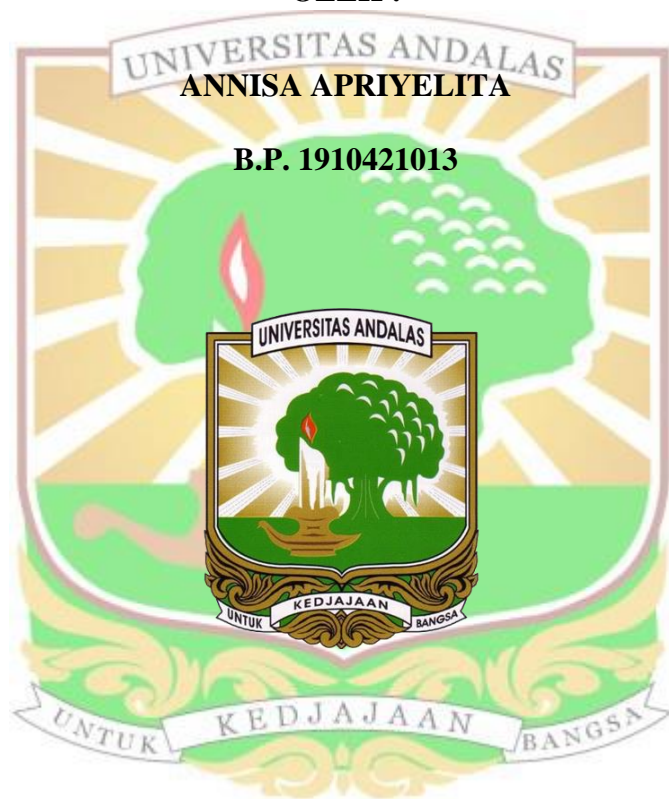


**AKTIVITAS ANTIMIKROBA DAN ANTIOKSIDAN BEBERAPA
EKSTRAK BENALU (*Scurrula ferruginea* (Roxb. ex Jack) Danser DARI
TANAMAN JENGKOL**

SKRIPSI SARJANA BIOLOGI

OLEH :



DEPARTEMEN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ANDALAS

PADANG

2023

Aktivitas Antimikroba Dan Antioksidan Beberapa Ekstrak Benalu (*Scurrula ferruginea* (Roxb. Ex Jack) Danser Dari Tanaman Jengkol

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Sains bidang studi Biologi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang

Oleh :


Annisa Apriyelita

B.P 1910421013

Padang, 21 Juli 2023

Disetujui Oleh :

Pembimbing I





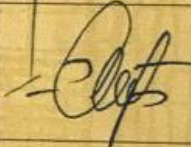

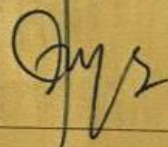
Dr. Phil. Nat. Periadnadi
NIP. 195907251986031017

Pembimbing II



Dr. Phil. Nat. Nurmiati
NIP. 196211261990012001

Skripsi ini telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Biologi,
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas,
Padang pada hari Jumat, 21 Juli 2023

No.	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1.	Dr. Anthoni Agustien	Ketua	
2.	Dr. phil. nat. Periadnadi	Sekretaris	
3.	Dr. phil.nat. Nurmiati	Anggota	
4.	Dr. Tesri Maideliza	Anggota	
5.	Dr. Rita Maliza	Anggota	

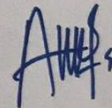
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa :

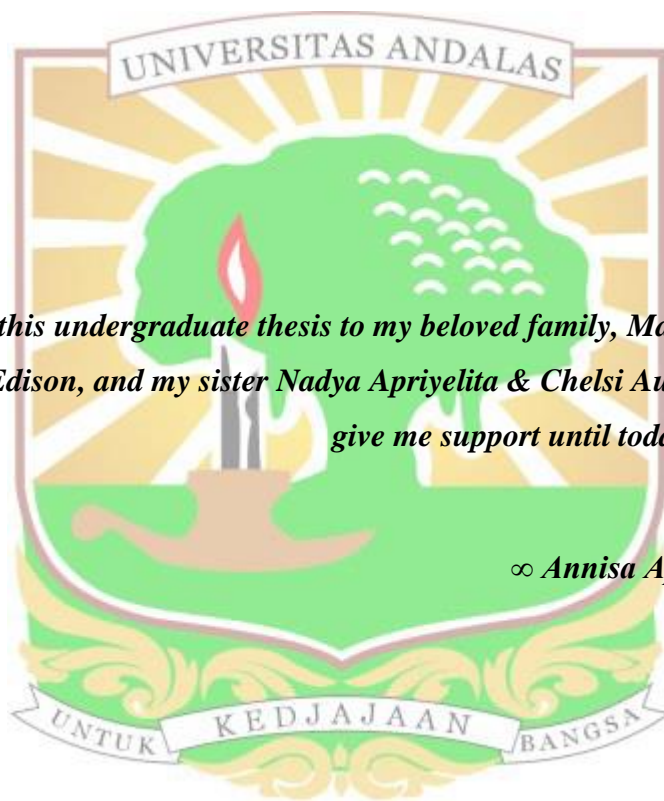
Skripsi saya ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik sarjana baik di Universitas Andalas maupun di perguruan tinggi lain. Skripsi ini adalah muni gagasan rumusan dan penelitian saya sendiri tanpa bantuan lain kecuali Dosen Pembimbing.

Dalam Skripsi ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan dalam daftar pustaka. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik sesuai dengan aturan yang berlaku.

Padang, 21 Juli 2023
Yang Membuat Pernyataan



Annisa Apriyelita
NIM. 1910421013



I dedicated this undergraduate thesis to my beloved family, Mama Darmiyetis, Papa Mar Edison, and my sister Nadya Apriyelita & Chelsi Aulia who always give me support until today, Thank you...

∞ Annisa Apriyelita, S.Si ∞

KATA PENGANTAR

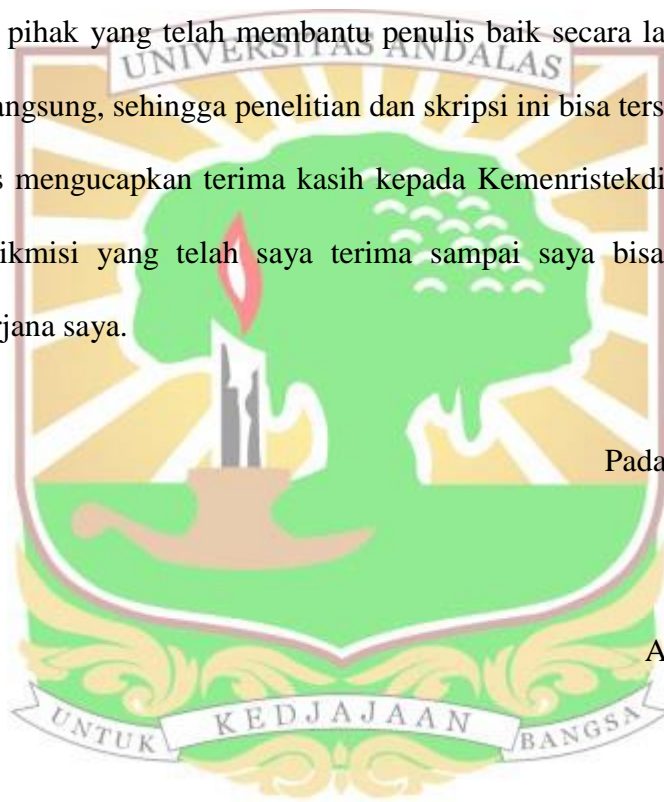
Alhamdulillahirrabil'alamin, puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang ditulis berdasarkan hasil penelitian dalam bidang kajian Mikrobiologi dengan judul “**Aktivitas Antimikroba dan Antioksidan Beberapa Ekstrak Benalu (*Scurrula ferruginea* (Roxb. Ex Jack) Danser dari Tanaman Jengkol**”. Penyusunan skripsi ini menjadi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi tingkat sarjana pada Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Dr. phil. nat Periadnadi dan Ibu Dr. phil. nat Nurmiati yang telah memberikan saran dan masukan serta bimbingan kepada penulis, sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Selanjutnya ucapan terima kasih penulis ucapkan kepada:

1. Dr. Wilson Novarino selaku Ketua jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.
2. Dr. Anthoni Agustien selaku Kepala Laboratorium Riset Mikrobiologi Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Andalas, Padang.
3. Dr. phil.nat Periadnadi selaku dosen Pembimbing Akademik yang sudah banyak memberi bimbingan kepada penulis selama masa perkuliahan Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Andalas.

4. Dr. Anthoni Agustien, Dr. Tesri Maideliza, dan Dr. Rita Maliza selaku tim penguji yang telah memberi masukan dan arahan dalam penyempurnaan skripsi ini.
5. Seluruh Dosen dan staf pengajar serta karyawan dan karyawanwati Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas.
6. Semua pihak yang telah membantu penulis baik secara langsung maupun tidak langsung, sehingga penelitian dan skripsi ini bisa terselesaikan.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kemenristekdikti atas bantuan Beasiswa Bidikmisi yang telah saya terima sampai saya bisa menyelesaikan pendidikan sarjana saya.



Padang, 21 Juli 2023

Annisa Apriyelita

ABSTRAK

Penelitian mengenai Aktivitas Antimikroba dan Antioksidan Beberapa Ekstrak Benalu (*Scurrula ferruginea* (Roxb. Ex Jack) Danser dari Tanaman Jengkol telah dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Andalas pada bulan Januari - Juni 2023. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antimikroba dari beberapa perlakuan ekstrak benalu jengkol, menentukan ekstrak yang memiliki daya hambat dan daya bunuh tertinggi terhadap mikroba uji dan menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari benalu jengkol terhadap mikroba uji, serta aktivitas antioksidan dan polifenol dari ekstrak segar benalu jengkol. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen pola nested. Hasil penelitian menunjukkan bahwa zona hambat dari ekstrak benalu jengkol memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap *S. aureus* dan *E. coli*, namun tidak memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap *C. albicans*. KHM dari ekstrak segar benalu terhadap *S. aureus* dan *E. coli* yakni 6.25% dengan KBM 12.5%. Nilai antioksidan pada ekstrak segar benalu dengan nilai IC50 101,26 µg/ml kategori aktivitas sedang dan total polifenol diperoleh dari ekstrak segar sebesar 20,77321 mgGAE/ml.

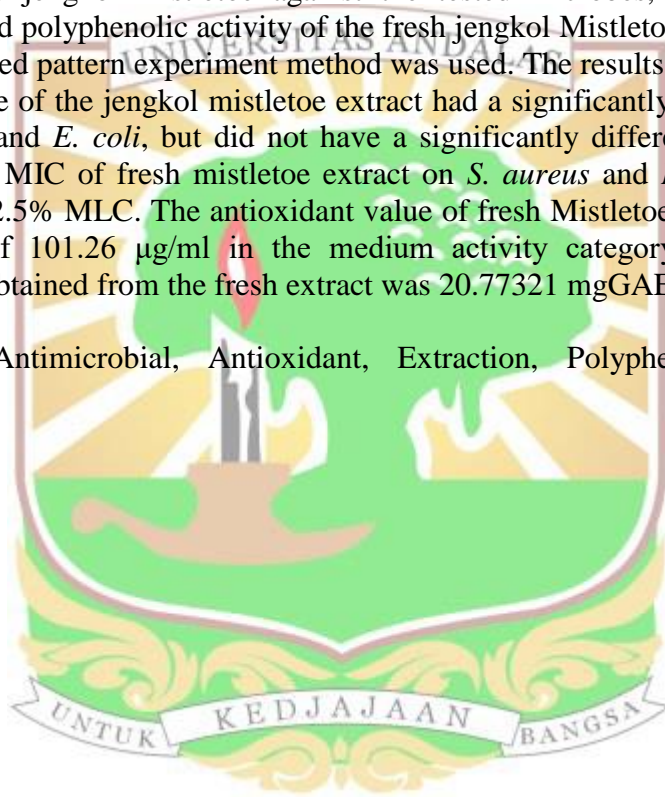
Kata Kunci: Antimikroba, Antioksidan, Ekstraksi, Polifenol, *Scurrula ferruginea*



ABSTRACT

Research on the Antimicrobial and Antioxidant Activities of Several Extracts of Mistletoe (*Scurrula ferruginea* (Roxb. Ex Jack) Danser from the Jengkol Plant was conducted at the Microbiology Laboratory, Andalas University in January - June 2023. This study aims to determine the antimicrobial activity of several treatments of the jengkol mistletoe extract, determined the extract that had the highest inhibition and lethal power against the tested microbes and determined the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Lethal Concentration (MLC) of the jengkol mistletoe against the tested microbes, as well as the antioxidant and polyphenolic activity of the fresh jengkol Mistletoe extract. In this study, the nested pattern experiment method was used. The results showed that the inhibition zone of the jengkol mistletoe extract had a significantly different effect on *S. aureus* and *E. coli*, but did not have a significantly different effect on *C. albicans*. The MIC of fresh mistletoe extract on *S. aureus* and *E. coli* which is 6.25% with 12.5% MLC. The antioxidant value of fresh Mistletoe extract with an IC50 value of 101.26 µg/ml in the medium activity category and the total polyphenols obtained from the fresh extract was 20.77321 mgGAE/ml.

Keywords: Antimicrobial, Antioxidant, Extraction, Polyphenols, *Scurrula ferruginea*



DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Manfaat.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Benalu Jengkol (<i>Scurrula ferruginea</i> (Jack) Danser).....	5
2.1.1. Tinjauan Botani (<i>Scurrula ferruginea</i> (Jack) Danser).....	5
2.1.2 Kandungan <i>Scurrula ferruginea</i> (Jack) Danser dari Tanaman jengkol ..	6
2.2 Antimikroba.....	7
2.3 Polifenol	7
2.4 Antioksidan	8
2.5 Mikroba Uji.....	9
2.5.1 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	9
2.5.2 <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	10
2.5.3 <i>Candida albicans</i> (C.P.Robin) Berkhout 1923	11
2.6 Metode DPPH (Difenilpikril Hidrazil).....	12
2.7 Metode Difusi.....	13
2.8 Metode Dilusi	13
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	15
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	15
3.2 Metode Penelitian.....	15

3.3 Alat dan Bahan	16
3.4 Cara Kerja.....	16
3.4.1 Persiapan Sampel Benalu jengkol (<i>S. ferruginea</i>).....	16
3.4.2. Sterilisasi Alat dan Medium	17
3.4.3 Penyediaan Biakan Murni.....	17
3.4.4 Peremajaan Bakteri	17
3.4.5 Ekstraksi Sampel.....	18
3.4.6 Persiapan Medium	19
3.4.7 Mc Farland's 0,5	20
3.4.8 Pembuatan Suspensi Mikroba uji	21
3.4.9 Penentuan Daerah Bebas Mikroba Dengan Metoda Cakram (Difusi)..	21
3.4.10 Pengujian Sampel terhadap Mikroba Uji dengan Metode Dilusi.....	21
3.4.11 Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	22
3.4.12 Pembuatan Kurva Standar Asam Galat	23
3.4.13 Penentuan Kadar Polifenol	23
3.5 Pengamatan	24
3.6 Analisis data	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Aktivitas Antimikroba	26
4.2 Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)	33
4.3 Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (<i>1,1- Difenil - 2 - Pikrilhidrazil</i>) dan Total Polifenol	35
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	38
5.1 Kesimpulan.....	38
5.2 Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN.....	45

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak daun benalu jengkol terhadap mikroba uji (<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , dan <i>C. albicans</i>)	26
Tabel 2. Nilai KHM dan KBM dari Ekstrak Segar Benalu jengkol Terhadap mikroba uji.	33
Tabel 3. Aktivitas Antioksidan (Nilai IC50) dan Total Polifenol dari Ekstrak Daun Benalu Jengkol.....	35



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Benalu <i>Scurrula ferruginea</i> (Jack) Danser	5
Gambar 2. Aktivitas Antimikroba yang dihasilkan oleh beberapa ekstrak daun benalu jengkol terhadap pertumbuhan (a) <i>S. aureus</i> , (b) <i>E. coli</i> (c) <i>C. albicans</i> ..	27
Gambar 3. Aktivitas Antimikroba beberapa ekstrak daun <i>Scurrula ferruginea</i> pada tanaman Jengkol terhadap <i>E. coli</i>	29
Gambar 4. Aktivitas Antimikroba beberapa ekstrak daun <i>Scurrula ferruginea</i> pada tanaman Jengkol terhadap <i>S. aureus</i>	30
Gambar 5. Daerah zona hambat mikroba beberapa ekstrak daun <i>Scurrula ferruginea</i> pada tanaman Jengkol terhadap <i>C. albicans</i>	32



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja	45
Lampiran 2. Uji Analisis Sidik Ragam (ANOVA) Zona Hambat Mikroba dari Beberapa Ekstrak terhadap Mikroba Uji.....	46
Lampiran 3. Nilai KHM dan KBM Ekstrak Segar Terhadap Mikroba Uji dengan Beberapa Konsentrasi.....	53
Lampiran 4. Daerah Zona Hambat Mikroba Uji dari Perlakuan Kontrol	54
Lampiran 5. Penentuan Polifenol masing-masing Ekstrak <i>Scurrula ferruginea</i> pada Tanaman Jengkol.....	54
Lampiran 6. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Benalu Jengkol dan Standar Vit C..	55
Lampiran 7. Karakteristik Antioksidan Berdasarkan Nilai IC50 dengan Metode DPPH (Molyneux, 2004).	56
Lampiran 8. Mikroba uji yang digunakan.....	56



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Terdapat kurang lebih 50.000 jenis tumbuhan dan 6000 jenis tumbuhan yang memiliki manfaat sebagai obat di Indonesia. Tumbuhan obat merupakan jenis tumbuhan yang mengandung metabolit sekunder dan memiliki manfaat untuk pengobatan tradisional. Benalu merupakan salah satu jenis tumbuhan yang dikonsumsi masyarakat untuk tujuan pengobatan tradisional (Jumiarni & Komalasari, 2017).

