, hidrolisis oleh enzim tidak memerlukan panas (Sirait, 2007).

g. Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks dengan berat molekul tinggi yang dihasilkan terutama oleh tanaman, hewan laut tingkat rendah dan beberapa bakteri. Saponin larut dalam air tetapi tidak larut dalam eter (Aswin, 2008). Sifat khas dari saponin antara lain berasa pahit, berbusa dalam air dan beracun bagi binatang berdarah dingin (Mutiah dkk, 2011).

h. Karotenoid

Karotenoid adalah fitokimia yang banyak terdapat dalam buah-buahan dan sayur-mayur. Salah satu fungsi utama karotenoid dalam tanaman adalah memberikan pigmen merah dan kuning untuk



fotosintesis. Dari sekitar 700 karotenoid alami hanya terdapat sekitar 40-50 jenis yang penting bagi gizi manusia (Leitzmann, 2012). Karotenoid tersusun atas β -karoten, likopen, lutein, zeaxanthin, dan cryptoxanthin (Dr. Hery Winarsi, 2007).

i. β -karoten

β -karoten merupakan salah satu dari 600 komponen karotenoid yang banyak ditemukan dalam tanaman. β -karoten biasanya digunakan sebagai suplemen nutrisi maupun prekursor vitamin A. Salah satu peran β -karoten adalah meningkatkan efeksi kemoterapi dan radiasi pada kultur sel kanker manusia maupun hewan percobaan. Hasil penelitian epidemiologis menyatakan bahwa subjek yang banyak mengkonsumsi buah-buahan dan sayuran dengan kandungan β -karoten tinggi memiliki resiko rendah terkena berbagai jenis kanker dan penyakit kardiovaskuler (Buring & Hennekens, 1993; Peto, et al., 1981 dalam (Dr. Hery Winarsi, 2007).

β -Karoten merupakan senyawa organik dan diklasifikasikan sebagai suatu terpenoid. β -Karoten adalah pigmen berwarna merah orange yang sangat berlimpah pada tanaman dan buah-buahan. β -karoten diperkirakan memiliki banyak fungsi yang tidak dimiliki senyawa lain. Jumlah yang dibutuhkan tubuh memang hanya ukuran milligram perhari. Tapi kalau tidak terpenuhi dapat menimbulkan gangguan fungsi (Subawati, 2009).



Manfaat β -karoten bagi tubuh adalah untuk mencegah dan menurunkan resiko kanker. Mengonsumsi makanan atau buah-buahan yang mengandung betakaroten diharapkan bisa menunjang kebutuhan gizi dan meningkatkan kekebalan tubuh. Sifat antioksidan yang terdapat pada β -karoten dapat melindungi tumbuhan dan mikroorganisme dari sinar matahari yang merusak (Listya, 2010).

Karoten dan antioksidan pada makanan juga diduga berperan dalam mencegah penyakit jantung sistemik, kadar antioksidan dalam plasma yang rendah dihubungkan dengan meningkatnya resiko penyakit jantung koroner dan oksidasi LDL (*Low Density Lipoprotein*) yang diduga mengawali terjadinya aterosklerosis (Gunawan, 2007).

j. Likopen

Likopen dan karotenoid lainnya merupakan pigmen alami yang disintesis oleh tanaman dan mikroorganisme. Beberapa karotenoid dalam diet sebagian besar terdapat sebagai senyawa likopen yang tidak menampilkan aktivitasnya sebagai provitamin A. Likopen kadar tinggi terdapat dalam tomat dan olahannya. Likopen memiliki 40 karbon asiklik ($C_{40}H_{56}$) dengan 11 ikatan rangkap terkonjugasi secara linier (Dr. Hery Winarsi, 2007).

k. Lutein dan Zeaxanthin

Lutein dan zeaxanthin merupakan karotenoid xantofil yang ditemukan dalam daun hijau gelap dan kuning telur. Kedua jenis karotenoid tersebut terdistribusi secara luas pada jaringan dan lensa



mata, serta daerah macular (bintik) retina. Menurut Ribayo-Mercado & Blumberg (2004), kedua senyawa tersebut berfungsi sebagai pelindung mata. Lutein dan zeaxanthin diyakini dapat mencegah penyakit jantung dan stroke (Dr. Hery Winarsi, 2007).

3. Antioksidan Total

Radikal bebas merupakan suatu senyawa asing yang masuk ke dalam tubuh dan merusak sistem imunitas tubuh. Senyawa-senyawa yang mampu menghilangkan, membersihkan, menahan efek radikal disebut antioksidan. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Selain itu, antioksidan juga berguna untuk mengatur agar tidak terjadi proses oksidasi berkelanjutan di dalam tubuh (Selawa et al., 2013).

Antioksidan didefinisikan sebagai inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif yang membentuk radikal bebas tidak reaktif yang tidak stabil. Antioksidan merupakan semua bahan yang dapat menunda atau mencegah kerusakan akibat oksidasi pada molekul sasaran. Dalam pengertian kimia antioksidan adalah senyawa-senyawa pemberi elektron, tetapi dalam pengertian biologis lebih luas lagi, yaitu semua senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan, termasuk enzim-enzim dan protein-protein pengikat gam (Siagian, 2002).



4. Metode DPPH

Radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada λ_{\max} 517 nm dan berwarna ungu gelap. Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH tersebut akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Perubahan tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer dan diplotkan terhadap konsentrasi (Reynertson, 2007).

Penurunan intensitas warna yang terjadi disebabkan oleh berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DDPH. Hal ini dapat terjadi apabila adanya penangkapan satu elektron oleh zat antioksidan, menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi (Pratimasari, 2009).

Keberadaan sebuah antioksidan yang mana dapat menyumbangkan elektron kepada DPPH, menghasilkan warna kuning yang merupakan ciri spesifik dari reaksi radikal DPPH (Vaya and Aviram, 2001). Penangkal radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Sunarni, 2005).

Metode DPPH adalah suatu metode kolorimetri yang efektif dan cepat untuk memperkirakan aktivitas antiradikal/antioksidan. Uji kimia ini secara luas digunakan dalam penelitian produk alami untuk isolasi

antioksidan fitokimia dan untuk menguji seberapa besar kapasitas ekstrak dan senyawa murni dalam menyerap radikal bebas. Metode DPPH



berfungsi untuk mengukur elektron tunggal seperti aktivitas transfer hidrogen sekaligus untuk mengukur aktivitas penghambatan radikal bebas (Pratimasari, 2009).

5. Metode Ekstraksi Komponen Bioaktif

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Siplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain (Departemen Kesehatan, 2000).

Salah satu metode ekstraksi adalah maserasi. Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang. Pada penyarian dengan maserasi, perlu dilakukan pengadukan. Pengadukan diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar butir serbuk simplisia, sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbesaran konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel (Departemen Kesehatan RI,

986).



Maserasi dilakukan dengan melakukan perendaman bagian tanaman secara utuh atau yang sudah digiling kasar dengan pelarut dalam bejana tertutup pada suhu kamar selama sekurang-kurangnya 3 hari dengan pengadukan berkali-kali sampai semua bagian tanaman yang dapat larut melarut dalam cairan pelarut. Pelarut yang digunakan adalah alkohol atau kadang-kadang juga air. Campuran ini kemudian disaring dan ampas yang diperoleh dipres untuk memperoleh bagian cairnya saja. Cairan yang diperoleh kemudian dijernihkan dengan penyaringan atau dekantasi setelah dibiarkan selama waktu tertentu (Lully Hanni Endarini, 2016).

Keuntungan proses maserasi diantaranya adalah bahwa bagian tanaman yang akan diekstraksi tidak harus dalam wujud serbuk yang halus, tidak diperlukan keahlian khusus dan lebih sedikit kehilangan alkohol sebagai pelarut seperti pada proses perkolasi atau sokhletasi. Sedangkan kerugian proses maserasi adalah perlunya dilakukan pengadukan, pengepresan dan penyaringan, terjadinya residu pelarut di dalam ampas, serta mutu produk akhir yang tidak konsisten (Lully Hanni Endarini, 2016).

6. Spektrofotometri UV-Vis (*Ultra Violet-Visible*)

Spektrofotometer sesuai dengan namanya adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan sinar dan spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat

yang mengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi (Chopkar, 1990).



Spektrofotometri merupakan salah satu metode analisis yang berdasarkan pada hasil interaksi atom atau molekul dengan radiasi elektromagnetik. Interaksi tersebut akan menghasilkan peristiwa berupa hamburan, serapan, dan emisi (Mulja and Suharman, 1995).

Spektrum UV-Vis merupakan hasil interaksi radiasi UV-Vis terhadap molekul yang mengakibatkan molekul mengalami transisi elektronik, sehingga disebut spektrum elektronik. Hal ini didapat karena adanya gugus berikatan rangkap atau terkonyugasi yang mangabsorpsi radiasi elektromagnetik di daerah UV-Vis (Mulja and Suharman, 1995).

Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode yang digunakan untuk menguji sejumlah cahaya yang diabsorpsi pada setiap panjang gelombang di daerah ultraviolet dan tampak. Dalam instrumen ini suatu sinar cahaya terpecah sebagian cahaya diarahkan melalui sel transparan yang mengandung pelarut. Ketika radiasi elektromagnetik dalam daerah UV-Vis melewati suatu senyawa yang mengandung ikatan-ikatan rangkap, sebagian dari radiasi biasanya diabsorpsi oleh senyawa. Hanya beberapa radiasi yang diabsorpsi, tergantung pada panjang gelombang dari radiasi dalam struktur senyawa. Absorpsi radiasi disebabkan oleh pengurangan energi cahaya radiasi ketika elektron dalam orbital dari rendah tereksitasi ke orbital energi tinggi (Dachriyanus, 2004).

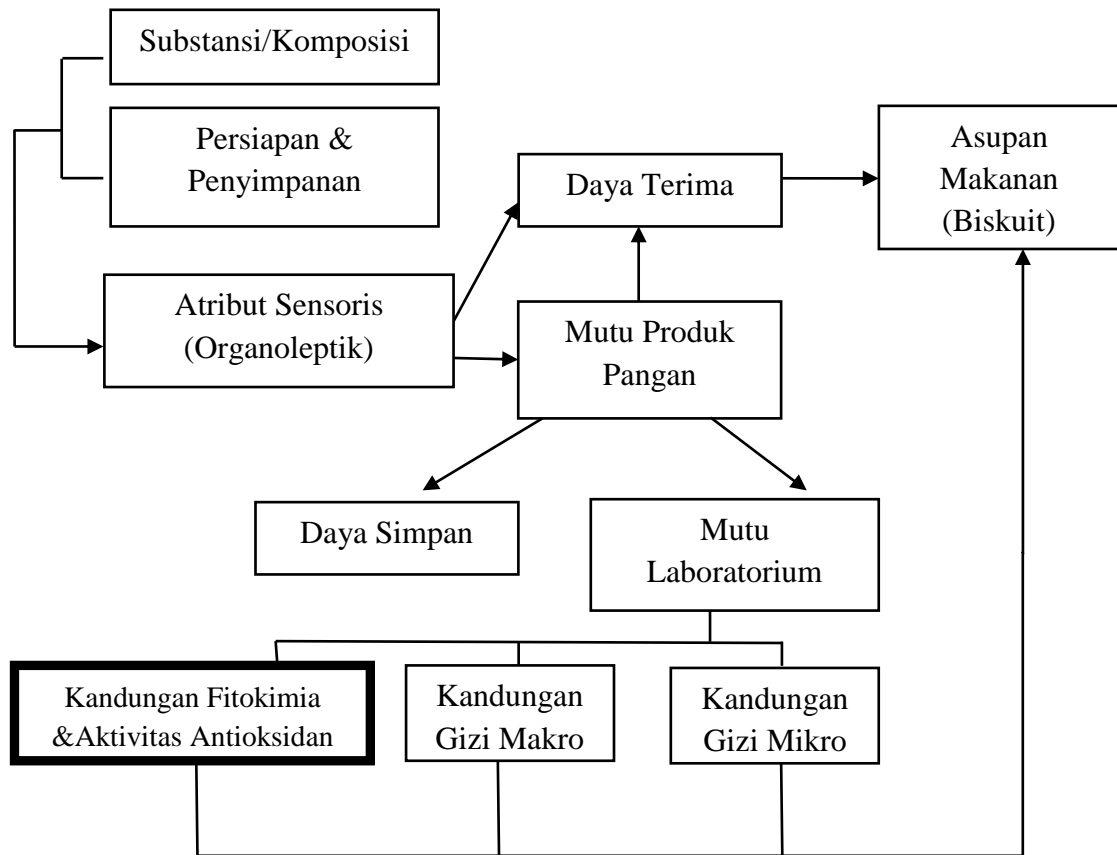
Metode spektrofotometri dipilih karena caranya mudah dan menjanya cepat dengan instrument modern. Penggunaannya luas, dapat digunakan untuk senyawa organik dan anorganik. Memiliki ketelitian yang



baik dan dapat menganalisa larutan dengan konsentrasi yang kecil
(Dachriyanus,2004).



