

KARYA TULIS ILMIAH

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI
EKSTRAK ETIL ASETAT BIJI LABU KUNING
(*Cucurbita moschata Duch. Poir*)**

**Disusun untuk Memenuhi Syarat Memperoleh Derajat Sarjana Farmasi
Pada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta**



DISUSUN OLEH:

RUSTINA

20120350065

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA**

2016

HALAMAN PENGESAHAN

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI
EKSTRAK ETIL ASETAT BIJI LABU KUNING
(*Cucurbita moschata Duch. Poir*)**

Disusun oleh :

RUSTINA

20120350065

Telah disetujui dan diseminarkan pada tanggal 17 Juni 2016

Dosen Pembimbing

Sri Tasminatun, S.Si., M.Si., Apt

NIK: 197111106199914 173 036

Dosen Penguji 1

Dosen Penguji 2

Rifki, Febriansah, M.Sc., Apt

NIK: 19870227201210 173 188

Sabtanti Harimurti, S.Si., M.Sc., Ph.D., Apt

NIK: 19730223201310 173 127

Mengetahui,

Kepala Program Studi Farmasi

Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Sabtanti Harimurti, S.Si., M.Sc., Ph.D., Apt

NIK: 19730223201310 173 127

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rustina
NIM : 20120350065
Program Studi : Farmasi
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Karya Tulis Ilmiah yang saya tulis benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan tercantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir Karya Tulis Ilmiah ini.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dibuktikan Karya Tulis Ilmiah ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Yogyakarta, 17 Juni 2016
Yang membuat pernyataan

Rustina
20120350065

MOTTO

“Man Jadda Wajada, Man Shabara Zhafira, Man Sara Ala Darbi Washala”

*“Saya mengerjakan hal terbaik yang saya tahu, hal terbaik yang saya bisa dan
saya bermaksud melakukannya sampai akhir”*

--Abraham Lincoln--

HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya tulis ini saya persembahkan untuk kedua orang tua saya (Hanudin dan Sarni), terima kasih atas cinta dan kasih sayang yang kalian berikan tanpa batas kepada anakmu ini.

Untuk ketiga kakak saya : Deddy Ernawan, Darlin, Minarni terima kasih telah menjadi kakak yang terbaik untuk saya

Untuk kedua adik saya : Faisal Bahrn dan Ilham Saputra, semoga kalian dapat menggapai cita-cita kalian dan lebih sukses kedepannya.

Untuk keluarga besar saya, terima kasih atas bantuan serta suportnya selama ini.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamiin, segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan berkah, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Biji Labu Kuning (*Cucurbita moschata Duch. Poir*). Sholawat serta salam tetap tercurah untuk Nabi besar Muhammad SAW, beserta keluarga, sahabat dan pengikutnya yang senantiasa istiqomah di jalannya.

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. dr. Ardi Pramono, Sp. An, M. Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
2. Sabtanti Harimurti, S.Si., M.Sc., Ph.D., Apt. selaku Kepala Program Studi Farmasi FKIK UMY.
3. Sri Tasminatun, S.Si. M.Si., Apt selaku dosen pembimbing Karya Tulis Ilmiah ini. Terima kasih atas bimbingan, arahan, kesabaran dan ilmu yang diberikan selama penelitian dan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. dr. Alfaina W., Sp. OG, Rifki Febriansah, M.Sc., Apt dan Sri Tasminatun S.Si. MSi., Apt yang telah mengizinkan penulis untuk ikut serta dalam hibah penelitian bersama.
5. Sabtanti Harimurti, S.Si., M.Sc., Ph.D., Apt dan Rifki Febriansah, M.Sc., Apt. selaku dosen penguji 1 dan penguji 2 yang telah bersedia memberikan saran dan bimbingan kepada penulis
6. Ingenida Hadning, M.Sc., Apt selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing dan mengarahkan serta memberikan nasihat kepada penulis selama masa perkuliahan.
7. Tim Penelitian Biji Labu Kuning : Ika Dewi Rahmawati dan Desy Putri Setiani. Terima kasih atas kerjasamanya selama berlangsungnya penelitian hibah bersama ini.

8. Teman – teman yang selalu ada baik susah maupun senang (Dini, Iis, Yayan, Norma). Terima kasih atas dukungan moral serta suportnya kepada penulis.
9. Teman – teman Farmasi FKIK UMY 2012 dan semua pihak baik secara langsung maupun tidak langsung yang telah membantu dalam penyusunan Karya Tulis ilmiah ini.
10. DIRGEN DIKTI hibah bersaing yang telah membantu mendanai penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari sempurna. Masih banyak kekurangan baik dalam segi isi maupun teknik penulisan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca.

Yogyakarta, 17 Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN.....	iii
MOTTO.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
INTISARI.....	xii
<i>ABSTRACT</i>	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Keaslian Penelitian.....	3
D. Tujuan Penelitian	4
E. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Biji Labu Kuning (<i>Cucurbita moschata Duch</i>)	5
B. Senyawa Fitokimia.....	6
C. Radikal Bebas dan Antioksidan.....	11
D. Metode Pengujian Antioksidan.....	13
E. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	15
F. Antibakteri	16
G. Metode Pengujian Antibakteri	17

H. Ekstraksi	19
I. Kerangka Konsep.....	21
J. Hipotesis	21
BAB III METODE PENELITIAN	22
A. Desain Penelitian.....	22
B. Tempat dan Waktu Penelitian.....	22
C. Variabel Penelitian	22
D. Definisi Operasional.....	23
E. Instrumen Penelitian.....	24
F. Langkah Kerja.....	26
G. Skema Langkah Kerja	32
H. Analisis Data.....	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	34
A. Determinasi Tanaman.....	34
B. Ekstraksi	34
C. Skrining Fitokimia	36
E. Uji Aktivitas Antibakteri	45
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	50
A. Kesimpulan	50
B. Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN.....	55

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Jenis hidrokarbon pada senyawa steroid	9
Tabel 2. Klasifikasi antioksidan	13
Tabel 3. Klasifikasi antibakteri	18
Tabel 4. Alat-alat yang digunakan.....	24
Tabel 5. Bahan-bahan yang digunakan.....	25
Tabel 6. Hasil uji skrining fitokimia.....	36
Tabel 7. Hasil absorbansi dan persen inhibisi.....	42
Tabel 8. Hasil optimasi emulgator.....	46
Tabel 9. Hasil bahan uji dan DZI	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Biji labu kuning.....	5
Gambar 2. Senyawa alkaloid	7
Gambar 3. Senyawa fenol.....	7
Gambar 4. Senyawa isopren dan unit C-5	8
Gambar 5. Senyawa <i>zingiberene</i>	8
Gambar 6. Senyawa steroid	10
Gambar 7. Struktur sapogenin steroid dan sapogenin terpenoid	11
Gambar 8. Reaksi peredaman radikal bebas DPPH	14
Gambar 9. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	16
Gambar 10. Kerangka konsep penelitian.....	21
Gambar 11. Skema langkah kerja	32
Gambar 12. Reaksi perubahan warna dragendorff.....	38
Gambar 13. Reaksi perubahan warna mayer	38
Gambar 14. Reaksi perubahan warna steroid/triterpenoid	40
Gambar 15. Reaksi perubahan warna senyawa fenol hidrokuinon	40
Gambar 16. Kurva regresi kinier konsentrasi dan persen inhibisi	43
Gambar 17. Reaksi peredaman radikal bebas senyawa alkaloid	44

INTISARI

Biji labu kuning (*Cucurbita moschata Duch. Poir Semen*) mengandung senyawa fenolik, alkaloid, terpenoid, saponin dan kukurbitasin. Senyawa-senyawa tersebut dapat memberikan efek antioksidan dan antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa aktif, aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak etil asetat biji labu kuning.

Biji labu kuning diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etil asetat. Untuk mengetahui senyawa aktif pada ekstrak etil asetat biji labu kuning maka dilakukan identifikasi senyawa aktif menggunakan metode skrining fitokimia. Aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak etil asetat biji labu kuning diuji menggunakan metode DPPH dan metode difusi cakram.

Hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak etil asetat 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 IC_{50} sebesar 453,35 $\mu\text{g/ml}$. Selain itu, ekstrak etil asetat biji labu kuning dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* FNCC 0047 dengan nilai DZI sebesar 12.66 mm.

Kata Kunci: Antibakteri, Antioksidan, *Cucurbita moschata Duch*, IC_{50} , *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

Seeds of pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch. Poir Semen) contained alkaloids, phenolic, triterpenoids, steroids, cucurbitacin, and saponin compounds that gave antioxidant and antibacterial properties. The aim of the present study was to investigate the antioxidant and antibacterial properties of the ethyl acetate extract of pumpkin seeds.

Pumpkin seeds was extracted by maseration with ethyl acetate. The active compounds in ethyl acetate extract were identified by phytochemical screenings method. The antioxidant and antibacterial activity were identified by DPPH and disc diffusion methods.

The result showed that ethyl acetate extract of pumpkin seeds consist of alkaloids, triterpenoids/steroids, and hydroquinone phenol. Ethyl acetate extract positively have the ability to scavenge 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). The IC₅₀ was 453,35 µg/ml. Moreover, the extract of pumpkin seeds also have an ability to against *Staphylococcus aureus* FNCC 0047 with Inhibition of Diameter Zone (IDZ) was 12.66 mm.

Keyword: Antibacterial, Antioxidant, *Cucurbita moschata* Duch, IC₅₀, *Staphylococcus aureus*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia merupakan Negara dengan keanekaragaman hayati terbanyak kedua di dunia setelah Brazil. Negara Indonesia memiliki 250.000 sampai 300.000 spesies tanaman dan sebagian diantaranya telah digunakan sebagai obat dan bahan obat (Dewoto, 2007). Tanaman obat merupakan bagian atau seluruh bagian tumbuhan yang digunakan sebagai bahan obat tradisional atau jamu, sebagai bahan pemula bahan baku obat (*precursor*), bagian yang diekstraksi dan digunakan sebagai obat (Kartikawati, 2004). Tanaman obat telah lama digunakan oleh masyarakat Indonesia yang dibuktikan dengan ditemukannya resep obat yang ditulis di daun lontar pada tahun 991 sampai 1016 di Bali (Dewoto, 2007).

Penggunaan tanaman obat semakin meningkat setiap tahunnya. Hal ini karena masyarakat menyadari bahwa obat dengan bahan alam memiliki efek samping minimal dibanding obat sintetik. Pemanfaatan bahan alam sebagai obat disebutkan di dalam Al-Qur'an surat An-Nahl ayat 69 yang berbunyi:

ثُمَّ كَلَىٰ مِنْ كُلِّ الشَّجَرَاتِ فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلُلًا يَخْرُجُ مِنْ
بُطُونِهَا شَرَابٌ مُّخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ
يَتَفَكَّرُونَ ﴿١٤﴾

“Kemudian makanlah dari tiap-tiap (macam) buah-buahan dan tempuhlah jalan Tuhanmu yang telah dimudahkan (bagimu). Dari perut lebah itu ke luar minuman (madu) yang bermacam-macam warnanya, di dalamnya terdapat obat yang menyembuhkan bagi manusia. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Tuhan) bagi orang-orang yang memikirkan”.

Kandungan dari ayat tersebut adalah setiap ciptaan yang diciptakan oleh Allah SWT pasti memiliki manfaat dan tujuan. Begitupun dengan tanaman-tanaman yang ada di bumi ini. Salah satu tanaman yang memiliki manfaat melimpah adalah labu kuning (*Cucurbita moschata Duch*). Pabesak, dkk (2014) melaporkan bahwa aktivitas antioksidan dan fenolik total pada tempe meningkat setelah penambahan serbuk biji *C. moschata*. Selain itu, Kamarudin dkk (2014) melaporkan bahwa kulit *C. moschata* dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri *S. aureus* merupakan bakteri yang banyak menyebabkan infeksi seperti bisul, jerawat, meningitis, infeksi luka, pneumonia, infeksi saluran kemih dan infeksi nosokomial (Ryan, dkk., 1995; Warsa, 1994).

