

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT
PETAI (*Parkia speciosa* Hassk.) BERDASARKAN PERBEDAAN JENIS
PELARUT**



SKRIPSI

**OLEH
CHRISNANDA MAFIANA
16690014**

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS TEKNIK DAN INFORMATIKA
UNIVERSITAS PGRI SEMARANG**

2022

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT
PETAI (*Parkia speciosa Hassk.*) BERDASARKAN PERBEDAAN JENIS
PELARUT**



SKRIPSI

**OLEH
CHRISNANDA MAFIANA
16690014**

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS TEKNIK DAN INFORMATIKA
UNIVERSITAS PGRI SEMARANG
2022**

HALAMAN PERSETUJUAN

SKRIPSI

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT
PETAJ (*Parkia speciosa Hassk.*) BERDASARKAN PERBEDAAN JENIS
PELARUT**

**OLEH
CHRISNANDA MAFIANA
NPM 16690014**

telah disetujui oleh pembimbing untuk dilanjutkan di hadapan dewan
penguji tanggal 18 Agustus 2022

Pembimbing Utama



Faya Nurdyansyah, S.T.P., M.Sc.
NPP. 158901487

Pembimbing Pendamping



Dr. Pi. Rizky Muliani Dwi Ujianti M.Si
NPP. 148601435

HALAMAN PENGESAHAN
SKRIPSI

AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT
PETAI (*Parkia speciosa* Hassk.) BERDASARKAN PERBEDAAN JENIS
PELARUT


OLEH
CHRISNANDA MAFIANA
NPM 16690014

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji pada tanggal 19 Agustus 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat Dewan Penguji



Ketua
Dr. Slamet Supriyadi, M.Env.St.
NIP. 195912281986031003

Sekretaris



Fafa Nurdyansyah, S.T.P., M.Sc.
NPP. 158901487

Penguji I



Fafa Nurdyansyah, S.T.P., M.Sc.
NPP. 158901487

Penguji II



Dr.Pi. Rizky Muliani Dwi Ujianti M.Si
NPP. 148601435

Penguji III



Iffah Muflihahati, S.T.P., M.Sc
NPP. 0603038702

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Chrisnanda Mafiana

NPM : 16690014

Progdi : Teknologi Pangan

Fakultas : Teknik dan Informatika

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya buat ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan plagiarisme.

Apabila pada kemudian hari skripsi ini terbukti hasil plagiarisme, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Semarang, 18 Agustus 2022

Yang membuat pernyataan



Chrisnanda Mafiana

NPM 16690014

ABSTRAK

Petai (*Parkia speciosa Hassk.*) merupakan tumbuhan hutan yang banyak dijumpai di Indonesia. Selain buahnya, bagian tanaman petai yang memiliki potensi sebagai tanaman berkhasiat atau sebagai obat fungsional yaitu kulit petai. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui analisis fitokimia ekstrak kulit petai, analisis antioksidan, analisis fenol dan antibakteri dengan variasi jenis pelarut. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu jenis pelarut yang digunakan adalah methanol, etil asetat dan n-heksan. Tahapan penelitian yang digunakan adalah penelitian kuantitatif melalui dua tahap pengujian eskperimental di laboratorium. Tahap pengujian pertama yaitu pembuatan ekstrak kulit petai kemudian tahap kedua dilakukan pengujian meliputi rendemen, analisis fitokimia, total fenol, aktivitas antibakteri dan aktivitas antioksidan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan tertinggi berdasarkan % inhibisi yaitu 22,8 pada variasi pelarut etil asetat. Total fenol terbesar terdapat di ekstrak kulit petai dengan variasi pelarut metanol sebesar 200,10 mg GAE/ml, dan untuk aktivitas antibakteri yang memiliki daya hambat yang baik atau kuat hanya terdapat pada pelarut methanol diikuti dengan rendemen ekstrak kulit petai tertinggi yaitu dengan variasi pelarut metanol yaitu sebesar 0,76%.