H. Kerangka Teori



Sumber : (Afrianto, 2008), (Floros and Gnanasekharan, 1993), (Cardello, 1994).



BAB III

KERANGKA KONSEP

A. Kerangka Konsep

Biskuit Biji Labu Kuning (*Curcubita sp.*) sebagai *snack* sehat:

- Identifikasi senyawa flavonoid dan fenol
- Analisis kadar flavonoid total
- Analisis kadar fenol total
- Uji aktivitas antioksidan

B. Definisi Operasional

1. Biskuit tepung biji labu kuning adalah produk yang diperoleh dengan memanggang adonan yang berasal dari tepung terigu dengan penambahan tepung biji labu kuning dan bahan tambahan lain.
2. *Snack* sehat adalah makanan ringan yang dikonsumsi diantara waktu makan utama yang mengandung zat-zat gizi utamanya fitonutrien sebagai antioksidan seperti fenolik dan flavonoid yang bermanfaat bagi kesehatan
3. Fitokimia adalah segala jenis zat kimia atau *nutrient* yang diturunkan dari tumbuhan, termasuk sayuran dan buah-buahan.
4. Flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga.



5. Fenol adalah senyawa kimia yang memiliki cincin aromatik berikatan dengan kelompok hidroksil (-OH).
6. Aktifitas antioksidan adalah inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif yang membentuk radikal bebas tidak reaktif yang tidak stabil.



BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif observatif. Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui kadar senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan biskuit berbasis tepung biji labu kuning (*Curcubita sp.*). Penelitian ini dilakukan dengan dua tahap penelitian, yaitu:

1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk membuat tepung biji labu kuning dengan menggunakan beberapa cara kerja yang didapatkan dari beberapa penelitian pembuatan tepung dengan menggunakan bahan baku tertentu. Dilakukan pula beberapa kali uji coba pembuatan produk dengan menggunakan beberapa metode dan formula. Hasil yang didapatkan dari penelitian pendahuluan ini akan dilanjutkan ke penelitian utama untuk analisis fitokimia dan aktivitas antioksidan biskuit berbasis tepung biji labu kuning (*Curcubita sp.*).

2. Penelitian Utama

Penelitian utama dilakukan untuk mengetahui kadar senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan biskuit berbasis tepung biji labu kuning (*Curcubita sp.*).



B. Lokasi Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Juni 2018 di Laboratorium Kuliner Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Hasanuddin Makassar untuk preparasi sampel, Laboratorium Terpadu Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin Makassar untuk uji aktivitas antioksidan, dan Laboratorium Kimia Organik Fakultas Kimia Universitas Hasanuddin Makassar untuk uji fitokimia.

C. Instrumen Penelitian

1. Instrumen yang digunakan untuk pembuatan sampel

a. Alat

Alat-alat yang digunakan pada pembuatan tepung biji labu kuning adalah timbangan analitik, pisau, gunting, kompor gas, gelas ukur, wadah plastik, spatula, sendok, ayakan 32 mesh, kertas roti, dan blender.

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji labu kuning, tepung terigu (Segitiga Biru), gula pasir (Gulaku), telur ayam ras, vanili, baking powder, margarin (Blue Band).

2. Instrumen yang digunakan untuk pembuatan ekstraksi

a. Alat

Spektrofotometer UV-Vis, corong pisah, neraca analitik, beaker glass, labu ukur, gelas ukur, pipet gondok, pipet volume, pipet tetes, corong, batang pengaduk.



b. Bahan

Biskuit berbasis tepung biji labu kuning terpilih (F1), aquadest, aluminium foil, etanol 70%, kertas saring.

D. Populasi dan Sampel

1. Populasi Penelitian

Pada penelitian ini yang menjadi populasi adalah tepung biji labu kuning dan biskuit berbasis tepung biji labu kuning.

2. Sampel Penelitian

Sampel yang ditarik dari populasi penelitian diuraikan sebagai berikut:

- a. Unit observasi adalah biskuit berbasis tepung biji labu kuning
- b. Unit analisis adalah uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan pada biskuit berbasis tepung biji labu kuning (*Curcubita sp.*)

E. Tahapan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari tiga tahap meliputi, pembuatan tepung biji labu kuning (*Curcubita sp*), pembuatan biskuit berbasis tepung biji labu kuning terpilih, dan uji fitokimia dan aktivitas antioksidan.

1. Pembuatan tepung biji labu kuning

- 1) Disiapkan biji labu kuning 2 bh untuk menghasilkan ± 60 g tepung
- 2) Dibersihkan kotoran pada biji labu kuning
- 3) Dicuci dengan air mengalir dan ditiriskan
- 4) Dimasukan ke dalam oven dengan suhu 150°C selama 2 jam



- 5) Diblender sampai halus
- 6) Diayak dengan menggunakan ayakan 32 mesh
- 7) Tepung biji labu kuning (*Curcubita sp.*) siap digunakan

2. Rancangan Perlakuan

Rancangan perlakuan pada penelitian utama terdiri dari satu faktor yaitu pengaruh perbandingan konsentrasi tepung terigu dengan tepung biji labu kuning. Biskuit berbasis tepung biji labu kuning yang terpilih adalah formula 1 dengan perbandingan sebagai berikut:

F1 = tepung terigu 80% + tepung biji labu kuning 20%

Untuk bahan yang digunakan dalam proses pembuatan biskuit dapat dilihat dalam tabel 2.7

Tabel 4.1 Bahan yang Digunakan dalam Proses Pembuatan Biskuit

No	Nama bahan	F2
1.	Tepung terigu	240 g
2.	Tepung biji labu kuning	60 g
3.	Telur ayam	90 gr
4.	Gula pasir	50 g
5.	Margarin	180 g
6.	Soda kue	4 g
7.	Vanili	3 g

3. Pembuatan Biskuit Berbasis Tepung Biji Labu Kuning (F1)

- a) Disiapkan telur 90 g dan dihomogenkan menggunakan mixer
- b) Ditimbang gula pasir sebanyak 50 g dan margarin 180 g kemudian homogenkan dengan mixer selama $\pm 5-10$ menit
- c) Ditimbang tepung terigu 240 g, tepung biji labu kuning 60 g, soda kue 4 g, vanili 3 g, kemudian aduk campuran menggunakan sendok hingga campuran telah kalis



- d) Adonan dipipihkan menggunakan kayu pemipih
- e) Dicitak adonan yang telah dipipihkan menggunakan cetakan
- f) Kemudian dipanggang dalam oven selama $\pm 20-25$ menit dengan suhu 150°C (Setyowati and Nisa, 2014).

4. Ekstrak Etanol Biskuit Biji Labu Kuning

Biskuit biji labu kuning terpilih (F1) dideterminasi dilakukan oleh Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Universitas Hasanuddin Makassar. F1 diserbukhaluskan menjadi bubuk. Ekstraksi sampel dilakukan sesuai dengan prosedur dari Kadji (2013). Sebanyak 100 g sampel biskuit diekstraksi dengan cara maserasi selama 72 jam menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 1000 ml. Selanjutnya disaring hingga diperoleh filtrat. Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi menggunakan *Rotary Evaporator* (RE) (Kadji et al., 2013).

5. Uji Kualitatif Flavonoid

- 1) Selanjutnya, 2 ml ekstrak etanol sampel yang diperoleh dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah dengan 0,5 ml asam klorida pekat (HCl pekat) dan 1 mg Magnesium.
- 2) Adanya flavonoid ditandai dengan warna merah, oranye dan hijau tergantung struktur flavonoid yang terkandung dalam sampel tersebut (Lully Hanni Endarini, 2016).

6. Uji Kualitatif Fenol

- 1) Sampel diambil 5 mL kemudian ditambahkan FeCl_3 1%



- 2) Hasil positif menimbulkan warna hijau, ungu, hitam, biru dan maka menandakan fenol secara umum (Harborne, 2006).

7. Uji Flavonoid Total

1) Preparasi Larutan Baku Kuersetin

Dibuat larutan induk 5000 ppm dengan cara menimbang 50 mg kuersetin dan dilarutkan dengan etanol p.a hingga volume 5 ml. Selanjutnya dibuat larutan baku kerja kuersetin dengan konsentrasi 100 ppm dengan mengencerkan larutan induk 5000 ppm. Kemudian dibuat larutan standar kuersetin dari larutan baku kerja 100 ppm dengan deret konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Kemudian ditambahkan 0,2 ml AlCl_3 10%, 0,1 ml Natrium asetat 1M. Campuran dikocok homogen lalu dibiarkan selama 30 menit. Kemudian siap dibaca.

2) Pembuatan Kurva Baku Kuersetin

Kurva baku dibuat dengan menghubungkan konsentrasi larutan standar dengan hasil serapannya yang diperoleh dari pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 485 nm.

3) Penetapan Kadar Flavonoid Total

Sampel ekstrak etanol biskuit biji labu kuning ditambahkan 0,2 ml AlCl_3 10%, 0,1 ml natrium asetat 1M. Campuran dikocok homogen lalu dibiarkan selama 30 menit. Kemudian diukur serapannya



menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 485 nm.

8. Uji Fenol Total

Penentuan Kadar Fenolik Total Metode Folin-Ciocalteu (Povilaityee and Venskutonis, 2000).

1) Pembuatan Kurva Standar

Sebanyak 40 mg asam galat dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml kemudian digenapkan dengan aquades. Dibuat deret standar dengan berbagai konsentrasi. Selanjutnya, diambil masing-masing 1 ml, ditambahkan 2 ml larutan NaOH 1% dan 2,5 ml larutan Folin-Ciocalteu 7,5% lalu dihomogenisasi. Setelah itu, didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 685 nm.

2) Pengukuran pada Sampel

Diambil 0,5 ml filtrat dari ekstrak sampel ditambahkan 2 ml larutan NaOH 1% dan 2,5 ml larutan Folin-Ciocalteu 7,5% lalu dihomogenisasi. Setelah itu, didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 685 nm.

9. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) secara spektrofotometri UV-Vis. Aktivitas antioksidan



dari ekstrak sampel ditentukan dengan mengukur konsentrasi radikal DPPH sebagai berikut:

- 1) Sebanyak 1 g sampel ditambahkan 3,9 ml larutan DPPH (0,025 g/L) dalam methanol, kemudian dikocok
- 2) Absorbansi diukur setelah 30 menit pada temperatur ruang pada panjang gelombang 517 nm
- 3) Sebagai blanko digunakan methanol dengan pengerjaan yang sama seperti tersebut di atas

Besarnya persentase pengikatan radikal bebas dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{\text{Absorban blanko} - \text{Absorban sampel}}{\text{Absorban blanko}} \times 100\%$$

Keterangan:

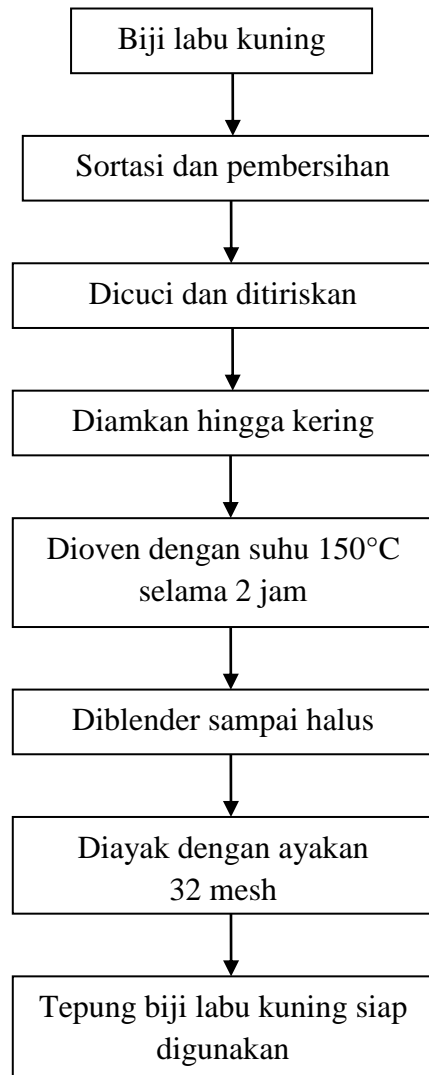
Absorban blanko: Serapan radikal DPPH 50 μM pada panjang gelombang maksimal (517 nm).

Absorban sampel: Serapan sampel dalam radikal DPPH 50 μM pada panjang gelombang maksimal (517 nm).



F. Diagram Alur Penelitian

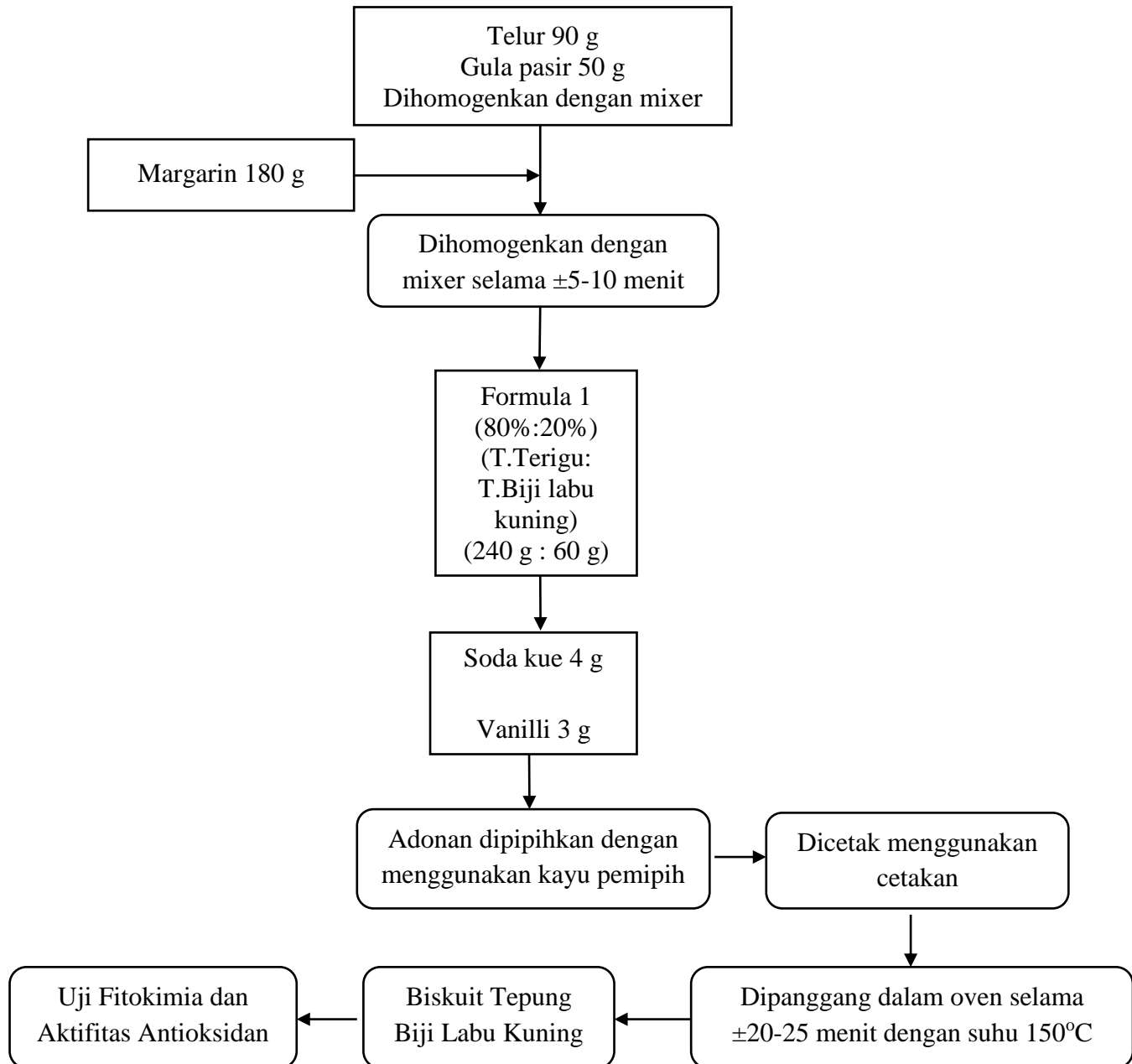
1. Pembuatan Tepung Biji Labu Kuning



Gambar 3. Diagram Alur Penelitian Tepung Biji Labu Kuning



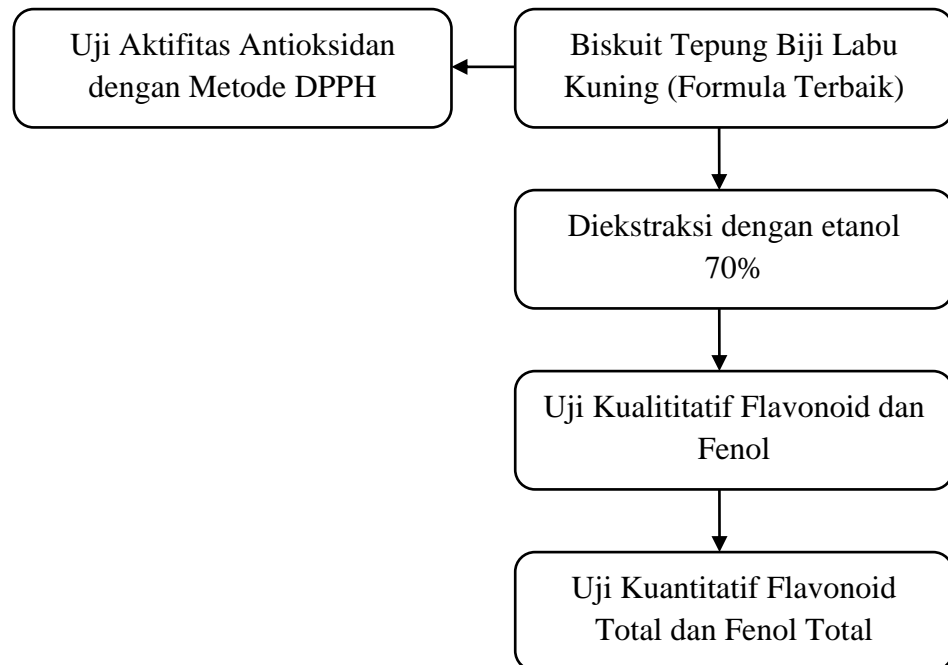
2. Pembuatan Biskuit Tepung Biji Labu Kuning (F1)



Gambar 4. Diagram Alur Pembuatan Biskuit Berbasis Tepung Biji Labu Kuning (Nurdjanah dkk, 2011)



3. Tahapan Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan



Gambar 5. Diagram Alur Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan

G. Pengumpulan Data

Data primer diperoleh dari data hasil pengujian. Adapun data sekunder diperoleh dari berbagai jurnal penelitian dan referensi lainnya.

H. Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan data dilakukan secara elektronik menggunakan *software Microsoft office excel*.

I. Penyajian Data

Data yang telah dianalisis disajikan dalam bentuk tabel, grafik, dan gambar untuk membahas hasil penelitian.



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Pembuatan Produk Biskuit Biji Labu Kuning

Tahap pertama dalam pembuatan biskuit berbasis biji labu kuning (BLK) adalah pembuatan tepung biji labu kuning. Buah labu kuning yang dibeli di pasar tradisional Daya sebanyak 2 buah. Biji labu kuning yang telah dipisahkan dari daging buahnya, dicuci bersih. Selanjutnya dikering anginkan selama ± 3 jam di bawah sinar matahari sehingga air yang ada dalam sampel akan berkurang kadarnya. Setelah itu dioven pada suhu 150°C selama 2 jam. BLK kemudian diblender menjadi serbuk dan diayak dengan ukuran 32 mesh maka didapatkan tepung BLK sebanyak ± 600 g.

Tahap kedua adalah pembuatan biskuit BLK. Disiapkan telur 90 g dan dihomogenkan menggunakan mixer. Ditimbang gula pasir sebanyak 50 g dan margarin 180 g kemudian homogenkan dengan mixer selama $\pm 5-10$ menit. Ditimbang tepung terigu 240 g, tepung biji labu kuning 60 g, soda kue 4 g, vanili 3 g, kemudian aduk campuran menggunakan sendok hingga campuran telah kalis. Adonan dipipihkan menggunakan kayu pemipih. Dicitak adonan yang telah dipipihkan menggunakan cetakan. Kemudian dipanggang dalam oven selama $\pm 20-25$ menit dengan suhu 150°C .





Gambar 5.1 Biskuit Biji Labu Kuning (Formua 1)

2. Ekstraksi

Sampel sebanyak 100 g diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstraksi dengan metode maserasi dipilih karena tidak menggunakan panas sehingga menghindari rusaknya senyawa fitokimia yang bersifat termolabil dalam biskuit BLK. Ekstraksi dilakukan selama 72 jam, filtrat disaring menggunakan pompa vakum kemudian dipekatkan dengan *Rotary Evaporator* (RE), maka diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh berwarna kuning sebanyak 30 ml.

3. Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa aktif dalam biskuit biji labu kuning. Hasil uji fitokimia biskuit BLK tertera pada tabel 3.1 di bawah ini.

Tabel 5.1 Hasil Uji Fitokimia Biskuit Biji Labu Kuning

Senyawa Fitokimia	Hasil Uji
Fenolik	+
Flavonoid	+

(Sumber: Data Primer, 2018)



Keterangan:

+ : positif (terdapat dalam sampel)

Data dalam Tabel 3.1 menunjukkan bahwa dalam biskuit BLK terkandung senyawa aktif. Biskuit BLK positif mengandung fenolik dan flavonoid. Adanya senyawa fitokimia seperti fenolik dan flavonoid mengindikasikan bahwa biskuit BLK berpotensi sebagai antioksidan (Pratt, 1992).