Biji *C. moschata* mengandung senyawa fenol, alkaloid dan triterpenoid. Senyawa-senyawa tersebut dapat berefek antioksidan dan antibakteri (Latief, 2013; Patel, 2013). Berdasarkan hal tersebut maka perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak etil asetat biji *C. moschata*. Pelarut etil asetat merupakan pelarut semipolar yang cenderung menarik senyawa polar maupun nonpolar (Nurjanah, dkk., 2011) sehingga diharapkan senyawa - senyawa yang berefek antioksidan dan antibakteri banyak tersari oleh pelarut etil asetat dan

memberikan aktivitas antioksidan dan antibakteri yang lebih baik dibanding penelitian Pabesak, dkk (2014) dan Kamarudin, dkk (2014).

B. Perumusan Masalah

1. Kandungan senyawa apakah yang terdapat pada ekstrak etil asetat biji *C. moschata* ?
2. Apakah ekstrak etil asetat biji *C. moschata* memiliki aktivitas antioksidan ?
3. Apakah ekstrak etil asetat biji *C. moschata* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* FNCC 0047 ?

C. Keaslian Penelitian

1. Penelitian Pabesak, dkk (2013) berjudul “Aktivitas Antioksidan dan Fenolik Total pada Tempe dengan Penambahan Serbuk Biji Labu Kuning (*Cucurbita moschata* Duch). Hasil penelitian menunjukkan terjadi peningkatan aktivitas antioksidan setelah penambahan serbuk biji *C. moschata* dari $85,82\% \pm 5,24\%$ menjadi $91,55\% \pm 1,50\%$. Selain itu kadar fenolik total tempe mengalami peningkatan dari $2,75 \pm 1,18$ g/5g menjadi $3,75 \pm 0,69$ g/5g. Perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya yaitu penelitian ini menggunakan ekstrak etil asetat biji *C. moschata* sedangkan penelitian sebelumnya menggunakan serbuk biji *C. moschata*.
2. Penelitian Kamarudin, dkk (2014) berjudul “Studies on Bactericidal Efficacy of Pumpkin (*Cucurbita moschata* Duschesne) Peel”. Hasil penelitian menunjukkan kulit *C. moschata* dapat menghambat bakteri *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Burkolderia cepacia* (FDL-UMT-12), *Enterococcus faecalis*

(ATCC 29212), *Escherchia coli* (ATCC 20922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Vibrio alginolyticus* (FDL-UMT-13) dan *Vibrio parahaemolyticus* (FDL-UMT-11). Nilai DZI ekstrak metanol kulit *C. moschata* terhadap bakteri *S. aureus* (ATCC 29213) konsentrasi 20% sebesar 15 mm, pelarut aquades hasil tidak aktif dan ekstrak diklorometana kulit *C. moschata* memiliki DZI sebesar 11 mm. Perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya yaitu penelitian ini menggunakan biji *C. moschata* sedangkan penelitian Kamarudin, dkk (2014) menggunakan kulit *C. moschata*.

D. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui kandungan senyawa aktif pada ekstrak etil asetat biji *C. moschata*
2. Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat biji *C. moschata*.
3. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat biji *C. moschata* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* FNCC 0047.

E. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Manfaat khusus

Penelitian ini dapat dijadikan sumber informasi untuk penelitian selanjutnya.

2. Manfaat umum

Apabila ekstrak etil asetat biji labu kuning terbukti memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri, maka dapat dikembangkan menjadi agen antioksidan dan antibakteri.

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 : *Cucurbitaceae*
Spesies : *Cucurbita moschata* 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).

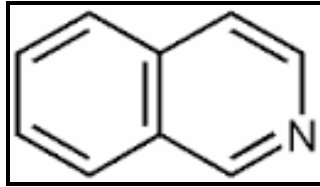
B. Senyawa Fitokimia

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 piperidin, 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

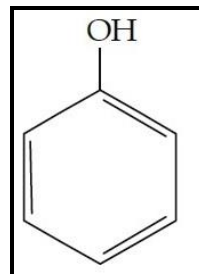
2.



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.



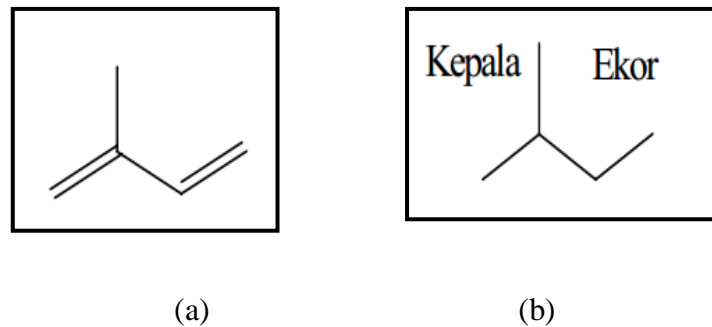
Gambar 3. Struktur senyawa fenol (Wiley dan Sons, 2003)

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

3. Senyaw Terpenoid

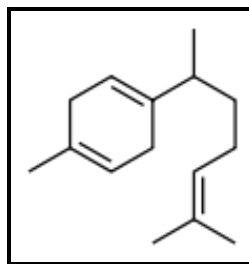
Senyawa terpenoid merupakan komponen kimia tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan cara penyulingan yang disebut dengan minyak atsiri (Lenny, 2006). Senyawa terpenoid banyak ditemukan pada

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, seskuiterpenoid, diterpenoid, triterpenoid, tetraterpenoid dan politerpenoid. Monoterpenoid meliputi limonen, mentol, *citral*, geraniol, *mircene*. Seskuiterpenoid 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)

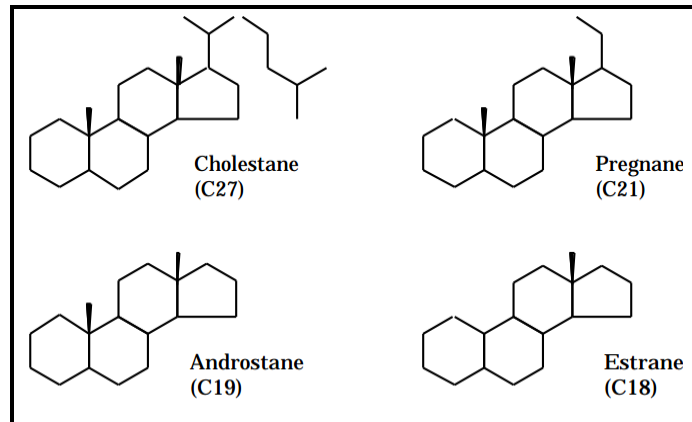
Efek farmakologi pada senyawa terpenoid antara lain : antikarsinogenik (misalnya pada perilla alkohol), antimalaria misalnya pada artemisin, antiulcer, antimikroba dan diuretik misalnya pada *glycyrrhizine*, antikanker misalnya taxol (Saxena, dkk., 2013).

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 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



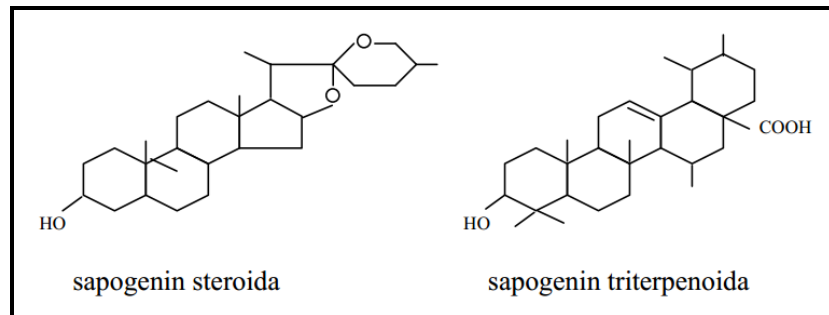
Gambar 6. Struktur senyawa steroid (Brandt, 1999-2003)

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 stroberry, delima dan kenari. Senyawa proantosianidin banyak terdapat pada biji anggur, kulit buah anggur, teh hijau, kulit kayu manis dan kakao. Senyawa karatenoid 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 *glutation* yang dapat ditemukan pada susu kambing. Antioksidan sintetik seperti BHA (*Butylated Hydroxy Anisole*), BHT (*Butylated Hidroxy Toluene*) dan propil galat (Zuhra, dkk., 2008).

Aktivitas antioksidan suatu senyawa dalam meredam 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.

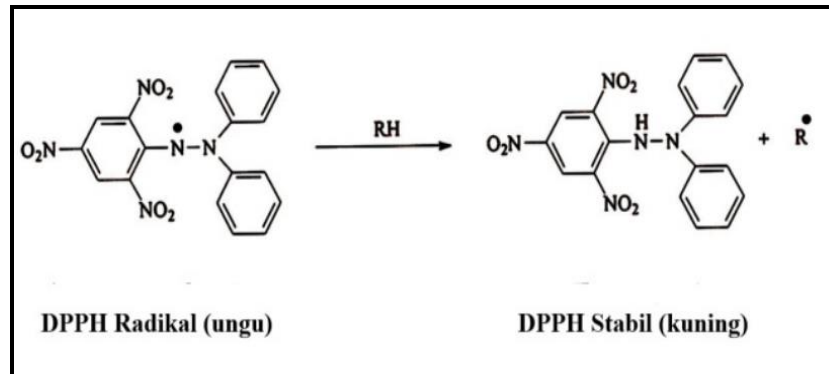
Tabel 2. Klasifikasi aktivitas antioksidan (Ariyanto *cit* armala, 2009)

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

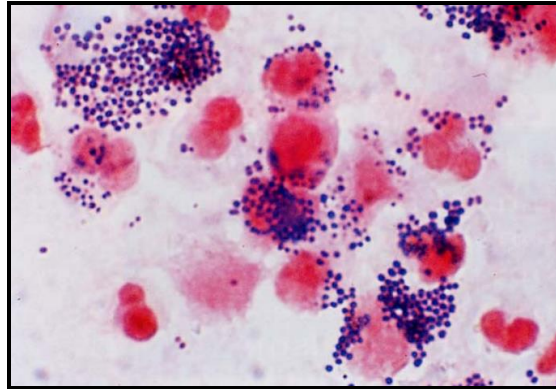
Prinsip dari metode ini adalah mengukur kekuatan sampel dalam menghambat peroksidasi asam linoleat. Jumlah peroksidasi yang terbentuk ditandai dengan terbentuknya warna merah pada sampel akibat dari pembentukan kompleks ferritiosianat (Amelia, 2011).

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).

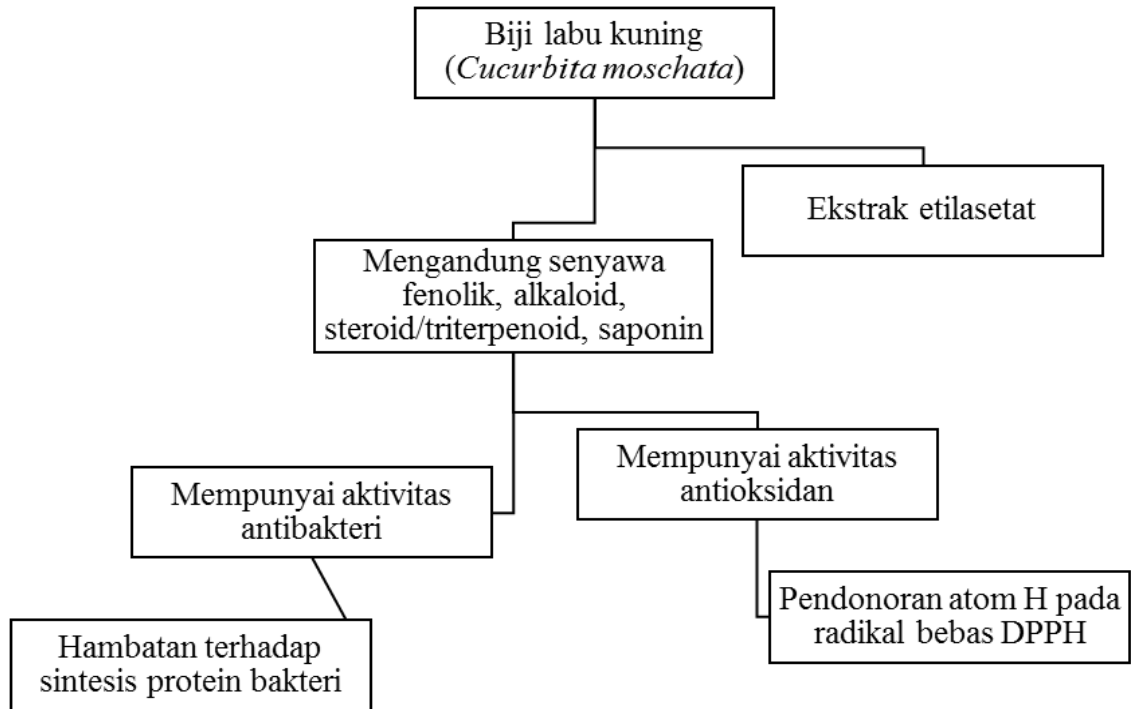
b. Soxhletasi

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.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Proses ekstraksi biji *C. moschata* dilakukan di Laboratorium Penelitian Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UMY, determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM, uji aktivitas antioksidan dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi FKIK UMY dan uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FKIK UMY. Penelitian dilakukan selama lima bulan dari bulan Januari hingga bulan Mei 2016.

