

## Penentuan Profil Metabolit Sekunder, Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri dari Ekstrak Biji Kurma (*Phoenix dactylifera L.*) Bebas Lipid

Afrizal\*, Aditya Perdana, dan Suryati

Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, Sumatra Barat, Indonesia

Corresponding Author:  
Afrizal  
afrizalitam@sci.unand.ac.id

Received: June 2021  
Accepted: February 2022  
Published: March 2022

©Afrizal et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

### Abstract

Dates are one of the plants that grow in the Middle East, one of them is the Golden Valley variety. Dates are usually consumed directly and can also be processed into date juice drinks. Dates refined process would produce waste in the form of date seeds are discarded and not processed into other products. This study used lipid-free Golden valley date seed extract to determine the secondary metabolite profile by using LC-MS/MS method, determining phenolic content using the Folin-Ciocalteu method, determining total flavonoids using the aluminium chloride method, determining antioxidant activity by DPPH method, and determination of antibacterial activity by the disc diffusion method. The results showed that the compounds identified from the lipid-free date seed extract were catechin-(4 $\alpha$ -8)-catechin, bis((1S,2R,5S)-5-isopropyl-2,3-dimethylcyclohexyl)-2,6-dimethylpyridine-3,5-dicarboxylate, 3,5,6-trihydroxy-4',7-dimethoxyflavone, ethyl-2-amino-3-oxobutanoate, and bis(2-isopropyl-5-methylcyclohexyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydro-3,5-pyridine dicarboxylate. Lipid-free date seed extract contains total phenolic and flavonoid totals of 4364.704 mgGAE/100 gs of dried extract and 17200 mgQE/100 gs of dried extract. Its antioxidant activity is very strong in counteracting DPPH free radicals indicated by IC<sub>50</sub> value of 10.1951 mg/L. Antibacterial activity shows strong inhibition of *Staphylococcus aureus* bacteria compared to inhibition of *Escherichia coli* bacteria that are categorized as weak.

**Keywords:** *date palm seeds; secondary metabolite profile; antioxidants antibacterial*

### Pendahuluan

Senyawa metabolit sekunder bermanfaat bagi suatu tanaman sebagai pertahanan diri dari gangguan hama dan memberikan suatu karakteristik yang khas pada tanaman. Pada umumnya senyawa metabolit sekunder dapat ditemukan pada tanaman yaitu alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, tanin, dan

saponin. Senyawa-senyawa tersebut memiliki bioaktivitas yang dapat digunakan dalam bidang farmakologi<sup>[1]</sup>. Senyawa fenolik dan flavonoid yang berhasil diisolasi dari berbagai tumbuhan diketahui mempunyai aktivitas biologi yang menarik seperti memiliki sifat toksik terhadap sel kanker, dapat menghambat pada proses pelepasan histamin, anti jamur dan antibakteri, sedangkan senyawa terpenoid

dapat dijadikan sebagai antibakteri. Metabolit sekunder dihasilkan melalui proses reaksi sekunder dari metabolit primer seperti karbohidrat, protein dan lemak. Metabolit sekunder dapat ditemukan di berbagai bagian tanaman seperti daun, kulit batang, kulit buah, buah maupun biji<sup>[2]</sup>. Salah satu contohnya pada biji kurma.

Biji kurma termasuk salah satu biji yang tergolong dalam satu lembaga (monokotil). Biji kurma tidak memiliki aroma atau tidak berbau dan memiliki rasa hambar yang sedikit pahit. Umumnya biji kurma memiliki warna coklat terang dan coklat gelap<sup>[3]</sup>. Pada biji kurma mengandung senyawa asam *p*-hidroksibenzoat, asam protokatekuat, asam *p*-kumarat, asam kafeoilsikimat, diosmin dan asam syringat heksosida<sup>[4]</sup>. Biji kurma juga mengandung minyak yang mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu senyawa fenolik dan steroid. Senyawa fenolik yang terkandung dalam minyak biji kurma yaitu senyawa hidroksitirosol, asam galat, asam protokatekuat, tirosol, asam kafeat, asam *p*-kumarat, oleuropein, 3,4-dihidroksifenilasetat,  $\alpha$ -tokoferol,  $\delta$ -tokoferol, dan  $\gamma$ -tokoferol serta senyawa steroid yang terkandung dalam minyak biji kurma yaitu senyawa kolesterol, campesterol,  $\beta$ -sitosterol, 5-avenasterol, stigmasterol dan 5,2,4-stigmastadienol<sup>[5]</sup>. Selain itu biji kurma mengandung asam lemak yaitu asam kaproat, asam kaprilat, asam laurat, asam miristat, asam palmitat, asam palmitoleat, asam stearat, asam oleat, asam linoleat, asam linolenat, asam arakidat, asam gadoleat, dan asam bahenat<sup>[6]</sup>. Lipid pada biji kurma sekitar 9,9-13,5% yang apabila dikonsumsi secara berlebihan maka akan menyebabkan suatu penyakit yaitu arteri koroner, penyakit jantung dan obesitas<sup>[7]</sup>. Biji kurma memiliki beberapa bioaktivitas diantaranya sebagai antioksidan<sup>[8]</sup>, antibakteri<sup>[9]</sup>, anti-inflamasi<sup>[10]</sup>, anti kanker<sup>[11]</sup> dan anti-atherogenik<sup>[12]</sup>.

Antioksidan merupakan senyawa yang menghambat terjadinya reaksi oksidasi akibat radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan pada asam lemak tak jenuh, membran dinding sel, basa DNA, pembuluh

darah dan jaringan lipid sehingga dapat menimbulkan penyakit<sup>[13]</sup>. Suatu tanaman dapat memiliki aktivitas antioksidan jika mengandung senyawa yang dapat menangkal radikal bebas seperti fenolik dan flavonoid<sup>[14]</sup>. Suatu senyawa dapat dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat apabila memiliki nilai  $IC_{50} < 50$  ppm, kuat apabila nilai  $IC_{50}$  bernilai 50-100 ppm, sedang bila nilai  $IC_{50}$  bernilai 100-150 ppm, dan lemah bila nilai  $IC_{50}$  bernilai 151-200 ppm<sup>[15]</sup>.