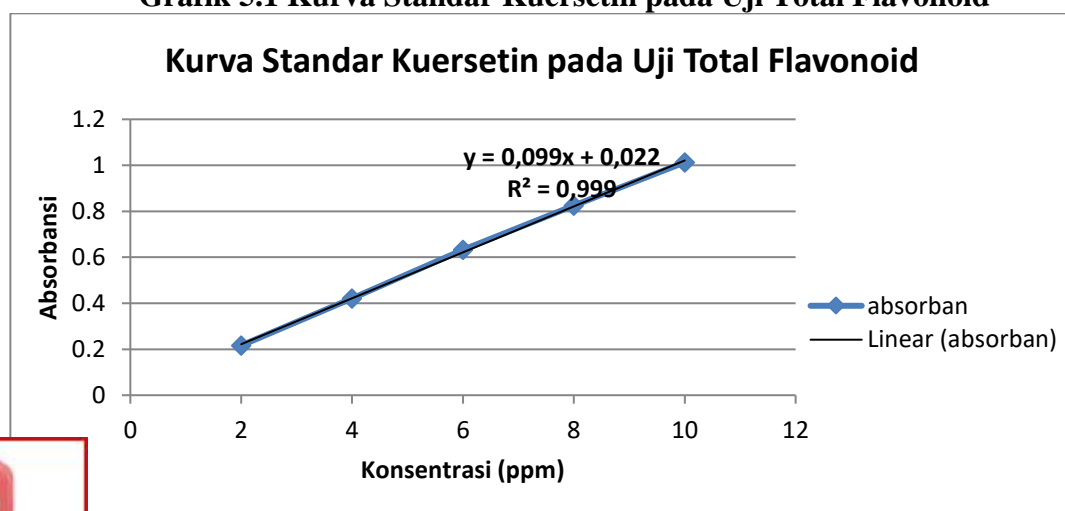
Tabel 5.2 Kadar Flavonoid Total

Replika	Absorbansi (λ 485 nm)	Flavonoid Total (mg QE/g ekstrak)	Rata-rata Flavonoid Total (mg QE/g ekstrak)
1	0,28419	0,467	0,466
2	0,28367	0,466	
3	0,28279	0,465	

(Sumber: Data Primer, 2018)

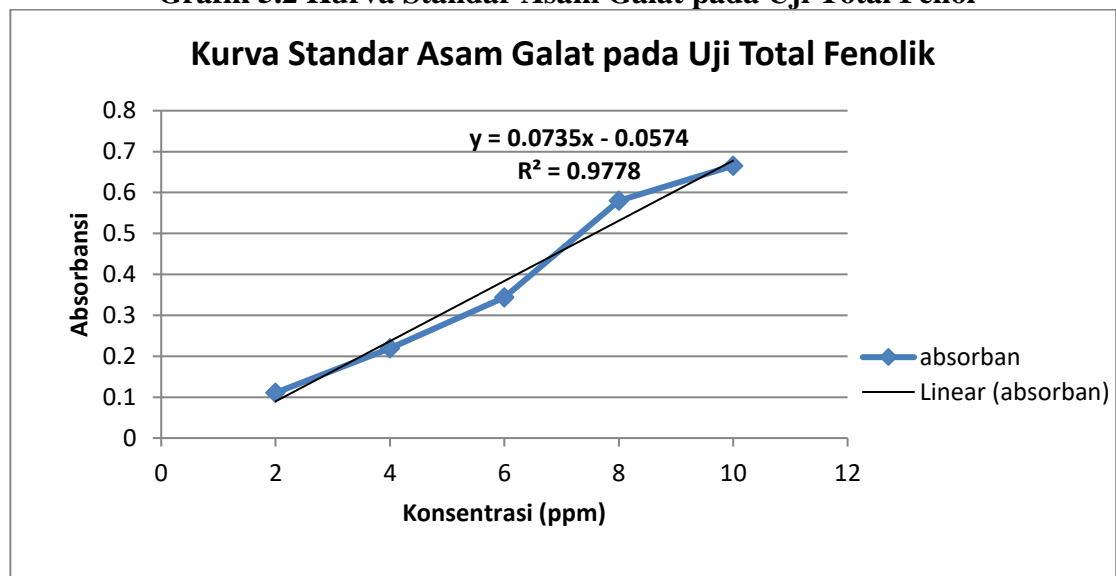
Berdasarkan Tabel 3.2 menunjukkan bahwa rata-rata kandungan flavonoid total biskuit BLK dengan 3 kali replika, yaitu 0,466 mg kuersetin ekuivalen per gram ekstrak.

Grafik 5.1 Kurva Standar Kuersetin pada Uji Total Flavonoid



Salah satu syarat metode analisis dikatakan valid menurut Harmita (2004) adalah nilai koefisien korelasinya $\geq 0,999$. Nilai koefisien korelasi yang semakin mendekati angka 1 menandakan bahwa suatu kurva kalibrasi menghasilkan garis yang linear dan kesalahan yang dapat terjadi antara 2 variabel yang berhubungan (absorbansi dan konsentrasi) semakin kecil. Berdasarkan Grafik 5.1 menunjukkan nilai koefisien korelasi yang dihasilkan berdasarkan rasio serapan terhadap konsentrasi menunjukkan nilai 0,999. Hal ini membuktikan bahwa metode analisis yang digunakan telah memenuhi syarat linearitas pada rentang konsentrasi 2 ppm sampai 10 ppm (Harmita, 2012).

Grafik 5.2 Kurva Standar Asam Galat pada Uji Total Fenol



Berdasarkan Grafik 5.2 menunjukkan nilai koefisien korelasi yang dihasilkan berdasarkan rasio serapan terhadap konsentrasi menunjukkan nilai 0,977. Hal ini membuktikan bahwa metode analisis yang digunakan



telah memenuhi syarat linearitas pada rentang konsentrasi 2 ppm sampai 10 ppm.

Tabel 5.3 Kadar Fenol Total

Replika	Absorbansi (λ 685 nm)	Fenol Total (mg GAE/g ekstrak)	Rata-rata Fenol Total (mg GAE/g ekstrak)
1	0,35692	0,423	0,422
2	0,35839	0,424	
3	0,35612	0,421	

(Sumber: Data Primer, 2018)

Berdasarkan Tabel 3.3 menunjukkan bahwa rata-rata kandungan fenol total biskuit BLK dengan 3 kali replika, yaitu 0,422 mg asam galat ekuivalen per gram ekstrak.

4. Uji Aktivitas Antioksidan dengan DPPH

Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol biskuit BLK dilakukan dengan menggunakan metode uji penangkap radikal bebas DPPH. Adapun hasil analisis biskuit BLK terlihat pada tabel 3.2 di bawah ini.

Tabel 5.4 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Biskuit Biji Labu Kuning

Replika	Absorbansi λ 517 nm	Blanko	% Daya Hambat	Rata-rata % Daya Hambat
1	0,467	0,724	35,49	35,36
2	0,469	0,724	35,22	

(Sumber: Data Primer, 2018)

Berdasarkan Tabel 5.4 didapatkan hasil perhitungan % daya hambat terhadap DPPH dilakukan 2 kali replika. Replika pertama daya hambatnya 35,49%, replika kedua, yaitu 35,22%, dan rata-rata daya hambat, yaitu 35,36%.



B. Pembahasan

1. Produksi Biskuit Biji Labu Kuning

Berbagai jenis tepung sebagian besar terbuat dari biji-bijian. Begitu juga dengan tepung terigu yang berasal dari biji gandum, beras, dan jagung (Purwaningsih, 2013). Tepung juga bisa terbuat dari biji buah-buahan, salah satunya adalah dari biji labu kuning. Biji labu kuning dimanfaatkan biasanya sebagai kuaci. Biji labu kuning (BLK) sebenarnya bisa dimanfaatkan sebagai makanan, namun masyarakat kurang mengetahui hal tersebut.

Dalam pembuatan produk biskuit BLK terlebih dahulu dilakukan pembuatan tepung. BLK yang telah dipisahkan dari daging buahnya dicuci bersih lalu dikeringanginkan selama ± 3 jam di bawah sinar matahari sehingga air yang ada dalam sampel akan berkurang kadarnya. Kemudian dilakukan proses pengovenan selama ± 3 jam pada suhu 150°C .

Setelah melalui proses pengovenan, BLK diblender selama 2-3 menit kemudian diayak dengan menggunakan ayakan 32 mesh. Sebelumnya digunakan ayakan 40 dan 60 mesh, akan tetapi tepung BLK tidak bisa lolos. Hal ini disebabkan partikel tepung masih sangat kasar dan kandungan air masih tinggi. Tujuan yang lain penggunaan mesh adalah untuk memperbesar luas permukaan sentuh sampel sehingga akan lebih mudah untuk diekstraksi. Hal ini dikarenakan semakin besar luas

penampang atau permukaan sentuh sampel dengan pelarut maka akan



semakin mudah bagi pelarut untuk masuk dan menyari semua senyawa fitokimia yang ada dalam sampel (Pumklam and Siriwongwilaichat, 2011).

Tahap selanjutnya pembuatan produk biskuit BLK berdasarkan formula terpilih dari uji organoleptik, yaitu F1 dengan pencampuran tepung terigu (20%:80%) dengan bahan tambahan lain, vanili, soda kue, gula pasir, dan margarin. Untuk parameter warna pada F1 memiliki warna kuning yang agak pucat. Warna merupakan atribut kualitas yang paling penting. Bersama-sama dengan tekstur dan rasa, warna berperan dalam penentuan tingkat penerimaan suatu makanan. Meskipun suatu produk bernilai gizi tinggi, rasa enak dan tekstur baik namun jika warna tidak menarik makan akan menyebabkan produk tersebut kurang diminati (Mutya, 2016).

Selain itu warna biskuit yang dihasilkan berasal dari warna tepung labu biji kuning yang berwarna kuning serta pengaruh protein yang bergabung dengan gula atau pati dalam suasana panas akan menyebabkan warna menjadi gelap. Menurut Winarno (2004) bahwa secara visual warna sangat menentukan suatu pangan diterima atau tidak oleh masyarakat atau konsumen. Makanan yang memiliki rasa enak, bergizi dan bertekstur baik belum tentu akan disukai oleh konsumen apabila bahan pangan tersebut memiliki warna yang tidak sedap dipandang atau menyimpang dari warna yang seharusnya.

Untuk parameter aroma dari F1 dipengaruhi oleh lemak, telur, jenis dan konsentrasi tepung yang digunakan. Pada pembuatan biskuit F1,



digunakan berat bahan yang sama untuk semua jenis bahan tetapi berbeda dalam komposisi tepung. Aroma biskuit keluar saat proses pemanggangan. Aroma biji labu kuning seperti aroma kedelai yang berbau langu dan berbau tengik.

Untuk parameter rasa pada F1 (20% tepung BLK) memiliki rasa manis dan agak terasa biji labu kuningnya. Untuk parameter tekstur pada produk biskuit berhubungan dengan komposisi dan jenis bahan baku yang digunakan. Menurut Willliams (2001) dalam Asmaraningtyas (2014), tepung terigu merupakan komponen utama pada sebagian besar adonan biskuit, sereal, dan kue kering. Memberikan tekstur yang elastis karena kandungan glutennya dan menyediakan tekstur padat setelah dipanggang. Pati merupakan komponen lain yang penting pada tepung terigu dan tepung lainnya. Air terikat oleh pati ketika terjadi gelatinisasi dan akan hilang pada saat pemanggangan. Hal inilah yang menyebabkan adonan berubah menjadi renyah pada produk panggang. Menurut Rampengan (1985) dalam Asmaraningtyas (2014), tekstur suatu bahan pangan merupakan salah satu sifat fisik dari bahan pangan. Hal ini berhubungan dengan rasa pada waktu mengunyah bahan tersebut.

2. Ekstraksi

Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 70%.

Etanol dipilih karena bisa digunakan untuk mengekstraksi senyawa-

senyawa aktif yang bersifat antioksidan dan antibakteri pada suatu bahan (Hirasawa et al., 1999). Etanol tidak menyebabkan pembengkakan sel dan



memperbaiki stabilitas bahan pelarut. Selain itu, alasan penggunaan etanol karena antioksidan yang hendak diekstrak aman untuk dikonsumsi pada produk makanan, minuman, dan obat-obatan, apabila menggunakan metanol bersifat toksik (Voigt, 1995).