C. Variabel Penelitian

1. Uji aktivitas antioksidan

- a. Variable bebas : Konsentrasi ekstrak etil asetat biji labu kuning.
- b. Variable tergantung : Nilai persen inhibisi.
- c. Variable terkendali : Sistem spektrofotometri UV-VIS.

2. Uji aktivitas antibakteri

- a. Variable bebas : Konsentrasi ekstrak etil asetat biji labu kuning.
- b. Variable tergantung : Nilai DZI masing-masing konsentrasi ekstrak etil asetat biji labu kuning.
- c. Variable terkendali : Media pertumbuhan bakteri.

D. Defenisi Operasional

1. IC₅₀

Nilai IC₅₀ pada uji aktivitas antioksidan adalah bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak etil asetat biji labu kuning ($\mu\text{g/ml}$) yang mampu menghambat 50% oksidasi yang didapatkan dengan menghitung nilai persen inhibisi ekstrak etil asetat biji labu kuning. Ekstrak etil asetat biji *C. moschata* menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat apabila IC₅₀ yang dihasilkan kurang dari 50 $\mu\text{g/ml}$ dan memiliki aktivitas yang lemah apabila IC₅₀ yang dihasilkan lebih dari 150 $\mu\text{g/ml}$.

2. KHM

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi minimum ekstrak etil asetat biji *C. moschata* yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* FNCC 0047 yang ditunjukkan melalui pengukuran DZI.

3. DZI

Diameter Zona Inhibisi (DZI) adalah diameter yang menunjukkan hambatan suatu senyawa antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* FNCC 0047 dan dinyatakan dalam satuan millimeter (mm).

E. Instrumen Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 4 dan Table 5.

Tabel 4. Alat-alat yang digunakan

No	Nama Alat	Sumber/Merek dan Tipe
1	Bejana	Stainless steel
2	Blender	HB Stainless®
3	<i>Rotary evaporator</i>	Heidolph®
4	Penangas	Akebonno®
5	Penggaris	<i>Brand</i> ®
6	Oven	Shimadzu®
7	Inkubator	Memmert®
8	Autoklaf	All American®
9	Propipet	Glasfirn®
10	Mikropipet	Gilson®
11	Timbangan analitik	Casbee®
12	Alat-alat gelas	Pyrex®
13	Kertas label	<i>Brand</i> ®
14	<i>Centrifuge</i>	Digisystem Laboratory instrument®
15	<i>Laminar Air Flow</i>	Mascotte®
16	Spektrofotometri UV-VIS	Hitachi® U-2810 Model : 122-000
17	Kapas lidi	-
18	Ose steril	-
19	<i>Paper disc</i>	-
20	Pinset	-

Tabel 5. Bahan-bahan yang digunakan

No	Nama Bahan	Sumber/Merek Tipe
1	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	FNCC 0047
2	Etanol <i>Pro Analisis</i>	Merck
3	Etanol Teknis 70%	Bratachem
4	NaCl 0.9%	Merck
5	Etil asetat	Merck
6	Media <i>Nutrient Agar</i>	Merck
7	<i>Brain Heart Infus</i>	Merck
8	Aquades	Bratachem
9	Serbuk DPPH	Universitas Ahmad Dahlan
10	Kloroform	Merck
11	Asam sulfat	Bratachem
12	Asam klorida	Bratachem
13	Tetrasiklin	Kapsul 250 mg
14	Biji Labu kuning	Salatiga Jawa Tengah
15	Pereaksi dragendorff	Mediss
16	Pereaksi mayer	Mediss

F. Langkah Kerja

1. Pembuatan Ekstrak

Biji *C. moschata* ditumbuk terlebih dahulu untuk memperkecil ukuran simplisia, kemudian diserbuk halus menggunakan *blender*. Serbuk yang telah diperoleh sebanyak 100 gram kemudian dimaserasi selama 5 hari menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 750 ml. Maserat kemudian disaring menggunakan kain flanel dan kertas saring hingga benar-benar jernih. Ampasnya diremaserasi selama 2 hari menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 250 ml. Sesekali maserat diaduk agar homogen dan tersari sempurna. Ekstrak cair yang telah diperoleh kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan kecepatan 90 rpm (Depkes RI, 1986).

2. Skrining Fitokimia

a. Senyawa Alkaloid

Sebanyak 3 tetes asam sulfat 2 N diteteskan ke dalam sejumlah sampel pada tabung reaksi 1 dan tabung reaksi 2. Kedua tabung kemudian ditambahkan pereaksi dragendorff sebanyak 3 tetes pada tabung reaksi 1 dan pereaksi mayer sebanyak 3 tetes pada tabung reaksi 2. Terbentuknya endapan jingga pada tabung reaksi 1 dan endapan putih kekuningan pada tabung reaksi 2 menunjukkan ekstrak etil asetat biji labu kuning positif mengandung senyawa alkaloid (Nurjanah, dkk., 2011).

b. Senyawa Steroid/Triterpenoid

Sebanyak 0,5 gram sampel dilarutkan dalam dua ml kloroform pada tabung reaksi. Larutan sampel kemudian ditambahkan 10 tetes anhidrida asetat dan tiga tetes asam sulfat pekat. Terbentuknya warna merah setelah didiamkan beberapa saat menunjukkan positif mengandung senyawa triterpenoid dan larutan berubah warna menjadi hijau atau biru menunjukkan positif mengandung senyawa steroid (Nurjanah, dkk., 2011).

c. Senyawa Saponin

Sebanyak 0,5 gram sampel dilarutkan dengan 5 ml aquades kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok secara vertikal. Terbentuknya busa pada tabung reaksi dan busa tidak hilang setelah penambahan HCl 2 N menunjukkan ekstrak etil asetat biji labu kuning positif mengandung senyawa saponin (Harbourne, 1987).

d. Senyawa Fenol Hidrokuinon

Sebanyak 1 gram sampel diekstrak dengan 20 ml etanol 70%. Ekstrak yang diperoleh diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan FeCl_3 5% sebanyak 3 tetes. Hasil positif mengandung senyawa fenol hidrokinon apabila terjadi perubahan warna hijau pada larutan sampel (Nurjanah dkk., 2011).

3. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH 0,4 mM

a. Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM

Sebanyak 3,9 mg serbuk DPPH ditimbang menggunakan timbangan analitik (Sartorius) dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml kemudian ditambahkan etanol p.a sampai tanda.

b. Pembuatan Larutan Induk Sampel

Sebanyak 25 mg ekstrak etil asetat biji *C. moschata* ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml. Sampel kemudian ditambahkan etanol p.a sampai tanda sehingga didapatkan konsentrasi 1 mg/ml.

c. Pembuatan Seri Konsentrasi

Seri konsentrasi ekstrak etil asetat biji *C. moschata* (100 µg/ml, 200 µg/ml, 300 µg/ml, 400 µg/ml, 500 µg/ml) dibuat dengan sistem pengenceran yaitu dari larutan induk konsentrasi 1 mg/ml diambil 5 ml, 7,5 ml, 10 ml dan 12,5 ml, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml. Larutan sampel dalam labu ukur 25 ml kemudian ditambahkan etanol p.a sampai tanda.

d. Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

Sebanyak 5 ml etanol p.a ditambahkan 1 ml larutan DPPH 0,4 mM.

e. Pembuatan Larutan Blanko

Sebagai blanko digunakan larutan sampel masing-masing konsentrasi

f. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Sebelum penetapan panjang gelombang maksimum, spektrofotometri UV-VIS dikalibrasi terlebih dahulu. Sebanyak 3 ml larutan kontrol negatif dibaca panjang gelombang maksimum pada spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang 200 sampai 800 nm.

- g. Larutan sampel dibaca absorbansinya pada spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan (515 nm) (Sumarny, dkk., 2014).

4. Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram

a. Pembuatan Media

Serbuk *Nutrient Agar* (NA) ditimbang sebanyak 2,8 gram kemudian dicampur dengan 100 ml aquades di dalam Erlenmeyer. Serbuk media NA yang telah dicampur kemudian diaduk menggunakan stirer di atas *hotplate* hingga larut. Perlakuan yang sama juga dilakukan untuk media BHI yaitu dengan ditimbang 0,8 gram BHI kemudian dilarutkan dalam 100 ml aquades. Media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Pelczar, 2005).

b. Pembuatan Kertas Cakram

Potongan kertas cakram dibuat 6 mm menggunakan kertas saring *Whatman. Paper disc* diletakan dalam cawan petri kemudian disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. *Paper disc* yang telah steril

kemudian direndam dengan larutan sampel, tetrasiklin 0,2 mg/ml, aquades dan campuran aquades-tween 80 2,5% selama 3 menit.

c. Optimasi Emulgator

Sebanyak 250 mg ekstrak ditimbang kemudian ditambahkan emulgator (tween 80 2,5%, span 80 2,5%, PEG 400 2,5%, campuran tween dan span 80 2,5%) kemudian ditambah dengan 5 ml aquades. Larutan yang telah dicampur dihomogenkan kemudian ditunggu beberapa saat. Emulgator yang paling baik dalam mencampurkan ekstrak etil asetat biji labu kuning dan aquades akan dipilih untuk pengujian aktivitas antibakteri (Maryati, dkk., 2007).

d. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sebelum dilakukan uji antibakteri, alat dan bahan disterilisasi terlebih dahulu. Alat-alat gelas dicuci dan dimasukkan ke dalam oven selama 2 jam pada suhu 170°C. Ose dan pinset dipanaskan dengan bunsen saat penggunaan. Media NA dimasukkan ke dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C, aquades disterilkan dengan penangas hingga mendidih selama 15 menit. Bahan-bahan yang telah dibuat diletakan pada *Laminar Air Flow* (LAF) horizontal untuk menghindari kontak dengan bakteri di dalam laboratorium.

e. Pembuatan Larutan Uji

Sebanyak 2 g ekstrak dilarutkan dalam 10 ml aquades (larutan induk konsentrasi 20%). Seri konsentrasi (2%, 5%, 10% dan 20%) dibuat dengan sistem pengenceran yaitu diambil 2 ml dari larutan induk kemudian ditambahkan aquades steril sebanyak 20 ml (2%), 8 ml (5%) dan 4 ml (10%).

