

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Biji Labu Kuning (*Cucurbita moschata* Duch)

Labu kuning (*C. moschata*) merupakan suatu jenis tanaman sayuran menjalar dari famili *Cucurbitaceae* yang setelah berbuah akan langsung mati. Bagian tengah labu kuning terdapat biji yang diselimuti lendir dan serat. Bijinya berbentuk pipih dengan kedua ujungnya berbentuk runcing (Patel, 2013). Biji *C. moschata* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Biji labu kuning (*C. moschata*)

Dalam sistematika tumbuh-tumbuhan, kedudukan taksonomi labu kuning (*Cucurbita moschata*) menurut Steenis (1975) adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyte
Kelas	: Dycotiledone
Suku	: Sympetalae
Keluarga	: <i>Cucurbitaceae</i>
Spesies	: <i>Cucurbita moschata</i> Duch

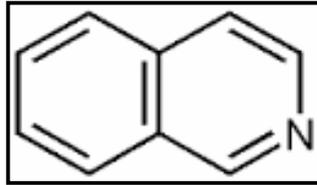
Biji labu kuning (*C. moschata*) mengandung senyawa alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid, kukurbitasin, lesitin, resin, stearin, senyawa fitosterol, asam lemak, squalen, β -tokoferol, tirosol, asam vanilat, vanillin, luteolin dan asam sinapat (Latief, 2013; Patel, 2013).

B. Senyawa Fitokimia

Senyawa fitokimia merupakan senyawa aktif pada tumbuhan yang memiliki ciri, citra rasa, warna dan aroma yang khas. Senyawa yang banyak ditemukan pada tumbuhan antara lain : senyawa alkaloid, senyawa fenol, senyawa terpenoid, senyawa steroid dan senyawa saponin (Patel, 2013).

1. Senyawa Alkaloid

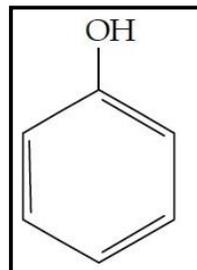
Senyawa alkaloid merupakan golongan senyawa yang mengandung nitrogen aromatik dan paling banyak ditemukan di alam. Struktur dasar senyawa alkaloid mengandung satu atau lebih atom nitrogen sebagai bagian dari sistem sikliknya (Harborne, 1987). Adanya dua elektron bebas pada atom nitrogen menyebabkan senyawa alkaloid bersifat alkalis (Hesse, 1981). Senyawa alkaloid memiliki efek farmakologi antara lain analgesik/antipiretik, anestetika lokal dan stimulant syaraf (Ikan, 1969). Senyawa alkaloid terdiri dari empat kelas yaitu kelas satu meliputi pirolidin, tropan, piperidin. Kelas dua meliputi quinolizidin, isoquinolin dan indol. Kelas tiga meliputi ergotamin, papaverin, morfin, kodein, atropin, kokain, quinin, teofilin, kafein dan teobromin. Kelas empat meliputi efedrin dan kapsaisin (Kakhia, 2011). Struktur senyawa alkaloid dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur senyawa alkaloid (Lenny, 2006)

2. Senyawa Fenol

Senyawa fenol merupakan metabolit sekunder yang tersebar luas dalam tanaman. Senyawa fenol dapat berupa senyawa fenol sederhana, antrakinon, asam fenolat, kumarin, flavonoid, lignin dan tannin (Harborne, 1987). Senyawa fenol ditandai dengan gugus hidroksil (OH) yang terikat pada gugus benzena. Senyawa fenol dapat dilihat pada Gambar 3.