Menurut Sari *et al.* (2017) (*Scurrula ferruginea* (Roxb. ex Jack) Danser merupakan salah satu spesies benalu yang digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan tradisional. *S. ferruginea* masuk kedalam family Loranthaceae yang memiliki manfaat sebagai obat namun keberadaannya kurang diperhatikan oleh masyarakat. Menurut Marvibaigi *et al.* (2014) *S. ferruginea* dapat dimanfaatkan sebagai obat terutama bagian daunnya yang dimanfaatkan untuk penyakit infeksi kulit, diare, hipertensi dan penyakit saluran pencernaan yang disebabkan oleh mikroba uji.

Antimikroba adalah zat yang bisa menghambat atau membunuh pertumbuhan mikroba uji (Zheng *et al.*, 2013). Menurut Jawetz *et al.* (2005) untuk menguji aktivitas antimikroba menggunakan mikroba penyebab infeksi yang mewakili masing-masing dari jenisnya yaitu *Escherichia coli* sebagai kelompok bakteri Gram negatif, *Staphylococcus aureus* sebagai kelompok bakteri Gram positif dan *Candida*

albicans sebagai kelompok jamur. Penelitian terkait aktivitas antimikroba ekstrak segar pada daun, batang dan bunga *S. ferruginea* sudah dilakukan oleh Marvibaigi *et al.* (2014) mengatakan bahwa ekstrak benalu jengkol dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*.

Penyumbang terbanyak senyawa bioaktif antimikroba yaitu polifenol. Senyawa polifenol adalah kelompok senyawa bioaktif yang sering ditemukan pada tanaman yang terdapat disemua organ vegetatif serta bunga dan buah. Senyawa fenolik bisa membunuh bakteri dengan cara mendenaturasi protein sehingga dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel (Silalahi, 2006). *Scurrula ferruginea* dari tanaman jengkol mengandung metabolit sekunder diantaranya fenolik, alkaloid dan steroid (Ferdinal *et al.*, 2019).

Antioksidan merupakan zat yang dapat meredam radikal bebas dengan cara memberikan elektronnya kepada radikal bebas tersebut (Murray *et al.*, 1996). Golongan fenolik dan polifenolik merupakan senyawa antioksidan penting yang terdapat pada tumbuhan (Sedjati *et al.*, 2017). Menurut Jiang *et al.* (2001) senyawa fenolik, tannin, asam amino, karbohidrat, alkaloid dan saponin merupakan metabolit sekunder yang terdapat pada benalu. Benalu *Scurrula ferruginea* pada tanaman jengkol mengandung metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan dikarenakan pada cangkang dan kulit batang jengkol mempunyai kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, monoterpene, polifenol, saponin dan kuinon (Maxiselly *et al.*, 2015).

Bagian benalu yang sering digunakan untuk mengobati penyakit adalah daunnya (Sari *et al.*, 2017). Pada daun benalu terdapat saponin, feolik, tannin dan flavonoid yang mempunyai aktivitas antioksidan sehingga benalu digunakan masyarakat untuk pengobatan (Sudarmanto & Suhartati, 2015). Penelitian terkait aktivitas antioksidan pada ekstrak daun benalu jengkol *Scurrula ferruginea* (Jack) Danser menggunakan metode DPPH telah dilakukan oleh Ferdinal *et al.* (2019) bahwa ekstrak segar *Scurrula ferruginea* dari tanaman jengkol mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya fenolik, alkaloid dan steroid.

Namun sejauh ini belum ada penelitian yang melaporkan aktivitas antimikroba benalu *Scurrula ferruginea* (Jack) Danser dari tanaman jengkol dan belum ada penelitian yang membandingkan berbagai ekstraksi dari benalu *Scurrula ferruginea* (Jack) Danser dari tanaman jengkol terhadap Mikroba uji. Berdasarkan hal-hal yang telah disebutkan di atas, maka penulis tertarik untuk melakukan pengujian aktivitas antimikroba dan antioksidan dari benalu *Scurrula ferruginea* (Jack) Danser pada tanaman Jengkol.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan informasi di atas terdapat beberapa masalah yang diuraikan sebagai berikut:

1. Bagaimanakah aktivitas antimikroba beberapa ekstrak benalu jengkol terhadap mikroba uji?
2. Ekstrak manakah yang memiliki daya hambat yang paling tinggi dan berapakah konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak benalu jengkol?

3. Ekstrak manakah yang memiliki daya bunuh yang paling tinggi dan berapakah konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak benalu jengkol?
4. Bagaimanakah aktivitas antioksidan dan keberadaan polifenol ekstrak segar benalu jengkol?

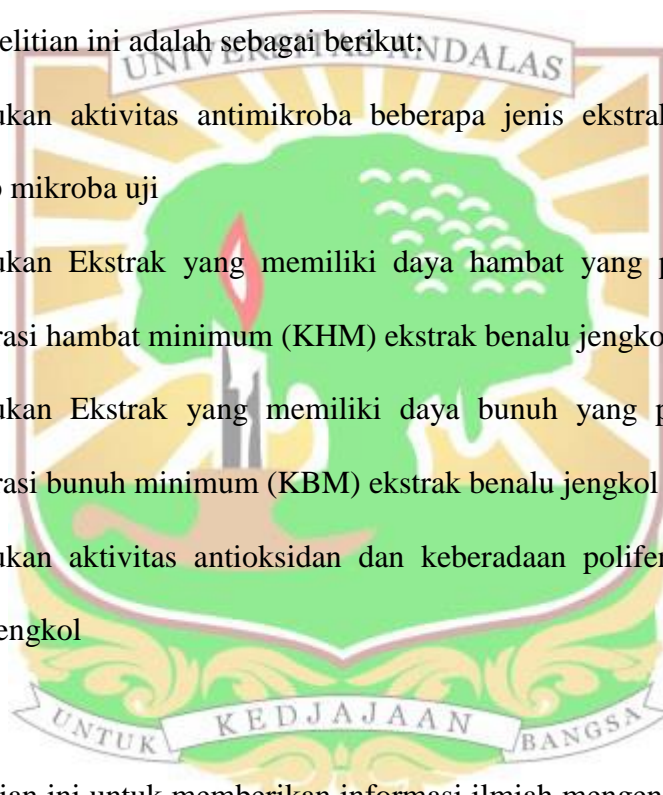
1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menentukan aktivitas antimikroba beberapa jenis ekstrak benalu jengkol terhadap mikroba uji
2. Menentukan Ekstrak yang memiliki daya hambat yang paling tinggi dan konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak benalu jengkol
3. Menentukan Ekstrak yang memiliki daya bunuh yang paling tinggi dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak benalu jengkol
4. Menentukan aktivitas antioksidan dan keberadaan polifenol ekstrak segar benalu jengkol

1.4 Manfaat

Manfaat penelitian ini untuk memberikan informasi ilmiah mengenai manfaat benalu jengkol (*Scurrula ferruginea* (Jack) Danser) sebagai antimikroba dan antioksidan serta untuk acuan kedepannya.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Benalu Jengkol (*Scurrula ferruginea* (Jack) Danser)

2.1.1. Tinjauan Botani (*Scurrula ferruginea* (Jack) Danser)

Scurrula ferruginea (Roxb. ex Jack) Danser merupakan salah satu tanaman obat yang sudah banyak digunakan dalam pengobatan tradisional untuk terapi herbal. *S. ferruginea* merupakan tanaman yang tersebar di berbagai wilayah yang memiliki habitat alami di Malaysia, Sumatra, India, Australia, dan Selandia baru (Ameer *et al.*, 2015).



Gambar 1. Benalu *Scurrula ferruginea* (Jack) Danser

Menurut GBIF (2022) klasifikasi *Scurrula ferruginea* (Jack) Danser pada Tanaman

Jengkol adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Santalales
Famili	: Loranthaceae
Genus	: <i>Scurrula</i>
Spesies	: <i>Scurrula ferruginea</i> (Roxb. ex Jack) Danser

S. ferruginea merupakan tanaman yang bersifat parasit obligat dengan batang menggantung, Bunga *S. ferruginea* majemuk yang terdiri dari 4-6 bunga di ketiak daun atau dibagian ruas batang, bunga berbentuk payung, tangkainya pendek, kelopaknya berbentuk terbalik, panjangnya kurang lebih 2 mm bergigi empat, benang sari dengan panjang 2-3, kepala putik berbentuk tombol, tabung mahkota panjang 1-2 cm, tajuk mahkota melengkung ke dalam dan bewarna merah. Daun *S. ferruginea* berbentuk kerucut terbalik, Panjang kurang lebih 8 mm dan bewarna coklat. Bijinya berbentuk bulat kecil dan bewarna hitam. Akarnya menempel pada pohong inang yang berfungsi sebagai pernghisap yang bewarna kuning kecoklatan. Simplisia *S. ferruginea* memiliki helaian daun bewarna hijau keabu-abuan sampai hijau kecoklatan dengan permukaan bawah dipenuhi seperti rambut-rambut daun yang bewarna kecoklatan, tepinya rata dan menggulung, panjang 3-6 cm, dan lebar 1-3 cm. Tangkai daun *S. ferruginea* pendek dan berkerut, ranting bewarna coklat kehitaman dan berkerut. (Ameer *et al.*, 2015).

2.1.2 Kandungan *Scurrula ferruginea* (Jack) Danser dari Tanaman jengkol

Berdasarkan penelitian uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dari ekstrak daun benalu Jengkol (*Scurrula ferruginea* (Jack) Danser) diketahui bahwa metabolit sekunder yang terdapat pada daun benalu jengkol segar yaitu fenolik, alkaloid dan steroid. Dalam ekstrak metanol daun benalu jengkol mengandung flavonoid, fenolik, steroid dan alkaloid, sedangkan dalam ekstrak etil asetat daun benalu jengkol mengandung fenolik dan steroid dan dalam ekstrak heksana daun benalu jengkol mengandung steroid (Ferdinal *et al.*, 2019).

2.2 Antimikroba

Antimikroba merupakan senyawa yang dapat menghambat atau membunuh mikroba. Senyawa tersebut mempunyai kemampuan untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroba, sedangkan toksisitasnya terhadap manusia relatif kecil, mempunyai daya untuk menghambat aktivitas mikroorganisme lain walaupun dalam jumlah yang kecil (Waluyo, 2004). Senyawa antimikroba dapat merusak dan menghambat proses sintesis dinding sel sehingga akan menyebabkan terbentuknya sel yang sensitif terhadap tekanan osmotik. Beberapa antimikroba dapat merusak salah satu fungsi membran sel sehingga dapat menimbulkan kematian sel (Waluyo, 2004).

Kemampuan senyawa antimikroba dalam menghambat atau membunuh pertumbuhan mikroba dipengaruhi oleh berbagai faktor, yaitu konsentrasi senyawa antimikroba, suhu lingkungan, waktu penyimpanan, sifat-sifat mikroba yang meliputi jenis, jumlah, umur, dan keadaan mikroba, serta sifat-sifat fisik dan kimia termasuk kadar air, pH, jenis dan jumlah senyawanya (Pelczar & Chan, 1988). *Scurrula ferruginea* (Roxb. ex Jack) Danser) merupakan tanaman yang berperan sebagai antimikroba yang memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan mikroba karena daun benalu jengkol mengandung metabolit sekunder diantaranya fenolik, alkaloid dan steroid (Ferdinal *et al.*, 2019).

2.3 Polifenol

Polifenol merupakan senyawa yang memiliki struktur dasar berupa fenol (senyawa fenol yang memiliki gugus hidroksil lebih dari satu) yang bersifat multifungsi karena berperan sebagai agen pereduksi, pendonor hydrogen dan peredam radikal oksigen

bahkan sebagai pengkelat (Rice Evans *et al.*, 1996). Senyawa polifenol memiliki daya antioksidan yang baik karena golongan ini dapat memberikan elektronnya untuk menetralkan elektron radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh (Dhianawaty & Ruslin, 2015).

Senyawa polifenol merupakan kelompok terbesar dari antioksidan yang memiliki kemampuan untuk mengatur beberapa reaksi *metal chelating* dan mengikat radikal bebas, seperti oksigen dan hidrogen peroksida yang harus secara teratur dihapus untuk mempertahankan fungsi normal dari sel (Thomas & Chimie, 2000). Polifenol merupakan salah satu kelompok metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan pada tanaman yang terjadi di semua organ vegetatif, serta bunga dan buah. Kelompok utama polifenol adalah flavonoid, asam fenolik, alkohol fenolik, stilben dan lignin (Ferrazzano *et al.*, 2011).

2.4 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menyumbangkan elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas dapat diredam (Murray *et al.*, 1996). Menurut Halliwell dan Gutteridge (1989), Radikal bebas adalah molekul atau senyawa yang memiliki satu atau dua lebih elektron yang tidak berpasangan dan dapat menimbulkan kerusakan pada biomolekul. Sistem tubuh manusia setiap saat terpapar radikal bebas baik yang dihasilkan dari proses metabolisme normal maupun dari lingkungan seperti asap rokok dan polusi. Suatu jenis tumbuhan dapat memiliki aktivitas antioksidan jika mengandung senyawa yang mampu menangkal radikal bebas seperti Fenol, Flavonoid, Vitamin C dan E, Katekin, Karoten dan Resveratrol (Hernani & Rahardjo, 2006).

Berdasarkan sumbernya, Antioksidan dapat dibedakan menjadi dua jenis diantaranya antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Antioksidan dalam tubuh dapat diperoleh dari enzim internal seperti superoksida dismutase (SOD), Katalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX), and glutathione reductase (GR) maupun dari asupan makanan atau suplemen seperti vitamin C, Vitamin A yang dikenal sebagai Antioksidan Sintetis (Mates dkk., 1999). Sedangkan Antioksidan alami berasal dari setiap bagian tumbuhan seperti pada kulit kayu, batang, daun, bunga, buah dan akar (Pratt, 1992).