Kontrol positif yang digunakan adalah tetrasiklin 0,2 mg/ml dibuat dengan melarutkan 250 mg tetrasiklin dalam 250 ml aquades (1 mg/ml) kemudian diambil 2 ml dari konsentrasi 1 mg/ml ditambahkan dengan aquades sampai 10 ml. Kontrol negatif yang digunakan adalah campuran tween 80 2,5% - aquades dan aquades. Pembuatan kontrol negatif yaitu sebanyak 200 mg tween 80 ditimbang kemudian ditambah 8 ml aquades.

f. Pembuatan Suspensi Bakteri

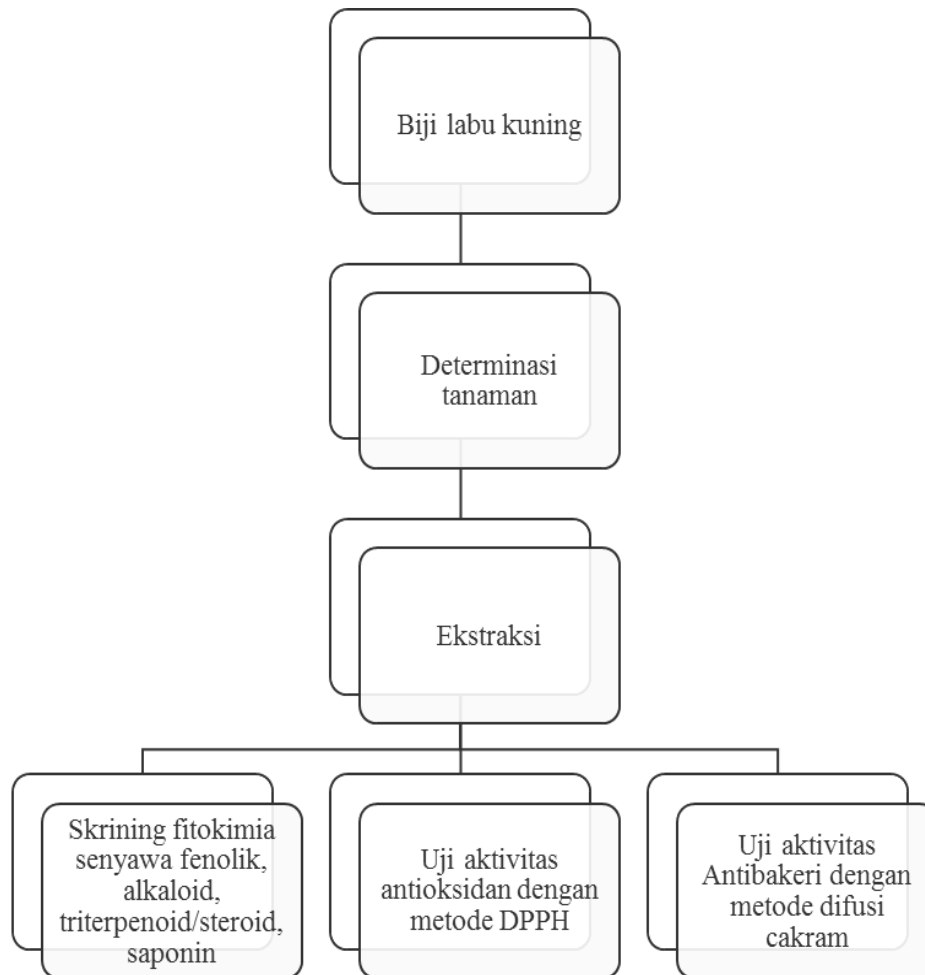
Sebanyak satu ose koloni bakteri diinokulasikan ke dalam media BHI kemudian dilakukan inkubasi pada suhu 30°C selama dua sampai empat jam. Suspensi bakteri kemudian diencerkan menjadi suspensi bakteri dengan kepadatan sel 10^6 yaitu dengan mengambil sebanyak 1 ml suspensi bakteri 10^8 sel/ml dimasukan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml BHI kemudian *divortex* dan dihasilkan suspensi bakteri 10^7 sel/ml. Kemudian 1 ml dari suspensi bakteri 10^7 diambil dimasukan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml BHI. Tabung reaksi *divortex* dan dihasilkan suspensi bakteri 10^6 sel/ml (Lopez, 2003).

g. Uji Daya Antibakteri

Kertas cakram yang telah direndam larutan sampel dengan berbagai konsentrasi diletakan diatas media NA dalam cawan petri yang telah diolesi bakteri *Staphylococcus aureus* FNCC 0047. Cawan petri yang telah berisi bahan uji diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C dan dilakukan pengamatan zona bening yang terbentuk pada cawan petri. Zona

bening diukur lebar daerah inhibisi menggunakan penggaris dengan satuan milimeter (mm).

G. Skema Langkah Kerja



Gambar 11. Skema langkah kerja penelitian

H. Analisis Data

1. Persen rendemen ekstrak etil asetat biji *C. moschata* dihitung menggunakan persamaan 1:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \quad (1)$$

2. Persen inhibisi dihitung menggunakan persamaan 2

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel})}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100 \quad (2)$$

Kemudian dibuat regresi linier untuk mendapatkan nilai IC₅₀ menggunakan persamaan 3:

$$Y = Bx + A \quad (3)$$

Keterangan:

Y = 50, B = Slope, X = Nilai IC₅₀, A = intersep

3. DZI dihitung menggunakan persamaan 4:

$$\text{DZI} = (\text{Diameter zona bening} - \text{diameter paper disc}) \quad (4)$$

Rata-rata DZI dihitung menggunakan persamaan 5

$$\frac{\text{DZI replikasi 1} + \text{DZI replikasi 2} + \text{DZI replikasi 3}}{3} \quad (5)$$

4. Uji antibakteri dianalisis menggunakan uji *One way* ANOVA, dilanjutkan uji Tukey.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman

Biji labu kuning (*C. moschata*) diperoleh dari kota Salatiga Jawa Tengah. Biji *C. moschata* yang digunakan dari buah yang sudah tua, berwarna kuning kecoklatan, memiliki cangkang yang keras dan berbentuk lonjong. Biji *C. moschata* dideterminasi di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Gadjah Mada. Tujuan dilakukannya determinasi adalah untuk memastikan kebenaran dari tanaman yang digunakan. Determinasi dilakukan dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada biji labu kuning terhadap kepustakaan. Berdasarkan hasil determinasi, dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan termasuk dalam famili *Cucurbitaceae* dengan nama spesies *Cucurbita moschata* (Duch.) Poir. Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

B. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan peristiwa pemindahan masa zat aktif yang semula berada di dalam sel, ditarik keluar oleh cairan penyari sehingga terjadi larutan zat aktif dalam larutan tersebut (Depkes RI, 2009). Tahapan ekstraksi dimulai dari proses penyortiran simplisia untuk menghilangkan kotoran atau benda asing pada simplisia. Simplisia yang telah bersih diserbuk halus menggunakan *blender* untuk memperkecil ukuran simplisia sehingga lebih mudah diekstraksi. Serbuk biji *C. moschata* kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi.

Maserasi merupakan proses penyarian dengan cara merendam sampel menggunakan pelarut sampai dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar (Harborne, 1987). Metode ini dapat menghindari kerusakan senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014). Menurut Patel (2013) biji *C. moschata* memiliki senyawa yang termolabil seperti senyawa fenolik. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etil asetat. Pemilihan pelarut etil asetat karena pelarut ini bersifat semipolar yang dapat menyari senyawa yang bersifat polar maupun non polar (Nurjanah, dkk., 2011). Tahapan ekstraksi dimulai dengan merendam serbuk biji *C. moschata* sebanyak 100 g dalam 750 ml pelarut etil asetat selama lima hari, kemudian dilakukan remaserasi menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 250 ml selama dua hari. Rendaman sesekali diaduk agar maserat homogeny dan komponen senyawa aktif dapat tertarik pelarut secara merata. Tujuan dilakukannya remaserasi adalah untuk menyari senyawa - senyawa yang masih tertinggal atau tidak tersari. Ekstrak yang telah didapatkan dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan kecepatan 90 rpm. Fungsi dari evaporasi adalah untuk menghilangkan pelarut etil asetat. Suhu yang digunakan pada proses evaporasi yaitu 50°C karena kandungan senyawa fenol pada biji *C. moschata* (Patel, 2013) akan rusak apabila dievaporasi diatas suhu 50°C. Ekstrak yang diperoleh setelah proses evaporasi berwarna merah (Lampiran 3) dengan berat ekstrak sebesar 19,61 gram. Ekstrak yang dihasilkan kemudian dihitung persen rendemennya dengan menggunakan persamaan 1. Rendemen yang diperoleh sebesar 19,6121%. Perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 4.

C. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa fitokimia pada ekstrak etil asetat biji *C. moschata* secara kualitatif. Senyawa fitokimia yang diidentifikasi meliputi senyawa fenol hidrokuinon, senyawa alkaloid, senyawa triterpenoid, senyawa steroid dan senyawa saponin. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etil asetat biji *C. moschata* dapat dilihat pada Tabel 6.

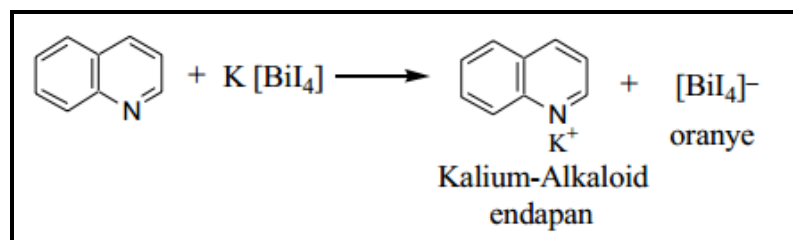
Tabel 6. Hasil skrining fitokimia ekstrak etil asetat biji *C. moschata*

No	Uji fitokimia	Standar warna	Hasil
1.	Alkaloid dragendorff mayer	Endapan merah atau jingga Endapan putih kekuningan	+ +
2.	Steroid/triterpenoid	Perubahan warna dari merah menjadi biru atau hijau	+
3.	Saponin	Terbentuk buih	-
4.	Fenol Hidrokuinon	Warna hijau atau hijau biru	+

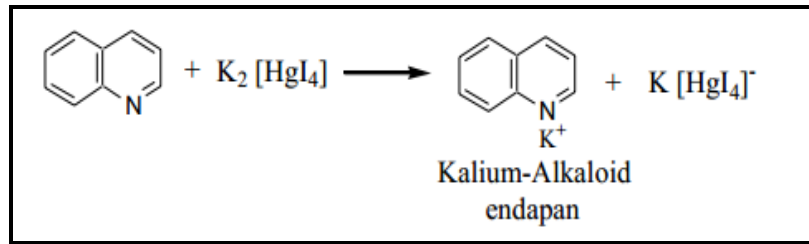
((+) terdeteksi, (-) tidak terdeteksi)

Senyawa alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa dan mengandung satu atau lebih atom nitrogen sebagai bagian dari sistem siklik (Harborne, 1987). Skrining fitokimia senyawa alkaloid dilakukan dengan mereaksikan larutan sampel ke dalam asam sulfat 2 N menggunakan pereaksi dragendorff dan mayer. Fungsi dari penambahan asam sulfat ini adalah karena senyawa alkaloid bersifat basa yang memiliki gugus N sehingga perlu diekstrak dengan senyawa yang bersifat asam seperti asam sulfat (Marliana, dkk., 2005). Asam sulfat yang bersifat asam akan berikatan dengan alkaloid yang bersifat basa membentuk garam alkaloid. Garam

alkaloid yang dihasilkan akan bereaksi dengan logam kalium pada pereaksi dragendorff dan mayer sehingga terbentuk endapan. Pada pereaksi dragendorff nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion kalium (Marliana, dkk., 2005). Hasil yang diperoleh dari skrining fitokimia senyawa alkaloid yaitu adanya endapan jingga pada reagen dragendorff dan putih kekuningan pada reagen mayer (Lampiran 5). Menurut Nurjanah, dkk (2011) suatu sampel mengandung senyawa alkaloid jika terbentuk endapan merah atau jingga pada reagen dragendorff dan endapan putih kekuningan pada reagen mayer. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat biji *C. moschata* mengandung senyawa alkaloid. Reaksi perubahan warna pada reagen dragendorff terjadi karena atom nitrogen alkaloid berikatan dengan ion logam kalium tetraiodobismutat sehingga membentuk endapan kalium-alkaloid. Reaksi perubahan warna pada uji mayer terjadi karena atom nitrogen alkaloid berikatan dengan ion logam kalium pada kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk endapan kalium-alkaloid (Marliana, dkk., 2005). Reaksi perubahan warna pada senyawa alkaloid dapat dilihat pada Gambar 12 dan Gambar 13.



Gambar 12. Reaksi perubahan warna pada senyawa alkaloid menggunakan pereaksi dragendorff (Marliana, dkk., 2005).