Radikal bebas terdiri dari suatu atom atau molekul yang memiliki 1 atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal dapat berasal dari atom hidrogen, molekul oksigen atau ion logam transisi. Senyawa radikal bebas sangat reaktif dan selalu mencari pasangan elektron agar kondisinya stabil. Radikal dapat terbentuk secara eksogen dan endogen. Radikal endogen terbentuk dari dalam tubuh melalui proses metabolisme. Sementara pada radikal eksogen terbentuk dari bahan pencemar yang masuk ke dalam tubuh melalui pernafasan, pencernaan dan kulit. Banyaknya radikal bebas dapat mengalami peningkatan yang diakibatkan oleh faktor stres, radiasi, asap rokok dan polusi lingkungan yang menyebabkan sistem pertahanan tubuh tidak memadai sehingga tubuh membutuhkan antioksidan tambahan dari luar yang dapat melindungi dari serangan radikal bebas<sup>[16]</sup>.

Selain memiliki aktivitas antioksidan, senyawa flavonoid memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Aktivitas antibakteri terjadi oleh suatu senyawa yang dapat menghambat atau membasmi pertumbuhan bakteri terutama bakteri yang bersifat patogen. Senyawa antibakteri harus memiliki sifat toksisitas selektif yang berbahaya bagi parasit tetapi tidak berbahaya bagi inangnya. Daya suatu bakteri dapat diukur secara *in vitro* agar dapat ditentukan kemampuan aktivitas bakteri dari senyawa antibakteri tersebut. Penentuan kepekaan bakteri patogen terhadap senyawa antibakteri pada dasarnya dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu metode difusi dan metode dilusi.

Metoda difusi termasuk metode yang paling sering digunakan dalam menentukan aktivitas antibakteri yang biasanya dikenal dengan metode Kirby-Bauer. Dalam menentukan aktivitas antibakteri, suatu bakteri diinokulasikan kedalam media agar kemudian cakram yang mengandung senyawa antibakteri diletakkan dipermukaan media agar. Senyawa antibakteri akan terdifusi dan akan membentuk zona hambat yang terlihat jernih mengelilingi cakram yang mengandung senyawa antibakteri. Ukuran dari zona hambat dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu kepadatan media biakan, konsentrasi senyawa antibakteri pada cakram, kecepatan difusi dari senyawa antibakteri, sensitifitas bakteri dan interaksi senyawa antibakteri terhadap media<sup>[17]</sup>. Respon hambatan pertumbuhan bakteri dapat diklasifikasikan berdasarkan ukuran diameter zona bening yang dihasilkan diantaranya dapat dikatakan kuat jika diameter zona bening berukuran >20 mm, sedang jika diameter zona bening berukuran 16-20 mm, lemah jika diameter zona bening berukuran 10-15 mm dan kurang efektif jika diameter zona bening berukuran <10 mm<sup>[18]</sup>.

Adanya lipid yang terkandung dalam biji kurma dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan secara signifikan karena mudah mengalami kerusakan akibat oksidasi dari radikal bebas dan mengganggu dalam pengukuran absorbansi sampel, maka dilakukan pembebasan lipid dengan pelarut heksana kemudian dilakukan penentuan profil metabolit sekunder dengan metode LC-MS/MS, aktivitas antioksidan dan antibakteri dari ekstrak biji kurma bebas lipid.

## Metodologi Penelitian

### Bahan kimia

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu metanol, *n*-heksana, dan kloroform diperoleh dengan cara distilasi dari kualitas teknis. Besi(III)klorida heksahidrat, asam sulfat pekat p.a, asam klorida pekat p.a, serbuk

magnesium, ammonia, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, asam askorbat, natrium karbonat, anhidrida asetat p.a, natrium hidroksida, natrium nitrit dan Nutrient Agar diperoleh dari Merck KgaA (Damstadt, Germany). DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil, asam galat, reagen Folin-Ciocalteu, kuersetin diperoleh dari Sigma Chemical Company (St Louis MO, USA). Bahan kimia lainnya aluminium klorida heksahidrat dan barium klorida dihidrat dari Wako Pure Chemical Laboratories Ltd (Jepang). Mueller-Hinton Agar dari Himedia Laboratories Pvt. Ltd (India), amoxicillin trihidrat dari PT Bernofarm, Sidoarjo (Indonesia), natrium klorida dari Smart Lab (Indonesia), spiritus dan etanol 70% dari dwipraga chemical (Indonesia).

### Peralatan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu grinder, timbangan, wadah maserator, corong, rotary evaporator, neraca analitik, pipet tetes, gelas piala 500 mL dan 250 mL, spatula, pipet takar 5 mL, botol vial 100 mL, kertas saring, pipa kapiler, rak tabung reaksi, tabung reaksi, botol vial 10 mL, kaca arloji, gelas ukur 50 mL, labu ukur 10 mL, 50 mL, dan 100 mL, plat KLT, labu Erlenmeyer 250 mL dan 500 mL, spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific Genesys 20), inkubator, cakram kertas (5 mm), *vortex*, wadah spritus, *autoclave*, cawan petri ukuran 150 mm x 25 mm, *magnetic bar*, jarum ose, *laminar air flow*, plastik wrap, jangka sorong, *magnetic stirrer*, lumpang alu, aluminium foil dan satu sets instrumen LC-MS/MS (Xevo G2-XS QToF, Waters).

### Prosedur penelitian

#### *Persiapan sampel*

Biji kurma dipisahkan dari daging buah kurma sehingga didapatkan biji kurma seberat 500 g, kemudian dicuci dengan akuades dan diangin-anginkan hingga kering. Setelah kering biji kurma tersebut lalu dipecah menjadi beberapa bagian kecil menggunakan lumpang alu dan digrinder menjadi serbuk halus.

### **Ekstraksi biji kurma**

Serbuk halus biji kurma sebanyak 450 g direndam terlebih dahulu dengan pelarut *n*-heksana untuk menghilangkan lipid selama 24 jam kemudian disaring. Langkah tersebut diulangi sampai filtrat yang dihasilkan tidak lagi berwarna. Kemudian ampas basah serbuk biji kurma yang telah bebas lipid diangin-anginkan terlebih dahulu hingga kering kemudian direndam dengan pelarut metanol selama 24 jam dan disaring. Filtrat dari hasil maserasi yang menggunakan pelarut metanol dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C kemudian diuapkan pelarut sisa dalam ekstrak pekat dengan cara dianginkan lalu hasilnya ditimbang.