Kata Kunci: Antibakteri, Anitioksidan, Kulit Petai, Variasi Pelarut

ABSTRACT

Petai (*Parkia speciosa* Hassk.) is a forest plant that is often found in Indonesia. In addition to the fruit, the part of the petai plant that has the potential as an efficacious plant or as a functional medicine is the skin of the petai. This study aims to determine the phytochemical analysis of petai peel extract, antioxidant analysis, phenol and antibacterial analysis with various types of solvents. The experimental design used was Completely Randomized Design (CRD) with one factor, namely the type of solvent used was methanol, ethyl acetate and n-hexane. The research stages used are quantitative research through two stages of experimental testing in the laboratory. The first testing stage was making petai peel extract, then the second stage was testing including yield, phytochemical analysis, total phenol, antibacterial activity and antioxidant activity. The results showed that the highest antioxidant activity based on % inhibition was 22.8 in the variation of ethyl acetate solvent. The largest total phenol was found in petai peel extract with a solvent variation of methanol of 200.10 mg GAE/ml, and for antibacterial activity which had good or strong inhibition, it was only found in methanol solvent followed by the highest yield of petai peel extract, namely with variations in methanol solvent. that is equal to 0.76%.

Keywords: Antibacterial, Antioxidant, Petai Peel, Solvent Variation

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Tuhan SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Dan Antioksidan Ekstrak Kulit Petai (*Parkia Speciosa* Hassk.) Berdasarkan Perbedaan Jenis Pelarut” dengan lancar. Penulis membuat skripsi ini untuk memenuhi sebagian persyaratan memperoleh gelar sarjana di Fakultas Teknik dan Informatika Jurusan Teknologi Pangan Universitas PGRI Semarang.

Penulis menyadari, penyusunan skripsi ini tidak lepas dari hambatan dan kesulitan-kesulitan. Namun berkat bimbingan, bantuan, nasihat, dan dorongan serta saran-saran dari berbagai pihak, khususnya Pembimbing, segala hambatan dan kesulitan tersebut dapat teratasi. Oleh karena itu, melalui kesempatan ini izinkan penulis menyampaikan ucapan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu Dr. Sri Suciati, M.Hum selaku Rektor Universitas PGRI Semarang yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk menimba ilmu di Universitas PGRI Semarang.
2. Bapak Dr. Slamet Supriyadi, M.Env. St selaku Dekan Fakultas Teknik dan Informatika yang telah memberi izin penulis untuk melakukan penelitian.
3. Bapak Fafa Nurdyansyah, S.TP., M.Sc. selaku Ketua Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Teknik dan Informatika Universitas PGRI Semarang.
4. Bapak Fafa Nurdyansyah, S.TP., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing I yang telah membimbing penulis dengan dedikasi yang tinggi.
5. Ibu Dr.Pi. Rizky Muliani Dwi Ujjanti M.Si. selaku Dosen Pembimbing II yang telah membimbing penulis dengan sepenuh hati.
6. Bapak Arief Rakhman Affandi, S.TP., M.Si selaku Dosen Wali yang tiada henti menyemangati anak didiknya.
7. Bapak Supatman dan Ibu Nafisah selaku kedua orangtua saya yang tiada henti mendukung dan mendoakan saya serta keluarga tercinta.

Semoga Tuhan yang Maha Esa melimpahkan rahmat-Nya dan membalas semua amal kebaikan mereka. Penulis menyadari bahwa proposal ini masih jauh dari kata sempurna karena terbatasnya kemampuan penulis. Oleh karena itu segala kritik dan saran yang membangun akan penulis terima dengan senang hati. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang berkepentingan.

Semarang, 18 Agustus 2022

Peneliti

Chrisnanda Mafiana

16690014

DAFTAR ISI

HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	iv
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
BAB I.....	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Kegunaan Penelitian.....	3
BAB II.....	23
TINJAUAN PUSTAKA.....	23
2.1 Kulit Petai dan Kandungan Kimianya.....	23
2.2 Zat Aktif Kulit Petai.....	25
2.3 Ekstraksi.....	28
3.2 Antioksidan.....	32
3.4 Bakteri Uji.....	36
3.5 Metode Pengujian Antibakteri.....	39
3.6 Hipotesis.....	41
BAB III.....	42
METODE PENELITIAN.....	42
3.1 Waktu dan Tempat.....	42