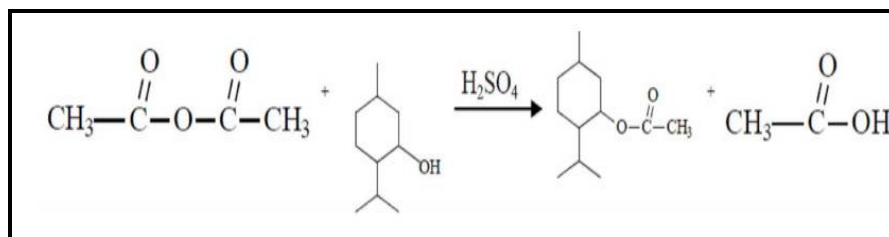


Gambar 13. Reaksi perubahan warna senyawa alkaloid menggunakan pereaksi mayer (Marliana, dkk., 2005)

Saponin merupakan suatu glikosida alamiah yang terikat dengan steroid atau triterpenoid (Harborne, 2006). Menurut Nurjanah, dkk (2011) suatu sampel dikatakan positif mengandung senyawa saponin bila terbentuk busa yang ditunggu selama kurang dari 10 menit setinggi 1 – 10 cm dan busa tidak hilang setelah penambahan asam klorida 2 N. Timbulnya busa disebabkan senyawa saponin memiliki sifat fisik yang mudah terhidrolisa dalam air sehingga senyawa saponin akan menimbulkan busa ketika dikocok (Saman, 2013). Pada uji skrining fitokimia senyawa saponin, ekstrak etil asetat biji *C. moschata* tidak terbentuk busa (Lampiran 6). Hal ini karena tidak semua senyawa pada proses maserasi dapat tersari. Selain itu, tidak terbentuknya busa karena ekstrak etil asetat biji *C. moschata* tidak dapat larut dalam air sehingga senyawa saponin yang terkandung tidak terhidrolisis dalam air dan tidak menimbulkan busa ketika dikocok.

Triterpenoid merupakan senyawa yang tersusun dari rantai panjang hidrokarbon C_{30} yang mengakibatkan senyawa ini bersifat non polar. Senyawa triterpenoid juga berstruktur siklik berupa alkohol, aldehid dan asam karboksilat dengan gugus OH mengakibatkan senyawa ini bersifat semipolar (Harborne, 2006). Steroid merupakan

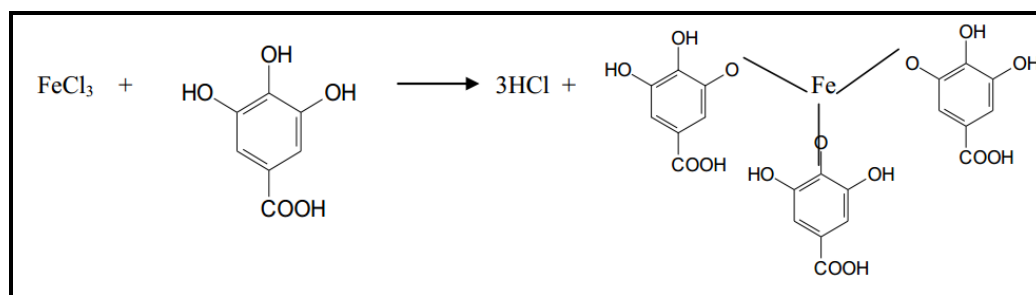
suatu golongan triterpenoid yang mengandung inti siklopentana perhidrofenantren yaitu tiga cincin sikloheksana dan satu cincin siklopentana (Harborne, 2006). Pada uji skrining fitokimia, ekstrak etil asetat biji *C. moschata* menghasilkan warna merah, setelah didiamkan beberapa saat kemudian berubah menjadi hijau (Lampiran 7). Menurut Nurjanah, dkk (2011) suatu sampel positif mengandung triterpenoid apabila terjadi perubahan warna menjadi merah dan positif mengandung senyawa steroid apabila setelah didiamkan beberapa saat, larutan berubah menjadi hijau atau biru. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat biji *C. moschata* mengandung senyawa triterpenoid dan steroid. Perubahan warna pada triterpenoid dan steroid terjadi karena molekul - molekul asam sulfat dan anhidrida asetat berikatan dengan senyawa triterpenoid dan steroid (Sangi, dkk., 2012). Reaksi antara asam sulfat dan anhidrida asetat yang berikatan dengan senyawa triterpenoid/steroid dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Reaksi antara anhidrida asetat dan asam sulfat yang berikatan dengan senyawa triterpenoid/steroid (Sangi, dkk., 2012)

Fenol hidrokuinon merupakan senyawa yang berasal dari tumbuh-tumbuhan dan mempunyai ciri yaitu mempunyai cincin aromatik dan memiliki satu atau dua gugus hidroksil (Harborne, 1987). Senyawa fenol hidrokuinon pada uji skrining fitokimia

ekstrak etil asetat biji *C. moschata* menghasilkan warna hijau. Menurut Nurjanah, dkk (2011) adanya senyawa fenol hidrokuinon ditandai dengan terjadinya perubahan warna hijau atau hijau biru pada larutan sampel sehingga disimpulkan ekstrak etil asetat biji *C. moschata* mengandung senyawa fenol hidrokuinon. Reaksi pembentukan warna pada senyawa fenol hidrokuinon terjadi karena ion hidroksil pada senyawa fenol bereaksi dengan ion FeCl_3 (Sangi, dkk., 2012). Reaksi antara senyawa fenol dengan ion FeCl_3 dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Reaksi antara senyawa fenol dengan FeCl_3 (Sangi, dkk., 2012)

D. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat biji *C. moschata* (ECM) pada penelitian ini diuji menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH. Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) merupakan metode penapisan aktivitas penangkap radikal bebas beberapa senyawa. Metode ini dipilih karena sederhana, mudah, cepat, peka dan memerlukan sampel yang sedikit (Zuhra, dkk., 2008). Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol p.a karena menurut Amrun, dkk (2007) pelarut yang paling sesuai untuk pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan pelarut polar seperti etanol.

Pengujian aktivitas antioksidan diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum yaitu dengan memasukkan larutan kontrol negatif (campuran etanol p.a dan larutan DPPH 0,4 mM) ke dalam spektrofotometri UV-VIS kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 200 sampai 800 nm. Panjang gelombang maksimum dimaksudkan untuk mendapatkan nilai absorptivitas yang memberikan sensitivitas tertinggi (Kusumawardhani, dkk., 2015). Panjang gelombang maksimum yang didapatkan sebesar 516 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,604 (Lampiran 8). Menurut Molyneux (2004) panjang gelombang maksimum yang banyak digunakan untuk pengukuran absorbansi pada pengujian peredaman radikal bebas DPPH adalah 515 nm. Panjang gelombang 516 nm merupakan panjang gelombang warna komplementer dari larutan warna yang diukur (ungu). Nilai absorbansi 0,604 sudah memenuhi syarat, karena berdasarkan hukum Lambert-Beer nilai absorbansi yang sesuai untuk spektrofotometri UV-VIS berkisar antara 0,2 – 0,8. Puncak absorbansi (λ_{max}) dapat dihubungkan dengan jenis ikatan suatu senyawa sehingga dapat diketahui secara pasti senyawa yang terkandung dalam larutan sampel (Abdul Rohman, 2007). Setelah didapatkan panjang gelombang maksimum dan absorbansi kontrol kemudian dilakukan pengukuran terhadap absorbansi sampel. Hasil absorbansi digunakan untuk menghitung nilai persen inhibisi sampel. Hasil absorbansi dan persen inhibisi sampel dapat dilihat pada Tabel 7.

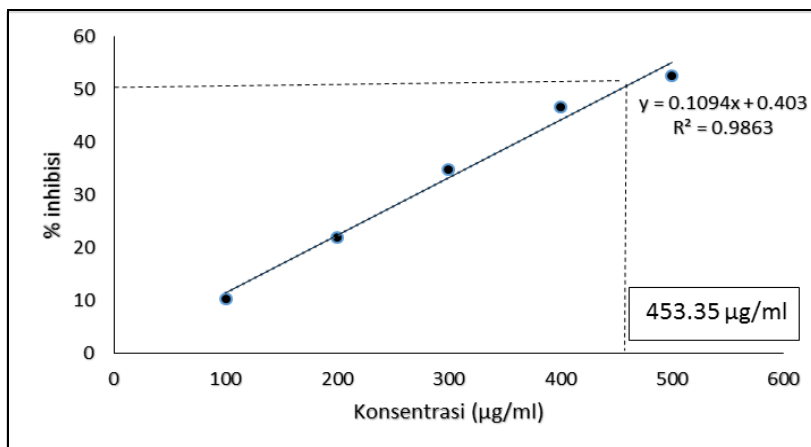
Tabel 7. Hasil absorbansi dan persen inhibisi ekstrak etil asetat biji *C. moschata*

No	Konsentrasi ECM ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	% inhibisi
1	100	0.542 ± 0.0030	$10.48 \% \pm 0.19$
2	200	0.471 ± 0.0017	$21.68 \% \pm 0.50$
3	300	0.393 ± 0.0035	$34.84 \% \pm 0.61$
4	400	0.324 ± 0.0028	$46.29 \% \pm 0.47$
5	500	0.286 ± 0.0032	$52.20 \% \pm 0.53$

(ECM = Ekstrak etil asetat biji *C. mochata*)

(3x replikasi)

Berdasarkan Tabel 7 dapat dilihat bahwa semakin besar konsentrasi yang diberikan maka absorbansi yang dihasilkan semakin kecil. Penurunan absorbansi disebabkan adanya peredaman radikal bebas DPPH akibat adanya donor atom hidrogen (*Hydrogen atom transfer*) dari senyawa hidroksil sehingga DPPH mengalami reduksi menjadi DPPH-H (Marxen dkk., 2007). Selain itu semakin bertambahnya konsentrasi persen inhibisi yang dihasilkan semakin besar. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Nurjanah, dkk (2011) bahwa persen inhibisi terhadap aktivitas radikal bebas meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak. Setelah dilakukan perhitungan persen inhibisi, kemudian dibuat regresi linier antara konsentrasi sampel dan persen inhibisi sehingga didapatkan persamaan $Y = 0,109x + 0,403$. Kurva persamaan regresi linier dapat dilihat pada Gambar 16. Persamaan tersebut digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*).



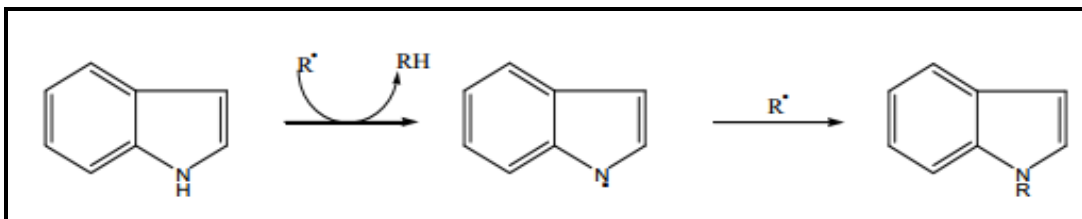
Gambar 16. Kurva regresi linier antara konsentrasi dan persen inhibisi

IC_{50} merupakan konsentrasi suatu senyawa yang dapat menyebabkan aktivitas DPPH berkurang 50% (Molyneux, 2004). Nilai IC_{50} adalah parameter dalam menentukan aktivitas antioksidan. Setelah didapatkan persamaan regresi linier, kemudian disubstitusikan nilai Y dalam persamaan $Y = 0,1094x + 0,403$ dengan 50 dan dicari nilai x sebagai nilai IC_{50} ECM. IC_{50} yang dihasilkan sebesar 453,35 µg/ml. Berdasarkan klasifikasi aktivitas antioksidan pada Tabel 2, ECM memiliki aktivitas antioksidan yang lemah ($IC_{50} > 150$ µg/ml). Apabila dibandingkan antara nilai IC_{50} hasil penelitian Pabesak, dkk (2014) (0,114 g/ml) dengan nilai IC_{50} pada penelitian ini, hasil yang diperoleh jauh lebih kecil

Berdasarkan hal tersebut, dapat disimpulkan bahwa efek antioksidan ekstrak etil asetat biji *C. moschata* lebih besar dibanding serbuk biji labu kuning. Namun apabila dibandingkan dengan asam askorbat (IC_{50} 5,0972 µg/ml) (Sumarny, dkk., 2014), aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat biji *C. moschata* jauh lebih kecil. Hal ini menandakan ekstrak etil asetat biji *C. moschata* memiliki aktivitas antioksidan lemah

dalam meredam radikal bebas DPPH jika dibandingkan dengan asam askorbat yang merupakan sumber antioksidan sekunder.