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Keuntungan penggunaan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana serta tidak menggunakan panas yang dapat merusak bahan yang terkandung (Departemen Kesehatan, 2000). Hasil ekstrak yang diperoleh berupa ekstrak kental (semi solid) sebanyak 30 ml. Hasil ekstrak diperoleh dengan cara penguapan pelarut menggunakan *Rotary Evaporator*.

3. Uji Fitokimia Senyawa Flavonoid

Sebanyak 2 ml ekstrak sampel biskuit BLK setelah ditambahkan 0,5 ml HCl, bubuk Mg, dan amil alkohol sampel berubah menjadi kuning. Hal ini menunjukkan uji positif adanya senyawa flavonoid dalam sampel. Suatu sampel yang mengandung flavonoid, bila direaksikan dengan HCl dan amil alkohol akan terbentuk warna kuning, hal ini terjadi karena terbentuknya senyawa kompleks antara flavonoid dengan HCl (Harborne, 2006). Semakin pekat warna kuning yang dihasilkan, maka semakin tinggi konsentrasi flavonoid dalam sampel (Sultana et al., 2012).

Sedangkan untuk menentukan kadar senyawa flavonoid total pada sampel digunakan kuersetin (QE) sebagai larutan standar. Larutan standar

kuersetin diukur dengan variasi konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm diukur pada panjang gelombang maksimal 485 nm. Kemudian diperoleh nilai



absorbansi larutan standar kuersetin pada masing-masing konsentrasi, kemudian diperoleh persamaan garis linear yang nantinya digunakan untuk penetapan kadar flavonoid total pada sampel ekstrak etanol biskuit biji labu kuning.

Hasil pengukuran serapan larutan standar kuersetin yang diperoleh dimasukkan ke dalam *Microsoft Excel* untuk mendapatkan kurva kalibrasi larutan standar kuersetin berupa grafik kurva konsentrasi versus absorbansi. Berdasarkan grafik dapat dilihat bahwa kurva kalibrasi dengan persamaan regresi untuk absorbansi kuarsetin sebesar $y = 0,099x + 0,022$ larutan standar senyawa flavonoid diperoleh hubungan yang linier antara absorbansi dengan konsentrasi. Pada pengukuran absorbansi yang ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,999, nilai (r) ini mendekati angka 1 yang menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier.

Hasil pengujian menunjukkan kandungan total flavonoid ekstrak etanol biskuit BLK ialah sebesar 0,466 mg QE/g ekstrak dihitung terhadap flavonoid kuersetin (QE). Manfaat flavonoid antara lain untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektifitas vitamin C, anti inflamasi, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotik. Menurut penelitian sejumlah tanaman yang mengandung flavonoid telah di laporkan telah memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi dan antikanker (Kurniasari, 2006).



Bila dibandingkan dengan kadar flavonoid *snack bar* sorgum sebagai alternatif makanan selingan penderita diabetes mellitus tipe 2, *snack bar* sorgum merah 0,015 mg QE/g, *snack bar* sorgum putih 0,016 mg QE/g, dan *snack bar* sorgum coklat 0,018 mg QE/g (LISA, 2016), biskuit BLK masih lebih tinggi. Hasil perbandingan dapat dilihat pada Tabel 5.5.

Tabel 5.5 Perbandingan Flavonoid Total/ g ekstrak

Produk	Flavonoid Total (mg)
Biskuit BLK	0,466
<i>Snack bar</i> sorgum merah*	0,015
<i>Snack bar</i> sorgum putih*	0,016
<i>Snack bar</i> sorgum coklat*	0,018

Sumber:*(LISA, 2016).

Rata-rata asupan flavonoid sebesar 14,5 mg pada laki-laki dan 20,4 mg pada perempuan per hari. Produk biskuit BLK memenuhi 3,21% flavonoid untuk laki-laki. Berdasarkan rata-rata asupan flavonoid pada perempuan, biskuit BLK memenuhi 2,28% flavonoid (Murphy et al., 2012).

4. Uji Fitokimia Senyawa Fenol

Uji positif senyawa fenol ditunjukkan dengan terbentuknya bercak warna hitam setelah disemprot FeCl_3 1%. Penambahan FeCl_3 1% hanya dapat menunjukkan keberadaan senyawa fenol secara umum, namun tidak dapat membedakan golongannya. Menurut Harborne (2006), hasil positif adanya senyawa fenol ditunjukkan dengan terbentuknya kompleks berwarna hijau, ungu, biru, atau hitam (Harborne, 2006).

Fenol merupakan senyawa kimia yang memiliki cincin aromatik terikat dengan kelompok hidroksil (-OH). Senyawa fenol tersebut dapat



meredam reaksi berantai radikal bebas yang terjadi di dalam tubuh (Meindrawan, 2012). Biji labu kuning yang selama ini dimanfaatkan sebagai makanan kecil yaitu kuaci bahkan terkadang dibuang begitu saja, ternyata mengandung senyawa fenolik yang dapat menjadi sumber antioksidan. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Primawati (2007), diperoleh kadar fenolik total dan aktivitas antioksidan pada biji labu kuning berturut-turut sebesar 3,9489 mg asam galat/g sampel dan 47,011%.

Pada pengukuran senyawa fenol total dibuat sebanyak tiga replikasi untuk keperluan akurasi data. Larutan standar yang digunakan adalah asam galat. Dari hasil pengukuran dan dilakukan perhitungan diperoleh kadar fenol total pada ekstrak etanol biskuit BLK adalah sebesar 0,422 mg GAE/g eks dihitung terhadap senyawa fenol asam galat (GAE). Dalam penelitian sebelumnya, senyawa fenol diketahui memiliki berbagai efek biologis sebagai antioksidan, melindungi struktur sel, anti inflamasi, dan sebagai antiseptik (Ahmad et al., 2017).

Rata-rata asupan fenolik sebesar 6 mg/hari untuk laki-laki dan 15,1 mg/hari untuk perempuan. Biskuit BLK memenuhi sebesar 7,03% fenolik untuk laki-laki. Kebutuhan fenolik pada perempuan terpenuhi 2,79% fenolik (Murphy et al., 2012).

Digunakan asam galat sebagai larutan standar karena merupakan salah satu fenol alami dan stabil, serta relatif murah dibanding lainnya. Asam galat termasuk dalam senyawa fenolik turunan asam



hidroksibenzoat yang tergolong asam fenol sederhana. Asam galat menjadi pilihan sebagai standar ketersediaan substansi yang stabil dan murni. Asam galat direaksikan dengan reagen Folin-Ciocalteu menghasilkan warna kuning yang menandakan bahwa mengandung fenol (Alfian and Susanti, 2013).

Hasil pengukuran serapan larutan standar asam galat yang diperoleh dimasukkan ke dalam *Microsoft Excel* untuk mendapatkan kurva kalibrasi larutan standar asam galat berupa grafik kurva konsentrasi versus absorpsi. Berdasarkan grafik dapat dilihat bahwa kurva kalibrasi dengan persamaan regresi untuk absorpsi asam galat pada konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm sebesar $y = 0,073x - 0,057$ larutan standar senyawa fenol diperoleh hubungan yang linier antara absorpsi dengan konsentrasi. Pada pengukuran absorpsi yang ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,977, nilai (r) ini mendekati angka 1 yang menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier.

5. Uji Aktivitas Antioksidan

Selama ini biskuit hanya dikonsumsi sebagai sumber karbohidrat kompleks yang dapat dijadikan sebagai sumber energi di dalam tubuh. Untuk menambah fungsional biskuit maka perlu adanya penambahan sumber gizi lain agar menunjang nilai gizi yang terkandung dalam biskuit. Salah satunya dengan menambahkan sumber antioksidan. Saat ini

penggunaan senyawa antioksidan berkembang pesat untuk penambahan pada makanan dan obat-obatan. Penggunaan antioksidan berkembang



seiring dengan bertambahnya pengetahuan tentang aktivitas radikal bebas yang merugikan kesehatan (Boer, 2000).

Kadar antioksidan total pada BLK tergolong tinggi, dibuktikan dengan masing-masing memiliki kandungan vitamin yang tinggi seperti vitamin C, beta karoten, tokoferol, lutein zeaxanthin, dan crypoxanthin. Akan tetapi karena produk mengalami pengolahan dengan penjemuran dan pemanasan dalam oven dalam suhu 150°C maka ada sebagian antioksidan yang hilang. Pengaruh proses pemanasan yang menyebabkan komponen asam menguap. Biskuit yang dipanggang pada suhu tinggi 150°C selama 20 menit mengakibatkan kehilangan beberapa zat gizi terutama zat-zat yang labil terhadap panas seperti asam-asam organik. Salah satunya adalah asam askorbat, serta asam-asam lainnya.

Metode DPPH adalah metode yang dapat digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan dalam sampel yang akan diujikan dengan melihat kemampuannya dalam menangkal radikal bebas DPPH. Kelebihan metode DPPH ini yaitu metodenya yang sederhana, mudah, cepat, peka, serta memerlukan sampel dalam jumlah kecil. Mudah diterapkan karena senyawa radikal DPPH yang digunakan bersifat relatif stabil dibanding metode lainnya.

Hasil penelitian didapatkan bahwa kemampuan antioksidan dari biskuit BLK untuk menghambat radikal bebas yaitu, 35,36%. Jumlah

tersebut memiliki kemampuan daya hambat terhadap radikal bebas. Menurut Wulansari (2011) dalam Saefudin (2013), bahwa aktivitas



antioksidan dengan persentase 20-50% tergolong sedang, persentase kurang dari 20% tergolong rendah. Sehingga biskuit BLK dapat digunakan sebagai *snack* sehat karena di dalamnya masih terkandung aktivitas antioksidan, meskipun aktivitasnya tergolong sedang (Saefudin et al., 2013).

Perbandingan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada penelitian tentang aktivitas antioksidan pada biskuit tepung biji rambutan dengan penambahan ekstrak kubis merah yaitu 50 g tepung biji rambutan dan ekstrak kubis merah 20 g/100 cc dengan nilai hanya 15,44% RSA DPPH (Ristiana, 2014). Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Isti'ana (2014) tentang aktivitas antioksidan biskuit penambahan tepung biji asam 75 g dan kelopak bunga rosella 5 g, aktivitas antioksidannya sebesar 34,82% RSA DPPH (Isti'ana, 2014). Perbandingan % aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Tabel 5.6.

Tabel 5.6 Perbandingan % Aktivitas antioksidan

Produk	% Aktivitas Antioksidan
Biji labu kuning ^a	47,01
Biskuit BLK	35,36
Biskuit tepung biji asam ^b	34,82
<i>Snack bar</i> beras hitam ^c	25,52
<i>Snack bar</i> ubi jalar kuning ^d	24,9
<i>Snack bar</i> ubi jalar merah ^d	17,21
Biskuit tepung biji rambutan ^e	15,44
<i>Snack bar</i> beras merah ^c	14,72
<i>Snack bar</i> beras coklat ^c	14,27
<i>Snack bar</i> tepung beras hitam dan kacang ijo ^f	9,75

Sumber: ^a(Primawati, 2007); ^b(Isti'ana, 2014); ^c(Hakim and yustaningwarno, 2013); ^d(Sabuluntika and Fitriyono, 2013); ^e(Ristiana, 2014); ^f(LISA, 2016).



Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan ekstrak metanol dengan reagen DPPH dan diinkubasi selama 30 menit dalam ruangan gelap. Aktivitas antioksidan yang baik ditunjukkan dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Semakin tinggi aktivitas antioksidan maka warna ungu DPPH akan semakin berkurang sehingga menyebabkan penurunan nilai absorbansi sinar tampak pada spektrofotometer (Molyneux, 2004).