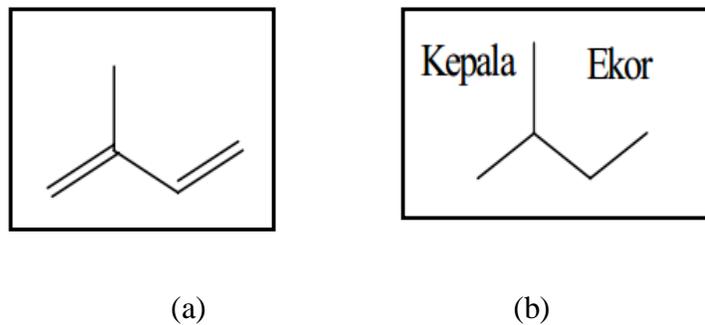
Gambar 3. Struktur senyawa fenol (Wiley dan Sons, 2003)

Senyawa fenol dapat menurunkan kolesterol dan lipid, bersifat antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, antiradang, antitumor, antioksidan dan antidepresan (Saxena, dkk., 2013).

3. Senyaw Terpenoid

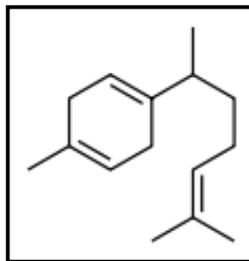
Senyawa terpenoid merupakan komponen kimia tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan cara penyulingan yang disebut dengan minyak atsiri (Lenny, 2006). Senyawa terpenoid banyak ditemukan pada

bagian daun dan bunga tumbuhan tingkat tinggi, pohon jarum, *citrus* dan eukaliptus (Yadav, dkk., 2014). Sebagian besar senyawa terpenoid mempunyai kerangka karbon yang dibangun oleh dua atau lebih unit C-5 yang disebut unit isopren. Unit C-5 ini dinamakan demikian karena kerangka atomnya sama dengan senyawa isopren. Kerangka atom isopren dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Isopren (a) dan unit C-5 (b) (Lenny, 2006)

Senyawa terpenoid terdiri dari monoterpenoid, seskuioterpenoid, diterpenoid, triterpenoid, tetraterpenoid dan politerpenoid. Monoterpenoid meliputi limonen, mentol, *citral*, geraniol, *mircene*. Seskuioterpenoid meliputi farnesol, *zingiberene* dan kadinen. Diterpenoid meliputi *phytol* dan vitamin A (Yadav, dkk., 2014). Struktur turunan senyawa steroid (*zingiberene*) dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur Senyawa *zingiberene* (Yadav, dkk., 2014)

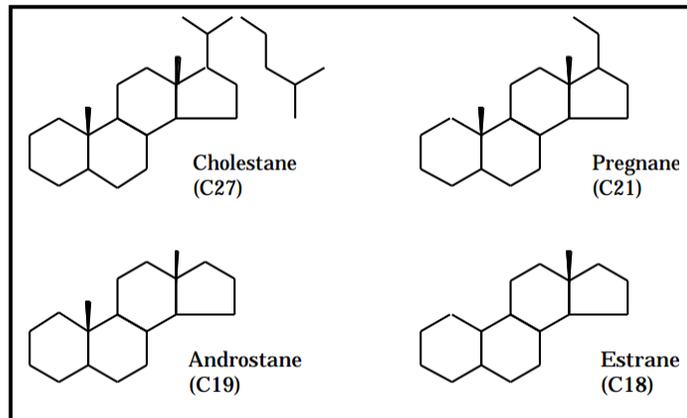
Efek farmakologi pada senyawa terpenoid antara lain : antikarsinogenik (misalnya pada perilla alkohol), antimalaria misalnya pada artemisin, antiulcer, antimikroba dan diuretik misalnya pada *glycyrhizzine*, antikanker misalnya taxol (Saxena, dkk., 2013).