### **Pengujian fitokimia ekstrak biji kurma**

Pengujian fitokimia yang dilakukan mengacu pada prosedur kerja yang dilakukan oleh Itam, dkk (2018)<sup>[19]</sup>. Serbuk biji kurma yang sebelum bebas lipid ditimbang seberat 2 g lalu direndam dengan metanol distilat sebanyak 20 mL selama 1 jam sedangkan ekstrak metanol biji kurma bebas lipid seberat 1 g dilarutkan ke dalam metanol sebanyak 10 mL dan dimasukkan ke dalam botol vial ukuran 100 mL. Ekstrak biji kurma sebelum bebas lipid disaring kemudian filtratnya dipindahkan ke dalam botol vial ukuran 100 mL. Pada masing-masing filtrat dipipet sebanyak 5 mL kemudian ditambahkan dengan 5 mL kloroform dan 5 mL air. Campuran tersebut dikocok beberapa menit. Setelah itu akan terbentuk 2 lapisan. Lapisan air akan berada di lapisan atas dan lapisan kloroform akan berada di lapisan bawah. Lapisan air digunakan untuk mengidentifikasi flavonoid, saponin dan fenolik. Sedangkan lapisan kloroform digunakan untuk mengidentifikasi steroid dan triterpenoid.

### **Pemeriksaan fenolik**

Lapisan air sebanyak 1 mL dipipet ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan larutan FeCl<sub>3</sub> sebanyak 3 tetes dan diamati perubahan warna yang terbentuk. Apabila terbentuk warna biru atau hijau kehitaman maka menandakan adanya senyawa fenolik.

### **Pemeriksaan flavonoid**

Lapisan air sebanyak 1 mL dipipet ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan beberapa serbuk Mg dan beberapa tetes HCl pekat dan diamati perubahan warna yang terbentuk. Apabila terbentuk warna jingga kemerahan maka menandakan adanya senyawa flavonoid.

### **Pemeriksaan saponin**

Lapisan air sebanyak 2 mL dipipet ke dalam tabung reaksi dan dikocok selama beberapa menit. Apabila terbentuk busa yang tidak hilang kemudian ditambahkan beberapa tetes HCl dan diamati pembentukan busa yang terjadi selama 5 menit. Apabila busa yang terbentuk tidak hilang setelah ditambahkan HCl maka menandakan adanya senyawa saponin.

### **Pemeriksaan steroid dan triterpenoid**

Lapisan kloroform dipipet kemudian diteteskan pada permukaan lubang plat tetes. Pada masing-masing lubang plat tetes ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard. Apabila terbentuknya cincin berwarna hijau sampai biru menandakan adanya senyawa steroid dan apabila terbentuk warna merah kecoklatan menandakan adanya senyawa triterpenoid.

### **Pemeriksaan alkaloid**

Filtrat dari ekstrak metanol biji kurma yang belum dibebaskan lipidnya dan ekstrak metanol biji kurma bebas lipid masing-masing dipipet sebanyak 2 mL kemudian ditambahkan larutan kloroform-amonia 0,05 M sebanyak 5 mL dan didiamkan selama 10 menit di dalam tabung reaksi. Selanjutnya campuran ditambahkan dengan asam sulfat 2 N sebanyak 2 mL kemudian dilakukan pengocokan dan dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan. Pada lapisan asam (lapisan atas) dipipet ke dalam 2 tabung reaksi yang berbeda yang masing-masing tabung reaksi tersebut ditambahkan dengan pereaksi Mayer dan tabung reaksi yang lain ditambahkan dengan pereaksi Dragendorff<sup>[20]</sup>.

Apabila terbentuk endapan berwarna putih saat ditambahkan pereaksi Mayer dan apabila terbentuk endapan berwarna kuning keorenan saat ditambahkan pereaksi Dragendorff maka menandakan adanya senyawa alkaloid.

#### *Pemeriksaan kumarin*

Filtrat dari ekstrak metanol biji kurma yang belum dibebaskan lipidnya dan ekstrak metanol biji kurma bebas lipid masing-masing ditotolkan pada batas bawah plat Kromatografi Lapisan Tipis (KLT) yang sudah diaktivasi sebelumnya dengan cara dipanaskan pada suhu 100°C. Plat KLT dielusi dengan menggunakan etil asetat kemudian noda yang dihasilkan diamati dibawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. Apabila terlihat warna biru berfluorisensi kemudian disemprotkan dengan larutan NaOH 1% mengalami peningkatan intensitas fluorisensi maka menandakan adanya senyawa kumarin.

#### *Penentuan profil metabolit sekunder*

Ekstrak biji kurma bebas lipid seberat 10 mg dilarutkan dengan metanol sebanyak 10 mL dalam labu ukur sehingga diperoleh konsentrasi sebesar 1000 mg/L. Selanjutnya diinjeksikan sebanyak 1 µL dengan microsyringe ke dalam instrumen LC-MS/MS (Xevo QToF XS, Waters, USA). Kolom yang digunakan berupa oktadesil silika dengan suhu kolom 40°C. Laju alir sebesar 0,2 mL/menit dengan metode elusi gradien. Sumber pengion berupa *electrospray ionization positive* dengan suhu 120°C. Analiser yang digunakan yaitu Quadrupole Time-of-Flight (QToF). Senyawa hasil identifikasi dibandingkan dengan *database* dari aplikasi UNIFI *Scientific database*.

#### *Penentuan kandungan fenolik total*

Penentuan kandungan fenolik total dilakukan terhadap ekstrak biji kurma bebas lipid menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan mengacu pada prosedur kerja yang dilakukan oleh Bouhlali, dkk (2017)<sup>[8]</sup> dan Itam, dkk (2018)<sup>[19]</sup> dengan beberapa modifikasi. Ekstrak biji kurma bebas lipid seberat 2,5 mg dilarutkan dengan metanol di dalam labu ukur 50 mL sehingga didapatkan konsentrasi sampel

sebesar 50 µg/mL. Larutan uji dipipet sebanyak 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Reagen Folin-Ciocalteu sebanyak 1 mL ditambahkan ke dalam labu ukur kemudian dikocok dan didiamkan selama 10 menit. Setelah 10 menit, larutan natrium karbonat 7% dipipet sebanyak 2 mL dan ditambahkan akuades sampai tanda batas kemudian dilakukan inkubasi selama 1 jam pada suhu ruang. Setelah 1 jam, absorbansi dari campuran diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 760 nm. Larutan asam galat digunakan sebagai larutan standar. Kandungan fenolik total ditentukan dengan menggunakan persamaan regresi linear. Kandungan fenolik total dinyatakan dalam mg *Gallic Acid Equivalent* (GAE) per gram ekstrak kering.