DPPH (2,2 difenil-1-pikrilhidrazil) adalah radikal bebas yang stabil pada suhu kamar, dengan bentuk serbuk, warna kehitaman dan cepat teroksidasi oleh temperatur dan udara. Metode pembentukan radikal DPPH merupakan metode pengukuran aktivitas antioksidan yang hanya menggunakan sampel dalam jumlah sedikit dan waktu yang sangat singkat. Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa ditunjukkan oleh hambatan serapan DPPH terkuat pada panjang gelombang maksimumnya (Fentami, 2012).

Intensitas perubahan warna yang telah diukur nilai absorbansinya panjang gelombang 517 nm dinyatakan sebagai persen inhibisi (% inhibisi) dimana makin kecil nilai absorbansi maka semakin tinggi nilai % inhibisinya.

Aktivitas antioksidan dapat diketahui dari nilai persen inhibisi, naiknya persen inhibisi dipengaruhi oleh menurunnya nilai absorbansi

yang dihasilkan oleh sampel. Penurunan nilai absorbansi disebabkan oleh
ngginya konsentrasi sampel. Hal ini dapat disimpulkan bahwa semakin



tinggi konsentrasi sampel maka semakin kecil nilai absorbansi sehingga mengakibatkan persen inhibisi semakin tinggi.

Tubuh manusia mampu menghasilkan antioksidan sendiri antara lain enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase (Kumalaningsih, 2007). Akan tetapi, tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih, maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen (Sunarni, 2005). Antioksidan dalam pangan berperan penting untuk mempertahankan mutu produk, mencegah ketengikan, perubahan nilai gizi, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik lain yang diakibatkan oleh reaksi oksidasi (Widjaya, 2003).

Radikal bebas adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan dengan cara menyerang atau mengikat elektron molekul yang berada disekitarnya. Radikal bebas merupakan pemicu timbulnya sebagian penyakit seperti jantung koroner, kanker, penuaan, radang sendi, katarak, dan kemunduran syaraf (Dr. Hery Winarsi, 2007).

Menurut Gordon (2001), antioksidan adalah substansi tertentu yang dapat menunda, memperlambat, atau mencegah kerusakan pada bahan makanan akibat oksidasi. Substansi ini dapat terbentuk secara alami

(sistem biologis) atau ditambahkan pada produk dan selama proses pengolahan (sistem pangan). Antioksidan tidak akan meningkatkan



kualitas bahan pangan, tapi mempertahankan kualitas dan memperpanjang umur simpannya (sistem pangan) (Gordon, 2001).

Penggunaan senyawa antioksidan sangat penting bagi tubuh karena peranannya dalam menghambat penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, atherosclerosis, kanker serta gejala penuaan (Fentami, 2012).

6. Hubungan Kandungan Total Flavonoid dan Fenol dengan Aktivitas Antioksidan

Tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan umumnya mengandung senyawa flavonoid maupun senyawa metabolit sekunder lain yang kaya akan aktivitas antioksidan. Hasil pengujian aktivitas antioksidan menggunakan % inhibisi memiliki kandungan antioksidan sebesar 35,36%. Menggunakan pelarut methanol, sifat antioksidan dari ekstrak methanol sendiri diakibatkan oleh senyawa fenolik (total fenol) yang terkandung di dalamnya. Senyawa fenolik mampu mendonorkan radikal hidrogen untuk menetralkan radikal bebas dan radikal fenolik yang terbentuk akan terstabilkan oleh resonansi (Prabawati et al., 2012).

Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan cukup tinggi dibandingkan dengan bahan baku lain misalnya dari tepung uwi ungu dengan kandungan antioksidan sebesar 27,1891%, sehingga potensi ini perlu kajian lebih lanjut untuk pemanfaatan aktivitas antioksidan pada bahan tepung biji labu kuning. Kemungkinan nilai persentase inhibisi

tinggi disebabkan formulasi yang digunakan cenderung masih lebih banyak tepung terigu. Namun hal itu besar kemungkinan disebabkan juga



adanya senyawa kimia, mineral, dan vitamin lain, seperti flavonoid 0,466 mg QE/g ekstrak, fenol 0,422 mg GAE/g ekstrak, dan vitamin C 0,027 mg/g bahan karena dapat mencegah kerusakan jaringan sel yang disebabkan oleh radikal bebas (Bosha et al., 2015).

Bila dibandingkan dengan aktivitas antioksidan *snack bar* beras merah 14,72%, *snack bar* beras coklat 14,27%, dan *snack bar* beras hitam 25,52% (Hakim and Ayustaningwarno, 2013), sedangkan pada *snack bar* ubi jalar kuning 24,9% dan *snack bar* ubi jalar merah 17,21% (Sabuluntika and Fitriyono, 2013). Biskuit BLK masih lebih tinggi.

Penelitian lain formulasi perbandingan *snack bar* tepung beras hitam (66,7%) dan tepung kacang hijau (33,3%) sebagai camilan sehat menunjukkan aktivitas antioksidan 9,75% (LISA, 2016).

Makanan selingan yang mengandung antioksidan dan memiliki aktivitas antioksidan diharapkan selain memberikan asupan antara makanan utama, dapat membantu meminimalisir stres oksidatif yakni kondisi yang berhubungan peningkatan kecepatan kerusakan sel akibat induksi oksigen dan turunannya (ROS atau *Reactive Oxygen Species*) karena ketidakseimbangan antara ROS yang dihasilkan dengan sistem penangkapan radikal (antioksidan endogen).

Hasil pengujian kandungan total flavonoid ekstrak etanol biskuit BLK memberikan hubungan positif dengan hasil pengujian antioksidannya. Hal tersebut disebabkan oleh adanya gugus fungsi



hidroksil (-OH) bebas dan ikatan rangkap terkonjugasi yang terdapat pada flavonoid yang dapat bertindak sebagai antioksidan (Parwata et al., 2009).



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka diperoleh kesimpulan:

1. Kandungan flavonoid total biskuit biji labu kuning, yaitu 0,466 mg QE/g ekstrak.
2. Kandungan fenol total biskuit biji labu kuning, yaitu 0,422 mg GAE/g ekstrak.
3. Biskuit biji labu kuning memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong sedang, yaitu 35,36%.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian, disarankan perlu diadakan penelitian lanjutan dengan parameter tambahan untuk identifikasi jenis senyawa golongan flavonoid dan fenol.



DAFTAR PUSTAKA

- Abuelgassim, A. O. & Al-Showayman, S. I. 2012. The Effect Of Pumpkin (Cucurbita Pepo L) Seeds And L-Arginine Supplementation On Serum Lipid Concentrations In Atherogenic Rats. *African Journal Of Traditional, Complementary And Alternative Medicines*, 9, 131-137.
- Adi, D. K., Parnanto, N. H. R. & Ishartani, D. 2016. Pendugaan Umur Simpan Dan Aktivitas Antioksidan Manisan Kering Pare Belut (Trichosanthes Anguina L.) Sebagai Camilan Sehat Dengan Pemanis Sorbitol. *Jurnal Teknosains Pangan*, 5.
- Afrianto, E. 2008. Pengawasan Mutu Bahan/Produk Pangan. *Jakarta: Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan*.
- Agbagwa, I. O. & Ndukwu, B. C. 2004. The Value Of Morpho-Anatomical Features In The Systematics Of Cucurbita L.(Cucurbitaceae) Species In Nigeria. *African Journal Of Biotechnology*, 3, 541-546.
- Ahmad, A. R., Juwita, J., Ratulangi, S. A. D. & Malik, A. 2017. Penetapan Kadar Fenolik Dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah Dan Daun Patikala (Etlingera Elatior (Jack) Rm Sm). *Pharmaceutical Sciences And Research (Psr)*, 2, 1-10.
- Alfian, R. & Susanti, H. 2013. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (Hibiscus Sabdariffa Linn) Dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri. *Pharmaciana*, 2.
- Badan Perencanaan Pembangunan Nasional, N. 2011. Rencana Aksi Nasional Pangan Dan Gizi 2011-2015. *Jakarta: Badan Perencanaan Pembangunan Nasional*.
- Bosha, J. A., Anaga, A. O. & Asuzu, I. U. 2015. Chemical Composition Of The Marc Of A Wild Tropical Plant Tacca Involucrata (Schumach And Thonn, 1827). *Food And Nutrition Sciences*, 6, 135.
- Cardello, A. 1994. Sensory-Instrumental Research. *Cereal Foods World (Usa)*.

us, D. 2004. Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi. -.

, K. A. & Newenhouse, A. C. 1997. *Growing Pumpkins And Other Vine crops In Wisconsin*, University Of Wisconsin Ext.



Departemen Kesehatan, R. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Edisi I. *Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta.*

Dr. Hery Winarsi, M. S. 2007. *Antioksidan Alami Dan Radikal Bebas*, Yogyakarta, Penerbit Kanisius.

El-Adawy, T. A. & Taha, K. M. 2001. Characteristics And Composition Of Watermelon, Pumpkin, And Paprika Seed Oils And Flours. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 49, 1253-1259.

Elinge, C., Muhammad, A., Atiku, F., Itodo, A., Peni, I., Sanni, O. & Mbongo, A. 2012. Proximate, Mineral And Anti-Nutrient Composition Of Pumpkin (Cucurbitapepo L) Seeds Extract. *International Journal Of Plant Research*, 2, 146-150.

Fentami, N. 2012. *Uji Aktivitas Antioksidan Total Pada Bahan Nabati Yang Mengandung Vitamin E* Andalas.

Floros, J. & Gnanasekharan, V. 1993. Shelf Life Prediction Of Packaged Foods: Chemical, Biological, Physical, And Nutritional Aspects. *Elsevier Publ. London.*

Ganestya, S., Djumarga, S. & Utari, C. S. 2012. Anthelmintic Effects Of Pumpkin (Cucurbita Moschata) Seed Extract On Ascaris Suum In Vitro. *Biofarmasi Journal Of Natural Product Biochemistry*, 10, 1-6.

Glew, R., Glew, R., Chuang, L.-T., Huang, Y.-S., Millson, M., Constans, D. & Vanderjagt, D. 2006. Amino Acid, Mineral And Fatty Acid Content Of Pumpkin Seeds (Cucurbita Spp) And Cyperus Esculentus Nuts In The Republic Of Niger. *Plant Foods For Human Nutrition*, 61, 49-54.

Gordon, M. 2001. Measuring Antioxidant Activity. Dalam Jan Pokorny, Nedyalka, Yanishlieva-Maslarova And Michael Gordon (Ed). *Antioxidant In Food, Practical Application. Woodhead Publisihng Ltd. London.*

Hakim, V. P. & Ayustaningwarno, F. 2013. *Analisis Aktivitas Antioksidan, Kandungan Zat Gizi Makro Dan Mikro Snack Bar Beras Warna Sebagai Makanan Selingan Penderita Nefropati Diabetik*. Diponegoro University.

, J. B. 2006. *Metode Fitokimia*, Bandung, Itb.



- Hargono, D. 1999. Manfaat Biji Labu (*Cucurbita Sp.*) Untuk Kesehatan. *Media Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan*, 9.
- Harmita, H. 2012. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode Dan Cara Perhitungannya. *Pharmaceutical Sciences And Research (Psr)*, 1, 117-135.
- Hirasawa, M., Shoujii, N., Neta, T., Fukushima, K. & Takada, K. 1999. The Kinds Of Antibacterial Substances From *Lentinus Adobes Singshitake* An Edible Mushroom. *International Journal Of Antibacterial Agents*, 11, 1561-157.
- Hutapea, J. R. & Syamsuhidayat, S. 1993. Inventaris Tanaman Obat Indonesia Edisi Iii. Depkesri Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan: Jakarta.
- Igfar, A. 2012. Pengaruh Penambahan Tepung Labu Kuning (*Cucurbita Moschata*) Dan Tepung Terigu Terhadap Pembuatan Biskuit. *Makassar. Universitas Hasanuddin*.
- Isti'ana, D. L. 2014. *Aktivitas Antioksidan Dan Sifat Organoleptik Biskuit Dengan Penambahan Tepung Biji Asam (Tamarindus Indica) Dan Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus Sabdariffa Linn.)*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Kadji, M. H., Runtuwene, M. R. & Citraningtyas, G. 2013. Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Daun Soyogik (*Saurauia Bracteosa* Dc). *Pharmacon*, 2.
- Karmas, E. & Harris, R. S. 2012. *Nutritional Evaluation Of Food Processing*, Springer Science & Business Media.
- Khopkar, S. 1990. Konsep Dasar Kimia Analitik, 275, 279, Diterjemahkan Oleh A. Saptorahardjo, Pendamping Nurhadi, A., Penerbit Ui-Press, Jakarta.
- Kim, M. Y., Kim, E. J., Kim, Y.-N., Choi, C. & Lee, B.-H. 2012. Comparison Of The Chemical Compositions And Nutritive Values Of Various Pumpkin (*Cucurbitaceae*) Species And Parts. *Nutrition Research And Practice*, 6, 21-27.