4. Senyawa Steroid

Senyawa steroid banyak ditemukan pada tumbuhan yaitu pada senyawa terpenoid sikloartenol. Steroid juga dapat ditemukan pada hewan yaitu pada triterpenoid lanosterol. Steroid terdiri dari kelompok-kelompok senyawa antara lain sterol, asam-asam empedu, hormon seks dan hormon adrenokortikoid. Penamaan senyawa steroid berdasarkan pada struktur hidrokarbon steroid tertentu. Berdasarkan struktur umum senyawa steroid maka jenis-jenis hidrokarbon steroid dapat dilihat pada Tabel 1 dan struktur senyawa steroid dapat dilihat pada Gambar 6.

Tabel 1. Jenis-jenis hidrokarbon steroid (Lenny, 2006)

Nama	Jumlah atom C	Jenis rantai samping (R)
Androstan	19	H
Pregnan	21	CH ₂ CH ₃
Kolan	24	CH(CH ₃)(CH ₂)CH ₃
Kolestan	27	CH(CH ₃)(CH ₂) ₂ CH(CH ₃)CH(CH ₃) ₂
Ergostan	28	CH(CH ₃)(CH ₂) ₂ CH(CH ₃)CH(CH ₃) ₂
Stigmastan	29	CH(CH ₃)(CH ₂) ₂ CH(C ₂ H ₅)CH(CH ₃) ₂



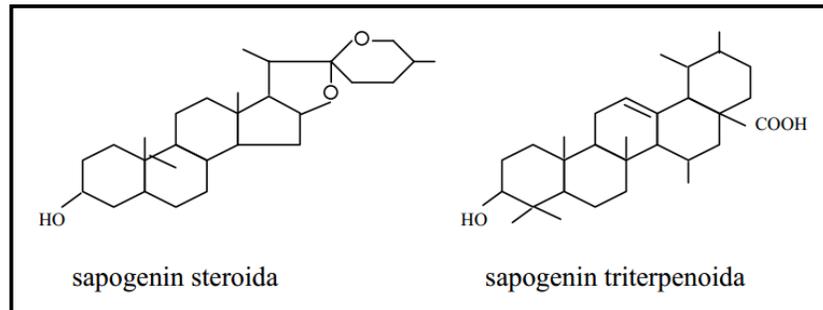
Gambar 6. Struktur senyawa steroid (Brandt, 1999-2003)

5. Senyawa Saponin

Senyawa saponin merupakan salah satu senyawa fitokimia yang banyak ditemukan pada tumbuhan. Senyawa saponin dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisa sel darah merah. Pola glikosida saponin kadang-kadang rumit, banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai lima dan komponen yang umum ialah asam glukoronat (Harborne, 1996). Terbentuknya busa pada senyawa saponin karena sifat fisik senyawa saponin mudah terhidrolisa dalam air (Saman, 2013).

Glikosida saponin adalah glikosida yang aglikonnya berupa sapogenin. Senyawa sapogenin dapat dibedakan menjadi dua yaitu sapogenin steroid dan sapogenin triterpenoid. Sapogenin steroid terdapat pada tumbuhan monokotil maupun dikotil. Contohnya diosgenin yang terdapat pada *Dioscorea hispida* dan hekogenin yang terdapat pada *Agave americana*, sedangkan sapogenin triterpenoid banyak terdapat pada tumbuhan dikotil misalnya pada gipsogenin yang terdapat pada *Gypsophylla* sp dan asam glisiretat terdapat pada *Glycyrrhiza glabra*

(Gunawan dan Mulyani, 2004). Struktur senyawa sapogenin steroid dan sapogenin triterpenoid dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Struktur senyawa sapogenin steroid dan sapogenin triterpenoid (Gunawan dan Mulyani, 2013)

C. Radikal Bebas dan Antioksidan

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan bersifat reaktif. Suatu atom atau molekul stabil bila elektronnya berpasangan dan bagi atom-atom yang tidak berpasangan akan menstabilkan diri dengan menyerang sel atau jaringan tubuh. Akibatnya sel atau jaringan tubuh rusak dan menyebabkan fungsi metabolisme tubuh menjadi terganggu (Fessenden & Fessenden, 1986; Darmawan & Artanti, 2009). Pada dasarnya radikal bebas memiliki efek yang baik di dalam tubuh yaitu mengikat atau bereaksi dengan molekul asing yang masuk ke dalam tubuh. Namun apabila zat asing yang masuk tidak seimbang dengan radikal bebas di dalam tubuh maka akan menyebabkan radikal bebas yang tidak terikat mengganggu metabolisme tubuh dan menyerang bagian dalam tubuh seperti lipid, DNA, protein, sel dan jaringan tubuh (Darmawan & Artanti, 2009).

Antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas terhadap sel normal, protein dan lemak. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan cara melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif (Darmawan & Artanti, 2009).

Antioksidan dapat dibedakan menjadi dua yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami terdapat pada tumbuh-tumbuhan dan hewan. Antioksidan pada tumbuhan meliputi senyawa fenolik, senyawa flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam organik polifungsional. Senyawa asam ellagat banyak ditemukan pada buah-buahan seperti stroberi, delima dan kenari. Senyawa proantosianidin banyak terdapat pada biji anggur, kulit buah anggur, teh hijau, kulit kayu manis dan kakao. Senyawa karotenoid banyak ditemukan pada labu, wortel, jeruk, labu, lobak dan tomat. Senyawa tokoferol atau vitamin E banyak ditemukan pada kacang-kacangan, minyak sayur, minyak gandum dan sayuran hijau. Antioksidan yang berasal dari hewan misalnya senyawa *glutathione* yang dapat ditemukan pada susu kambing. Antioksidan sintetik seperti BHA (*Butylated Hydroxy Anisole*), BHT (*Butylated Hydroxy Toluene*) dan propil galat (Zuhra, dkk., 2008).

Aktivitas antioksidan suatu senyawa dalam meredakan radikal bebas tergantung pada rantai samping dan substitusi cincin aromatik yang dimiliki. Senyawa yang banyak memiliki gugus hidroksil seperti senyawa fenolik akan memberikan daya antioksidan lebih besar dibanding dengan senyawa lainnya (Yuhernita dan Juniarti, 2011).

Klasifikasi aktivitas antioksidan dalam meredam radikal bebas dapat dilihat pada Tabel 2.

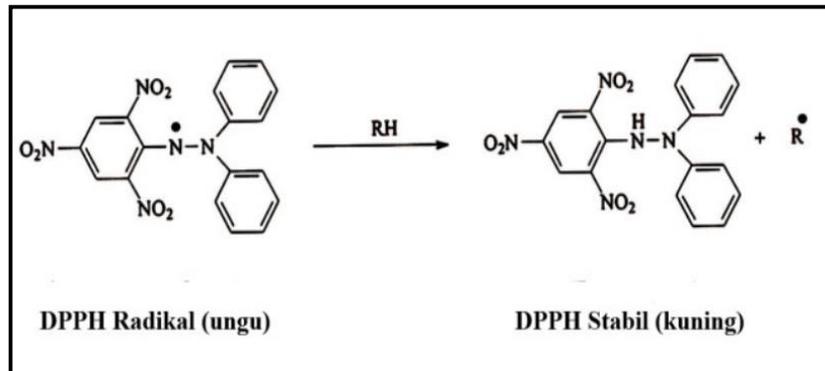
Tabel 2. Klasifikasi aktivitas antioksidan (Ariyanto *cit* armala, 2009)

Intensitas	IC₅₀ (µg/ml)
Sangat kuat	Kurang dari 50
Kuat	50 sampai 100
Sedang	101 sampai 150
Lemah	Lebih dari 150

D. Metode Pengujian Antioksidan

1. Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

Metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) merupakan metode penapisan aktivitas penangkap radikal bebas beberapa senyawa. Metode DPPH dapat digunakan untuk sampel padatan atau cairan dan tidak spesifik untuk komponen antioksidan tertentu (Prakash, 2001). Prinsipnya adalah melalui pengukuran penangkapan radikal bebas sintetik DPPH dalam pelarut organik polar seperti etanol atau metanol pada suhu kamar. DPPH menerima elektron dan membentuk diamagnetik yang stabil. Interaksi antioksidan dan DPPH akan menetralkan radikal bebas DPPH (Zuhra, dkk., 2008). Reaksi peredaman radikal bebas oleh senyawa antioksidan dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Reaksi peredaman radikal bebas senyawa antioksidan (Yuhernita dan Juniarti, 2011).