Berdasarkan hasil skrining fitokimia, ekstrak etil asetat biji labu kuning mengandung senyawa fenol hidrokuinon, alkaloid dan triterpenoid yang mana ketiga senyawa fitokimia tersebut memiliki gugus hidroksil sehingga dapat berefek antioksidan. Senyawa fenol dapat meredam radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogennya pada suatu radikal bebas (Matheos, dkk., 2014). Oleh karena terjadinya reaksi antara DPPH dan senyawa fenol sehingga senyawa radikal membentuk senyawa bukan radikal yaitu DPPH hidrazin yang stabil (Matheos, dkk., 2014). Menurut Yuhernita dan Juniarti (2012) turunan alkaloid seperti senyawa indol, quinolon dan melatonin dapat memberikan efek antioksidan di dalam tubuh. Reaksi peredaman radikal bebas senyawa alkaloid dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Reaksi peredaman radikal bebas senyawa alkaloid

(Yuhernita dan Juniarti, 2012)

Ekstrak etil asetat biji *C. moschata* menunjukkan adanya senyawa fenol, alkaloid dan triterpenoid. Namun aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat biji *C. moschata* lemah ($IC_{50} > 150 \mu\text{g/ml}$). Hal ini karena tidak semua senyawa fenol, alkaloid dan triterpenoid dapat memberikan aktivitas antioksidan misalnya senyawa lignin

(turunan senyawa fenol) yang aktivitas antioksidannya belum diketahui secara pasti (Matheos, dkk., 2014).

E. Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat biji *C. moschata* terhadap bakteri *S. aureus* FNCC 0047 pada penelitian ini diuji menggunakan metode difusi cakram. Metode difusi cakram merupakan metode untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam obat-obatan. Metode ini dipilih karena hasil pembentukan zona bening lebih mudah untuk diamati dibanding dengan metode dilusi. Pemilihan bakteri *S. aureus* pada penelitian ini karena bakteri ini merupakan salah satu bakteri yang banyak menyebabkan infeksi pada manusia baik infeksi ringan maupun berat (Jawetz, dkk., 2006).

Media pertumbuhan bakteri *S. aureus* FNCC 0047 pada penelitian ini menggunakan *Nutrient Agar* (NA). Media NA merupakan media umum yang banyak digunakan untuk mengkultur bakteri baik gram positif maupun gram negatif (Himedia, 2011), sedangkan pelarut pengencer yang digunakan adalah aquades. Pemilihan aquades karena pelarut ini bersifat universal dan tidak memiliki aktivitas antibakteri (Tiwari, 2011). Aquades tidak dapat bercampur dengan ECM sehingga diperlukan emulgator untuk menyatukan kedua fase (minyak dan air). Untuk mendapatkan emulgator yang sesuai dilakukan optimasi emulgator meliputi tween 80, span 80, campuran keduanya dan PEG 400 dengan konsentrasi 2,5% (Maryati, dkk., 2007). Hasil optimasi emulgator dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil optimasi emulgator untuk uji aktivitas antibakteri

No	Jenis Emulgator	Konsentrasi ekstrak (%)	Hasil
1	Tween 80 2,5%	5	++
2	Span 80 2,5%	5	+
3	Span + tween 2,5%	5	+
4	PEG 400 2,5%	5	-

(++ bercampur, + bercampur sebagian, - tidak bercampur)

Berdasarkan Tabel 8, dapat dilihat bahwa emulgator tween 80 lebih baik dibanding span 80, campuran tween - span 80 dan PEG 400 sehingga emulgator yang digunakan pada penelitian ini adalah tween 80. Tween 80 merupakan zat pengemulsi non ionik dengan nilai HLB 15. Nilai HLB yang tinggi lebih suka larut di dalam air (Martin, dkk., 1993) sehingga tween 80 yang memiliki HLB yang tinggi akan lebih mudah melarutkan minyak (ECM) dalam air.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat biji *C. moschata* diawali dengan pembuatan bahan uji (ECM 2%, ECM 5%, ECM 10%, ECM 20%, aquades, campuran aquades-tween 80 dan tetrasiklin 0,2 mg/ml). Pemilihan tetrasiklin sebagai kontrol positif karena antibiotik tetrasiklin 0,2 mg/ml memiliki zona hambat paling besar jika dibandingkan dengan ampisilin dan amoksisilin (Mulyani dan Sarjono, 2007). Menurut Velhner dan Milanov (2015), tetrasiklin mempunyai kemampuan untuk menghambat sintesis protein bakteri *S. aureus* dengan mencegah t-RNA aminoasil berikatan dengan ribosom. Kontrol negatif (aquades dan campuran aquades - tween 80 2,5 %) pada penelitian ini bertujuan untuk memastikan bahwa aktivitas antibakteri pada saat penelitian berasal dari sampel uji.

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan ulangan atau replikasi sebanyak tiga kali. Replikasi merupakan studi penelitian yang sama untuk kedua kalinya dengan kelompok lain untuk melihat apakah hasil yang diperoleh sama (Kazdin, 1992; Shaughnessy & Zechmeister, 1997). Replikasi menggambarkan penelitian yang dilakukan valid atau terjadi penyimpangan. Parameter aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* FNCC 0047 didasarkan pada terbentuknya zona bening di daerah kertas cakram atau Daerah Zona Inhibisi (DZI). Hasil pengukuran DZI pada media NA dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil DZI ekstrak etil asetat biji *C. moschata*

NO	Bahan uji	Diameter Zona Inhibisi (mm)
1	ECM 2%	0
2	ECM 5%	0
3	ECM 10 %	1.5 ± 0.50
4	ECM 20%	12.66 ± 2.08
5	Tetrasiklin 0,2 mg/ml	21.0 ± 0.50
6	Aquades-tween 80	0
7	Aquades	0

(ECM = ekstrak etil asetat biji labu kuning)

Berdasarkan Tabel 9 dapat dilihat bahwa rata-rata DZI ECM 2%, 5%, aquades - tween 80 dan aquades menunjukkan hasil negatif yang berarti tidak ada penghambatan pertumbuhan bakteri. KHM pada konsentrasi 10% dengan nilai DZI 1.5 mm yang berarti pada konsentrasi 10% ekstrak etil asetat biji *C. moschata* sudah dapat memberikan aktivitas antibakteri. Zona inhibisi terbesar pada konsentrasi 20% dengan nilai DZI sebesar 12.66 mm, sedangkan tetrasiklin memiliki DZI sebesar 21

mm. Untuk mengetahui perbedaan signifikansi DZI antar bahan uji, dilakukan uji *One way ANOVA* (syarat data terdistribusi normal) (Lampiran 2). Hasil analisa menunjukkan rata-rata DZI antar bahan uji memang berbeda ($P < 0.05$) (Lampiran 13). Untuk mengetahui perbedaan aktivitas antar bahan uji dilakukan uji lanjutan menggunakan uji Tukey. Hasil analisa menunjukkan bahan uji memiliki perbedaan yang nyata ($P < 0.055$) (Lampiran 14).

Berdasarkan klasifikasi aktivitas antibakteri Greenwood (1995) suatu senyawa memiliki aktivitas antibakteri yang kuat apabila nilai DZI lebih dari 15 mm. Nilai DZI ekstrak etil asetat biji *C. moschata* termasuk dalam kategori lemah ($12,66 \text{ mm} < 15 \text{ mm}$). Apabila dibandingkan hasil penelitian Kamarudin, dkk (2014), ekstrak etil asetat biji *C. moschata* memiliki DZI yang lebih kecil dibanding ekstrak metanol kulit *C. moschata* ($12,66 \text{ mm} < 15 \text{ mm}$) dan lebih besar dibanding ekstrak diklorometana kulit *C. moschata* ($12,66 \text{ mm} > 11 \text{ mm}$). Perbedaan nilai DZI antara ekstrak etil asetat biji *C. moschata* dengan ekstrak kulit *C. moschata* tidak berbeda jauh atau keduanya masih dalam rentang aktivitas antibakteri lemah ($11 \text{ mm} - 15 \text{ mm}$). Namun, apabila dibandingkan dengan tetrasiklin, ekstrak etil asetat biji *C. moschata* memiliki DZI jauh lebih kecil ($12,66 \text{ mm} < 21 \text{ mm}$). Hal ini menandakan ekstrak etil asetat biji *C. moschata* memiliki aktivitas antibakteri lemah.

Berdasarkan hasil skrining fitokimia, ekstrak etil asetat biji *C. moschata* memiliki kandungan senyawa fenol hidrokuinon, alkaloid, steroid dan triterpenoid. Senyawa - senyawa tersebut dapat memberikan efek antibakteri dengan mekanisme yang berbeda. Senyawa fenol dapat menginaktivasi protein (enzim) pada membran sel

sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Senyawa alkaloid dapat mengganggu komponen peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk secara utuh, sedangkan senyawa triterpenoid dapat bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada bagian luar dinding sel bakteri membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin (Mahanani, dkk., 2012). Namun hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat biji *C. moschata* tidak sejalan dengan kandungan senyawa kimia yang telah diidentifikasi. Lemahnya aktivitas antibakteri pada ekstrak etil asetat biji *C. moschata* karena tidak semua senyawa fitokimia yang telah diidentifikasi dapat memberikan aktivitas antibakteri.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Ekstrak etil asetat biji *C. moschata* mengandung senyawa alkaloid, steroid, triterpenoid dan fenol hidrokuinon.
2. Ekstrak etil asetat biji *C. moschata* memberikan aktivitas antioksidan lemah dengan nilai IC_{50} sebesar 453,35 $\mu\text{g/ml}$.
3. Ekstrak etil asetat biji *C. moschata* memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* FNCC 0047 dengan nilai DZI sebesar 12.66 mm.

B. Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat biji *C. moschata* selain menggunakan metode DPPH.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, Rohman, 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Amelia, P., 2011, Isolasi, elusidasi struktur dan uji aktivitas antioksidan senyawa kimia dar daun Garcia benthami Pierre. *Tesis Universitas Indonesia*. (Online). Diakses tanggal 4 Mei 2016
- Amrun, M., Umiyah, & Umayah, E., 2007, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Dan Ekstrak Metanol Beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari daerah Jember, Berk, Penel. *Hayati*, 13, 45-50
- Andrew, Jennifer M, 2001, Determination of Minimum Inhibition Concentration. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48, Suppl. S1, 5-16.
- Astawan, Made., Kasih, Andreas L, 2008, *Khasiat warna-warni Makanan*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Brandt, M, 1999-2003, Steroid Chemistry and Steroid Hormone Action, *Endocrine*, Chapter 1, diakses pada tanggal 2 Juni 2016.
- Darmawan, A., N. Artanti, 2009, Isolasi Senyawa Aktif Antioksidan dari Ekstrak Air Daun Benalu (*Dendrophloe pentandra* L. Miq.) yang Tumbuh pada Cemara (*Casuarina* sp.). *Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia: Jakarta* Hal 43-51.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1986, *Sedian Galenik*. Jakarta: Direktorat Jendral POM. Hal. 12, 26
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2009, *Farmakope Herbal Indonesia*, Jakarta: 29-30.
- Dewoto, H, R., 2007, Pengembangan obat Tradisional menjadi Fitofarmaka, *Majalah Kedokteran Indonesia*, Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. Volume 57, No. 7,
- Fessenden, Joan S, & Fessenden, Ralph. J., 1982, *Kimia organik edisi ketiga*., Erlangga: PT.Gelora Aksara Pratama, Jakarta.
- Greenwood, 1995, *Antibiotics, Susceptibility (Sensitivity) Test Antimicrobial and Chemotherapy*, Mc. Graw Hill Compeny, USA
- Harborne, J.B. 2006. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (alih bahasa: Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro)*. Penerbit ITB: Bandung.
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia*, Penerjemah: Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Penerbit ITB, Bandung. Hal 147.
- Harborne, J.B. 1984. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Penerjemah: Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Terbitan Kedua. Bandung: Penerbit ITB. Halaman 47-102, 152-153.