Menurut Kuntorini dan Astuti (2010), karakter utama senyawa antioksidan adalah kemampuannya menangkap radikal bebas (Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga dapat bereaksi dengan cara mengikat elektron molekul sel tersebut). Senyawa antioksidan yang dihasilkan dari tumbuhan seperti vitamin C, vitamin E, karoten, golongan senyawa fenolat terutama polifenol dan flavonoid diketahui berpotensi mengurangi resiko penyakit degeneratif tersebut. Mekanisme penghambatan aktivitas antioksidan ialah dengan pendonoran atom hidrogen dari gugus hidroksilnya ke senyawa radikal bebas DPPH sehingga terbentuk stabilisasi senyawa (DPPH-H). Akan terjadi pula peralihan intensitas warna dari ungu menjadi kuning (Gultom *et al.*, 2021).

2.5 Mikroba Uji

2.5.1 *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* Rosenbach (1884), Menurut Garitty, Bell dan Liburn (2004) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria
Filum : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Bacilliales
Family : Staphylococcaceae
Genus : Staphylococcus
Spesies : *Staphylococcus aureus* Rosenbach

S. aureus adalah bakteri gram positif dengan bentuk bulat (cluster), berdiameter 0,8-1,0 mikron, tidak bergerak, Atrik, tidak berspora dan koloni mikroskopis berbentuk seperti buah anggur. Uji enzim katalase adalah katalase positif. *Staphylococcus aureus* membentuk koloni besar berwarna agak kuning pada media yang baik. *S. aureus* adalah anaerob fakultatif dan dapat tumbuh karena respirasi aerobik atau fermentasi dengan asam laktat. *S. aureus* dapat tumbuh pada suhu 15-45°C (Radji, 2010). *S. aureus* bersifat invasif dan merupakan flora normal pada kulit, mulut, dan saluran pernapasan bagian atas. *S. aureus* menyebabkan pneumonia, meningitis, endokarditis, dan infeksi kulit pada manusia (Jawetz *et al.*, 2005).

2.5.2 *Escherichia coli* ATCC 25922

Klasifikasi *Escherichia coli* Castellani and Chalmers (Migula) 1919 menurut Garitty, Bell dan Lilburn (2004) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria
Filum : Proteobacteria
Kelas : Gamma proteobacteria
Ordo : Enterobacteriales
Famili : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli* Migula

Escherichia coli merupakan bakteri yang berbentuk batang (monobasil), Atrik, berukuran 1,1 – 1,5 µm x 2,0 – 6,0 µm, motil dengan flagellum peritrikum atau non motil. *E. coli* merupakan golongan bakteri mesofilik yaitu bakteri yang suhu pertumbuhan optimumnya 20-45°C dan dapat hidup pada pH 5,5-8. *E. coli* akan tumbuh secara optimal pada suhu 37°C. *E. coli* memiliki suhu maksimum pertumbuhan 40-45°C, di atas suhu tersebut bakteri akan mengalami inaktivasi (Jawetz *et al.*, 2007).

Escherichia coli merupakan bakteri yang ditemukan di usus besar manusia sebagai flora normal. *Escherichia coli* dapat menyebabkan infeksi primer pada usus contohnya dapat menyebabkan diare pada anak. *Escherichia coli* dapat menjadi patogen apabila mencapai jaringan diluar saluran pencernaan khususnya pada saluran kemih, saluran empedu, paru-paru, selaput otak yang dapat menyebabkan peradangan pada tempat tersebut (Jawetz *et al.*, 2005).

2.5.3 *Candida albicans* (C.P.Robin) Berkhout 1923

klasifikasi *Candida albicans* (C.P Robin) Berkhout 1923, Menurut Mycobank (2022) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Fungi
Filum : Ascomycota
Kelas : Saccharomycetes
Ordo : Saccharomycetales
Family : Saccharomycetaceae
Genus : *Candida*
Spesies : *Candida albicans* (C.P Robin) Berkhout

Candida albicans merupakan jenis jamur dengan struktur tubuhnya berbentuk oval dan permukaannya sedikit cembung, halus, licin dan sedikit berlipat terutama pada koloni yang tua. Koloni berwarna putih kekuning-kuningan, berbau asam dan berkembang biak dengan cara budding atau tunas. *Candida albicans* mampu tumbuh pada suhu 37°C dalam kondisi aerob atau anaerob. Meskipun *Candida albicans* dapat tumbuh baik pada media padat yaitu pada medium agar Sabouraud dekstrosa. Pada medium tersebut, organisme ini akan membentuk koloni seperti ragi yang berbentuk bulat dengan diameter 2-4 mm, berwarna putih kekuningan, dengan permukaan yang halus dan pertumbuhannya lebih cepat pada kondisi asam dibandingkan dengan pH normal (Tyasrini, 2006). *Candida albicans* merupakan flora normal yang hidup pada mukosa oral, saluran pencernaan dan vagina (Sardi *et al.*, 2013). *Candida albicans* merupakan jamur *pathogen opportunistic* yang paling sering ditemukan pada manusia. Sariawan dan vaginitis merupakan salah satu contoh infeksi pada membran mukosa yang disebabkan oleh *C. albicans*. Selain itu dapat menyebabkan infeksi pada kulit, kuku, paru-paru dan organ lain serta kandidiasis mukokutan menahun (Jawetz *et al.*, 2001).

2.6 Metode DPPH (Difenilpikril Hidrazil)

Metode DPPH umumnya digunakan untuk uji aktivitas antioksidan. Larutan DPPH (radikal bebas) akan bereaksi dengan senyawa antioksidan, sehingga DPPH akan berubah menjadi diphenilpicrylhydrazine yang bersifat non-radikal. Peningkatan jumlah diphenilpicrylhydrazine ditunjukkan dengan perubahan larutan dari warna ungu menjadi warna kuning pucat (Alam, Bristi, dan Rafiquzzaman, 2013).

Hasil metode DPPH secara umum diperlihatkan dalam parameter IC50 (Inhibition Concentration). IC50 merupakan konsentrasi yang dapat menyebabkan larutan atau sampel tereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Jika, persentase IC50 lebih besar maka semakin rendah aktivitas antioksidan, begitu sebaliknya (Alam, Bristi, dan Rafiquzzaman, 2013). Aktivitas antioksidan diukur berdasarkan kemampuan antioksidan untuk mendonorkan atom hidrogennya ke radikal bebas DPPH ini. Besar atau kecilnya aktivitas antioksidan dapat dilihat dari perubahan warna ungu akibat tereduksinya DPPH oleh radikal bebas (Mutmainnah *et al.*, 2018).

2.7 Metode Difusi

Metode Difusi merupakan metode yang sering digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri. Prinsip kerja metode difusi adalah terdifusinya senyawa antibakteri ke dalam media padat dimana mikroba uji telah diinokulasikan. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Balouiri *et al.*, 2016).

2.8 Metode Dilusi

Metode Dilusi merupakan metode yang digunakan untuk mengukur kadar hambat minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan cara membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair kemudian ditambahkan dengan mikroba uji. Metode ini untuk menguji daya antibakteri berdasarkan penghambatan pertumbuhan mikroorganisme pada media cair setelah diberi zat antimikroba atau pada media padat yang dicairkan setelah dicampur dengan zat antimikroba dengan pengamatan pada dilusi cair dilihat kekeruhannya dan pada dilusi padat dengan

pengamatan pada konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Biasanya metode ini digunakan untuk zat antimikroba yang dapat larut sempurna (Denyer *et al.*, 2011).



BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai Juni 2023 di Laboratorium Riset Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen pola nested dengan 3 kali pengulangan, dimana faktor A adalah mikroba yang akan di uji dan faktor B adalah perlakuan ekstrak benalu jengkol (*S. ferruginea*).

Faktor A : Mikroba Uji

A1 = *E. coli*

A2 = *S. aureus*

A3 = *C. albicans*

Faktor B : Jenis Ekstrak

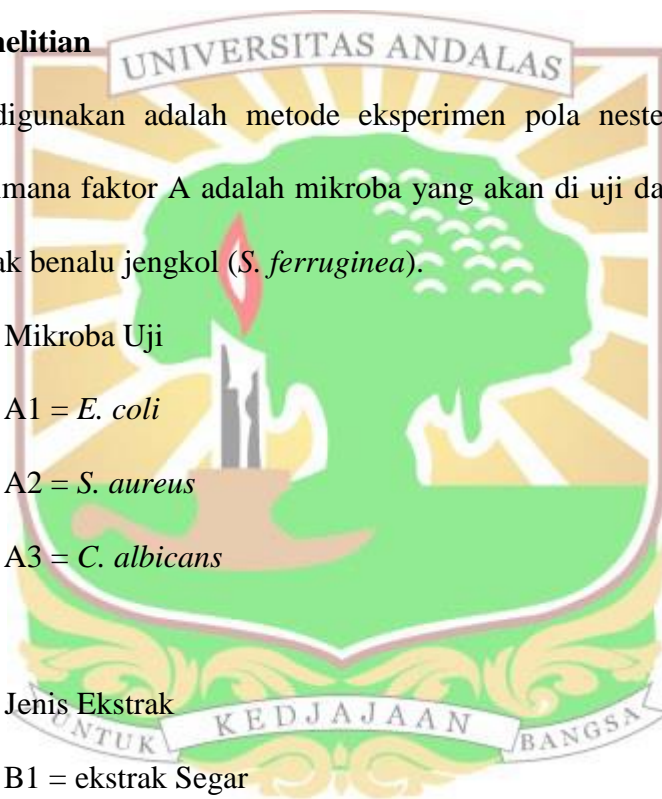
B1 = ekstrak Segar

B2 = Rebusan Kering

B3 = Rebusan Segar

B4 = Seduhan Kering

B5 = Seduhan Segar



Kombinasi perlakuan adalah sebagai berikut:

A1B1 A1B2 A1B3 A1B4 A1B5

A2B1 A2B2 A2B3 A2B4 A2B5

A3B1 A3B2 A3B3 A3B4 A3B5

3.3 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu autoklaf, sentrifus, cawan petri, erlenmeyer, testube, gelas ukur, pisau, penggerus, tabung *ependorf*, kapas, jarum ose, pinset, kertas cakram, pelobang kertas, kertas label, *incubator*, *vortex*, *tissue*, pipet tetes, batang pengaduk, kain kasa, lampu spiritus, karet gelang, timbangan, mikropipet 10ml, kertas saring, box, kamera digital, *laminar air flow cabinet*, kompor, jangka sorong, spektrofotometer dan alat tulis.

Bahan yang digunakan yaitu sampel benalu Jengkol (*Scurrula ferruginea* (Jack) Danser), biakan murni *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Candida albicans*, medium *Nutrient Agar (NA)*, *Potato Dextrose Agar (PDA)*, *Mueller Hinton Agar (MHA)*, *Medium Mueller Hinton Broth (MHB)*, *Sabouraud Dextrose Agar (SDA)*, *Medium Saboraud Dextrose Broth (SDB)*, akuades, alkohol, spiritus, *Folin – ciocalteu*, Natrium Karbonat, methanol pa dan DPPH.

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Persiapan Sampel Benalu jengkol (*S. ferruginea*)

Sampel tanaman benalu Jengkol diambil di Koto Baru, Kelurahan Limau Manis Selatan, Kecamatan Pauh, Sumatera Barat. Pengambilan sampel dilakukan dengan pemetikan benalu dari tanaman jengkol yang masih segar. Kemudian sampel dicuci

bersih, dimasukkan ke dalam plastik dan dibawa ke laboratorium. Setelah dicuci kemudian disiapkan benalu untuk pembuatan ekstrak segar dan untuk dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 2-3 hari. Proses pengeringan dilakukan tanpa sinar matahari.

3.4.2. Sterilisasi Alat dan Medium

Alat dan semua medium yang digunakan di sterilisasi dengan autoklav pada suhu 121⁰C tekanan 15 lbs selama 15 menit. Alat yang digunakan dalam mengekstraksi sampel di rendam pada alkohol 70% dan dibilas dengan aquadest steril (Pelczar dan Chan, 1998).

3.4.3 Penyediaan Biakan Murni

Biakan murni diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Kampus Jati, Kota Padang untuk Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 dan Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Untuk jamur *Candida albicans* diperoleh dari Laboratorium Kesehatan Kota Padang.

3.4.4 Peremajaan Bakteri

Disiapkan Stok kultur bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*. Selanjutnya dilakukan peremajaan bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* pada cawan petri yang berisikan medium NA sedangkan *Candida albicans* pada cawan petri yang berisikan medium PDA, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Kemudian diremajakan kembali pada medium agar miring.

3.4.5 Ekstraksi Sampel

3.4.5.1 Pembuatan Ekstrak segar benalu

Sampel daun benalu segar ditimbang 7,5 Gram segar, setelah itu dicuci dengan air mengalir serta dibilas hingga bersih, kemudian sampel daun benalu digerus, diperas dan disaring dengan kain kasa steril. Hasil saringan dimasukkan kedalam *Eppendorf* dan disentrifus selama 5 menit dengan kecepatan 10.000 rpm.

3.4.5.2 Pembuatan Rebus Benalu Kering

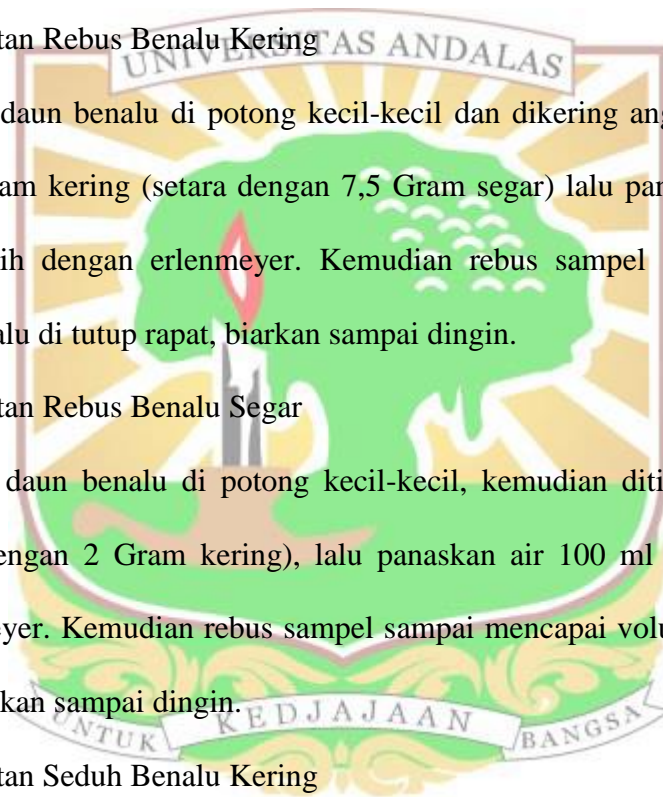
Sampel bagian daun benalu di potong kecil-kecil dan dikering anginkan, kemudian ditimbang 2 Gram kering (setara dengan 7,5 Gram segar) lalu panaskan air 100 ml sampai mendidih dengan erlenmeyer. Kemudian rebus sampel sampai mencapai volume 50 ml lalu di tutup rapat, biarkan sampai dingin.

3.4.5.3 Pembuatan Rebus Benalu Segar

Sampel bagian daun benalu di potong kecil-kecil, kemudian ditimbang 7,5 Gram segar (setara dengan 2 Gram kering), lalu panaskan air 100 ml sampai mendidih dengan erlenmeyer. Kemudian rebus sampel sampai mencapai volume 50 ml lalu di tutup rapat, biarkan sampai dingin.

3.4.5.4 Pembuatan Seduh Benalu Kering

Sampel bagian daun benalu di potong kecil-kecil dan dikering anginkan, kemudian ditimbang 2 Gram kering (setara dengan 7,5 Gram segar), lalu dipanaskan air 50 ml sampai mendidih, kemudian dipindahkan kedalam wadah yang telah disiapkan. selanjutnya sampel direndam kedalam wadah. Setelah itu tutup rapat dan biarkan sampai dingin.



3.4.5.5 Pembuatan Seduh Benalu Segar

Sampel bagian daun benalu di potong kecil-kecil, kemudian ditimbang 7,5 Gram segar (setara dengan 2 Gram kering), lalu panaskan air 50 ml sampai mendidih, lalu dipanaskan air 50 ml sampai mendidih, kemudian dipindahkan kedalam wadah yang telah disiapkan. selanjutnya sampel direndam kedalam wadah. Setelah itu tutup rapat dan biarkan sampai dingin.