2. Metode *Reducing Power*

Prinsip dari metode ini adalah melalui kenaikan serapan dari campuran reaksi yang menandakan adanya aktivitas antioksidan pada campuran tersebut. Reaksi perubahan warna yang terjadi pada metode ini karena adanya pembentukan kompleks warna kalium ferrisianida, asam trikloroasetat dan besi (III) klorida yang dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 700 nm (Amelia, 2011).

3. Metode Uji Kapasitas Serapan Radikal Oksigen

Metode uji kapasitas serapan radikal oksigen atau *Oxygen Radical Absorbance Capacity* (ORAC) banyak digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan pada makanan, vitamin, suplemen nutrisi dan bahan kimia lain. Metode ini menggunakan trolox (analog vitamin E) sebagai standar dalam menentukan aktivitas antioksidan yaitu dengan menentukan nilai trolox ekuivalen pada bahan uji (nilai TE). Nilai TE ditunjukkan sebagai satuan nilai ORAC (Amelia, 2011).

4. Metode Tiosianat

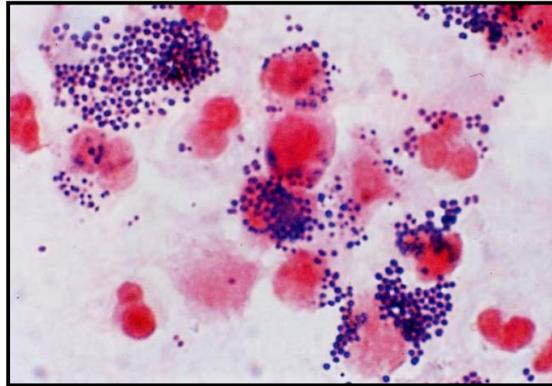
Prinsip dari metode ini adalah mengukur kekuatan sampel dalam menghambat peroksidasi asam linoleat. Jumlah peroksidasi yang terbentuk ditandai dengan terbentuknya warna merah pada sampel akibat dari pembentukan kompleks ferritiosianat (Amelia, 2011).

5. Uji Dien Terkonjugasi

Prinsip dari metode ini adalah menghitung dien terkonjugasi sebagai hasil dari oksidasi awal PUVA (*Poly Unsaturated Fatty Acids*), yang diukur absorbansinya pada panjang gelombang 234 nm (Amelia, 2011).

E. Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri flora normal pada kulit dan selaput lendir pada manusia. Bakteri ini termasuk dalam kelompok gram positif dan berbentuk bulat dengan diameter 0,7-1,2 μm . Bentuk bakteri *S. aureus* tidak teratur seperti buah anggur, tidak membentuk spora dan merupakan bakteri fakultatif anaerob. Koloni berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau. Bakteri *S. aureus* dapat hidup pada suhu optimum namun membentuk pigmen paling baik pada suhu 20 sampai 25°C (Jawetz dkk., 1995). Bakteri *S. aureus* dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Bakteri *Staphylococcus aureus* (<http://cmgm.stanford.edu/>)

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *S. aureus* antara lain : bisul, jerawat, impetigo, infeksi luka, pneumonia, mastitis, plebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, endokarditis, infeksi nosokomial, keracunan makanan dan *syndrome* syok toksik (Jawetz, dkk., 1995).

F. Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba (Jawetz, dkk., 2006). Penggolongan antibakteri dikenal dengan antiseptik dan antibiotik. Antibiotik merupakan zat-zat kimia yang dihasilkan oleh bakteri dan fungi yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman. Antibakteri menurut cara kerjanya dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu bakteristatik dan bakterisida. Bakteristatik merupakan cara penghambatan pertumbuhan bakteri namun tidak membunuh. Bakterisida merupakan cara membunuh sel bakteri tetapi tidak terjadi lisis. Daya kerja bakteristatik yaitu dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri misalnya pada antibiotik penisilin dan sefalosporin, merusak keutuhan membran sel

bakteri misalnya antibiotik nistatin, menghambat sintesis protein sel bakteri misalnya antibiotik tetrasiklin, kloramfenikol dan eritromisin, menghambat sintesis asam nukleat misalnya antibiotik rifampisin dan kuinolon (Syahrurachman, 1994).

Pengobatan terhadap infeksi *S. aureus* dapat menggunakan antibiotik seperti penisilin, metisilin, sefalosporin, eritromisin, linkomisin, vankomisin dan rifampisin. Namun antibiotik tersebut sudah tidak dapat digunakan lagi karena sebagian besar bakteri *Staphylococcus* telah resisten sehingga perlu pemberian antibiotik dengan spektrum yang luas seperti kloramfenikol, amoksisilin dan tetrasiklin (Ryan dkk., 1994; Warsa, 1994; Jawetz dkk., 1995).

G. Metode Pengujian Antibakteri

1. Metode Difusi

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan untuk uji aktivitas antibakteri. Ada tiga cara yang dapat dilakukan yaitu:

- a. Metode lubang atau sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri.
- b. Metode lempeng silinder yaitu difusi antibiotik dari silinder yang tegak lurus pada lapisan agar padat dalam cawan petri.
- c. Metode difusi cakram merupakan metode untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam obat-obatan. Prinsipnya cakram kertas direndam atau ditetaskan dengan larutan uji kemudian ditanam pada media agar yang telah dicampur dengan mikroba uji dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam (Skou dan Jensen, 2007).

2. Metode dilusi

Metode dilusi merupakan metode dengan mencampurkan zat antimikroba dengan media agar, selanjutnya diinokulasi dengan mikroba uji. Hasil yang diperoleh berupa adanya pertumbuhan bakteri atau tidak di dalam media (Skou dan Jensen, 2007).

Pengujian aktivitas antibakteri ditentukan dengan nilai Kadar Hambat Minimum (KHM). KHM merupakan konsentrasi terendah obat yang akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme setelah inkubasi semalam. KHM digunakan sebagai standar dalam menentukan kerentanan organisme terhadap mikroba dan digunakan untuk menilai kinerja dari semua metode pengujian kerentanan. Kisaran konsentrasi antibiotik yang digunakan untuk menentukan KHM diterima secara universal mengandakan dilusi diatas dan dibawah 1 mg/L sesuai yang diperlukan (Andrew, 2001). Klasifikasi aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Klasifikasi aktivitas antibakteri (Greenwood, 1995)

Diameter Zona Inhibisi (mm)	Aktivitas antibakteri
≤ 10	Tidak aktif
11-15	Lemah
16-20	Sedang
≥ 20	Kuat

H. Ekstraksi

Ekstraksi (penyarian) adalah peristiwa pemindahan masa zat aktif yang semula berada di dalam sel, ditarik keluar oleh cairan penyari sehingga terjadi larutan zat aktif dalam larutan tersebut. Setelah diekstraksi maka akan didapatkan ekstrak. Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung (Depkes RI, 2009).

Ada beberapa cara ekstraksi yang dapat dilakukan yaitu menggunakan cara dingin dan cara panas.

1. Cara dingin

a. Maserasi

Maserasi merupakan proses penyarian dengan cara merendam sampel menggunakan pelarut sampai dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar. Metode maserasi digunakan untuk senyawa yang tidak tahan panas agar menghindari komponen yang rusak akibat pemanasan (Harborne, 1987).