#### *Penentuan kandungan flavonoid total*

Penentuan kandungan flavonoid total dilakukan terhadap ekstrak biji kurma bebas lipid menggunakan metode AlCl<sub>3</sub> dengan mengacu pada prosedur kerja yang dilakukan oleh Ghafar, dkk (2017)<sup>[21]</sup>. Ekstrak biji kurma bebas lipid seberat 2,5 mg dilarutkan dengan metanol di dalam labu ukur 50 mL sehingga didapatkan konsentrasi sampel sebesar 50 µg/mL. Larutan uji dipipet sebanyak 1 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan dengan akuades sebanyak 4 mL. Selanjutnya larutan NaNO<sub>2</sub> 5% ditambahkan sebanyak 0,3 mL ke dalam labu ukur dan diinkubasi selama 5 menit. Setelah 5 menit, campuran ditambahkan dengan larutan AlCl<sub>3</sub> 10% sebanyak 0,3 mL lalu diinkubasi kembali selama 5 menit. Setelah diinkubasi, campuran ditambahkan dengan larutan NaOH 1M sebanyak 2 mL kemudian campuran tersebut ditambahkan dengan akuades sampai tanda batas. Absorbansi campuran diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 510 nm. Larutan kuersetin digunakan sebagai larutan standar. Kandungan flavonoid total ditentukan dengan menggunakan persamaan regresi linear. Kandungan flavonoid total dinyatakan dalam mg *Quercetin Equivalent* (QE) per gram ekstrak kering.

### **Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak biji kurma bebas lipid**

Penentuan aktivitas antioksidan pada ekstrak biji kurma bebas lipid menggunakan senyawa radikal bebas DPPH dengan mengacu pada prosedur kerja yang dilakukan oleh Itam.,dkk (2018)<sup>[19]</sup>. Kontrol positif yang digunakan yaitu asam askorbat. Konsentrasi larutan uji dibuat bervariasi berturut-turut sebesar 1 mg/L, 3 mg/L, 5 mg/L, 7 mg/L, 9 mg/L, 11 mg/L, 13 mg/L, dan 15 mg/L serta konsentrasi larutan kontrol positif dibuat bervariasi berturut-turut sebesar 2 mg/L, 4 mg/L, 6 mg/L, 8 mg/L, 10 mg/L, 12 mg/L, 14 mg/L, 16 mg/L, dan 18 mg/L yang masing-masingnya dipipet sebanyak 2 mL ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan larutan DPPH 0.1 mM sebanyak 3 mL. Selanjutnya diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dan dihindarkan dari cahaya. Absorban masing-masing konsentrasi larutan uji dan kontrol positif diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Larutan blanko terdiri dari campuran antara 2 mL metanol dengan 3 mL DPPH 0.1mM. Nilai persen inhibisi dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \left| \frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{blanko}}} \right| \times 100\%$$

Nilai persen inhibisi yang telah didapatkan kemudian dibuatkan kurva kalibrasi sehingga didapatkan persamaan regresi linear dengan memplotkan nilai konsentrasi ekstrak pada sumbu X dan nilai persentase inhibisi pada sumbu Y kemudian nilai IC<sub>50</sub> dapat ditentukan dari masing-masing larutan uji dan kontrol positif.

### **Penentuan aktivitas antibakteri ekstrak biji kurma bebas lipid**

Penentuan aktivitas antibakteri ekstrak biji kurma bebas lipid menggunakan metode difusi cakram dengan mengacu prosedur kerja yang dilakukan oleh Ernawati, dkk (2015)<sup>[22]</sup> dan Ghosh, dkk (2008)<sup>[23]</sup>. Kultur bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dibuat suspensinya dan ditepatkan dengan standar Mc

Farland 0,5 lalu masing-masing suspensi bakteri dipipet sebanyak 500 µL dan diletakkan diatas permukaan media MHA yang telah memadat. Suspensi bakteri diratakan keseluruh permukaan media dengan menggunakan *cotton bud* kemudian diletakkan cakram kertas dengan diameter 5 mm yang sudah dibasahi dengan larutan sampel sebanyak 150 µL yang masing-masingnya memiliki konsentrasi sebesar 15%, 7,5%, 3,75%, 1,875% dan 0,9375%. Kontrol positif yang digunakan yaitu larutan amoxicillin 0,25% dan kontrol negatif yaitu metanol. Masing-masing cawan petri diinkubasi selama 24 jam kemudian diukur zona bening yang terbentuk disekitar cakram kertas dengan menggunakan jangka sorong kemudian respon hambatan pertumbuhan bakteri ditentukan dari zona bening yang terbentuk.

## **Hasil dan Diskusi**

### **Pengujian fitokimia ekstrak biji kurma**

Hasil yang diperoleh dari uji fitokimia ekstrak biji kurma sebelum dan setelah bebas lipid dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak biji kurma varietas Golden valley mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya senyawa fenolik, flavonoid dan alkaloid namun tidak mengandung senyawa steroid dan triterpenoid.

Pada beberapa varietas biji kurma seperti varietas Khaokara, Kabkab, Rabbi, Mazafati, Deglet Nour, Ruchdi, Ftimi, Kentichi, Khalas dan Sukkari diketahui memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan data pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa biji kurma dengan varietas yang berbeda juga mengandung senyawa fenolik, flavonoid, dan alkaloid namun senyawa steroid, saponin dan triterpenoid tidak terkandung pada beberapa varietas biji kurma. Hal ini dapat dikaitkan dengan kondisi dari buah kurma saat dipanen dari pohonnya. Faktor lain juga dapat mempengaruhi ada atau tidaknya kandungan senyawa metabolit sekunder seperti letak geografis, jenis tanah sebagai media tanam, dan iklim pada daerah penanaman tanaman kurma<sup>[26]</sup>.

**Tabel 1.** Hasil uji fitokimia pada ekstrak biji kurma

Senyawa Metabolit Sekunder	Pereaksi	Ekstrak Biji Kurma	
		Sebelum Bebas Lipid	Setelah Bebas Lipid
Fenolik	FeCl <sub>3</sub>	+	+
Flavonoid	HCl pekat + Serbuk Mg	+	+
Saponin	HCl pekat	-	-
Alkaloid	Mayer	-	-
	Dragendorff	+	+
Steroid	Liebermann-Burchard	-	-
Triterpenoid	Liebermann-Burchard	-	-
Kumarin	NaOH 1%	-	-