S. 2006. Pengujian Organoleptik (Evaluasi Sensori) Dalam Industri Pangan. *Ebook Pangan*.



Kumalaningsih, S. 2007. *Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas Cetakan Ke-2*, Surabaya, Trubus Agrisarana.

Kurniasari, I. 2006. Metode Cepat Penentuan Flavonoid Total Meniran (*Phyllanthus Niruri L.*) Berbasis Teknik Spektrometri Inframerah Dan Kemometrik. *Bogor: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor*.

Kusnandar, F. 2006. Desain Percobaan Dalam Penetapan Umur Simpan Produk Pangan Dengan Metode Aslt (Model Arrhenius Dan Kadar Air Kritis). *Modul Pelatihan: Pendugaan Dan Pengendalian Umur Simpan Bahan Dan Produk Pangan*, 7-8.

Leitzmann, B. W. D. C. 2012. Zat Aktif Biologis Lainnya Dalam Bahan Makanan Nabati: Fitokimia. In: Jim Mann, A. S. T. (Ed.) *Buku Ajar Ilmu Gizi*. 4 Ed. Jakarta: Egc.

Lestari, B., Hanif, N. I., Anggarany, A. D., Ziyad, T., Walidah, Z. & Murwanti, R. 2014. Potensi Biji Labu Kuning Sebagai Agen Fitoestrogen Pada Wanita Post Menstrual. *Program Kreativitas Mahasiswa-Penelitian*.

Lisa, S. 2016. *Formulasi Dan Karakterisasi Snack Bar Berbasis Tepung Beras Hitam (*Oryza Sativa L.*) Dan Tepung Kacang Hijau (*Phaseolus Radiatus L.*) Sebagai Alternatif Camilan Sehat*. Universitas Sebelas Maret.

Lully Hanni Endarini, M. F., Apt 2016. *Farmakognosi-Fitokimia*, Jakarta, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia Bppsdmk.

Makni, M., Sefi, M., Fetoui, H., Garoui, E. M., Gargouri, N. K., Boudawara, T. & Zeghal, N. 2010. Flax And Pumpkin Seeds Mixture Ameliorates Diabetic Nephropathy In Rats. *Food And Chemical Toxicology*, 48, 2407-2412.

Matz, S. 1984. *Snack Food Technology*. The Avi Publ. Co. Inc., Westport, Connecticut.

Meindrawan, B. 2012. *Aktivitas Antioksidan Dan Kadar Tempe Satu Kali Perebusan Dari Kedelai (*Glycine Max L Merr*) Lokal Var. Grobogan Dan Impor*.

A. L. 1996. Antioxidant Flavonoids: Structure, Function And Clinical Usage. *Alt Med Rev*, 1, 103-111.



- Molyneux, P. 2004. The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (Dpph) For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26, 211-219.
- Mulja, M. & Suharman, A. I. 1995. Airlangga University Press. Surabaya.
- Murphy, M. M., Barraji, L. M., Herman, D., Bi, X., Cheatham, R. & Randolph, R. K. 2012. Phytonutrient Intake By Adults In The United States In Relation To Fruit And Vegetable Consumption. *Journal Of The Academy Of Nutrition And Dietetics*, 112, 222-229.
- Obat, B. P. 2009. Makanan. 2008. Pengujian Mikrobiologi Pangan. *Jurnal Infopom*, 9.
- Pabesak, R. V., Dewi, L. & Lestario, L. N. Aktivitas Antioksidan Dan Fenolik Total Pada Tempe Dengan Penambahan Biji Labu Kuning (*Cucurbita Moschata Ex Poir*). Proceeding Biology Education Conference: Biology, Science, Enviromental, And Learning, 2013. 316-322.
- Parwata, I., Rita, W. S. & Yoga, R. 2009. Isolasi Dan Uji Antiradikal Bebas Minyak Atsiri Pada Daun Sirih (*Piper Betle Linn*) Secara Spektroskopi Ultra Violet-Tampak. *Jurnal Kimia*, 3, 7-13.
- Patel, S. 2013. Pumpkin (*Cucurbita Sp.*) Seeds As Nutraceutic: A Review On Status Quo And Scopes. *Mediterranean Journal Of Nutrition And Metabolism*, 6, 183-189.
- Povilaityee, V. & Venskutonis, P. 2000. Antioxidative Activity Of Purple Peril (*Perilla Frutescens L.*), Moldavian Dragonhead (*Dracocephalum Moldavica L.*), And Roman Chamomile (*Anthemis Nobilis L.*) Extracts In Rapeseed Oil. *Journal Of The American Oil Chemists' Society*, 77, 951.
- Prabawati, S. Y., Setiawan, A. F. & Agustina, A. F. 2012. Sintesis Senyawa 1, 4-Bis [(2-Hidroksi-3-Metoksi-5-Formaldehid-Fenil)-Metil] Piperazin Dari Bahan Dasar Vanilin Dan Uji Aktivitasnya Sebagai Zat Antioksidan. *Jurnal Kaunia*, 8, 30-43.
- Pratt, D. Natural Antioxidants From Plant Material. Acs Symposium Series, 1992.



Republik Indonesia, R. 2012. Undang-Undang Republik Indonesia nomor 18 Tahun 2012 Tentang Pangan. *Jakarta (Id): Sekretariat Negara*.

- Primawati, R. 2007. Aktivitas Antioksidan Dan Kadar Fenolik Total Biji Semangka (*Citrullus Vulgaris* Schrad.) Dan Biji Labu Kuning (*Cucurbita Moschata* Ex Poir). Skripsi.
- Pumklam, R. & Siringwilaichat, P. The Effect Of Particle Size On Antioxidant Capacity Of Mangosteen Peel Extract. The 12th Asean Food Conference, 2011. 729-732.
- Purwaningsih, D. 2013. *Pemanfaatan Biji Tanaman Kesumba (Bixa Orellana) Sebagai Pewarna Alami Dan Antioksidan (Vitamin C) Untuk Pembuatan Kue Bolu Dari Berbagai Macam Tepung*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Purwanti, D. 2005. Pemanfaatan Pati Jagung (Corn Starch) Dan Protein Jagung (Corn Gluten Meal) Dalam Pembuatan Snack Mie Jagung. *Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor, Bogor*.
- Reynertson, K. A. 2007. *Phytochemical Analysis Of Bioactive Constituents From Edible Myrtaceae Fruits*. City University Of New York.
- Ristiana, L. 2014. *Aktivitas Antioksidan Dan Tingkat Kesukaan Konsumen Terhadap Biskuit Dengan Substitusi Tepung Biji Rambutan Dan Penambahan Kubis Merah (Brassica Oleraceae)*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rukmana, I. H. R. 1997. *Usaha Tani Jagung*, Kanisius.
- Rustina, R. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Biji Labu Kuning (*Cucurbita Moschata* Duch. Poir).
- Sabuluntika, N. & Fitriyono, A. 2013. Kadar B-Karoten, Antosianin, Isoflavon, Dan Aktivitas Antioksidan Pada Snack Bar Ubi Jalar Kedelai Hitam Sebagai Alternatif Makanan Selingan Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *Journal Of Nutrition College*, 2.
- Saefudin, S., Marusin, S. & Chairul, C. 2013. Aktivitas Antioksidan Pada Enam Jenis Tumbuhan Sterculiaceae. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 31, 103-109.



W., Runtuwene, M. R. & Citraningtyas, G. 2013. Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis.]. *Pharmacon*, 2.

- Setyowati, W. T. & Nisa, F. C. 2014. Formulasi Biskuit Tinggi Serat (Kajian Proporsi Bekatul Jagung: Tepung Terigu Dan Penambahan Baking Powder)[In Press Juli 2014]. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 2, 224-231.
- Siagian, A. 2002. Bahan Tambahan Makanan.
- Sicilia, T., Niemeyer, H. B., Honig, D. M. & Metzler, M. 2003. Identification And Stereochemical Characterization Of Lignans In Flaxseed And Pumpkin Seeds. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 51, 1181-1188.
- Sitti Fara Diba Hamid, S. R. A., Riza Rosita, Tutut Purnama Sari, Marjulyati, Zainal Abidin, Fitri Tri Putri, Kerolina Seba, Nurwulan Halubangga, Erfina, Irene Marlin, Jabal Rahman 2014. Laporan Praktikum Fitokimia Identifikasi Komponen Senyawa Pada Biji Labu Kuning (Curcibita Moschata Semen). Makassar: Laboratorium Biologi Farmasi Sekolah Tinggi Imu Farmasi Makassar.
- Sultana, M., Verma, P. K., Raina, R., Prawez, S. & Dar, M. 2012. Quantitative Analysis Of Total Phenolic, Flavonoids And Tannin Contents In Acetone And N-Hexane Extracts Of Ageratum Conyzoides. *Int J Chemtech Res*, 4, 996-9.
- Sunarni, T. 2005. Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa Kecambah Dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 2, 53-61.
- Trisnawati, W., Suter, K., Suastika, K. & Putra, N. K. 2014. Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kandungan Antioksidan, Serat Pangan Dan Komposisi Gizi Tepung Labu Kuning. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 3.
- Vaya, J. & Aviram, M. 2001. Nutritional Antioxidants Mechanisms Of Action, Analyses Of Activities And Medical Applications. *Current Medicinal Chemistry-Immunology, Endocrine & Metabolic Agents*, 1, 99-117.
- Voigt, R. 1995. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi (Soewandhi, Sn Dan Widianto, Mb, Penerjemah). Edisi V. Gadjra Mada University Press, Yogyakarta, Hal.



E. N. 2016. *Kualitas Biskuit Dengan Kombinasi Tepung Sorgumorghum Bicolor (L.) Moench) Dan Tepung Tempe*. Uajy.

Widjaya, C. 2003. Peran Antioksidan Terhadap Kesehatan Tubuh. *Healthy Choice. Edisi Iv*, 68.