3.2	Alat dan Bahan	42
3.3	Rancangan Percobaan.....	42
3.4	Tahapan Penelitian	43
3.4.2	Analisis Sampel.....	45
3.5	Analisis Data	50
BAB IV		Error! Bookmark not defined.
HASIL DAN PEMBAHASAN.....		Error! Bookmark not defined.
4.1	Rendemen Ekstrak Kulit Petai.....	Error! Bookmark not defined.
4.2	Uji Fitokimia	Error! Bookmark not defined.
4.3	Total Fenol.....	Error! Bookmark not defined.
4.4	Aktivitas Antioksidan.....	Error! Bookmark not defined.
4.5	Aktivitas Antibakteri	Error! Bookmark not defined.
BAB V.....		Error! Bookmark not defined.
PENUTUP.....		Error! Bookmark not defined.
A.	Kesimpulan	Error! Bookmark not defined.
B.	Saran.....	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR PUSTAKA		Error! Bookmark not defined.
LAMPIRAN.....		52

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Sifat Fisika Kimia <i>n</i> -heksana	11
Tabel 4.1 Rendemen Ekstrak Kulit Petai dari Berbagai Pelarut	32
Tabel 4.2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Petai	34
Tabel 4.3 Diameter zona hambat ekstrak kulit petai metanol, <i>n</i> -heksan dan etil asetat terhadap bakteri <i>e.coli</i>	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Buah Petai	5
Gambar 2.2. Struktur Flavonoid.....	6
Gambar 2.3. Struktur Alkoloid.....	7
Gambar 2.4. Struktur Tanin	8
Gambar 2.5 bakteri <i>Escherichia Coli</i>	18
Gambar 3.1. Diagram Alir Tahapan Penelitian.....	25
Gambar 4.1 Analisis Fenol.....	37
Gambar 4.2 Pengujian % Inhibisi antioksidan pada ekstrak kulit petai dengan berbagai pelarut.....	39

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki kekayaan alam yang begitu melimpah. Banyak bahan alam yang memiliki berbagai macam khasiat. Salah satu tanaman yang memiliki khasiat yang dapat dimanfaatkan adalah kulit petai. Petai (*Parkia Speciosa* Hassk.) merupakan tanaman yang berasal dari Malaysia dan termasuk pohon tahunan tropis dari suku polong-polongan (*Fabaceae*). *Parkia Speciosa* Hassk. merupakan tanaman berbentuk pohon yang tingginya mencapai 20 m dan bercabang, daun majemuk yang tersusun sejajar. Tanaman *Parkia speciosa* Hassk. memiliki kulit batang berwarna coklat kemerah-merahan. Bunganya ketika masih muda (belum tumbuh benang sari dan putik putik-putiknya) berwarna hijau, keras dan berbentuk bonggol. Sedangkan setelah dewasa bunga ini ditumbuhi benang-benang sari dan putik-putik berwarna kuning, sehingga ukurannya membesar dan empuk seperti spon (Verawaty, 2016). Petai mengandung alkaloid, terpenoid, flavonoid, dan fenolik. Petai digunakan untuk mengobati berbagai penyakit dan gejalanya. Petai juga diketahui memiliki aktivitas antioksidan, hipoglikemik, antitumor dan antimutagenik, antibakteri (Sardjono, 2010). Faktor yang dapat menentukan keberhasilan proses ekstraksi salah satunya adalah mutu pelarut yang digunakan. Jenis pelarut yang berbeda dapat mempengaruhi hasil ekstrak yang dihasilkan.

Pada penelitian Verawaty (2016) menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit petai memiliki kemampuan menghambat bakteri *Escherichia coli* lebih baik

daripada biji petai pada konsentrasi 10%. Hal ini dikarenakan di dalamnya mengandung alkaloid, saponin, dan flavonoid. Menurut Bontjura *et al* (2015) menyatakan bahwa mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri dapat dibagi menjadi tiga yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi (Hendra dkk, 2011).

Escherichia Coli salah satu *foodborne bacteria* yang bisa mengakibatkan gangguan saluran cerna seperti kuman *S. Typhimurium*. *E. Coli* merupakan bakteri Gram Negatif, fakultatif anaerob dan tidak memiliki spora yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan bawah pada hewan berdarah panas (Dwyana & Johannes, 2012). Biakan *Escherichia coli* bersifat aerob atau fakultatif anaerob dan tumbuh pada pembenihan biasa. Suhu optimum pertumbuhan adalah 37⁰C. *Escherichia coli* merupakan bakteri yang paling sering menyebabkan diare (Dewi, 2010).