3.4.6 Persiapan Medium

3.4.6.1 Pembuatan Medium Nutrient Agar (NA)

Medium *Nutrient Agar (NA)* (Merck Art. No. 1.05450.0500) ditimbang sebanyak 20 Gram kemudian dilarutkan dalam 1 liter akuades didalam erlenmeyer, dipanaskan sampai mendidih dan disterilkan. Medium ini digunakan untuk peremajaan *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

3.4.6.2 Pembuatan Medium *Potato Dextrose Agar (PDA)*

Medium *Potato Dextrose Agar (PDA)* (Merck Art. No. 1.10130.0500) ditimbang sebanyak 40 Gram kemudian dilarutkan dalam 1 liter akuades didalam erlenmeyer, dipanaskan sampai mendidih dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C, selama 15 menit. Medium ini digunakan untuk peremajaan *Candida albicans*.

3.4.6.3 Pembuatan Medium *Mueller Hinton Agar (MHA)*

Medium *Mueller Hinton Agar (MHA)* (Himedia M173-500G) ditimbang sebanyak 38 Gram kemudian dilarutkan dalam 1 liter akuades didalam erlenmeyer, dipanaskan sampai mendidih dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C, selama 15 menit. Medium ini digunakan sebagai media pertumbuhan *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada metode difusi.

3.4.6.4 Pembuatan Medium *Mueller Hinton Broth* (MHB)

Medium *Mueller Hinton Broth* (MHB) (Himedia M391-500G) ditimbang sebanyak 22 Gram dilarutkan dalam 1 liter akuades. Kemudian dipanaskan sampai mendidih dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121⁰C tekanan 15 lbs selama 15 menit. Medium ini digunakan sebagai media pertumbuhan *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada metode dilusi.

3.4.6.5 Pembuatan Medium *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)

Medium *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) (Himedia M063-500G) ditimbang sebanyak 66 Gram kemudian dilarutkan dalam 1 liter akuades didalam erlenmeyer, dipanaskan sampai mendidih dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C, selama 15 menit. Medium ini digunakan sebagai media pertumbuhan *Candida albicans* pada metode difusi.

3.4.6.6 Pembuatan Medium *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB)

Medium *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB) (Himedia M033-500G) ditimbang sebanyak 30 Gram kemudian dilarutkan dalam 1 liter akuades. Kemudian dipanaskan sampai mendidih dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121⁰C tekanan 15 lbs selama 15 menit. Medium ini digunakan sebagai media pertumbuhan *Candida albicans* pada metode dilusi.

3.4.7 Mc Farland's 0,5

Larutan Mc Farland's 0,5 dibuat dengan mencampurkan 1% asam sulfat 9,95 ml dan 1% barium clorida 0,05 ml. Mc Farland's 0,5 (1,5 x 10⁸ sel/ml) (Balaouiri *et al.*, 2016).

3.4.8 Pembuatan Suspensi Mikroba uji

Mikroba uji yang telah diinokulasi pada media agar miring kemudian diambil dengan jarum ose steril lalu disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 2 ml larutan NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan McFarland's 0,5 (Handayani, 2016).

3.4.9 Penentuan Daerah Bebas Mikroba Dengan Metoda Cakram (Difusi)

Metode Difusi yang digunakan mengacu kepada Balaouri *et al.* 2016. Medium MHA dituangkan kedalam cawan petri secara aseptis dan dibiarkan memadat. Kemudian diambil 1 ml suspensi bakteri dan diinokulasikan pada permukaan medium dan diratakan dengan lidi kapas steril. Kemudian dicelupkan kertas cakram dengan diameter 6 mm secara aseptis kedalam sampel, dan dikeringkan sebentar lalu diletakkan kertas cakram tersebut di atas permukaan medium dengan pinset steril. Setelah itu diinkubasikan selama 24 jam dan diukur diameter zona bening. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol (0,1 mg/mL) dan fluconazole (0,1 mg/mL) dan kontrol negatif berupa pelarut yang digunakan dalam ekstraksi yaitu aquades. Perlakuan sampel dengan daerah zona hambat tertinggi dilanjutkan untuk menentukan nilai KHM dan KBM pada metode dilusi.

3.4.10 Pengujian Sampel terhadap Mikroba Uji dengan Metode Dilusi

Metode Dilusi terhadap mikroba uji yang digunakan mengacu kepada Morello *et al.* (2003). Disediakan tabung reaksi steril yang masing telah diberi label 1-10 dan tabung A, B, untuk kontrol. Dimasukkan medium SDB/MHB sebanyak 2 ml secara aseptis kedalam Tabung 1-10. Kemudian ditambahkan ekstrak segar benalu sebanyak 2 ml ke dalam tabung 1 lalu dihomogenkan dan dipindahkan dari tabung 1 ke tabung

2 sebanyak 2 ml, dihomogenkan, kemudian dari tabung 2 ke tabung 3 dan begitu seterusnya sampai tabung 10. Pada tabung 10 diambil sebanyak 2 ml dan dibuang. Sehingga volume pada masing masing tabung adalah 2 ml. Sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak benalu berturut-turut sebagai berikut 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,5%, 0,8%, 0,4%, 0,2% dan 0,1%. Kemudian Pada tabung 1-10 ditambahkan 1 ml suspensi mikroba.

Tabung A dan B sebagai kontrol, dimana Tabung A diisi ekstrak benalu Jengkol (*S. ferruginea*) sebanyak 2 ml, kemudian ditambahkan medium SDB/MHB sebanyak 2 ml. Tabung B diisi medium SDB/MHB sebanyak 2 ml dan ditambahkan suspensi mikroba uji sebanyak 1 ml. Semua tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Setelah 24 jam ditandai tabung yang keruh dan dicatat nilai pengencerannya. Tabung yang positif (jernih) diambil suspensi mikroba uji sebanyak 0,1 ml dan dibiakkan pada medium SDA MHA, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diamati apakah terdapat pertumbuhan mikroba uji, jika ada dicatat jumlah koloni yang terbentuk, kemudian ditentukan angka KHM dan KBM.

3.4.11 Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazine). Metode DPPH mengacu pada Molyneux (2004). 1 ml *S. ferruginea* diencerkan dengan 4 ml metanol, kemudian dibuat berbagai konsentrasi 25, 50, 75, 100, dan 125 ppm, kemudian dilanjutkan dengan melarutkan 1,97 mg DPPH dengan 100 mL metanol hingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 0,05 mM. lalu tutup dengan aluminium foil. Larutan ekstrak *S. ferruginea* sebanyak 8 ml direaksikan dengan 2 ml larutan DPPH 0,05 mM, dihomogenkan dengan vortex.

Aktivitas antioksidan dianalisis menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm. Metanol digunakan sebagai blanko selama proses spektrofotometer. Persamaan kurva regresi linier dan nilai IC50 dihitung menggunakan persamaan: $Y = ax+b$. Pada uji aktivitas antioksidan digunakan Vit C sebagai pembanding.

3.4.12 Pembuatan Kurva Standar Asam Galat

Kurva standar asam galat yang digunakan mengacu pada Arifa dan Periadnadi (2018). Serbuk asam galat diukur sebanyak 0,025 g dan dimasukkan ke dalam beaker glass 100 ml dan dicukupkan hingga 100 ml dengan aquadest, kemudian dihomogenkan. Larutan ini disebut larutan induk asam galat. Larutan standar asam galat dibuat dengan variasi konsentrasi 0, 50, 100, 150 dan 200 ppm. Dipipet 1 ml larutan standar asam galat dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 ml pereaksi *Folin-Ciocalteu* dan dihomogenkan. Setelah 5 menit ditambahkan 1 ml larutan natrium karbonat (Na_2CO_3), kemudian ditambahkan akuades hingga volume mencapai 10 ml, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 90 menit, diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang 725 nm. Persamaan kurva regresi linier dihitung dengan menggunakan persamaan: $Y = ax + b$.

3.4.13 Penentuan Kadar Polifenol

Pada ekstrak *Scurrula ferruginea* dilakukan dengan metode *Folin-Ciocalteu* Assay dengan beberapa modifikasi berdasarkan prosedur yang dijelaskan oleh (Parrilla *et al.* (2007), cit. Satiova (2017)). 1 ml *Scurrula ferruginea* diencerkan dengan 4 ml

aquades, kemudian 1 ml sampel dicampur dengan 1 ml reagen *Folin-Ciocalteu*. Setelah 5 Menit ditambahkan 1 ml Natrium Karbonat 13% ke dalam campuran dan dicukupkan dengan akuades hingga volumenya mencapai 10 ml. Tabung disimpan pada tempat gelap selama 90 menit dan diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada gelombang 725 nm.

3.5 Pengamatan

3.5.1 Daerah Bebas Mikroba dengan Metode difusi

Daerah hambat diukur dengan cara meletakkan jangka sorong pada batas luar cakram sampai dengan batas terpanjang dan batas terpendek daerah hambat yang terbentuk sehingga diperoleh jari jari daerah hambat terpanjang dan jari jari daerah hambat terpendek. Parameter yang diukur menggunakan rumus sebagai berikut:

$$R = \frac{p+q}{2}$$

Dimana :

R : Diameter Zona penghambatan (mm)

p : Diameter zona penghambatan terpanjang (mm)

q : Diameter zona penghambatan terpendek (mm)

3.5.2 Konsentrasi Hambat Mikroba (KHM) dan Penentuan Konsentrasi Bunuh

Mikroba (KBM) dengan Metoda Dilusi

KHM ditandai adanya pertumbuhan mikroba uji di dalam medium, pengenceran terendah tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan mikroba. KBM ditandai dengan tidak adanya koloni yang tumbuh setelah dibiak pada medium SDA/MHA.

3.5.3 Aktivitas Antioksidan dengan Metode Efek Peredaman terhadap Radikal Bebas DPPH (1,1 Diphenyl-2-Picryl Hydrazil)

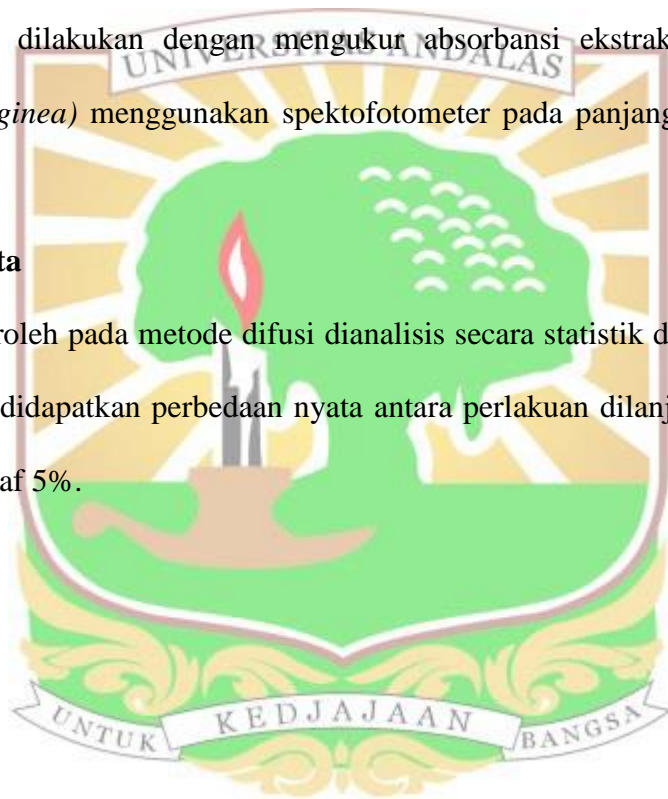
Total antioksidan dilakukan dengan mengukur absorbansi ekstrak benalu jengkol (*Scurrula ferruginea*) menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm yang mengacu pada Molyneux (2004).

3.5.4 Total polifenol dengan metode Folin-Cialcalteu

Total polifenol dilakukan dengan mengukur absorbansi ekstrak benalu jengkol (*Scurrula ferruginea*) menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 725 nm.

3.6 Analisis data

Data yang diperoleh pada metode difusi dianalisis secara statistik dalam bentuk pola nested, apabila didapatkan perbedaan nyata antara perlakuan dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf 5%.



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian pengujian aktivitas antimikroba dan antioksidan beberapa ekstrak daun *S. ferruginea* Tanaman Jengkol terhadap mikroba uji maka didapatkan hasil sebagai berikut :

4.1 Aktivitas Antimikroba

Berdasarkan hasil uji daya hambat ekstrak daun benalu jengkol terhadap mikroba uji yang telah dilakukan dengan metode difusi cakram dan diinkubasi selama 24 jam pada medium *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), didapatkan hasil sebagai berikut:

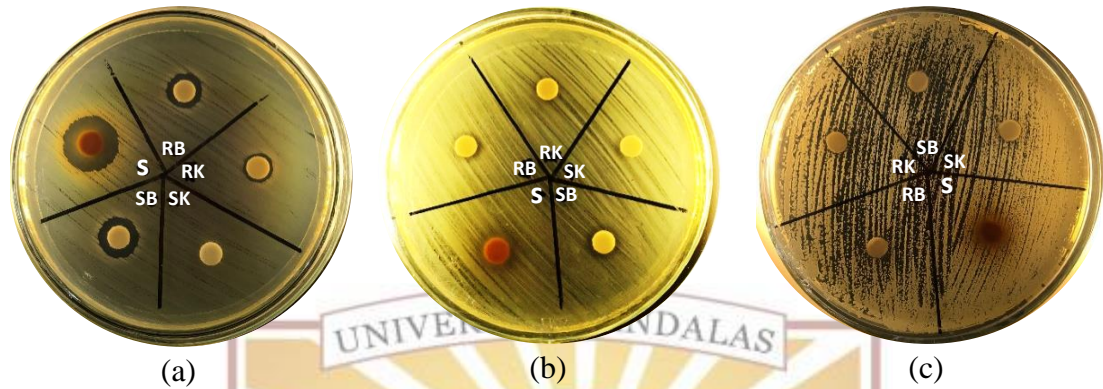
Tabel 1. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak daun benalu jengkol terhadap mikroba uji (*S. aureus*, *E. coli*, dan *C. albicans*)

No	Jenis Ekstrak	Diameter zona hambat mikroba (mm)		
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
1	Segar	14,12 ^a	10,79 ^a	6,00 ^a
2	Rebusan Kering	7,95 ^d	7,05 ^d	6,00 ^a
3	Rebusan segar	9,35 ^c	7,75 ^c	6,00 ^a
4	Seduhan Kering	6,35 ^e	6,23 ^e	6,00 ^a
5	Seduhan segar	9,69 ^b	9,13 ^b	6,00 ^a

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf kecil yang tidak sama pada kolom yang sama berbeda nyata pada DMRT 5%.

Berdasarkan analisis statistik ANOVA dan dilanjutkan dengan uji DMRT, pengaruh beberapa ekstrak daun *S. ferruginea* terhadap *E. coli* dan *S. aureus* berbeda nyata, namun pengaruh beberapa ekstrak daun *S. ferruginea* terhadap *C. albicans* tidak berbeda nyata. Berdasarkan hasil tersebut didapatkan hasil bahwa ekstrak segar, rebusan kering, rebusan segar, seduhan kering dan seduhan segar dapat menghambat pertumbuhan *S.aureus* dan *E.coli* tetapi tidak dapat menghambat pertumbuhan

C.albicans. Hal ini dapat dilihat dari terbentuknya zona hambat yang disebabkan adanya aktivitas antimikroba yang dihasilkan dari ekstrak daun benalu jengkol.