Optimization Software:
www.balesio.com

Lampiran 1

Hasil perhitungan % daya hambat DPPH

1. Replika 1

$$\begin{aligned} \text{\% Penghambatan} &= \frac{\text{Absorban blanko} - \text{Absorban sampel}}{\text{Absorban blanko}} \times 100\% \\ &= \frac{0,724 - 0,467}{0,724} \times 100\% \\ &= 35,49\% \end{aligned}$$

2. Replika 2

$$\begin{aligned} \text{\% Penghambatan} &= \frac{\text{Absorban blanko} - \text{Absorban sampel}}{\text{Absorban blanko}} \times 100\% \\ &= \frac{0,724 - 0,469}{0,724} \times 100\% \\ &= 35,22\% \end{aligned}$$



Lampiran 2

1. Hasil Pengukuran Kurva Baku untuk Penetapan Kandungan Flavonoid Total

Seri	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Persamaan Kurva Baku
1	2	0.11066	$y = 0,073x - 0,057$ $r^2 = 0,977$
2	4	0.21918	
3	6	0.34384	
4	8	0.58011	
5	10	0.66560	

a. Replika 1

$$\begin{aligned}y &= 0,073x - 0,057 \\0,28419 &= 0,073x - 0,057 \\x &= 0,28419 + 0,057/0,073 \\x &= 4,67383 \text{ } \mu\text{g QE/ml} \\&= 0,00467 \text{ mg QE/ml}\end{aligned}$$

b. Replika 2

$$\begin{aligned}y &= 0,073x - 0,057 \\0,28367 &= 0,073x - 0,057 \\x &= 0,28367 + 0,057/0,073 \\x &= 4,66671 \text{ } \mu\text{g QE/ml} \\&= 0,00466 \text{ mg QE/ml}\end{aligned}$$

c. Replika 3

$$\begin{aligned}y &= 0,073x - 0,057 \\0,28279 &= 0,073x - 0,057 \\x &= 0,28279 + 0,057/0,073 \\x &= 4,65465 \text{ } \mu\text{g QE/ml} \\&= 0,00465 \text{ mg QE/ml}\end{aligned}$$

2. Perhitungan kadar flavonoid

$$\text{Total Flavonoid Ekuivalen Quersetin} = C \times \frac{V}{m}$$

ngan:

= kadar flavonoid larutan (nilai x)

= Volume ekstrak yang digunakan (mL)



m = Berat sampel yang digunakan (g)

a. Replikasi 1

$$\text{Total flavonoid} = 0,00467 \times \frac{5}{0,05}$$

$$= 0,467 \text{ mg QE/g eks}$$

b. Replikasi 2

$$\text{Total flavonoid} = 0,00466 \times \frac{5}{0,05}$$

$$= 0,466 \text{ mg QE/g eks}$$

c. Replikasi 3

$$\text{Total flavonoid} = 0,00465 \times \frac{5}{0,05}$$

$$= 0,465 \text{ mg QE/g eks}$$

Replika	Absorbansi (485 nm)	Flavonoid Total (mg QE/g ekstrak)	Rata-rata Flavonoid Total (mg QE/g ekstrak)
1	0,28419	0,467	0,466
2	0,28367	0,466	
3	0,28279	0,465	



Lampiran 3

1. Hasil Pengukuran Kurva Baku untuk Penetapan Kandungan Fenolik Total

Seri	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Persamaan Kurva Baku
1	2	0,21647	$y = 0,099x + 0,022$ $r^2 = 0,999$
2	4	0,42023	
3	6	0,63255	
4	8	0,82484	
5	10	1,01300	

a. Replika 1

$$y = 0,099x + 0,022$$

$$0,35692 = 0,099x + 0,022$$

$$x = 0,35692 - 0,022/0,099$$

$$x = 3,38303 \text{ } \mu\text{g GAE/ml sampel}$$

$$= 0,00338 \text{ mg GAE/ml}$$

b. Replika 2

$$y = 0,099x + 0,022$$

$$0,35839 = 0,099x + 0,022$$

$$x = 0,35839 - 0,022/0,099$$

$$x = 3,39787 \text{ } \mu\text{g GAE/ml sampel}$$

$$= 0,00339 \text{ mg GAE/ml}$$

c. Replika 3

$$y = 0,099x + 0,022$$

$$0,35612 = 0,099x + 0,022$$

$$x = 0,35612 - 0,022/0,099$$

$$x = 3,37494 \text{ } \mu\text{g GAE/ml sampel}$$

$$= 0,00337 \text{ mg GAE/ml}$$

2. Kadar fenol total per berat sampel

$$\text{Total Fenol Ekuivalen Asam Galat} = \frac{\text{C.V.fp}}{\text{g}}$$

Angka:

- = kadar fenol larutan (nilai x)
- = Volume ekstrak yang digunakan (mL)
- = Faktor pengenceran



m = Berat sampel yang digunakan (g)

a. Replikasi 1

$$\begin{aligned} \text{TPC} &= \frac{0,00338 \times 5 \times 1}{0,04} \times 100\% \\ &= 0,4225 \text{ mg GAE/g} \\ &= 42,25\% \end{aligned}$$

b. Replikasi 2

$$\begin{aligned} \text{TPC} &= \frac{0,00339 \times 5 \times 1}{0,04} \times 100\% \\ &= 0,42375 \text{ mg GAE/g} \\ &= 42,375\% \end{aligned}$$

c. Replikasi 3

$$\begin{aligned} \text{TPC} &= \frac{0,00337 \times 5 \times 1}{0,04} \times 100\% \\ &= 0,42125 \text{ mg GAE/g} \\ &= 42,125\% \end{aligned}$$

Replika	Absorbansi (685 nm)	Fenol Total (mg GAE/g ekstrak)	Rata-rata Fenol Total (mg GAE/g ekstrak)
1	0,35692	0,423	0,422
2	0,35839	0,424	
3	0,35612	0,421	



Lampiran 4

Foto kegiatan

Pemanggangan biji labu kuning



Pemanggangan biskuit



Proses maserasi (perendaman sampel)



Proses evaporasi



Hasil ekstrak kental



Uji warna senyawa flavonoid dan fenol



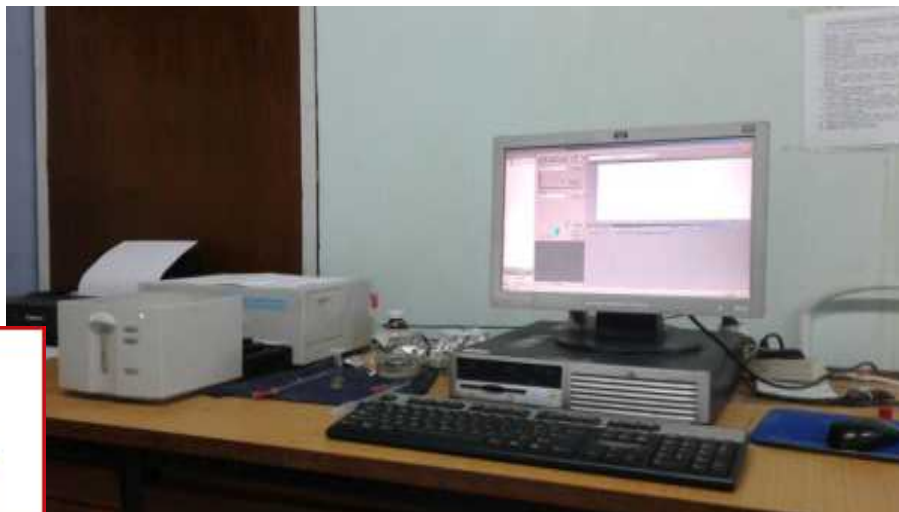
Pembuatan larutan untuk total flavonoid



Pembuatan larutan untuk total fenol



Pengukuran sampel pada spektrofotometer UV-Vis



Optimization Software:
www.balesio.com

Lampiran 5

**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI**
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KESEHATAN MASYARAKAT
Jl. Perintis Kemerdekaan Km.10 Makassar 90245, Telp. (0411) 585658, Fax 0411 - 586013
E-mail : fkmuh@unhas.ac.id, website: www.fkm.unhas.ac.id

Nomor : 4087 /UN4.14.3/PL.00.00/2018
Hal : Izin Penelitian

25 Mei 2018

Yang Terhormat
Kepala Laboratorium Terpadu Peternakan Universitas Hasanuddin
di - Makassar

Kami ajukan mahasiswa Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Hasanuddin yang bermaksud untuk melakukan penelitian dalam rangka penyusunan skripsi.

Untuk melaksanakan penelitian ini, kami mengharapkan bantuan Bapak/Ibu kiranya dapat memberikan izin kepada :

Nama : Anisa Ishak
Nim : K21116703
Program Studi : Ilmu Gizi
Judul Tugas Akhir : Analisis Fitokimia pada Produk Biskuit Berbasis Tepung Biji Labu Kuning (*Cucurbita sp*). Sebagai *Snack* Sehat Anak Sekolah Dasar.

Lokasi Penelitian : **Laboratorium Kimia Pakan Ternak/Labotatorium Terpadu Peternakan Universitas Hasanuddin.**

Pembimbing : 1. Dr. Aminuddin Syam, SKM., M.Kes,M.Med.ED
2. Dr. Nurhaedar Jafar, Apt., M.Kes

Atas bantuan dan kerjasama yang baik, kami sampaikan banyak terima kasih.

a.n Dekan
Wakil Dekan Bidang Kemahasiswaan dan Alumni


Prof. Sukri Palutturi, SKM., M.Kes., M.ScPH., Ph.D
NIP. 1972052920011210013

Tembusan :

1. Dekan FKM Unhas sebagai laporan
2. Pembimbing Skripsi Mahasiswa ybs
3. Ketua Prodi/Departemen Mahasiswa ybs



Lampiran 6

**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI**
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KESEHATAN MASYARAKAT
Jl. Perintis Kemerdekaan Km.10 Makassar 90245, Telp. (0411) 585858, Fax 0411 - 586013
E-mail : fkmuh@unhas.ac.id, website: www.fkm.unhas.ac.id

Nomor : 4107/JN4.14.3/PL.00.00/2018
Hal : Izin Penelitian

30 Mei 2018

Yang Terhormat
Kepala Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin
di - Makassar

Kami ajukan mahasiswa Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Hasanuddin yang bermaksud untuk melakukan penelitian dalam rangka penyusunan skripsi.

Untuk melaksanakan penelitian ini, kami mengharapkan bantuan Bapak/Ibu kiranya dapat memberikan izin kepada :

Nama : Anisa Ishak
Nim : K21116703
Program Studi : Ilmu Gizi
Judul Tugas Akhir : Analisis Fitokimia pada Produk Biskuit Berbasis Tepung Biji Labu Kuning (*Curcubita sp*). Sebagai Snack Sehat Anak Sekolah Dasar.

Lokasi Penelitian : Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin.
Pembimbing : 1. Dr. Aminuddin Syam, SKM., M.Kes,M.Med.ED
2. Dr. Nurhaedar Jafar, Apt., M.Kes

Atas bantuan dan kerjasama yang baik, kami sampaikan banyak terima kasih.


Wakil Dekan Bidang Kemahasiswaan dan Alumni

Prof. Sukri Palutturi, SKM., M.Kes., M.ScPH., Ph.D
NIP. 1972052920011210013

Tembusan :

1. Dekan FKM Unhas sebagai laporan
2. Pembimbing Skripsi Mahasiswa ybs
3. Ketua Prodi/Departemen Mahasiswa ybs



Lampiran 7



LABORATORIUM KIMIA MAKANAN TERNAK
JURUSAN NUTRISI DAN MAKANAN TERNAK
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN

HASIL ANALISIS BAHAN

No	Kode Sampel	Antioksidan (%DH DPPH)
1	Biskuit 1	35,49
2	Biskuit 2	35,22

Keterangan : Hasil Analisis Berdasarkan Contoh Asli (Segar)

Makassar, 31 Mei 2018

Analis,

Muhammad Syahrul

Nip. 19790603 2001 12 1 001



Lampiran 8

RIWAYAT HIDUP



DATA PRIBADI

Nama : Anisa Ishak
Tempat & tanggal lahir : Rantepao, 09 Agustus 1984
Jenis Kelamin : Perempuan
Kewarganegaraan : Indonesia
Agama : Kristen Protestan
Alamat : BTP Jl. Bangkala Raya, Kec. Tamalanrea,
Sulawesi Selatan
No. HP : 0811 420 4371
Email : anisaishak611@yahoo.com

RIWAYAT PENDIDIKAN

1. (1990 – 1996) : SDN Inpres Rantemenduruk, Toraja Utara
2. (1996 – 1999) : SMP Negeri 1 Rantepao, Toraja Utara
3. (1999 – 2002) : SMA Negeri 1 Rantepao, Toraja Utara
4. (2003 – 2006) : DIII Gizi, Poltekkes Makassar
- 2018) : S1 Ilmu Gizi Fakultas Kesehatan Masyarakat
Universitas Hasanuddin Makassar

