

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

**ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF  
PUMPKIN SEEDS OF ETHYL ACETATE EXTRACT  
(*Cucurbita moschata Duch. Poir*)**

\*Rustina, \*\*Sri Tasminatun

Undergraduated, Muhammadiyah University of Yogyakarta \*

Lecturer, Muhammadiyah University of Yogyakarta\*\*

[Rustina20120350065@gmail.com](mailto:Rustina20120350065@gmail.com)

**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  $IC_{50}$  was 453,35  $\mu\text{g/ml}$ . Moreover, the ethyl ectate 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,  $IC_{50}$ , *Staphylococcus aureus*

**PENDAHULUAN**

Labu kuning (*Cucurbita moschata*. Duch. Poir) merupakan salah satu tanaman obat yang memiliki banyak manfaat. Kandungan senyawa labu kuning dapat berefek antioksidan dan antibakteri (Pabesak dkk, 2014; Kamarudin dkk, 2014). Biji labu kuning mengandung senyawa alkaloid, fenolik, triterpenoid/steroid dan kukurbitasin (Patel, 2013; Latief, 2013). Senyawa-senyawa tersebut dapat berefek antioksidan dan antibakteri. Penelitian mengenai aktivitas antioksidan serbuk biji labu

kuning sudah pernah dilakukan sebelumnya, namun belu ada penelitian mengenai aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak etil asetat biji labu kuning. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif, aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak etil asetat biji labu kuning.

**METODE PENELITIAN****Alat Penelitian**

Alat-alat gelas (Pyrex), kertas saring (Whatman), *Rotary evaporator* (Heidolph®), aluminium foil (Brand),

timbangan analitik (Sartorius), Spektrometer Uv-Vis (Hitachi® U-2810 Model: 122-000), *Laminar Air Flow* (Mascotte®)

### Bahan Penelitian

Etil asetat p.a (Merck), etanol 70% (Bratachem / *Grade Teknis*), etanol p.a (Merck), serbuk DPPH 0.4 mM, *Staphylococcus aureus* FNCC 0047, *Media Nutrient Agar* (Merck), BHI (Merck), NaCl 0.9% (Merck), Aquades (Bratachem).

### Langkah Kerja

#### 1. Skrining Fitokimia

##### a. Senyawa Alkaloid

Sebanyak 3 tetes asam sulfat 2 N diteteskan ke dalam sejumlah sampel pada tabung reaksi 1 dan 2 kemudian masing-masing tabung reaksi ditetesi pereaksi dragendorff (1) dan pereaksi mayer (2). Terbentuknya endapan jingga pada tabung reaksi 1 dan endapan putih kekuningan pada tabung reaksi 2 menunjukkan positif mengandung senyawa alkaloid (Nurjanah, dkk, 2011).

##### b. Senyawa Steroid/triterpenoid

Sebanyak 0,5 gram sampel dilarutkan dalam 2 ml kloroform pada tabung reaksi kemudian sampel ditambahkan 10 tetes anhidrida asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Terbentuknya warna merah setelah penambahan asam sulfat pekat menunjukkan positif mengandung

senyawa triterpenoid dan larutan berubah menjadi hijau atau biru setelah didiamkan beberapa saat menunjukkan sampel positif mengandung senyawa steroid (Nurjanah, dkk, 2011).

##### c. Senyawa Saponin

Sebanyak 0,5 gram sampel dilarutkan dalam 5 ml aquades kemudian dikocok secara vertikal. Terbentuknya busa pada tabung reaksi dan busa tidak hilang setelah penambahan HCl 2 N menunjukkan 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<sub>3</sub> 5% sebanyak 3 tetes. Hasil positif mengandung senyawa fenol hidrokuinon apabila terjadi perubahan warna hijau pada larutan sampel (Nurjanah dkk, 2011).

### 2. Uji Aktivitas Antioksidan

#### a. Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM

Sebanyak 3,9 mg serbuk DPPH ditimbang, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml kemudian ditambahkan etanol p.a sampai tanda.