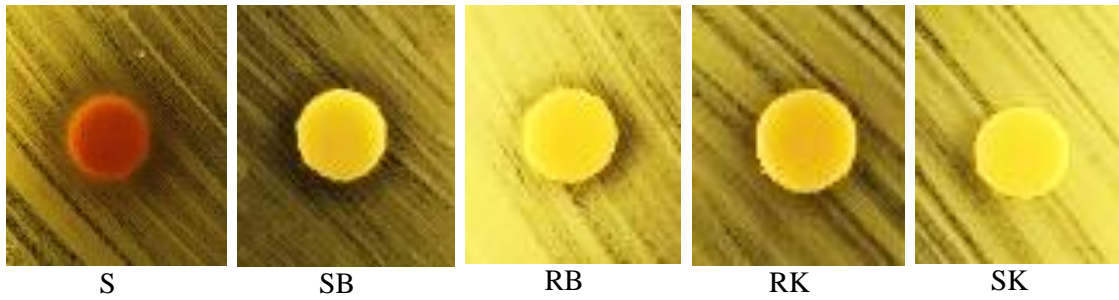
Gambar 2. Aktivitas Antimikroba yang dihasilkan oleh beberapa ekstrak daun benalu jengkol terhadap pertumbuhan (a) *S. aureus*, (b) *E. coli* (c) *C. albicans*
Keterangan: (S) Ekstrak benalu segar, (RB) Ekstrak rebusan segar, (RK) Ekstrak rebusan kering, (SB) Ekstrak seduhan segar, (SK) Ekstrak seduhan kering

Berdasarkan gambar diatas dapat di lihat bahwa setiap jenis ekstrak benalu jengkol memiliki daya hambat yang berbeda pada masing-masing mikroba uji. Dapat dilihat bahwa zona hambat terbesar untuk *S.aureus* dan *E. coli* ditemukan pada perlakuan ekstrak segar dan pada *C. albicans* tidak terlihat adanya zona hambat pada masing-masing perlakuan. Hal ini didukung oleh Lingga *et al.* (2016) besar zona hambat yang terbentuk menentukan kemampuan suatu senyawa bioaktif dalam menghambat pertumbuhan mikroba. Hal tersebut juga didukung oleh pendapat Pelezar dan Chan (2008) yang mengatakan bahwa mekanisme senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan mikroba dilakukan dengan cara merusak dinding sel, mengganggu sintesis protein, mengubah permeabilitas membrane sel dan menghambat kerja enzim.

Perbedaan diameter zona hambat pada masing-masing perlakuan diduga karena adanya senyawa bioaktif yang terkandung didalam ekstrak daun benalu

jengkol yang berperan sebagai antimikroba (Lim *et al.*, 2016). Hal ini didukung oleh pendapat Ferdinal *et al.* (2015) yang mengatakan bahwa *Scurrula ferruginea* pada tanaman jengkol mengandung fenolik, alkaloid dan steroid.

Golongan fenolik merupakan zat yang bersifat polar dan berperan sebagai antibakteri bekerja dengan mendenaturasi protein sel bakteri (Marfuah *et al.*, 2018). Akibat dari terdenaturasinya protein tersebut maka semua aktivitas metabolisme sel terhenti karena dikatalisis oleh enzim. Dalam konsentrasi tinggi senyawa fenol dapat menembus dan merusak dinding sel bakteri dan dalam konsentrasi yang rendah senyawa fenol dapat menginaktivasi enzim dalam sel bakteri (Purwantiningsih *et al.*, 2014). Senyawa lain yang terkandung pada benalu jengkol yaitu Alkaloid. Alkaloid adalah zat yang bersifat polar yang berperan dalam antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, akibatnya lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan dapat menyebabkan kematian pada sel (Haryati *et al.*, 2015). Senyawa lain yang terkandung pada benalu jengkol yaitu steroid. Steroid merupakan zat bersifat non polar bekerja dengan cara merusak membran lipid, akibatnya liposom mengalami kebocoran sel (Madduluri *et al.*, 2013). Zat steroid akan berinteraksi dengan membran fosfolipid pada sel karena bersifat permeabel terhadap senyawa lipofilik sehingga menyebabkan menurunnya integritas membran, akibatnya terjadinya pelisisan pada sel (Ahmed, 2007).

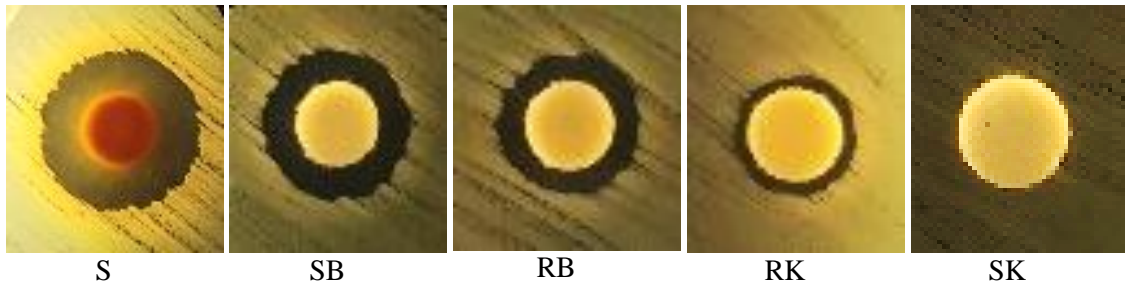


Gambar 3. Aktivitas Antimikroba beberapa ekstrak daun *Scurrula ferruginea* pada tanaman Jengkol terhadap *E. coli*.

Keterangan: (S) Ekstrak benalu segar, (RB) Ekstrak rebusan segar, (RK) Ekstrak rebusan kering, (SB) Ekstrak seduhan segar, (SK) Ekstrak seduhan kering.

Pada mikroba uji *E. coli* zona hambat terbesar didapatkan pada perlakuan segar sebesar 10,79 mm diikuti dengan perlakuan seduhan segar sebesar 9,13 mm, rebusan segar sebesar 7,75 mm, rebusan kering sebesar 7,05 mm, dan seduhan kering sebesar 6,23 mm. Perbedaan ukuran zona hambat dari masing masing ekstrak disebabkan oleh sensitivitas mikroba uji terhadap zat antimikroba yang dipengaruhi oleh permeabilitas membran sel. Hal ini didukung oleh pendapat Mueller *et al.* (2019), membran luar *E. coli* mengandung protein purin yang berperan sebagai saluran keluar masuknya zat bioaktif, sehingga zat tersebut bisa masuk kedalam sel bakteri tersebut.

Bakteri *E. coli* merupakan golongan Gram negatif yang resisten terhadap beberapa senyawa bioaktif (Jawetz *et al.* (2007). Struktur dinding sel bakteri *E. coli* terdapat tiga lapisan yaitu lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida dan lapisan dalam peptidoglikan dan membrane luar berupa bilayer (bilayer mempunyai ketahanan yang baik terhadap senyawa yang keluar atau masuk sel dan dapat menyebabkan toksik sehingga beberapa senyawa tidak dapat merusak dinding sel bakteri *E. coli* tersebut (Pelezar dan Chan, 1988).



Gambar 4. Aktivitas Antimikroba beberapa ekstrak daun *Scurrula ferruginea* pada tanaman Jengkol terhadap *S. aureus*.

Keterangan: (S) Ekstrak benalu segar, (SB) Ekstrak seduhan segar, (RB) Ekstrak rebusan segar, (RK) Ekstrak rebusan kering, (SK) Ekstrak seduhan kering

Pada mikroba uji *S. aureus* didapatkan zona hambat mikroba terbesar pada perlakuan segar sebesar 14,12 mm diikuti dengan perlakuan seduhan segar sebesar 9,69 mm, rebusan segar sebesar 9,35 mm, rebusan kering sebesar 7,95 mm, dan seduhan kering sebesar 6,35 mm. Hal ini dikarenakan ekstrak tersebut memiliki kemampuan yang lebih besar dalam menghambat *S. aureus* dibandingkan dengan *E. coli*. Lapisan dinding sel bakteri Gram positif lebih tipis daripada Gram negatif, akibatnya zat bioaktif dapat masuk kedalam sel bakteri Gram positif (Kusmayati dan Agustini, 2007). *S. aureus* memiliki dinding sel yang terdiri dari 50% lapisan peptidoglikan dan susunan dinding selnya kompak sehingga *S aureus* memiliki sensitifitas yang lebih tinggi terhadap antibakteri (Poeloengan dan Andriani, 2013).

Berdasarkan hasil pengujian terhadap *S. aureus* dan *E. coli* ekstrak segar menghasilkan zona hambat terbesar daripada ekstrak rebusan dan seduhan. Hal ini dikarenakan pada ekstrak segar tidak menggunakan pelarut, ekstrak tersebut diambil dengan mengambil cairan dari tanaman tersebut dengan cara diperas airnya sehingga ekstrak yang dihasilkan lebih pekat. Tinggi rendahnya kemampuan senyawa aktif

dalam menghambat suatu pertumbuhan mikroba tergantung kepada konsentrasi senyawa aktif yang terkandung didalam benalu jengkol (Pelezar dan Chan, 1986).

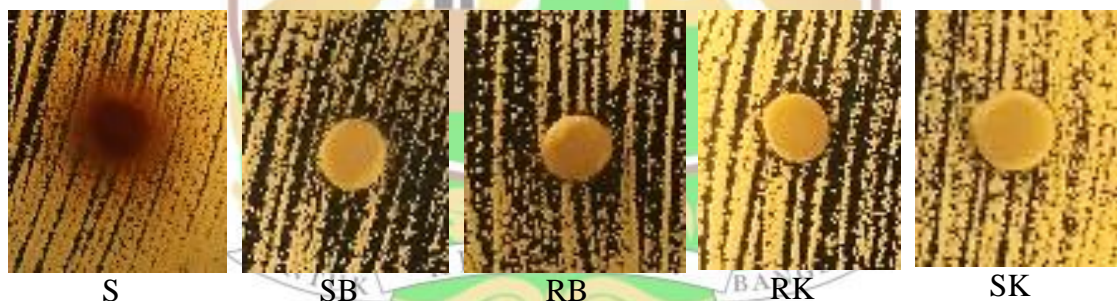
Penghasil zona hambat terbesar selanjutnya yaitu ekstrak seduhan. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan seduhan faktor suhu mempengaruhi kandungan fenol dari ekstrak tumbuhan. Menurut Ibrahim *et al.* (2015) suhu pengestrakan yang tinggi dapat menurunkan senyawa yang terkandung dalam ekstrak, senyawa polifenol dan flavonoid yang akan rusak pada suhu yang tinggi sehingga menghasilkan kelarutan senyawa yang rendah.

Ekstrak seduhan segar daun benalu jengkol lebih tinggi dibandingkan ekstrak seduhan kering. Hal ini dipengaruhi oleh adanya panas pada proses pengeringan yang dapat menurunkan konsentrasi senyawa flavonoid pada daun benalu. Menurut penelitian Saragih (2014), lamanya waktu pengeringan dapat menyebabkan menurunnya konsentrasi senyawa yang terkandung dalam benalu jengkol.

Penghasil zona hambat terbesar selanjutnya yaitu ekstrak rebusan. Hal ini diduga karena faktor suhu dan lamanya waktu perebusan yang tidak dikontrol, dapat menyebabkan terjadinya degradasi pada bahan yang direbus. Berdasarkan pendapat Fatimah (1993) menyatakan bahwa semakin tinggi suhu pemanasan menyebabkan vakuola akan membuka sehingga memudahkan senyawa aktif keluar dari sel terutama polifenol. Hal ini didukung oleh Yulianti (2014) yang mengatakan semakin lama perebusan maka senyawa flavonoid yang terkandung juga semakin menurun. Penurunan aktivitas antioksidan tersebut disebabkan oleh berkurangnya senyawa metabolit sekunder yang dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan. Ekstrak air

rebusan benalu jengkol dapat menghambat pertumbuhan mikroba dengan merusak membran dan dinding sel bakteri. Proses degradasi yang dihasilkan dari perebusan menyebabkan kerusakan cepat pada dinding sel dan membran plasma, yang memungkinkan air menembus dinding sel dan vakuola, kemudian melarutkan senyawa metabolit sekunder (Syaifuddin, 2015).

Ekstrak rebusan segar daun benalu jengkol lebih tinggi dibandingkan ekstrak rebusan kering. Pada proses pengeringan tidak dilakukan di bawah sinar matahari karena di duga akan merusak senyawa dalam daun benalu jengkol tersebut. Lamanya waktu pengeringan dapat menyebabkan senyawa aktif yang terkandung didalamnya juga semakin menurun (Saragih, 2014). Saat perebusan daun benalu, air akan berdifusi ke dalam sel karena dinding sel dan membran plasma terdegradasi (Aisyah, 2014).



Gambar 5. Daerah zona hambat mikroba beberapa ekstrak daun *Scurrula ferruginea* pada tanaman Jengkol terhadap *C. albicans*.

Keterangan: (S) Ekstrak benalu segar, (RB) Ekstrak rebusan segar, (RK) Ekstrak rebusan kering, (SB) Ekstrak seduhan segar, (SK) Ekstrak seduhan kering

Pada mikroba uji *C. albicans* ekstrak daun benalu jengkol tidak mampu menghambat pertumbuhan *C. albicans* sehingga tidak terbentuk zona hambat. Hal ini dikarenakan struktur dinding sel pada *C. albicans* lebih kompleks sehingga senyawa yang terkandung pada ekstrak benalu jengkol sulit ditembus oleh senyawa asing. Hal

ini didukung oleh pendapat Rijayanti (2014) menyatakan bahwa struktur dinding sel *C. albicans* yaitu glucans, kitin, monoprotein lemak dan garam organik sehingga *C. albicans* memiliki tingkat permeabilitas yang tinggi yang menyebabkan ekstrak benalu jengkol sulit untuk menembus dinding sel.

Aktivitas antimikroba beberapa ekstrak benalu jengkol terhadap *S. aureus* dan *E. coli* masih rendah apabila dibandingkan dengan kontrol positif Kloramfenikol 0,1 mg. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif pada uji aktivitas antibakteri yang merupakan antibiotik berspektrum luas. Kloramfenikol dapat menghambat sintesis protein bakteri pada ribosom dan dapat menghambat enzim peptidil transferase sehingga ikatan peptide tidak dapat terbentuk pada proses sintesis protein bakteri (Gunawan, 2009). Aktivitas antimikroba beberapa ekstrak benalu jengkol terhadap *Candida albicans* masih lebih rendah apabila dibandingkan dengan kontrol positif fluconazole 0,1 mg. Fluconazole mempunyai aktivitas sebagai antifungi baik sistemik maupun nonsistemik yang efektif terhadap *C. albicans*. Fluconazole merupakan agen antifungi yang efektif dalam pengobatan candidiasis local dan sistemik (Martin, 1999).

4.2 Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai nilai KHM dan KBM dengan metode dilusi pada ekstrak segar benalu jengkol didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 2. Nilai KHM dan KBM dari Ekstrak Segar Benalu jengkol Terhadap mikroba uji.

No	Mikroba Uji	Nilai KHM (%)	Nilai KBM (%)
1	<i>E. coli</i>	6,25	12,5

2	<i>S. aureus</i>	6,25	12,5
---	------------------	------	------

Berdasarkan tabel di atas didapatkan hasil bahwa ekstrak segar benalu *Scurrula ferruginea* mampu menghambat *E.coli* dan *S. aureus* dengan nilai Konsentrasi Hambat Minimum sebesar 6,25% dan mampu membunuh *E.coli* dan *S. aureus* dengan nilai Konsentrasi Hambat Minimum sebesar 12,5% Nilai KHM dapat dilihat dari konsentrasi terendah yang menunjukkan larutan tetap jernih setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Sedangkan KBM dilihat dari konsentrasi terendah dilihat dari hasil biakan yang tetap jernih setelah dibiakkan ke petri dan tidak terdapat pertumbuhan mikroba. Semakin rendah konsentrasi maka semakin tinggi tingkat kekeruhan pada tabung reaksi. Tinggi rendahnya konsentrasi senyawa antimikroba dapat menyebabkan semakin cepat sel mikroba mati. Semakin tinggi konsentrasi maka daya hambatnya juga semakin besar (Purwanto, 2016).