Berdasarkan uraian yang sudah disampaikan diatas, peneliti ingin menyelidiki tentang aktivitas antibakteri dan antioksidan ekstrak kulit petai, dengan perbedaan variasi jenis pelarut yang digunakan yaitu metanol, etil asetat dan n-heksan.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah aktivitas senyawa antibakteri yang diekstrak dari kulit petai dengan perbedaan jenis pelarut metanol, etil asetat dan n-heksan terhadap aktivitas bakteri *E. Coli*?
2. Bagaimanakah analisis fitokimia, total fenol dan aktivitas antioksidan ekstrak kulit petai?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas senyawa antibakteri yang diekstrak dari kulit petai dengan perbedaan jenis pelarut metanol, etil asetat dan n-heksan terhadap aktivitas bakteri *E. Coli*.
2. Mengetahui analisis fitokimia, total fenol dan aktivitas antioksidan ekstrak kulit petai.

1.4 Kegunaan Penelitian

1. Memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai manfaat kulit petai sebagai antibakteri.
2. Ekstrak senyawa antibakteri yang dapat digunakan, diaplikasikan dan dikembangkan menjadi antibakteri.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit Petai dan Kandungan Kimianya

Sejak dahulu beberapa tanaman telah digunakan oleh masyarakat lokal sebagai pengobatan. Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas daya hambat bakteri adalah *Parkia speciosa* Hassk. *Parkia speciosa* Hassk sering disebut dengan “petai” merupakan tanaman hutan yang banyak dijumpai di Indonesia.

Petai merupakan pohon tahunan tropis dari suku polong- polongan. Tumbuhan ini tersebar luas di Indonesia khususnya bagian barat. Tinggi pohon petai biasanya dapat mencapai 20 m dengan sedikit cabang, daunnya majemuk dan tersusun secara sejajar. Jumlah biji dalam satu baris/papan biasanya mencapai 20 biji. Petai muda akan berwarna hijau dan terbalut oleh kulit ari yang cukup tebal berwarna coklat terang. (Sardjono, 2010).

Petai dapat dijadikan sebagai sumber energi, memiliki protein, karbohidrat, fosfor, vitamin A dan zat besi. Petai juga mengandung vitamin C yang cukup tinggi dan vitamin C sangat penting peranannya dalam proses hidroksilasi asam amino prolin dan lisin menjadi hidroksi prolin dan hidroksi lisin. Perannya adalah dalam proses penyembuhan luka serta daya tahan tubuh melawan infeksi dan stress (Sardjono, 2010). Buah petai dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Buah Petai (Dokumentasi Pribadi)

Klasifikasi tanaman petai menurut (Rahayu *et al.*, 2015).

Sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Fabales
Famili : Fabaceae
Genus : *Parkia*
Spesies : *Parkia speciosa* Hassk.

Petai sering digunakan oleh masyarakat lokal sebagai pengobatan alami penyakit diabetes, gangguan ginjal dan kolera. Petai umumnya dikonsumsi dengan bumbu lokal seperti bawang putih, cabai dan terasi. Petai dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan dan aktivitas antibakteri. Efek tersebut didapat dari biji dan kulit petai (Rahayu *et al.*, 2015).

Kulit petai memiliki kandungan senyawa fitokimia berupa alkaloid, saponin, flavonoid, tanin dan triterpenoid. Kandungan polifenol, tanin dan flavonoid dari

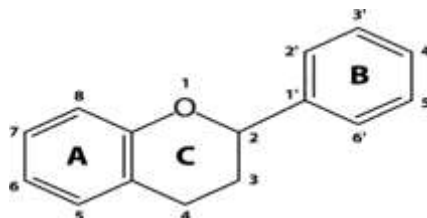
petai dilaporkan mempunyai potensi menghambat pertumbuhan bakteri. Kulit petai memiliki aktivitas daya hambat terhadap beberapa bakteri (Sardjono, 2010).

2.2 Zat Aktif Kulit Petai

1. Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan senyawa fenol yang memiliki warna merah, ungu, biru dan kuning yang umumnya biasa ditemukan di tanaman. Senyawa flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang terdapat dalam membran sel, karena bertindak sebagai radikal hidroksi dan superoksida, kerusakan sel yang diakibatkan oleh radikal bebas dapat dihindari dengan adanya senyawa flavonoid (Rahayu *et al.*, 2015).