#### b. Pembuatan Larutan Induk Sampel

Sebanyak 25 mg ekstrak ditimbang, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml kemudian dicukupkan dengan etanol p.a sampai tanda (konsentrasi 1 mg/ml).

c. Pembuatan Seri Konsentrasi

Seri konsentrasi ekstrak 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 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  $\lambda$  Maksimum dan Absorbansi Sampel

Sebanyak 3 ml larutan kontrol negatif dibaca panjang gelombang maksimum pada spektrofotometri UV-VIS dengan panjang gelombang 200 sampai 800 nm. Larutan sampel dibaca absorbansinya pada spektrofotometri UV-VIS pada  $\lambda$  maksimum yang telah didapatkan (516 nm) (Sumarny dkk, 2014).

### 3. Uji Aktivitas Antibakteri

a. Pembuatan Media

Serbuk *Nutrient Agar* (NA) ditimbang sebanyak 2,8 gram, dicampur dalam 100 ml aquades dan diaduk menggunakan stirer di atas *hotplate* hingga larut. Perlakuan yang sama untuk media BHI yaitu ditimbang

0,8 gram BHI, dilarutkan dalam 100 ml aquades (Pelczar, 2005).

b. Pembuatan Larutan Uji

Sebanyak 2 g ekstrak dilarutkan dalam 10 ml aquades (larutan induk konsentrasi 20%), dari larutan induk dibuat larutan sampel (2%, 5%, 10%) dengan sistem pengenceran. Kontrol positif yang digunakan yaitu tetrasiklin 0,2 mg/ml, kontrol negatif aquadest dan campuran aquadest-tween 80.

c. Pembuatan Suspensi Bakteri

Sebanyak satu ose koloni bakteri diinokulasikan ke dalam media BHI, diinkubasi pada suhu 30°C selama 2 - 4 jam, kemudian diencerkan menjadi suspensi bakteri dengan kepadatan sel  $10^6$ . Tabung reaksi divortex dan dihasilkan suspensi bakteri  $10^6$  sel/ml (Lopez, 2003).

d. Uji Daya Antibakteri

Cawan petri diolesi bakteri *S. aureus* FNCC 0047, di atasnya diletakan *paper disc* yang telah direndam masing-masing konsentrasi ekstrak, kontrol positif dan kontrol negatif. Cawan petri kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Cawan petri yang telah diinkubasi diamati diameter zona inhibisi yang terbentuk.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia meliputi senyawa alkaloid, steroid/triterpenoid, saponin dan fenol hidrokuinon. Hasil skrining fitokimia disajikan dalam tabel berikut:

Uji fitokimia	Standar warna	Hasil
Alkaloid drage	Endapan merah atau jingga	+
Alkaloid mayer	Endapan putih kekuningan	+
Steroid/triterpenoid	Perubahan warna dari merah menjadi biru atau hijau	+
Saponin	Terbentuk buih	-
Fenol	Warna hijau atau	+
Hidrokuinon	hijau biru	+

Berdasarkan tabel diatas, ekstrak etil asetat biji labu kuning mengandung senyawa alkaloid, senyawa steroid/triterpenoid dan senyawa fenol hidrokuinon. Reaksi perubahan warna pada pereaksi dragendorff karena atom nitrogen alkaloid berikatan dengan ion logam kalium tetraiodobismutat sehingga membentuk endapan kalium-alkaloid sedangkan pada pereaksi mayer karena atom nitrogen alkaloid berikatan dengan ion logam kalium pada kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk endapan kalium-alkaloid (Marliana, dkk, 2005). Perubahan warna pada triterpenoid dan steroid terjadi karena molekul-molekul asam sulfat dan anhidrida asetat berikatan dengan senyawa triterpenoid dan steroid. Reaksi pembentukan warna pada senyawa fenol hidrokuinon terjadi karena ion hidrosil pada senyawa fenol bereaksi dengan ion  $FeCl_3$  (Sangi, dkk, 2012).