Pada metode difusi, ekstrak daun *Scurrula ferruginea* pada tanaman jengkol tidak menghasilkan zona hambat pada *C. albicans* sehingga tidak dilakukan uji dilusi, sedangkan ekstrak segar daun *Scurrula ferruginea* pada tanaman jengkol dapat membentuk zona hambat terbesar terhadap *S. aureus* dan *E. coli* daripada ekstrak rebusan kering, rebusan segar, seduhan kering dan seduhan segar sehingga ekstrak segar dilanjutkan uji dilusi. Setelah dilakukan uji dilusi membuktikan bahwa kemampuan ekstrak segar daun *Scurrula ferruginea* pada tanaman jengkol dapat menghambat mikroba uji pada konsentrasi 6,25% dan dapat membunuh mikroba uji pada konsentrasi 12,5%. Pada sampel segar terdapat kandungan senyawa aktif pada ekstrak daun benalu jengkol yang berperan sebagai antimikroba. Menurut Ferdinal *et*

al. (2015) menyatakan bahwa *Scurrula ferruginea* pada tanaman jengkol mengandung metabolit sekunder seperti fenolik, steroid dan alkaloid.

4.3 Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-Difenil - 2 - Pikrilhidrazil) dan Total Polifenol

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai uji total polifenol serta aktivitas antioksidan ekstrak segar daun benalu jengkol dengan metode peredaman radikal bebas DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil) didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 3. Aktivitas Antioksidan (Nilai IC50) dan Total Polifenol dari Ekstrak Daun Benalu Jengkol.

No	Ekstrak	Aktivitas Antioksidan ($\mu\text{g/mL}$)	Polifenol (mgGAE/mL)
1.	Segar Daun	101,26	20,77

Berdasarkan Tabel 3 didapatkan hasil bahwa nilai aktifitas antikosidan pada perlakuan segar tergolong sedang dengan nilai sebesar 101,26 $\mu\text{g/mL}$ artinya ekstrak segar benalu jengkol mampu mengoksidasi radikal bebas DPPH. IC50 digunakan sebagai parameter dalam penentuan aktivitas antioksidan. Setiawan *et al.*, (2018) menyatakan bahwa IC50 merupakan konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menangkap radikal DPPH sebanyak 50% dimana semakin kecil nilai IC50 maka semakin kuat aktivitas antioksidan. Semakin tinggi nilai IC50 maka aktivitas antioksidannya semakin kuat, dan semakin rendah nilai IC50 maka aktivitas antioksidannya semakin lemah. Hal ini didukung oleh Molyneux (2004) dimana nilai IC50 kurang dari 50 ppm tergolong sangat kuat, 50 ppm – 100 ppm tergolong kuat,

100 ppm sampai 150 ppm tergolong sedang, 150 ppm sampai 200 ppm tergolong lemah.

Analisis aktivitas antioksidan pada ekstrak segar benalu jengkol dengan metode DPPH, vitamin c sebagai kontrol positif yang digunakan sebagai pembanding karena vitamin c berperan sebagai antioksidan sekunder. Mekanisme senyawa antioksidan dalam meredam radikal bebas DPPH dengan cara mendonorkan atom hydrogen akibatnya terjadi perubahan warna dari ungu menjadi (Molyneux, 2004). Aktivitas antioksidan dapat dinyatakan dalam nilai Inhibition Concentration (IC50) artinya konsentrasi yang dapat meredam atau menangkap radikal bebas sebanyak 50%.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Ferdinal *et al.*, (2019) mengenai aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dari ekstrak daun benalu jengkol *Scurrula ferruginea* (Jack) Danser yang mengatakan bahwa nilai konsentrasi inhibisi (IC50) dari ekstrak methanol daun benalu jengkol sebesar (141,7723 mg/L) yang tergolong sedang antioksidan. Perbedaan dari nilai aktivitas antioksidan tersebut dipengaruhi oleh factor geografis, genetic, kondisi iklim, sumber benih tanaman dan kesuburan tanah yang bisa mempengaruhi kandungan dari tanaman tersebut (Ghiridhari *et al.*, 2011). Faktor lingkungan juga dapat mempengaruhi suatu tanaman dari bentuk morfologi dan fisiologisnya. Hal ini dapat mengakibatkan kandungan dari senyawa metabolit sekunder yang ditanam di wilayah tersebut berbeda.

Berdasarkan Tabel 3 didapatkan hasil bahwa nilai polifenol pada perlakuan segar sebesar 20,77321 mgGAE/mL. Hal ini didukung oleh pendapat Shahidi dan

Marian (1995) pengujian total fenol untuk mengetahui hubungan antara aktivitas antioksidan dengan total kandungan fenolik, sehingga jika senyawa fenolik didalam sampel tinggi maka aktivitas antioksidannya akan kuat. Penentuan fenolik total dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi *Folin-Ciocalteu* dan asam galat sebagai pembandingnya.



BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan:

1. Aktivitas antimikroba beberapa ekstrak benalu *S. ferruginea* dari tanaman jengkol dapat menghambat pertumbuhan *S.aureus* dan *E.coli*, namun tidak dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans*.
2. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak segar daun benalu terhadap *S.aureus* dan *E.coli* yakni 6.25% dan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap *S.aureus* dan *E.coli* yakni 12.5%.
3. Metode ekstraksi terbaik ditunjukkan pada ekstrak segar benalu yang menghasilkan zona hambat terbesar pada mikroba uji *S.aureus* dan *E.coli*.
4. Nilai antioksidan didapatkan pada ekstrak segar benalu yaitu 101,26 µg/mL kategori sedang dengan kandungan total polifenol yaitu 20,77321 mgGAE/mL.

5.2 Saran

Untuk mendapatkan hasil yang terbaik, sebaiknya dilakukan perlakuan lebih lanjut seperti variasi konsentrasi untuk benalu *Scurrula ferruginea* (Roxb.ex Jack) Danser tanaman jengkol pada penelitian selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, Bahar. 2007. *Chemistry Of Natural Products*. New Delhi: Departemen of Pharmaceutical Chemistry of Science. Jamia Hamdard.
- Aisyah, Y., Rasdiansyah., Muhaimin. 2014. Pengaruh Pemanasan Terhadap Aktivitas Antioksidan Pada Beberapa Jenis Sayuran, Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*.
- Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. 2013. Review On In Vivo and In Vitro Methods Evaluation of Antioxidant Activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 143-152.
- Ameer, O. Z., I. M. Salman, K. J. Quek, dan M. Z. Asmawi. 2015. *Loranthus ferrugineus*: a mistletoe from traditional uses to laboratory bench. *Journal of Pharmacopuncture*. 7–18.
- Arifa, N. and P. Periadnadi. 2018. Antimicrobial Activity Of Fresh Extract Sikaduduak (*Melastoma malabathricum* Linn.). *Metamorfosa: Journal Of Biological Sciences*. 165-170.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 71–79.
- Denyer, S.P., Hodges, N., Gorman, S.P., dan Gilmore, B.F., 2011. *Hugo and Russell's Pharmaceutical Microbiology*. John Wiley & Sons.
- Dhianawaty, D., & Ruslin. 2015. Kandungan Total Polifenol dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Akar *Imperata cylindrica* (L) Beauv. (Alangalang). *Majalah Kedokteran Bandung*, 47(1), 60–64.
- Fatimah, T. 1993. *Budidaya Tanaman Teh (Camellia sinensis (L) O. Kuntze)*. Politeknik Pertanian, Universitas Jember: Jember.
- Ferdinal, N., Adlis, S., Alldila, R. S. 2017. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder, Uji Aktivitas Antioksidan, dan Uji Fenolik Total dari Ekstrak Daun Benalu Jengkol (*Scurrula ferruginea* (Jack) Danser). *Jurnal Kimia Unand*.
- Garrity, G. M, J. A. Bell, Abelnd T. G. Lilburn. 2004. Taxonomic Outline Of The Prokaryotes. *Berge's Manual Of Systematic Bacteriology*. Spriner. New York.
- GBIF.2022.*Scurrula ferruginea*(Jack)Danser.<https://www.gbif.org/search?q=scurru%20ferruginea>. 11 Juni 2023.

- Ghiridhari A, Malhati D, Geetha K. 2011. Anti-Diabetic Properties of Drumstick (Moringa Oleifera) Leaf Tablets. *Journal Health Nutrition*. 2(1): 1–5.
- Gultom, Desi Kristina, Indah Saraswati dan Widyandani Sasikirana. 2021. Penetapan Kandungan Fenolik Total Dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanolik Kubis Ungu (*Brassica oleraceae var. capitata*. L.). *Journal of Research in Pharmacy*, vol 1(2) : 79-87.
- Gunawan, Sulistia Gan. 2009. *Farmakologi dan terapi*. Edisi V. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Indonesia, 2009.
- Halliwell, B. dan J.M.C. Gutteridge. 1989. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Clarendon Press, Oxford.
- Handayani, F., H. Warnida, S.J. Nur. 2016. Formulasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Streptococcus mutans Dari Sediaan Mouthwash Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.). *Media Sains*. Volume 9 Nomor 1.
- Haryati, Nur Aini, Chairul S., dan Erwin. 2015. Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal kimia Mulawarman*. 13(1).
- Hernani dan M. Rahardjo. 2006. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Ibrahim, A.M., Yunita, H.S. Feronika. 2015. Pengaruh Suhu Dan Lama Waktu Ekstraksi Terhadap Sifat Kimia Dan Fisik Pada Pembuatan Minuman Sari Jahe Merah Dengan Kombinasi Penambahan Madu Sebagai Pemanis. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*. 3 (2):530-541.
- Jawetz. E., Melnick, Adelberg. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Buku 1. Penerjemah bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Airlangga. Salemba Medika. Jakarta.
- Jawetz, E., J.L. Melnick dan E.A. Adelberg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Diterjemahkan oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E.B., Mertaniasih, N.M., Harsono, S., Alimsardjono, L. Edisi XXII. Salemba Medika. 327-335. 362363. Jakarta
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg's. 2007. *Medical Microbiology*. Edisi 24. USA: Mc Graw Hill.
- Jawetz., Melnick., dan Adelberg. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 23. Jakarta : EGC.

- Jiang, Z-H., Tanaka, T., Sakamoto, M., Jiang, T. & Kouno, I. 2001. Studies on Medicinal Plant: Lignans from the Stems of *Cynomorium songaricum*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 49(8): 1036 – 1038.
- Jumiarni W.O., dan Komalasari O. 2017. Eksplorasi jenis doan pemanfaatan tumbuhan obat pada masyarakat Suku Muna di Permukiman Kota Wuna. *Traditional Medicine Journal*.
- Kuntorini, Evi Mintowati dan Maria Dewi Astuti. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine Americana* Merr.). *Journal Sains dan Terapan Kimia*.
- Kusmiyati, K., & Agustini, N. W. S. 2007. Uji aktivitas senyawa antibakteri dari mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Jurnal Biodiversitas*, 8, 48–53.
- Lingga, A. R., U. Pato & Rossi, E. 2016. Uji antibakteri ekstrak batang kecombrang (*Nicolaia speciosa* horan) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Online Mahasiswa Faperta*. 3(1), 1-15.
- Lim, Y., C.R. Rajabalaya, S.H.F. Lee, K.U. Tennakon, Q.V. Le, A. Idris, I.N. Zulkipli, N. Keasbery, dan S.R. David. 2016. Parasitic Mistletoes of the Genera *Scurrula* and *Viscum*: From Bench to Bedside. *Molecules of journal*. 21(8) : 1-6.
- Madduliri, Suresh, Rao, K. Babu. Sitaram, B. 2013. In vitro evaluation of five Indegenous plants extract Againts five bacterial Phatogens of Human. *International Journal of Pharmacy and Phrmaceutical Science* 5(4) : 679-684.
- Marfuah, Isnaini., Eko Nurcahya Dewi., Laras Rianingsih. 2018. Kajian Potensi Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*.
- Martin, M.V.1999. The use of fluconazole and itraconazole in the treatment candida albicans infections: a review, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, (44) : 429-437.
- Marvibaigi, M., Amini, N., Supriyanto, E., Jamil, S., Abdul Majid, F. A., & Khangholi, S. 2014. Total phenolic content, antioxidant and antibacterial properties of *Scurrula ferruginea* extracts. *Jurnal Teknologi*. 65–72.
- Maxiselly, Y., Ismail, A., Rosniawaty, S., dan Anjarsari, I. R. D. 2015. Skrining Fitokimia Cangkang dan Kulit Batang Tanaman Jengkol Asal Ciamis Jawa

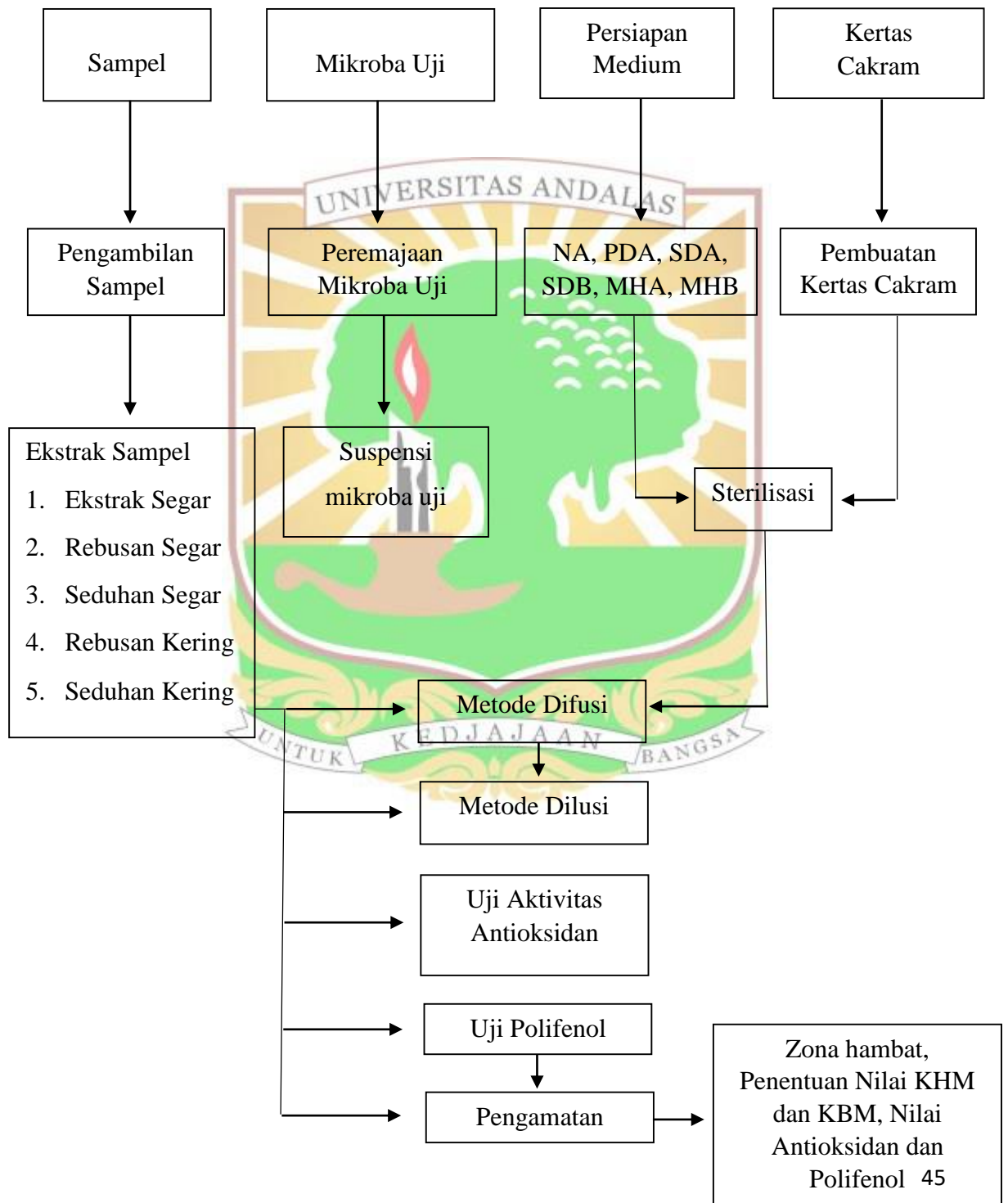
- Barat sebagai Inisiasi Obat Diabetes Mellitus Berbahan Alam. *Jurnal Kultivasi* 14(2): 71-74.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26: 211 – 219.
- Morello, J.A., P.A. Granato. and H.E. Mizer. 2003. *Laboratory Manual and Workbook in Microbiology*. 7 th Edition. The McGraw-Hill Company. New York.
- Mueller, E., A. Breukink, E. Vollmer, and P. A. Levin. 2019. Plasticity of *Escherichia coli* cell wall metabolism promotes fitness and antibiotic resistance across environmental conditions. *Microbiology and Infectious Disease*. E-life research communication.
- Murray RK, Granner D, Mayes PA, Rodwell VW. 1996. *Harper's Biochemistry*. 25th Ed. Appleton & Lange.
- Mutmainnah, N., Siti, C. dan Muh, Q. 2018. Penentuan Suhu Dan Waktu Optimum Penyeduhan Batang Teh Hijau (*Camelia sinensis* L.) Terhadap Kandungan Antioksidan Kafein, Tanin Dan Katekin. *Lantanida Journal*, Vol. 6 No. 1 (2018) 1-102 6 (1): 1–11.
- Mycobank. 2022. *Candida albicans* (C. P. Robin) Berkhout 1923 pada <https://www.mycobank.org/page/Name%20details%20page/106232>. 11 Juni 2023
- Parrilla, A.E., L.A. de-la Rosa., N.R. Martinez and G.A.G. Aguilar. 2007. *Total Phenols and Antioxidant Activity Of Commercial and Wild Mushrooms From Chihuahua, Mexico : journal of somenta*.
- Pelezar, M. J., and E.C.S. Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Pelezar MJ, Chan ESC. 2008. *Dasar- dasar Mikrobiologi 2*. Ratna SH dkk, penerjemah: Jakarta: UI Pr. Terjemahan dari: Elements of Microbiology.
- Poeloengan, Masniari dan Andriani. 2017. Kandungan Senyawa Aktif dan Daya Antibakteri Daun Sambung Darah. *Jurnal Veteriner*.
- Pratt, D. E. 1992. Natural Antioxidants From Plant Material. di dalam : M.T. Huang, C. T. Ho, dan C.Y. Lee, Editor. *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health*. American Society, Washington DC.