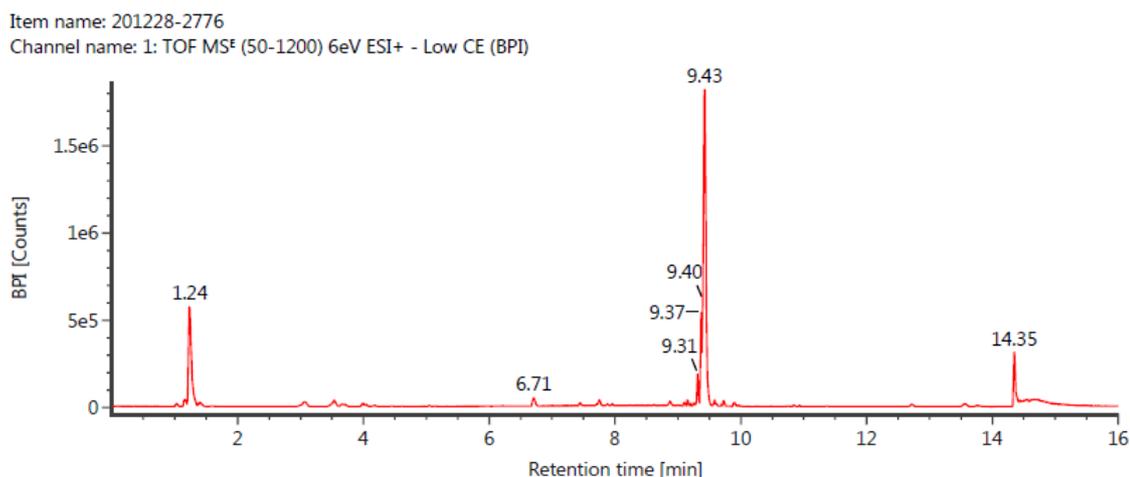
**Tabel 2.** Kandungan senyawa metabolit sekunder biji kurma

Varietas	Alkaloid	Flavonoid	Fenolik	Saponin	Steroid	Triterpenoid
Khaokhara <sup>[24]</sup>	+	+	+	+	-	+
Sukkari <sup>[9]</sup>	+	+	+	+	-	-
Khalas <sup>[9]</sup>	+	+	+	+	-	-
Kabkab <sup>[25]</sup>	+	+	+	+	-	-
Rabbi <sup>[25]</sup>	+	+	+	+	-	-
Mazafati <sup>[25]</sup>	+	+	+	+	-	-
Deglet Nour <sup>[26]</sup>	+	+	+	-	+	+
Ruchdi <sup>[26]</sup>	+	+	+	-	+	+
Kentichi <sup>[26]</sup>	+	+	+	-	+	+

### Penentuan profil metabolit sekunder

Hasil penentuan profil metabolit sekunder dari ekstrak biji kurma bebas lipid dilakukan dengan menggunakan instrumen *Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectroscopy* (LC-MS/MS) diperoleh kromatogram yang dapat dilihat pada Gambar 1. Dari kromatogram tersebut dapat diketahui komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak biji kurma bebas lipid menggunakan *database* dari UNIFI *scientific information system*. Komponen senyawa yang berdasarkan kromatog dari instrumen LC-MS/MS dapat dilihat pada Tabel 3. Berdasarkan data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa ekstrak biji kurma varietas Golden Valley bebas lipid mengandung senyawa flavonoid dan alkaloid. Senyawa golongan

alkaloid yang terkandung sebesar 75,19% sedangkan golongan flavonoid yang terkandung sebesar 2,55% sehingga dapat dikatakan bahwa senyawa golongan alkaloid paling dominan terdapat dalam ekstrak biji kurma varietas Golden Valley bebas lipid. Jika dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Radfar, dkk (2019) dengan menggunakan ekstrak biji kurma varietas Kabkab, Zahedi, Mazafati dan Rabbi berhasil diketahui profil metabolit sekundernya menggunakan metode HPLC dengan menggunakan larutan standar eksternal maka didapatkan sebanyak 7 komponen senyawa fenolik yaitu asam kafeat, asam vanilat, asam klorogenat, asam galat, asam sinamat, 3,5-dihidroksibenzoat dan 2,5-dihidroksi benzoat.



**Gambar 1.** Kromatogram dari ekstrak biji kurma bebas lipid varietas golden valley.

**Tabel 3.** Komponen senyawa dari ekstrak biji kurma bebas lipid

Nama Senyawa	Rumus Molekul	Waktu Retensi (menit)	% area
Ethyl 2-amino-3-oxobutanoate	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub>	1,25	18,17
Catechin-(4 $\alpha$ →8)-catechin	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>	3,07	1,39
3,5,6-trihydroxy-4',7-dimethoxyflavone	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	6,72	1,16
Bis(2-isopropyl-5-methylcyclohexyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydro-3,5-pyridine dicarboxylate	C <sub>29</sub> H <sub>47</sub> NO <sub>4</sub>	9,37	5,80
Bis((1S,2R,5S)-5-isopropyl-2,3-dimethylcyclohexyl)-2,6-dimethylpyridine-3,5-di carboxylate	C <sub>31</sub> H <sub>49</sub> NO <sub>4</sub>	9,43	51,22

Komponen senyawa yang terkandung dalam biji kurma dapat berbeda-beda karena dipengaruhi oleh lokasi tanam dan kondisi tanah dari tanaman biji kurma tersebut.

#### Penentuan kandungan fenolik total

Pada penentuan kandungan fenolik total digunakan metode Folin-Ciocalteu yang prinsipnya reaksi oksidasi-reduksi antara asam fosfotungstat dan asam fosfomolibdat dengan senyawa fenolik sehingga terbentuk senyawa molybdenum-tungsten yang berwarna biru. Kandungan fenolik total dapat ditentukan dari persamaan regresi linear yang diperoleh dari

kurva kalibrasi standar asam galat yang dapat dilihat pada Gambar 2a. Kenaikan konsentrasi senyawa fenolik dari asam galat akan mempengaruhi kenaikan nilai absorbansi yang diperoleh karena semakin banyak ion fenolat yang terbentuk berdasarkan warna yang dihasilkan menjadi lebih pekat seiring dengan naiknya konsentrasi. Senyawa asam galat digunakan sebagai standar karena tergolong ke dalam turunan dari senyawa hidroksi benzoat yang termasuk dari salah satu asam fenolik. Hasil dari penentuan kandungan fenolik total pada ekstrak biji kurma bebas lipid didapatkan sebesar 4.364,704 mgGAE/100 g ekstrak kering.