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna dan pada umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses perkolasi terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahapan maserat antara dan tahapan perkolasi sebenarnya (penampungan ekstrak).

2. Cara panas

a. Refluks

Refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendinginan balik (Depkes RI, 2000).

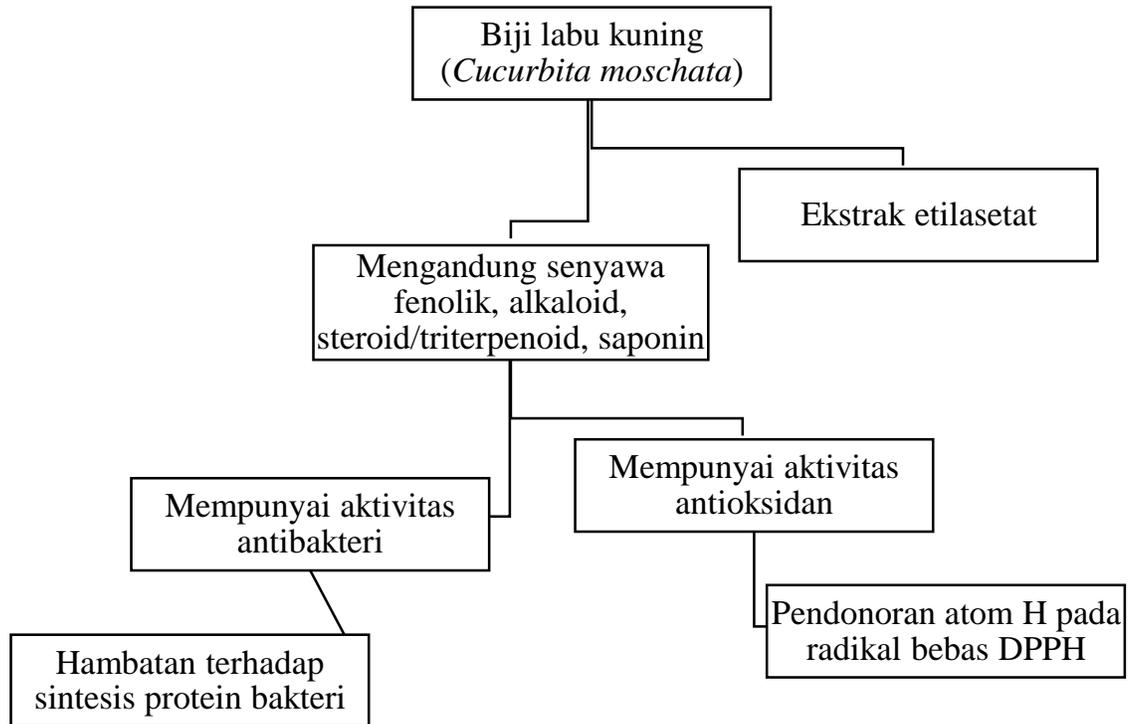
b. Soxhletasi

Soxhletasi merupakan proses ekstraksi yang menggunakan alat khusus yang terjadi secara kontinu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan. (Depkes RI, 2000).

c). Infundasi

Infundasi merupakan ekstraksi dengan pelarut air pada suhu 96-98°C di atas penangas air (Depkes RI, 2000).

I. Kerangka Konsep



Gambar 10. Kerangka konsep penelitian

J. Hipotesis

1. Ekstrak etil asetat biji *C. moschata* mengandung senyawa alkaloid, senyawa fenol hidrokuinon, senyawa steroid, senyawa triterpenoid dan senyawa saponin.
2. Ekstrak etil asetat biji *C. moschata* memiliki aktivitas antioksidan.
3. Ekstrak etil asetat biji *C. moschata* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* FNCC 0047.