- Hesse, M, 1981, *Alkaloid Chemistry*, Toronto: John Wiley and Sons, Inc
- Himedia, 2011, Technical Data, *HiMedia Laboratories* Pvt. Ltd. A-516, Swastik Disha Business Park, Via Vadhani Ind. Est., LBS Marg, Mumbai-400086, India.
- <http://cmgm.stanford.edu/> diakses pada tanggal 1 Juni 2016
- Ikan, R., 1969, *Natural Product A Laboratory Guide*, Jerusalem: Israel Universities Press.
- Jawetz, E, J. Melnick, L. & Adeleberg, 1995, *Review of Medical Microbiology*, Los Altos, California: Lange Medical Publication. Pages 227-230.
- Jawetz, E., J. Melnick, L. & Adeleberg, 2006, *Mikrobiologi Kedokteran*, terjemahan Huriawati Hartanto: Penerbit Buku Kedokteran, ECG
- Kamarudin, Ahmed, Q., U, Helaluddin, A, B, M., Sirajudin, Z, N, M., 2014, Studies on bactericidal efficacy of pumpkin (*Cucurbita moschata* Duchesne) peel, *The Journal of Coastal Life Medicine*. Kuantan, Pahang Darul Makmur, Malaysia
- Kartikawati, S.M., 2004, Pemanfaatan Sumberdaya Tumbuhan oleh Masyarakat Dayak Meratus di Kawasan Hutan Pegunungan Meratus, Kabupaten Hulu Sungai Tengah. *Tesis pada Sekolah Pascasarjana IPB*: Bogor
- Kazdin, A. E., 1992, *Research design in clinical psycholog*., Second Edition, Boston: Allyn and Bacon.
- Kusumawardhani, N, Sulistyarti, & Atikah, 2015, Penentuan Panjang Gelombang Maksimum dan pH Optimum dalam Pembuatan Tes KIT Sianida Berdasarkan Pembentukan Hidrindantin, *Kimia Student Journal*, Vol 1. No. 1 pp. 711-717.
- Latief, A., 2013, *Obat Tradisional*, Penerbit Buku Kedokteran, ECG: Jakarta.
- Lenny S. 2006. *Senyawa Steroid dan Terpenoid*. Medan : Fakultas MIPA. USU.
- Lenny S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloid*. Medan : Fakultas MIPA. USU.
- Lopez, Chrisanto Maglaque, Sunee nitisprasert, Penkhae Wanchaitanawong, Ngamtip Poovardom, 2003, Antimicrobial activity of Medical Plant Extract against Foodborne Spoilage and Pathogenic Microorganism, *Kasetsart J (Nat, Sci) 37: 460-467*
- Mahanani, R, S., Praharani, D., & Purwanto, 2012, Daya Antibakteri Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus viridans*, *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*, Universitas Jember.
- Marliana, S, D., Suryanti, V., & Suyono, 2005, Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol, *Biofarmasi* 26-31, Jurusan Farmasi FMIPA UNS Surakarta.

- Martin, A., Swarbrick, J. and Cammarata, A. 1993. *Farmasi Fisik*. Jilid 2. Edisi ketiga. Jakarta. UI Press.
- Maryati, Fauzia R, S., & Rahayu, 2007, Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*, Fakultas Farmasi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta. , Vol. 8, No. 1, 2007: 30 - 38
- Matheos, H., Runtuwene M, R, J., Sudewi, S., 2014, Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Daun Kayu Bulan (*Pisonia alba*), *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi*, Program Studi Farmasi FMIPA, UNSRAT, Manado
- Molyneux, P., 2004, The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *J.Sci. Technol.*, <http://www.sjst.psu.ac.th/journal/26-2.pdf/07-DPPH.pdf>.
- Mukriani, 2014, Ekstraksi pemisahan senyawa dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan*, Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar. Vol VII. NO.2
- Mulyani, N, S., & Sarjono, P, R., 2007, Aktivitas Antibakteri Rimpang Temu Putih (*Curcuma manga Vall*), *Jurnal Sains dan Matematika (JSM)*, Universitas Diponegoro. Vol 15. No. 2
- Nurjanah, Laili Izzati, Abdullah, A., 2011, Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau (*Solen sp*), *Ilmu Kelautan*, Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB, Vol. 16 halaman 119 – 124.
- Pabesak, Lusiawati D. & L. N. Lestario, 2013, Aktivitas Antioksidan dan Fenolik Total pada Tempe dengan Penambahan Biji Labu Kuning (*Cucurbita moschata ex Poir*), *Seminar Nasional X Pendidikan Biologi FKIP UNS*: Surakarta.
- Patel, S., 2013, Pumpkin (*Cucurbita sp.*) seeds as nutraceutic:. *Mediterr J Nutr Metab* 0131-5.
- Prakash. Aruna, 2001, Antioxidant Activity, *Medallion Laboratories*, Analytical Progress, Volume 19, Number 2
- Pratiwi, Sylvia T, 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, Erlangga: Jakarta
- Pelczar, M.J, E.& Chan, 1988, *Dasar-dasar Mikrobiologi Jilid 1*, Jakarta: UI Press.
- Robinson, 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerbit ITB: Bandung
- Ryan, K.J., J.J. Champoux, S. Falkow, J.J. Plonde, W.L. Drew, F.C. Neidhardt, and C.G. Roy, 1994, *Medical Microbiology An Introduction to Infectious Diseases*, 3rd ed. Connecticut: Appleton&Lange. p.254.
- Sangi, S, M., Momuat I, L., Kumaunang, M., 2012, Uji Toksisitas dan Skrining fitokimia Tepung Gabah Pelepah Aren (*Arenga pinnata*), *Jurnal Ilmiah Sains*, UNSRAT. Vol. 12 No. 2.

- Shaughnessy, Zechmeister, J. S., 1997, *Research Method Physiology* (5 th ed), Boston, Mc Graw-Hill, Inc.
- Saxena, M., Saxena, J., Nema, R., Singh, D., Gupta, 2013, Phytochemistry of Medicinal Plants, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, Center for Microbiology & Bio-Technology Research and Training, Bhopal, India
- Singh, 2012, Phytochemical determination and antibacterial activity of *Trichosanthes dioica Roxb* (Patal), *Cucurbita Maxima* (pumpkin) and *Abelmoschus esculentus Moench* (Okra) plant seeds. *Department of Life Science national institute of technology*. Odisha Rourkela-769 008,
- Siswandono dan Soekardjo, B., 2000, *Kimia Medisinal*, Edisi 2, Surabaya: Airlangga University Press, Hlm. 291.303
- Steenis, 1975, *Flora untuk sekolah di Indonesia*, Pradnya Paramita: Jakarta:
- Sumarny, R., Sofiah, S., Nurhidayati, L., Fatimah, 2014, Antioxidant Activity of *Mangosteen Garcia mangostana* .L Fruit Rind Extract in Oral Solution Dosage Form, *Inatradmed*. Tawangmangu, Central Java Indonesia.
- Skou dan Jensen, 2007, *Mikrobiologi*. England: Forfatern Org System.
- Syahrurachman, A, Chatim, A, Karuniawati, dkk., 1994, *Buku Ajar mikrobiologi Kedokteran*, ed revisi, Staf Pengajar Fakultas kedokteran universitas Indonesia, Jakarta, hlm. 103, 177.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H, 2011, Phytochemical Screening and Extraction: A Review, *Internationale Pharmaceutica Scientia*, Department of Pharmaceutical Sciences, Lovely School of Pharmaceutical Sciences, Phagwara, Punjab. Vol 1.
- Velhner, M., & Milanov, D., 2015, Resistance to Tetracycline in *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*: Brief Overview on Mechanisms of Resistance and Epidemiology, *Arhiv veterinarske medicine*, Vol 8. Hlm. 27 - 36
- Warsa, U, C, 1994, Staphylococcus dalam *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi. Jakarta : Penerbit Binarupa Aksara. hal. 103-110.
- Wiley & Sons, 2003, *The chemistry of phenols*, The Hebrew University, Jerusalem
- Yadav, N., Yadav, R., & Goyal, 2014, Chemistry of Terpenoid, *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 27(2) Article No. 45, Pages: 272-278,
- Yuhernita & Juniarti, 2011, Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun yang Berpotensi Sebagai Antioksidan, *Makara Sains*, Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Yarsi: Jakarta. Hlm. 48-52
- Zuhra, C.F.Taringan.J.B.Sihotang.H, 2008, Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgunus* (L) Merr.), *Jurnal Biologi Sumatera*, Sumatera: Departemen Kimia FMIPA-USU, hlm 7-10.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Uji Taksonomi Biji *C. moschata*


BAGIAN BIOLOGI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS GADJAH MADA YOGYAKARTA
Alamat: Sekeloa Utara II, Kaliburang Km 4, Yogyakarta 55281
Telp. 0274 542738, 0274 649 2568 Fax. 0274-543120

SURAT KETERANGAN
No.: BF/246/ Ident/Det/VI/2014

Kepada Yth.
Sdri/Sdr. Sri Tasminatun, M.Sc., Apt.
NIK. 173036
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta
Di Yogyakarta

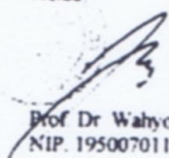
Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi sampel yang Saudara kirimkan ke Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, adalah

No.Pendaftaran	Jenis	Suku
246	<i>Cucurbita moschata</i> (Duch) Poir	Cucurbitaceae

Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya

Yogyakarta, 5 Juni 2014
Ketua


Prof. Dr. Wahyono, S.U., Apt.
NIP. 195007011977021001

Lampiran 2. Sertifikat Bakteri *Staphylococcus aureus*



UNIVERSITAS GADJAH MADA
PUSAT STUDI PANGAN DAN GIZI

SERTIFIKAT MIKROBIA
FNCC-PSPG/22/III2016

***Staphylococcus aureus* FNCC 0047**

Bentuk sel	: Bulat/ coccus
Pengecatan gram	: Positif
Susunan sel	: Berkelompok
Kebutuhan oksigen	: aerob
Motilitas	: Tidak motil (tidak bergerak)
Pembentukan Spora	: Tidak (negatif)
Katalase	: Positif
Tes koagulase	: Positif
pH optimum	: 7
Suhu Optimum	: 37°C
Pathologi	: Pathogen

Yogyakarta, 14 Maret 2016
Kurator FNCC

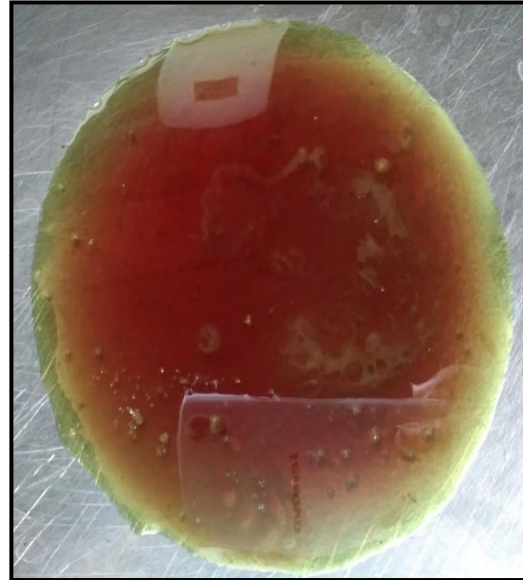


Prof. Dr. Ir. Endang S. Rahayu

Lampiran 3. Ekstraksi Biji *C. moschata*



Proses maserasi

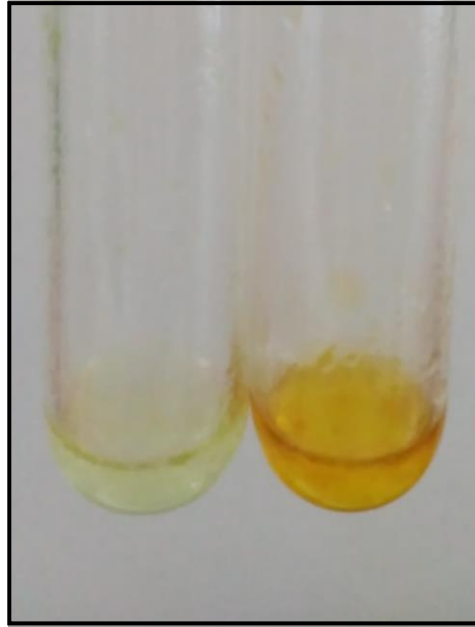


Ekstrak etil asetat biji *C. moschata*

Lampiran 4. Perhitungan persen rendemen ekstrak etil asetat biji *C. moschata*

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{40,63269 - 21,0205}{100} \times 100\% \\ &= 19,6121 \%\end{aligned}$$

Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Biji *C. moschata*



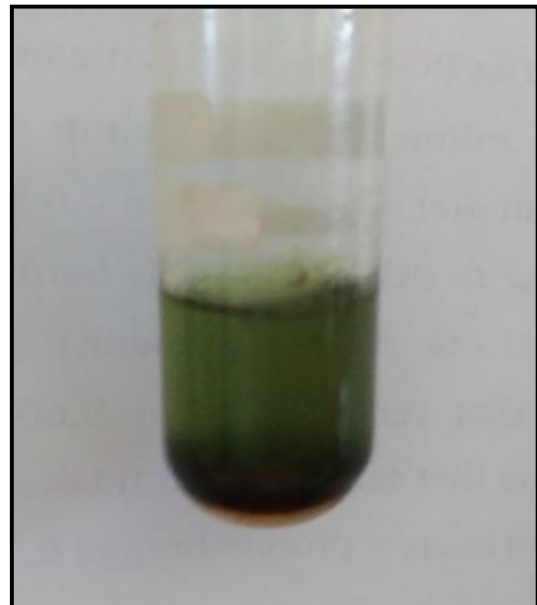
(1)

(2)

Lampiran 5. Uji senyawa alkaloid mayer (1) dan dragendorff (2)

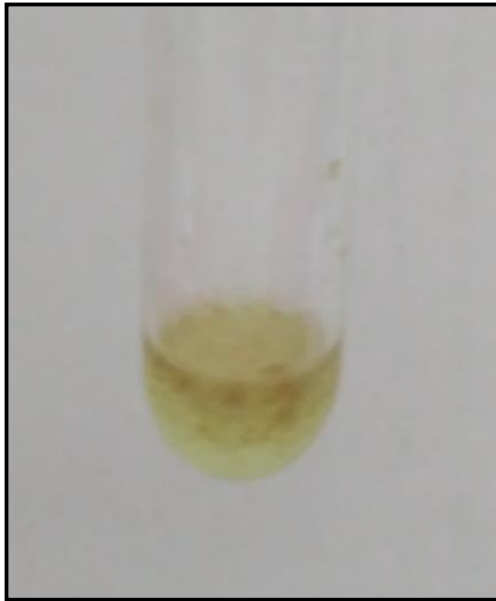


(1)



(2)

Lampiran 6. Uji senyawa triterpenoid (1) dan Steroid (2)



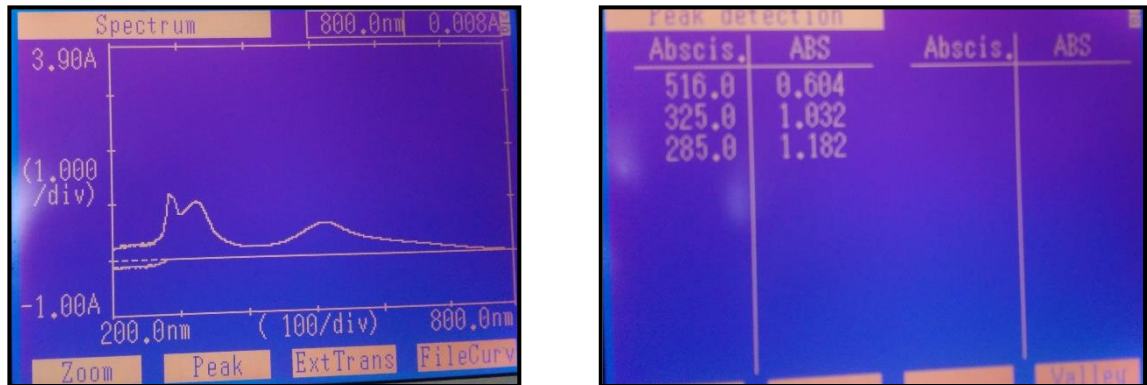
(1)



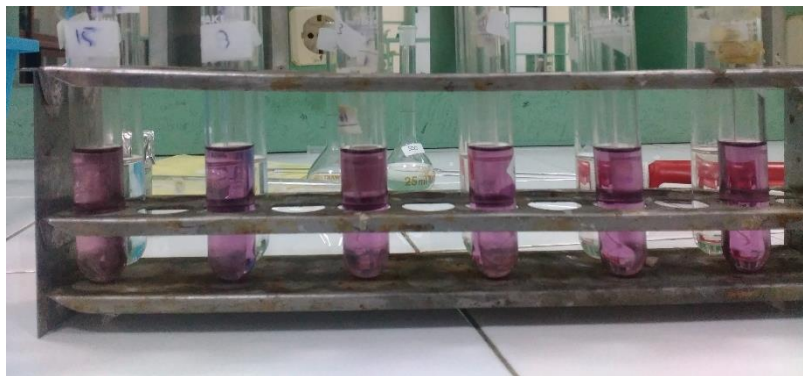
(2)

Lampiran 7. Uji senyawa fenol hidrokuinon (1) dan saponin (2)

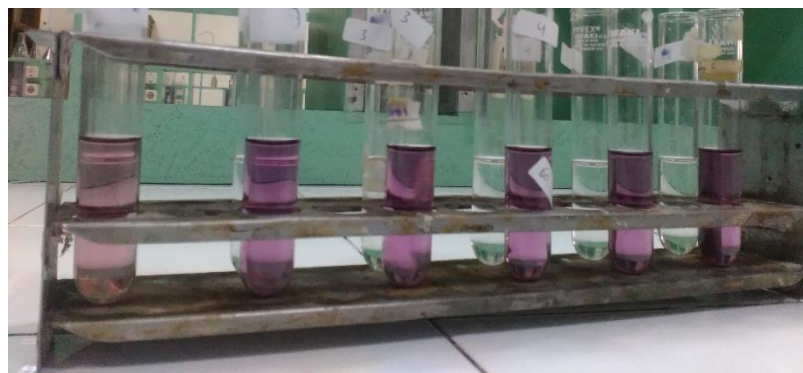
Uji aktivitas antioksidan



Lampiran 7. Panjang gelombang maksimal 516 nm, absorbansi 0,604



Lampiran 8. Proses uji aktivitas antioksidan sebelum peredaman radikal bebas



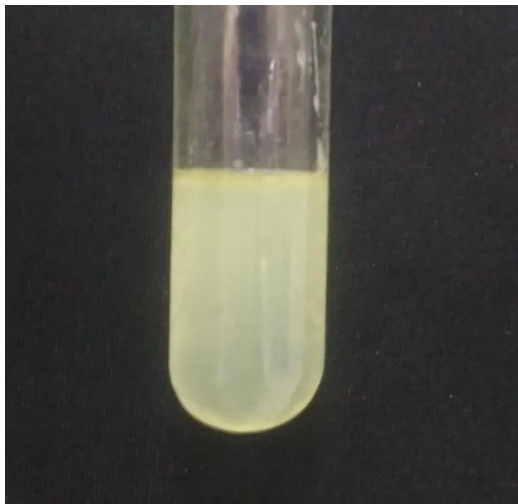
Lampiran 9. Hasil aktivitas antioksidan sesudah peredaman radikal bebas

Lampiran 10. Table Uji aktivitas antioksidan

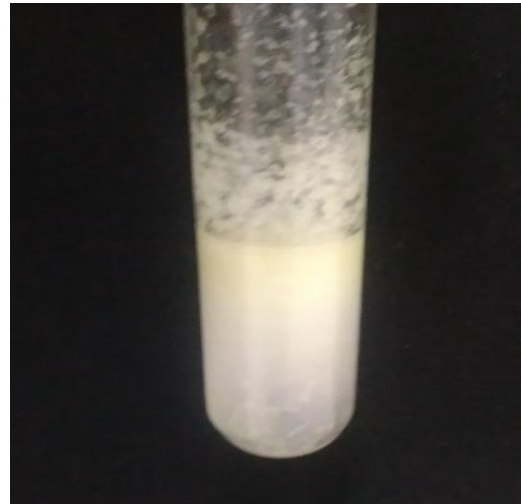
No	Konsent rasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi			Rata-rata	% Inhibisi			Rata-rata	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
		Repli kasi 1	Repli kasi 2	Repli kasi 3		Repli kasi 1	Replika si 2	Repli kasi 3		
1	100	0.542	0.540	0.546	0.533	10.26	10.59	9.60	10.15	453,35
2	200	0.470	0.473	0.470	0.471	22.18	21.68	21.18	21.68	
3	300	0.390	0.394	0.397	0.393	35.49	34.76	34.27	34.84	
4	400	0.321	0.326	0.326	0.324	46.85	46.02	47.01	46.62	
5	500	0.285	0.290	0.291	0.288	52.81	51.98	51.82	52.20	

Perhitungan DPPH 0.4 mM	
$0.4 \text{ mM} = x / 394 \times 1000$	$X = 15,76 \text{ mg/ } 100 \text{ ml etanol p.a}$
$X = 394000/0.4$	$X = 4 \text{ mg/ } 25 \text{ ml etanol p.a}$
$X = 157.6 \text{ g/}1000 \text{ ml}$	
$X = 0,1576 \text{ g}$	
$X = 157,6 \text{ mg/ } 1000 \text{ ml}$	

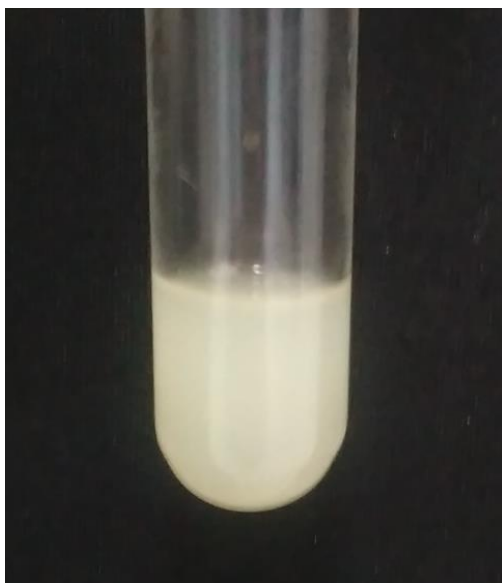
Perhitungan IC₅₀
$Y = 0.1094x + 0.403$
$50 = 0.1094x + 0.403$
$0.1094x = 50 - 0.403$
$0.1094x = 49.597$
$x = 453.35$

Lampiran 11. Hasil Optimasi Emulgator

Span 80



Tween 80 dan Span 80



Tween 80



PEG 400

Lampiran 12. Uji Aktivitas Antibakteri ECM



Keterangan:

1 = tetrasiklin 0,2 mg/ml

2 = ECM 20%

3 = ECM 10%

4 = ECM 5%

5 = ECM 2%

6 = Aquades + tween 80

7 = Aquades

Lampiran 13. Diameter zona inhibisi bahan uji

BAHAN UJI	REPLIKASI	REPLIKASI	REPLIKASI	RATA-RATA
	1	2	3	
ECM2%	0	0	0	0
ECM5%	0	0	0	0
ECM10%	1	1.5	3	1.5
ECM20%	16	8	14	12.66
TETRASIKLIN 0.2 mg/ml	20	21	22	21
AQUADES	0	0	0	0
CAMPURAN TWEEN/AQUA	0	0	0	0

Lampiran 14. Uji normalitas

Tests of Normality

Bahan_uji	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
DZI ECM10%	.175	3	.	1.000	3	1.000
ECM20%	.292	3	.	.923	3	.463
tetrasiklin0.2mg	.175	3	.	1.000	3	1.000

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 15. Uji *One way* ANOVA

ANOVA

DZI					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	574.389	2	287.194	46.363	.000
Within Groups	37.167	6	6.194		
Total	611.556	8			

Lampiran 16. Uji Tukey

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DZI

Tukey HSD

(I) Bahan_uji	(J) Bahan_uji	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ECM10%	ECM20%	-11.16667*	2.03215	.004	-17.4019	-4.9315
	tetrasiklin0.2mg	-19.50000*	2.03215	.000	-25.7352	-13.2648
ECM20%	ECM10%	11.16667*	2.03215	.004	4.9315	17.4019
	tetrasiklin0.2mg	-8.33333*	2.03215	.015	-14.5685	-2.0981
tetrasiklin0.2mg	ECM10%	19.50000*	2.03215	.000	13.2648	25.7352
	ECM20%	8.33333*	2.03215	.015	2.0981	14.5685

*. The mean difference is significant at the .05 level.