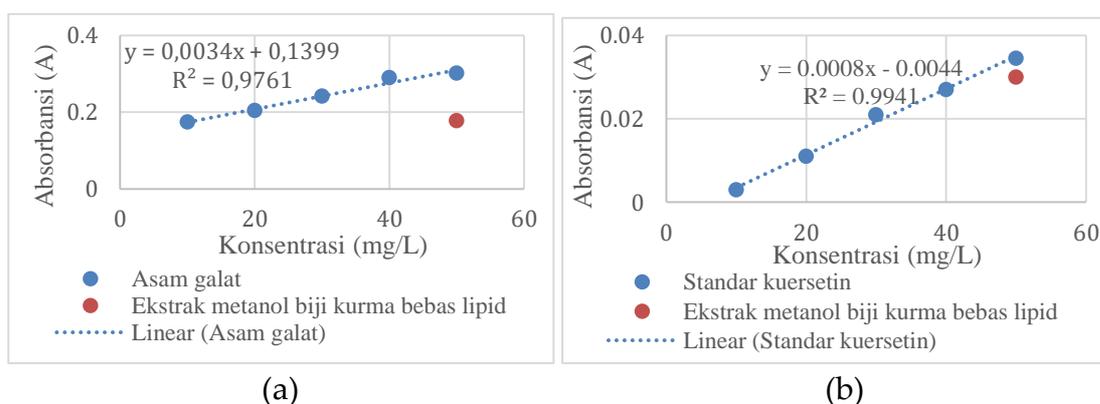
### Penentuan kandungan flavonoid total

Pada penentuan kandungan flavonoid total dengan metode  $AlCl_3$  yang didasarkan pada reaksi kompleksasi antara ion aluminium dengan senyawa flavonoid dalam keadaan basa sehingga terbentuk khelat berwarna merah<sup>[27]</sup>. Kandungan flavonoid total dapat ditentukan dari persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva kalibrasi standar kuersetin yang dapat dilihat pada Gambar 2b. Hasil dari penentuan kandungan flavonoid total pada ekstrak biji kurma bebas lipid didapatkan sebesar 17.200 mgQE/100 g ekstrak kering.

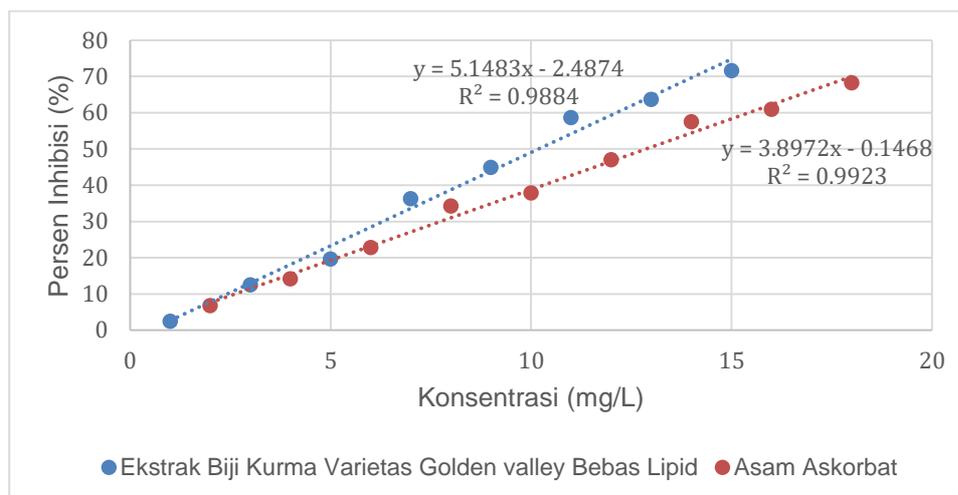
### Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak biji kurma bebas lipid

Penentuan aktivitas antioksidan pada ekstrak biji kurma bebas lipid dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Pada pengujian ini mengalami perubahan warna dari DPPH yang awalnya berwarna ungu menjadi kuning dan nilai absorbansi akan semakin menurun saat dilakukan pengukuran dengan menggunakan panjang gelombang 517 nm. Asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif untuk membandingkan kekuatan dalam menangkal senyawa radikal DPPH dengan ekstrak biji kurma bebas lipid berdasarkan nilai  $IC_{50}$ . Hasil dari pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak biji kurma bebas lipid dan asam askorbat dapat dilihat kurva regresi pada

Gambar 3. Berdasarkan kurva pada Gambar 3 dapat diketahui bahwa konsentrasi dari ekstrak biji kurma bebas lipid maupun asam askorbat memiliki hubungan yang berbanding lurus dengan persen inhibisi terhadap radikal DPPH, semakin besar konsentrasi maka persen inhibisi yang diperoleh semakin meningkat. Dari hubungan antara konsentrasi dengan persen inhibisi dapat ditentukan persamaan regresi linear dari ekstrak metanol biji kurma maupun asam askorbat. Berdasarkan persamaan regresi yang didapatkan dari ekstrak biji kurma bebas lipid dan asam askorbat maka diperoleh nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak biji kurma bebas lipid sebesar 10,1951 mg/L dan nilai  $IC_{50}$  dari asam askorbat sebesar 12,8673 mg/L. Hal ini dapat dikatakan bahwa ekstrak biji kurma bebas lipid dan asam askorbat memiliki kemampuan dalam menangkal radikal DPPH yang sangat kuat karena memiliki nilai  $IC_{50}$  yang kurang dari 50 mg/L<sup>[15]</sup>. Hasil dari penentuan aktivitas antioksidan dapat dikaitkan dengan kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak biji kurma varietas Golden valley bebas lipid yaitu senyawa fenolik dan flavonoid kemudian dihubungkan dengan aktivitas antioksidan dan kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak biji kurma berbagai varietas yang dapat dilihat pada Tabel 4.



**Gambar 2.** Kurva kalibrasi (a) standar asam galat, (b) standar kuersetin.



**Gambar 3.** Kurva regresi aktivitas antioksidan dari ekstrak biji kurma varietas golden valley bebas lipid dan asam askorbat.

**Tabel 4.** Aktivitas antioksidan, kandungan fenolik total dan flavonoid total dari ekstrak biji kurma berbagai varietas

Varietas biji kurma	Aktivitas antioksidan (IC <sub>50</sub> ) mg/L	Kandungan fenolik total (mg GAE/100 g EK)	Kandungan flavonoid total (mg QE/100 g EK)
Khaokhara <sup>[24]</sup>	10.21	3.833,20	-
Kabkab <sup>[25]</sup>	16.55	3.377	-
Zahedi <sup>[25]</sup>	20.8	3.310	-
Rabbi <sup>[25]</sup>	20.4	2.423	-
Mazafati <sup>[25]</sup>	21.58	1.483	-

Aktivitas antioksidan dari ekstrak biji kurma berbagai varietas memiliki hubungan yang berbanding lurus dengan kandungan fenolik total dan berbanding terbalik dengan nilai IC<sub>50</sub> yaitu semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> maka semakin besar kandungan fenolik total sehingga aktivitas antioksidan semakin kuat. Aktivitas antioksidan dari ekstrak biji kurma varietas Golden Valley bebas lipid dikategorikan sangat kuat dalam menangkal radikal DPPH dibandingkan dengan ekstrak biji kurma varietas lain yang dapat diketahui dari nilai IC<sub>50</sub> yang sangat kecil daripada nilai IC<sub>50</sub> dari ekstrak biji kurma varietas lain. Hal ini dapat dipengaruhi oleh adanya senyawa fenolik dan

flavonoid yang memiliki banyak gugus hidroksil seperti senyawa turunan asam sinamat, turunan kumarin dan flavonol sehingga berperan sebagai penangkal radikal bebas yang sangat kuat<sup>[28]</sup>. Urutan kekuatan dalam menangkal radikal bebas DPPH berdasarkan nilai IC<sub>50</sub> yang paling kecil yaitu varietas Golden valley > Khaokhara > Kabkab > Rabbi > Zahedi > Mazafati.