- Purwantiningsih, T. I., Yustina Y. S., dan Widodo. 2014. Aktivitas Senyawa Fenol Dalam Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Sebagai Antibakteri Alami Untuk Penghambatan Bakteri Penyebab Mastitis. *Buletin Peternakan*, 38(1).
- Purwanto, Budhi, N.S. 2016. *Obat Herbal Andalan Keluarga*. Yogyakarta: Flashbook. Hal. 12.
- Putri, Oktavina Kartika, dan Wahyu wuryandari. 2018. Efek suhu Penyeduhan Daun Tin (*Ficus Carica*) Segar Dan Kering Terhadap Kadar fenolik total. *Jurnal Teknologi Pangan* 12 (2): 1-6.
- Radji, Maksum. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. EGC. Jakarta
- Rice Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine*. Vol. 20, No. 7, pp. 933-956.
- Rijayanti, R.P. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera feotida* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara in-Vitro. *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjung Pura*. Pontianak.
- Saragih, Reskita. 2014. Uji Kesukaan Panelis Pada Teh Daun Torbangun (*Coleus amboinicus*). *Jurnal Kesehatan dan Lingkungan*.1(1): 46-52.
- Sardi, J.C.O., Scorzoni, L., Bernardi, T., Fusco- Almeida, A.M., dan Mendes Giannini, M. J. S. 2013. Candida Species: Current Epidemiology, Pathogenicity, Biofilm Formation, Natural Antifungal Products And New Therapeutic Options, *Journal of Medical Microbiology*, 62, hal 10–24.
- Sari, Harummi., Nursyahra., Lince Meriko. 2017. Jenis-Jenis Tumbuhan Obat Yang Digunakan Masyarakat Untuk Pengobatan Tradisional Di Nagari Panyakalan Kecamatan Kubung Kabupaten Solok. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa STKIP PGRI Sumbar*.
- Satiova, I.R., Periadnadi dan Nurmiati. 2017. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Segar Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi* L.) Terhadap *Candida albicans* (R.) Berkhout, *Staphylococcus aureus* Rosenbach dan *Escherichia coli* Castellani and Chalmers (Migula). *Prosiding Semirata 2017 Bidang MIPA BKS-PTN Wilayah Barat*. Universitas Jambi.
- Sedjati S., Suryono, Santosa A., Supriyantini E. dan Ridlo A. 2017. Aktivitas antioksidan dan kandungan senyawa fenolik makroalga coklat *Sargassum* sp. *Jurnal Kelautan Tropis*, Vol. XX, No. 2:117-123.

- Setiawan, F., Yunita, O., and Kurniawan, A. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *Media Pharm. Indonesia.*, vol. 2, no. 2, pp. 82–89.
- Shahidi, F. and N. Marian. 1995. *Food Phenolics, Sources Chemistry Effects Applications Technomic. Publ.*, Lancaster, Basel.
- Silalahi, J. 2006. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius. Hal. 38- 55.
- Sudarmanto I. dan Suhartati T. 2015. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid pada kulit akar tanaman ara. *Jurnal Kesehatan, Vol. VI, No. 2:137-141*.
- Suhartono E., Fujiati dan Aflanie I. 2002. Oxygen toxicity by radiation and effect of glutamic piruvat transamine (GPT) activity rat plasma after vitamine C treatment. Makalah Seminar on Enviromental Chemistry and Toxicology. Yogyakarta. 7 Maret 2002.
- Syaifuddin. 2015. *Uji Aktifitas Antioksidan Bayam Merah (Alternanthera amoena voss.) segar dan rebus dengan metode DPPH*. UIN Walisongo.
- Thomas, G and de Chimie, P. 2000. *Medicinal Chemistry: An Introduction*; John Wiley & Sons: West Sussex, UK.
- Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. UMM Press. Malang.
- Yulianti, Rizki., A. Amaliah Dahlia dan Aktsar Roskiana Ahmad. 2014. Penetapan Kadar Flavonoid Total Dari Ekstrak Etanolik Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra* L.Miq). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*.
- Zheng, L, Bae, Y, M, Jung, K, S, Heu, S, Lee, S, Y. 2013. Antimicrobial activity of natural antimicrobial substances against spoilage bacteria isolated from fresh produce. *Food Control*. 32(2):665-672

LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja



Lampiran 2. Uji Analisis Sidik Ragam (ANOVA) Zona Hambat Mikroba dari Beberapa Ekstrak terhadap Mikroba Uji

Aktivitas Antimikroba Beberapa Ekstrak Daun Benalu (*Scurrula ferruginea* (Roxb. ex Jack) Danser) dari Tanaman Jengkol Terhadap Mikroba Uji

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-Rata
	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III		
A1B1	10,79	11,63	12,95	35,37	11,79
A1B2	7,05	6,64	6,95	20,64	6,88
A1B3	7,75	7,88	7,92	23,55	7,85
A1B4	6,23	6,2	6,19	18,62	6,26
A1B5	9,13	8,57	9,1	26,7	8,9
Jumlah A1			124,88		
Rata-Rata A1			8,32		
A2B1	14,12	14,91	14,87	43,9	14,63
A2B2	7,95	7,62	7,49	23,06	7,68
A2B3	9,35	10,01	9,27	28,63	9,54
A2B4	6,35	6,33	6,2	18,88	6,29
A2B5	9,69	11,22	10,15	31,06	10,35
Jumlah A2			145,53		
Rata-rata A2			9,702		
A3B1	6,00	6,00	6,00	18	6
A3B2	6,00	6,00	6,00	18	6
A3B3	6,00	6,00	6,00	18	6
A3B4	6,00	6,00	6,00	18	6
A3B5	6,00	6,00	6,00	18	6
Jumlah A3			90		
Rata-rata A3			6		

Analisis Sidik Ragam

1. Jumlah total

$$= \sum \sum Y_{ijr}$$

$$= 10,79 + 11,63 + \dots + 6,00$$

$$= 360,41$$

2. Total Kuadrat Observasi (TKO)

$$\begin{aligned}
&= \sum \sum Y_{ij}^2 \\
&= 10,79^2 + 11,63^2 + \dots + 6,00^2 \\
&= 3175,0925
\end{aligned}$$

3. Total Kuadrat B (TKB)

$$\begin{aligned}
&= \sum (\sum Y_{ij})^2 / r \\
&= 35,37^2 + 20,64^2 + \dots + 18^2 / 3 \\
&= 3170,3573
\end{aligned}$$

4. Total Kuadrat B dalam A1 (TKB1)

$$\begin{aligned}
&= (\sum Y_{ij})^2 / r \\
&= (35,37^2 + 20,64^2 + 23,55^2 + 18,62^2 + 26,7^2) / 3 \\
&= 1097,081133
\end{aligned}$$

5. Total Kuadrat B dalam A2 (TKB2)

$$\begin{aligned}
&= (\sum Y_{ij})^2 / r \\
&= (43,9^2 + 23,06^2 + 28,63^2 + 18,88^2 + 31,06^2) / 3 \\
&= 1533,276167
\end{aligned}$$

6. Total Kuadrat B dalam A3 (TKB3)

$$\begin{aligned}
&= (\sum Y_{ij})^2 / r \\
&= (18^2 + 18^2 + 18^2 + 18^2 + 18^2) / 3 \\
&= 540
\end{aligned}$$

7. Total Kuadrat A (TKA)

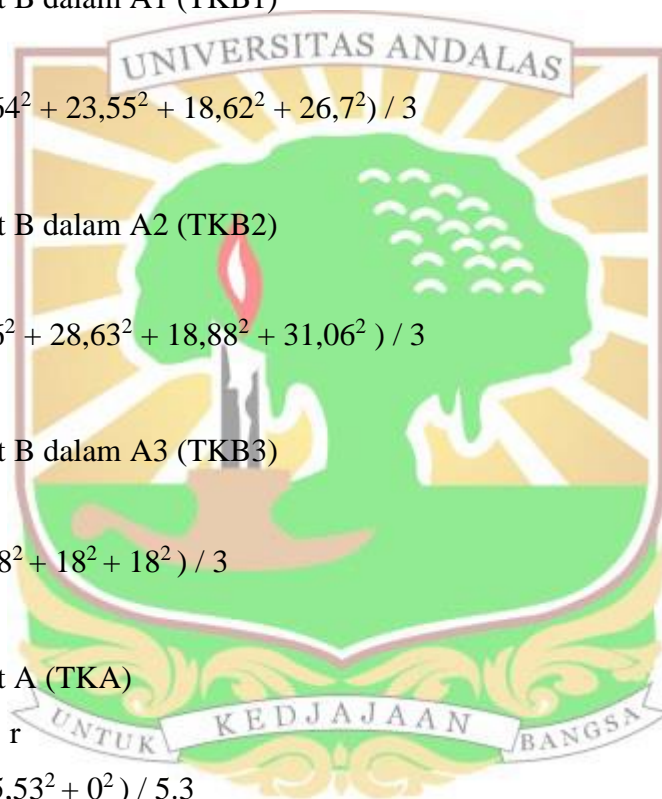
$$\begin{aligned}
&= \sum (\sum Y_{ij})^2 / b \cdot r \\
&= (124,88^2 + 145,53^2 + 0^2) / 5 \cdot 3 \\
&= 2991,599687
\end{aligned}$$

8. Total Kuadrat A1 (TKA1)

$$\begin{aligned}
&= (\sum Y_{ij})^2 / b \cdot r \\
&= 124,88^2 / 5 \cdot 3 \\
&= 1039,667627
\end{aligned}$$