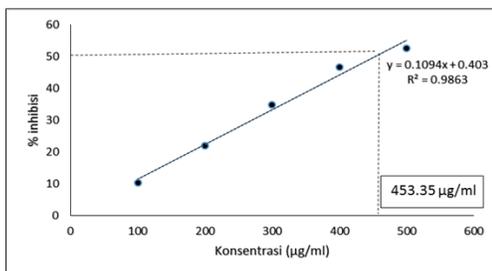
#### a. Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan 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). Pengujian aktivitas antioksidan diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum. Panjang gelombang yang didapatkan 516 nm. Panjang gelombang tersebut digunakan untuk menghitung absorbansi dan persen inhibisi. Hasil pengukuran absorbansi dan persen inhibisi dapat dilihat pada tabel berikut:

Konsentrasi ( $\mu g/ml$ )	Absorbansi	% inhibisi
100	0.542 $\pm$ 0.0030	10.48 % $\pm$ 0.19
200	0.471 $\pm$ 0.0017	21.68% $\pm$ 0.50
300	0.393 $\pm$ 0.0035	34.84 % $\pm$ 0.61
400	0.324 $\pm$ 0.0028	46.29 % $\pm$ 0.47
500	0.286 $\pm$ 0.0032	52.20 % $\pm$ 0.53

Berdasarkan Tabel diatas 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). Setelah dilakukan perhitungan persen inhibisi, kemudian dibuat regresi linier antara konsentrasi sampel dan persen inhibisi sehingga didapatkan persamaan  $Y = 0,109x + 0,403$ . Persamaan regresi linier antara konsentrasi sampel dan persen inhibisi dapat dilihat pada Gambar berikut :



Persamaan tersebut digunakan untuk menghitung nilai  $IC_{50}$  (*Inhibitory Concentration*).  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi suatu senyawa yang dapat menyebabkan aktivitas DPPH berkurang 50% (Molyneux, 2004). Setelah didapatkan persamaan regresi linier, kemudian disubstitusikan nilai Y dalam persamaan  $Y = 0,1094x + 0,403$  dengan 50 dan dicari nilai x sebagai nilai  $IC_{50}$  ekstrak etil asetat biji labu kuning.  $IC_{50}$  yang dihasilkan sebesar 453,35 µg/ml. Ekstrak etil asetat biji labu kuning memiliki aktivitas antioksidan yang lemah ( $IC_{50} > 150$  µg/ml). 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.

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 berefek antioksidan di dalam tubuh. Ekstrak etil asetat biji *C. moschata* menunjukkan adanya senyawa fenol, alkaloid dan triterpenoid. Namun aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat biji *C. moschata* lemah ( $IC_{50} > 150$  µg/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).

### Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri 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 antibiotik. Kemampuan ekstrak dalam menghambat bakteri *S. aureus* FNCC 0047 dapat diketahui dengan menghitung nilai DZI. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan replikasi sebanyak tiga kali. Hasil pengukuran DZI ekstrak etil asetat biji labu kuning untuk masing-masing replikasi dapat dilihat pada tabel berikut :

Bahan uji	DZI (mm)
ECM 2%	0
ECM 5%	0
ECM 10 %	1.5 ± 0.50
ECM 20%	12.66 ± 2.08
Tetrasiklin 0,2 mg/ml	21.0 ± 0.50
Aquades-tween 80	0
Aquades	0

(ECM: ekstrak etil asetat biji labu kuning)

Berdasarkan Tabel di atas dapat dilihat bahwa rata-rata DZI ECM 2%, 5%,

aquades-tween 80 dan akuades menunjukkan hasil negatif yang berarti tidak ada penghambatan pertumbuhan bakteri. Nilai DZI terbesar pada konsentrasi 20% sebesar 12.66 mm. Apabila dibandingkan dengan tetrasiklin (21 mm) hasil yang diperoleh jauh lebih kecil. Hal ini menandakan aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat biji labu kuning lemah dalam menghambat bakteri *S. aureus* FNCC 0047. Lemahnya aktivitas antibakteri pada ekstrak etil asetat biji *C. moschata* karena tidak semua senyawa fitokimia yang telah diidentifikasi dapat memberikan aktivitas antibakteri.

### 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<sub>50</sub> sebesar 453,35 µg/ml.
3. Ekstrak etil asetat biji *C. moschata* memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* FNCC 0047 dengan nilai DZI sebesar 12.66 mm.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dirjen DIKTI atas pendanaan Hibah Bersaing.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abdul, Rohman, 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- 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.
- 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.
- Matheos, H., Runtuwene M, R, J., Sudewi, S., 2014, Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Daun Kayu Bulan (*Pisonia alba*), *Pharmacon 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>.
- 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.
- Patel, S., 2013, Pumpkin (*Cucurbita sp.*) seeds as nutraceutic:. *Mediterr J Nutr Metab* 0131-5.
- 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.
- 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.

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.