#### Penentuan aktivitas antibakteri ekstrak biji kurma bebas lipid

Pada penentuan aktivitas antibakteri digunakan amoxicillin sebagai kontrol positif.

**Tabel 5.** Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak biji kurma bebas lipid

Sampel Uji	Konsentrasi (%)	Rata-rata Diameter Zona Bening (mm)	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Ekstrak metanol biji kurma bebas lipid	0,9375	3,97	1,43
	1,875	6,82	1,83
	3,75	11,50	2,73
	7,5	13,54	3,30
	15	14,19	4,76
Kontrol negatif (-) (Pelarut metanol)	0	0	0
Kontrol positif (+) (Larutan amoxicillin)	0,25	20,227	17,166

Hal ini karena amoxicillin termasuk antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab dari infeksi saluran kemih, infeksi paru-paru dan infeksi saluran pencernaan. Larutan standar Mc Farland 0,5 digunakan sebagai pembanding kekeruhan bakteri yang setara dengan  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak biji kurma bebas lipid dapat dilihat pada Tabel 5.

Berdasarkan data pada Tabel 5 dapat diketahui bahwa ekstrak biji kurma varietas Golden Valley bebas lipid memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang dapat dilihat dari zona bening yang terbentuk. Zona bening yang terbentuk dari kedua jenis bakteri tersebut cenderung meningkat seiring dengan kenaikan konsentrasi larutan uji. Selain itu zona bening yang terbentuk pada bakteri *Staphylococcus aureus* cenderung lebih besar dibandingkan pada bakteri *Escherichia coli*. Hal ini disebabkan oleh perbedaan struktur dinding sel dari bakteri sehingga mempengaruhi kekuatan antibakteri dari larutan uji. Menurut Greenwood (1995) mengatakan bahwa jika diameter zona bening yang terbentuk kurang dari 5 mm termasuk kategori lemah, diameter zona bening sekitar 5-10 mm termasuk kategori sedang, diameter zona bening sekitar 10-20 mm termasuk kategori kuat dan diameter zona bening lebih dari 20 mm termasuk kategori sangat kuat<sup>[18]</sup>.

Hasil yang didapatkan pada ekstrak biji kurma bebas lipid dikategorikan lemah pada konsentrasi 0,9375%, sedang pada konsentrasi 1,875% dan kuat pada konsentrasi 3,75%; 7,5%; dan 15% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* namun pada penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* termasuk kategori lemah pada konsentrasi 0,9375%-15%. Hal ini dapat dikaitkan dengan kondisi struktur dinding sel bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* yang mana zat penyusun dinding sel dari bakteri *Staphylococcus aureus* terdiri dari lapisan peptidoglikan yang tebal dan kaku, serta mengandung asam teikuronat dan asam teikoat yang dapat larut dalam air sehingga bersifat polar, sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* hanya memiliki 1 sampai 2 lapisan peptidoglikan tetapi memiliki lapisan lipoprotein dan selaput membran luar yang mengandung porin. Pada ekstrak biji kurma bebas lipid telah diketahui adanya senyawa fenolik dan flavonoid yang memiliki sifat polar sehingga dapat masuk ke dalam lapisan peptidoglikan yang bersifat polar lebih cepat dibandingkan dengan lapisan lipoprotein yang bersifat non polar maka dari itu penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* cenderung lebih besar dibandingkan dengan penghambatan pada bakteri *Escherichia coli*<sup>[29]</sup>.

## Kesimpulan

Pada biji kurma varietas Golden Valley bebas lipid terkandung senyawa metabolit sekunder yang tergolong ke dalam senyawa flavonoid dan alkaloid dan berhasil diidentifikasi menggunakan instrumen LC-MS/MS yaitu bis((1S,2R,5S)-5-isopropil-2,3-dimetilsikloheksil)-2,6-dimetilpiridin-3,5-dikarboksilat, catechin-(4 $\alpha$ →8)-catechin, bis(2-isopropil-5-metilsikloheksil)-2,6-dimetil-1,4-dihidro-3,5-piridindikarboksilat, 3,5,6-trihidroksi-4',7-dimetoksiflavon dan etil-2-amino-3-okso-butanoat. Pada uji fitokimia tidak terdapat perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak biji kurma sebelum dan sesudah bebas lipid yang diketahui mengandung senyawa fenolik, flavonoid dan alkaloid. Kandungan fenolik total dari ekstrak biji kurma bebas lipid sebesar 4364,704 mgGAE/100 g ekstrak kering dan kandungan flavonoid totalnya sebesar 17200 mgQE/100 g ekstrak kering. Aktivitas antioksidan dari ekstrak biji kurma bebas lipid tergolong sangat kuat dalam menangkal radikal DPPH yang dilihat dari nilai IC<sub>50</sub> sebesar 10,1951 mg/L dan Aktivitas antibakteri dari ekstrak biji kurma bebas lipid mampu dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