9. Total Kuadrat A2 (TKA2)

$$= (\sum Y_{ij})^2 / b \cdot r$$



$$= 145,53^2 / 5.3$$

$$= 1411,93206$$

10. Total Kuadrat A3 (TKA3)

$$= (\sum Y_{ij})^2 / b. r$$

$$= 0^2 / 5.3$$

$$= 540$$

11. Faktor Koreksi (FK)

$$= (\sum \sum Y_{ijr})^2 / a.b.r$$

$$= 360,41^2 / 3. 5. 3$$

$$= 2886,563736$$

12. Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$= TKO - FK$$

$$= 3175,0925 - 360,41$$

$$= 1010,168764$$

13. Jumlah Kuadrat A (JKA)

$$= TKA - FK$$

$$= 2991,599687 - 360,41$$

$$= 826,6759511$$

14. Jumlah Kuadrat B dalam A (JKB)

$$= TKB - TKA$$

$$= 3170,3573 - 2991,599687$$

$$= 178,7576133$$

15. Jumlah Kuadrat B dalam A1

$$= TKB1 - TKA1$$

$$= 1097,081133 - 1039,667627$$

$$= 57,41350667$$

16. Jumlah Kuadrat B dalam A2

$$= TKB2 - TKA2$$

$$= 1533,276167 - 1411,93206$$



$$= 121,3441067$$

17. Jumlah Kuadrat B dalam A3

$$= \text{TKB3} - \text{TKA3}$$

$$= 540 - 540$$

$$= 0$$

18. Jumlah Kuadrat Galat (JKG)

$$= \text{TKO} - \text{TKB}$$

$$= 3175,0925 - 3170,3573$$

$$= 4,7352$$

19. Derajat Bebas A (db A)

$$= a - 1$$

$$= 3 - 1$$

$$= 2$$

20. Derajat Bebas B (db B)

$$= a(b - 1)$$

$$= 3(5 - 1)$$

$$= 12$$

21. Derajat Bebas B dalam A1

$$= b - 1$$

$$= 5 - 1$$

$$= 4$$

22. Derajat Bebas B dalam A2

$$= b - 1$$

$$= 5 - 1$$

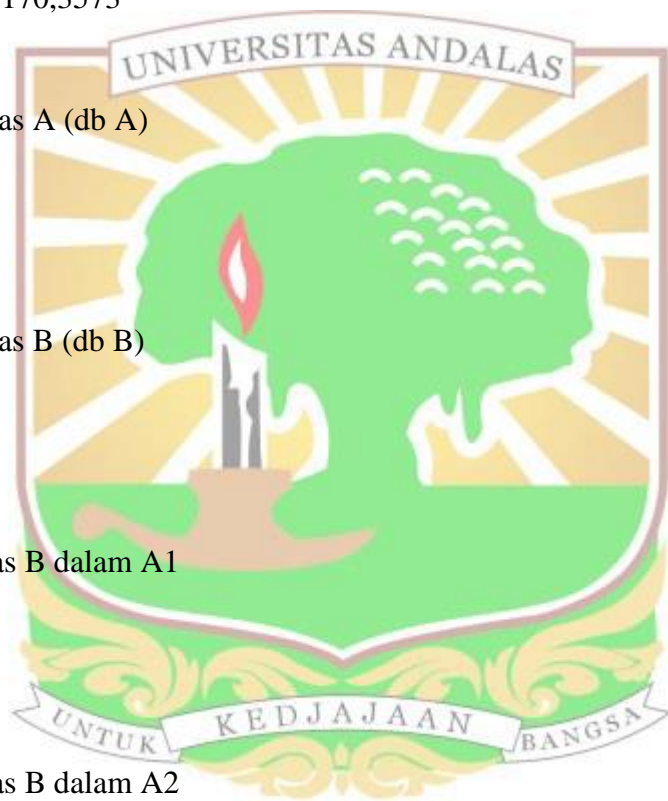
$$= 4$$

23. Derajat Bebas B dalam A3

$$= b - 1$$

$$= 5 - 1$$

$$= 4$$



24 Derajat Bebas B Galat (db G)

$$= a.b (r - 1)$$

$$= 3. 5 (3-1)$$

$$= 30$$

25 Derajat Bebas Total (db T)

$$= (a.b.r) - 1$$

$$= (3. 5. 3) - 1$$

$$= 44$$

26 Kuadrat Tengah A (KTA)

$$= JKA / db A$$

$$= 105,0359511 / 2$$

$$= 52,51797556$$

27 Kuadrat Tengah B (KTB)

$$= JKB / db B$$

$$= 178,7576133 / 12$$

$$= 14,89646778$$

28 Kuadrat Tengah B dalam A1

$$= JKB dalam A1 / db B dalam A1$$

$$= 57,41350667 / 4$$

$$= 14,35337667$$

29 Kuadrat Tengah B dalam A2

$$= JKB dalam A2 / db B dalam A2$$

$$= 121,3441067 / 4$$

$$= 30,33602667$$

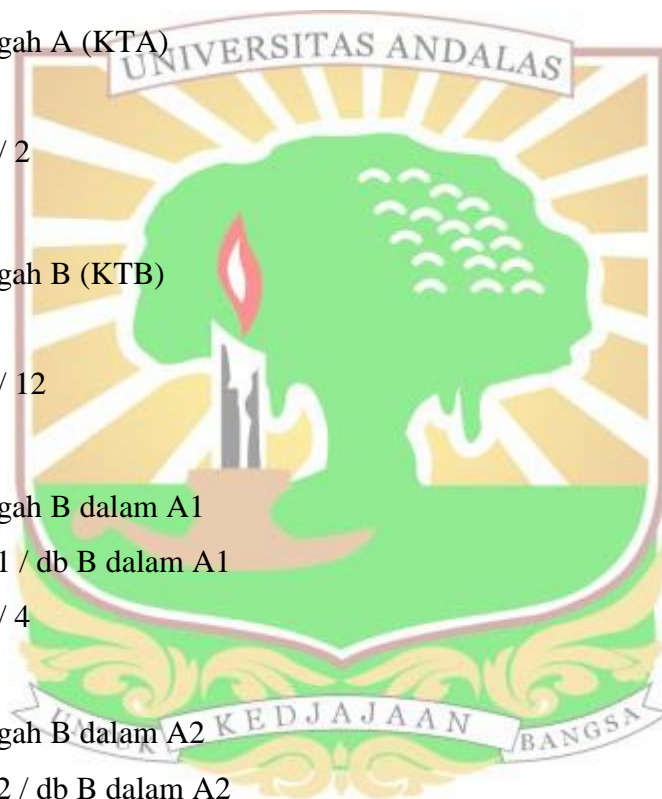
30 Kuadrat Tengah B dalam A3

$$= JKB dalam A3 / db B dalam A3$$

$$= 0 / 4$$

$$= 0$$

31 Kuadrat Tengah Galat (KTG)



$$= JKG / db G$$

$$= 4,7352 / 30$$

$$= 0,15784$$

32 F Hitung A

$$= KTA / KTB$$

$$= 52,51797556 / 14,89646778$$

$$= 3,525532115$$

33 F Hitung B

$$= KTB / KTG$$

$$= 14,89646778 / 0,15784$$

$$= 94,37701329$$

34 F Hitung B dalam A1 = KTB dalam A1 / KTG

$$= 57,1918 / 0,15784$$

$$= 14,35337667$$

35 F Hitung B dalam A2 = KTB dalam A2 / KTG

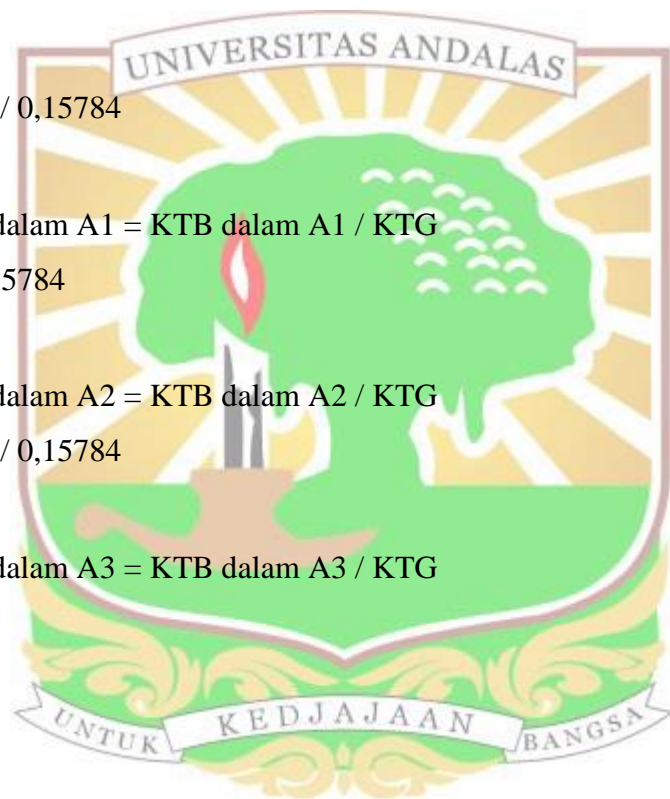
$$= 30,33602667 / 0,15784$$

$$= 192,1947964$$

36 F Hitung B dalam A3 = KTB dalam A3 / KTG

$$= 0 / 0,15784$$

$$= 0$$



Analisis Sidik Ragam Zona Hambat Mikroba Uji (*S. aureus*, *E. coli* dan *C. albicans*) pada Masing-Masing Perlakuan

SK	DB	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Faktor A	2	105,035	52,517	3,52553*	3,32
Faktor B	12	178,757	14,896	94,377*	2,09
Faktor B dalam A1	4	57,413	14,353	90,9362*	2,69
Faktor B dalam A2	4	121,344	30,336	192,195*	2,69
Faktor B dalam A3	4	0	0	0	2,69
Galat	30	4,7352	0,15784		
Total	44	288,528764			

Keterangan: * = Berbeda nyata

Uji lanjut perlakuan

Duncan's multiple range test (DMRT)

$$Sd = \sqrt{KTG / r.a}$$

$$= \sqrt{0,15784 / 3.3}$$

$$= 0,132430275$$

1. Daftar Nilai SSR dan LSR 5% (LSR 5% = SSR x Sd)

Perlakuan	SSR	LSR 5%
2	2,89	0,38
3	3,03	0,40
4	3,13	0,41
5	3,2	0,42

2. Faktor B dalam A1 (*E. coli*)

Perlakuan	Rata-rata	B1	B5	B3	B2	B4	LSR%	Notasi
B1	11,79	-						a
B5	8,90	2,89*	-				0,38	b
B3	7,85	3,94*	1,05*	-			0,40	c
B2	6,88	4,91*	2,02*	0,97*	-		0,41	d
B4	6,21	5,58*	2,69*	1,64*	0,67*	-	0,42	e

Keterangan: * = Berbeda nyata

Faktor B dalam A2 (*S. aureus*)

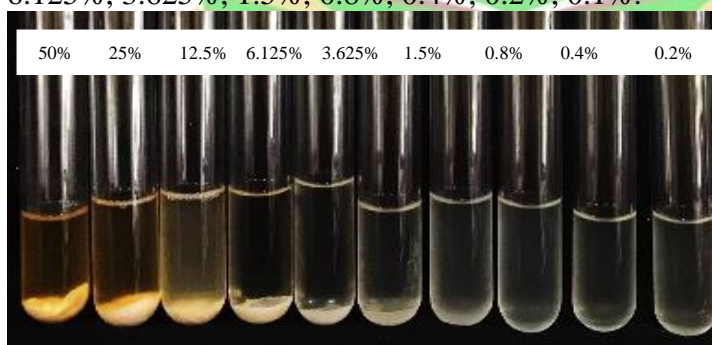
Perlakuan	Rata-rata	B1	B5	B3	B2	B4	LSR%	Notasi
B1	14,63	-						a
B5	10,35	4,28*	-				0,38	b
B3	9,54	5,09*	0,81*	-			0,40	c
B2	7,69	6,95*	2,67*	1,86*	-		0,41	d
B4	6,29	8,34*	4,06*	3,25*	1,39*	-	0,42	e

Keterangan: * = Berbeda nyata

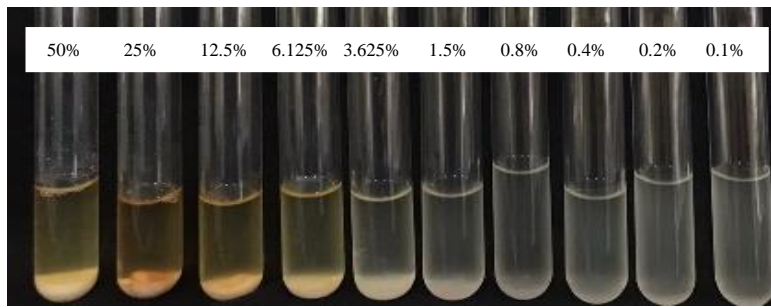
Lampiran 3. Nilai KHM dan KBM Ekstrak Segar Terhadap Mikroba Uji dengan Beberapa Konsentrasi

Konsentrasi	Kekeruhan	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
50%	Jernih	Jernih
25%	Jernih	Jernih
12,5%	Jernih	Jernih
6,25%	Jernih	Jernih
3,125%	Keruh	Keruh
1,6%	Keruh	Keruh
0,8%	Keruh	Keruh
0,4%	Keruh	Keruh
0,2%	Keruh	Keruh
0,1%	Keruh	Keruh

- a. Uji Dilusi Ekstrak Segar Terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 50%, 25%, 12.5%, 6.125%, 3.625%, 1.5%, 0.8%, 0.4%, 0.2%, 0.1%.

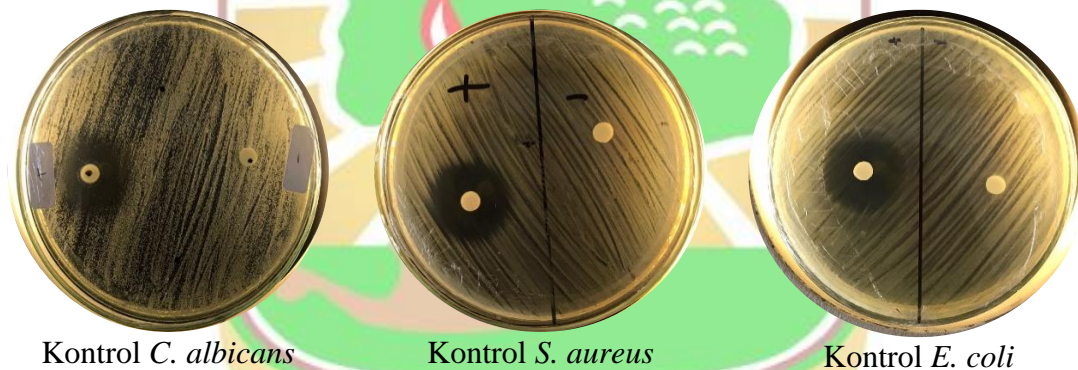


- b. Uji Dilusi Ekstrak Segar Terhadap *E. coli* pada konsentrasi 50%, 25%, 12.5%, 6.125%, 3.625%, 1.5%, 0.8%, 0.4%, 0.2%, 0.1%.



Lampiran 4. Daerah Zona Hambat Mikroba Uji dari Perlakuan Kontrol

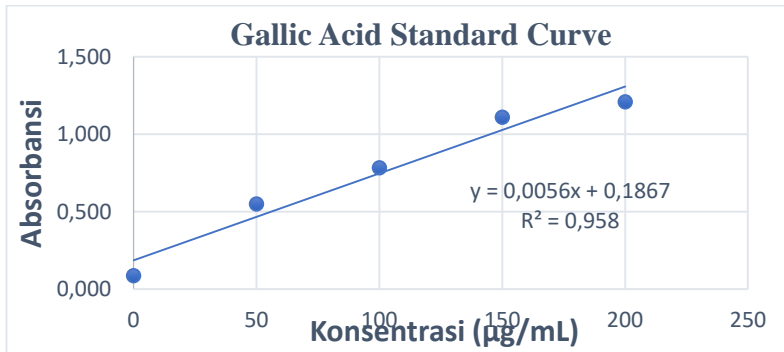
Perlakuan	Diameter zona hambat mikroba (mm)		
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
kontrol positif	22,33	24,42	20,9
Kontrol negatif	-	-	-



Lampiran 5. Penentuan Polifenol masing-masing Ekstrak *Scurrula ferruginea* pada Tanaman Jengkol

a. Gallic acid standard

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi pengukuran			rata-rata	Absorbansi Asam Galat
	1	2	3		
0	0,082	0,064	0,114	0,087	0,087
50	0,524	0,530	0,596	0,550	0,550
100	0,724	0,830	0,796	0,783	0,783
150	1,120	1,100	1,110	1,110	1,110
200	1,220	1,210	1,200	1,210	1,210



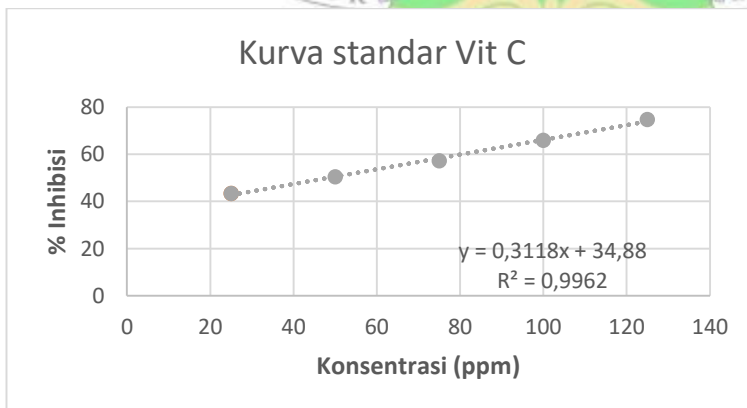
b. Total Kandungan Polifenol Benalu Jengkol

Perlakuan	Absorbansi pengukuran			rata-rata	Absorbansi Sampel	KTFe (mgGAE/mL ekstrak)
	1	2	3			
Segar	1,240	1,560	1,250	1,350	1,350	20,77321

Lampiran 6. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Benalu Jengkol dan Standar Vit C

a. Vit C standar

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi pengulangan			Rata-rata	Absorbansi sampel	% Inhibisi	IC50 (µg/mL)
	1	2	3				
25	0,181	0,183	0,178	0,181	0,181	43,36	
50	0,152	0,165	0,158	0,158	0,158	50,37	
75	0,135	0,143	0,132	0,137	0,137	57,16	48,49
100	0,105	0,109	0,113	0,109	0,109	65,83	
125	0,075	0,085	0,083	0,081	0,081	74,61	



b. Uji Antioksidan Sampel Daun segar Benalu Jengkol

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi pengulangan			Rata- rata	Absorbansi sampel	% Inhibisi	IC50 ($\mu\text{g/mL}$)
	1	2	3				
25	0,252	0,265	0,279	0,265	0,265	16,82	
50	0,220	0,201	0,225	0,215	0,215	32,50	
75	0,211	0,200	0,201	0,204	0,204	36,05	101,26
100	0,172	0,150	0,149	0,157	0,157	50,78	
125	0,137	0,131	0,120	0,129	0,129	59,46	

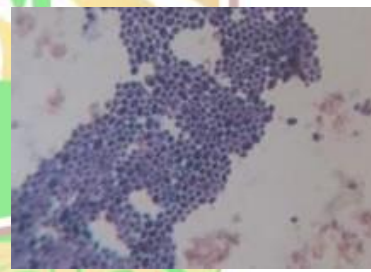
Lampiran 7. Karakteristik Antioksidan Berdasarkan Nilai IC50 dengan Metode DPPH (Molyneux, 2004).

Intensitas	Sangat kuat	Kuat	Sedang	Lemah
IC ₅₀	< 50 $\mu\text{g/ml}$	50 - 100 $\mu\text{g/ml}$	101-150 $\mu\text{g/ml}$	>150 $\mu\text{g/ml}$

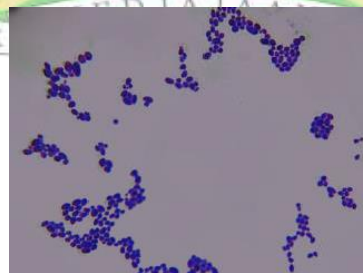
Lampiran 8. Mikroba uji yang digunakan



(*E.coli*)



(*C. albicans*)



(*S. aureus*)