## Daftar Pustaka

1. J.B Harbone., *Metode fitokimia: penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. ITB Press, (1987).
2. Triana, H. & Pramono, S., Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid antioksidan dari daun *Plantago major* L. Universitas Gadjah Mada, (2000).
3. Hamada, J. S., Hashim, I. B. & Sharif, F. A., Preliminary analysis and potential uses of date pits in foods. *Food Chem.*, **76(2)**: 135–137 (2002).
4. Hilary, S., Tomás-Barberán, F. A., Martínez-Blázquez, J. A., Kizhakkayil, J., Souka, U., Al-Hammadi, S., Habib, H., *et al.*, Polyphenol characterisation of Phoenix dactylifera L. (date) seeds using HPLC-mass spectrometry and its bioaccessibility using simulated in-vitro digestion/Caco-2 culture model. *Food Chem.*, **311(11)**: 1–9 (2020).
5. Besbes, S., Blecker, C., Deroanne, C., Bahloul, N., Lognay, G., Drira, N. E. & Attia, H., Date seed oil: phenolic, tocopherol and sterol profiles. *J. Food Lipids*, **11(4)**: 251–265 (2004).
6. Juhaimi, F. Al., Ghafoor, K. & Özcan, M. M., Physical and chemical properties, antioxidant activity, total phenol and mineral profile of seeds of seven different date fruit (*Phoenix dactylifera* L.) varieties. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, **63(1)**: 84–89 (2012).
7. Tuminah, S., Efek asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh 'trans' terhadap kesehatan. *Media Penelit. dan Pengemb. Kesehat.*, **19(2)**: 13–20 (2009).
8. Bouhlali, E. dine T., Alem, C., Ennassir, J., Benlyas, M., Mbark, A. N. & Zegzouti, Y. F., Phytochemical compositions and antioxidant capacity of three date (*Phoenix dactylifera* L.) seeds varieties grown in the South East Morocco. *J. Saudi Soc. Agric. Sci.*, **16(4)**: 350–357 (2017).
9. Abuelgassim, A. O., Eltayeb, M. A. & Ataya, F. S., Palm date (*Phoenix dactylifera*) seeds: A rich source of antioxidant and antibacterial activities. *Czech J. Food Sci.*, **38(3)**: 171–178 (2020).
10. Saryono, S., Sumeru, A., Proverawati, A. & Efendi, F., Decreasing carbon tetrachloride toxicity using date-seed (*Phoenix dactylifera* L.) steeping in rats. *Toxicol. Environ. Health Sci.*, **10(2)**: 139–145 (2018).
11. Sundar, R. D. V., Segaran, G., Shankar, S., Settu, S. & Ravi, L., Bioactivity of Phoenix dactylifera seed and its phytochemical analysis. *Int. J. Green Pharm.*, **11(2)**: S292–S297 (2017).
12. Saryono, S., Eliyan, J., Herdiati, D., Khikmatullah, A. A., Silvana, C. P. & Adi, H. P., Anti-atherogenic properties of Deglet Noor Date seeds (*Phoenix dactylifera*) Methanol extract on Diet-Induced Hypercholesterolemic Rats. in *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, **172(1)**: 1–5 (2017).

13. Sehwal, S. & Das, M., Antioxidant activity: an overview. *Res. Rev. J. Food Sci. Technol.*, **2(3)**: 1–11 (2013).
14. Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. & Heinonen, M., Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.*, **47(10)**: 3954–3962 (1999).
15. Blois, M. S., Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **181(4617)**: 1199–1200 (1958).
16. Wahdaningsih, S., Setyowati, E. P. & Wahyuono, S., Aktivitas penangkap radikal bebas dari batang pakis (*Alsophila glauca* J. Sm). *Maj. Obat Tradis.*, **16(3)**: 156–160 (2011).
17. Reynolds, J., Kirby-Bauer (antibiotic sensitivity). *The LibreTexts*, (2011). Available at: [https://bio.libretexts.org/Learning\\_Objects/Laboratory\\_Experiments/Microbiology\\_Labs/Microbiology\\_Labs\\_I/09%3A\\_Kirby-Bauer\\_\(Antibiotic\\_Sensitivity\)](https://bio.libretexts.org/Learning_Objects/Laboratory_Experiments/Microbiology_Labs/Microbiology_Labs_I/09%3A_Kirby-Bauer_(Antibiotic_Sensitivity)). (Accessed: 11th March 2022)
18. Greenwood, D., Finch, R., Davey, P. & Wilcox, M., *Antibiotics, susceptibility (Sensitivity) test antimicrobial and chemotherapy*. Mc Graw Hill Company, (1995).
19. Itam, A., Wulandari, A., Rahman, M. M. & Ferdinal, N., Preliminary phytochemical screening, total phenolic content, antioxidant and cytotoxic activities of *Alstonia scholaris* R. Br leaves and stem bark extracts. *J. Pharm. Sci. Res.*, **10(3)**: 518–522 (2018).
20. Patil, U. S. & Deshmukh, O. S., Preliminary phytochemical screening of six medicinal plants used as traditional medicine. *Int. J. Pharma Bio Sci.*, **7(1)**: P77–P81 (2016).
21. Ghafar, F., Tengku Nazrin, T. N. N., Mohd Salleh, M. R., Nor Hadi, N., Ahmad, N. & Azahari, A., Total phenolic content and total flavonoid content in *Moringa oleifera* seed. *Galeri Waris. Sains*, **1(1)**: 23–35 (2017).
22. Ernawati, T., Budiana, A. & Ernawati, T., Bioaktivitas turunan metil sinamat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aureogenosa* dan jamur *Candida albican*. *J. Kim. Val.*, **1(1)**: 60–64 (2016).
23. Ghosh, A., Das, B. K., Roy, A., Mandal, B. & Chandra, G., Antibacterial activity of some medicinal plant extracts. *J. Nat. Med.*, **62(2)**: 259–262 (2008).
24. Masmoudi-Allouche, F., Touati, S., Mnafigui, K., Gharsallah, N., El Feki, A. & Allouche, N., Phytochemical profile, antioxidant, antibacterial, antidiabetic and anti-obesity activities of fruits and pits from date palm (*Phoenix dactylifera* L.) grown in south of Tunisia. *J. Pharmacogn. Phytochem.*, **5(3)**: 15–22 (2016).
25. Adeosun, A. M., Oni, S. O., Ighodaro, O. M., Durosinlorun, O. H. & Oyedele, O. M., Phytochemical, minerals and free radical scavenging profiles of *Phoenix dactylifera* L. seed extract. *J. Taibah Univ. Med. Sci.*, **11(1)**: 1–6 (2016).
26. Radfar, R., Farhoodi, M., Ghasemi, I., Khaneghah, A. M., Shahraz, F. & Hosseini, H., Assessment of phenolic contents and antioxidant and antibacterial activities of extracts from four varieties of Iranian date palm (*Phoenix dactylifera* L.) seeds. *Appl. Food Biotechnol.*, **6(3)**: 173–184 (2019).
27. Zhu, H., Wang, Y., Liu, Y., Xia, Y. & Tang, T., Analysis of flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by UV-vis spectrophotometry with comparative study on different extraction technologies. *Food Anal. Methods*, **3(2)**: 90–97 (2010).
28. Tetti, M., Ekstraksi, pemisahan senyawa dan identifikasi senyawa aktif. *J. Kesehat.*, **7(2)**: 361–367 (2014).
29. Putri, M. H., Sukini. & Yudong., *Mikrobiologi*. Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan RI, (2017).