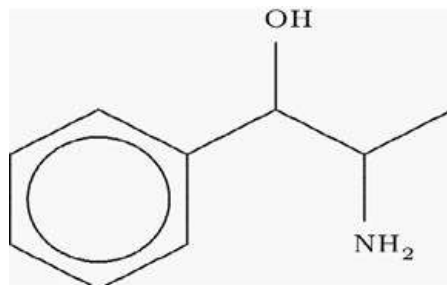
Flavonoid mempunyai sejumlah gugus hidroksil, atau suatu gula, flavonoid merupakan senyawa polar, maka umumnya flavonoid cukup larut dalam pelarut polar seperti etanol (EtOH), metanol (MeOH), butanol (BuOH), aseton, dimetilsulfoksida (DMSO), dimetilformamida (DMF), air dan lain-lain. Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara mengganggu fungsi dari mikroorganisme, termasuk bakteri (Sellappan & Akoh, 2002). Berikut struktur kimia dari flavonoid disajikan pada Gambar 2.2



Gambar 2.2. Struktur Flavonoid (Robinson, 1991)

2. Alkaloid

Alkaloid ditemukan dalam berbagai bagian tumbuhan seperti biji, daun, ranting dan kulit batang. Kebanyakan alkaloid berupa padatan kristal dengan titik lebur yang tertentu atau mempunyai kisaran dekomposisi. Alkaloid dapat berbentuk cair, contohnya nikotin. Alkaloid pun ada yang tidak berwarna. Pada umumnya alkaloid hanya larut dalam pelarut organik. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri melalui penghambatan sintesis dinding sel yang akan menyebabkan lisis pada sel sehingga sel bakteri akan mati (González-Lamothe *et al.*, 2009). Berikut struktur kimia dari alkaloid disajikan pada Gambar 2.3



Gambar 2.3. Struktur Alkaloid (Robinson, 1991)

3. Saponin

Pengujian saponin dilakukan dengan mengamati pembentukan busa yang dikocok dalam air panas. Adanya saponin ditunjukkan dengan adanya busa yang stabil dan tidak hilang ketika ditambahkan dengan 1 tetes HCl 2N. (Whardani *et al.* 2018).

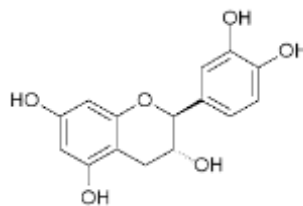
Saponin dapat menekan pertumbuhan bakteri, karena senyawa tersebut dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel dan apabila berinteraksi dengan dinding bakteri maka dinding tersebut akan pecah atau lisis. Saponin akan mengganggu tegangan permukaan dinding sel bakteri. Saat tegangan permukaan

dinding sel bakteri terganggu, maka zat antibakteri akan masuk dengan mudah ke dalam sel dan akan mengganggu metabolisme hingga akhirnya menyebabkan kematian bakteri (Prawira, 2013).

4. Tanin

Umumnya tanin dapat larut dalam air. Kelarutannya besar dan akan meningkat apabila dilarutkan dalam air panas. Begitu juga tanin akan larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya (Tuntun, 2016). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria & Faizatul, 2009).

Tanin dapat menghambat aktifitas enzim protease, menghambat enzim pada transport selubung sel bakteri, destruksi atau inaktifasi fungsi materi genetik. Selain itu tanin juga mampu mengerutkan dinding sel bakteri sehingga dapat mengganggu permeabilitas sel. Terganggunya permeabilitas sel dapat menyebabkan sel tersebut tidak dapat melakukan aktifitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat dan mampu mengerutkan dinding sel bakteri sehingga terhambat dan bakteri mati (Tuntun, 2016). Struktur tanin disajikan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4. Struktur Tanin (Robinson, 1991)

Tanin dapat bereaksi dengan protein yang dapat membentuk polimer yang tidak larut di dalam air. Tanin yang ada di dalam tumbuhan letaknya terpisah dari protein dan enzim sitoplasma, tetapi pada kenyataannya sebagian besar tumbuhan yang banyak mengandung tanin lebih dihindari oleh hewan pemakan tumbuhan karena rasanya yang sepat (Permata *et al.*, 2018).

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu usaha memisahkan senyawa yang diinginkan dari campuran penyusun lainnya. Proses ekstraksi paling sering adalah menggunakan pelarut, selain itu dapat dilakukan secara mekanis. Cara mekanis ini dilakukan dengan pemerasan, atau memberikan gaya tertentu agar senyawa yang diinginkan tadi dapat terpisah dari campurannya. Tujuan utama ekstraksi adalah untuk mendapatkan atau memisahkan sebanyak mungkin zat-zat yang memiliki khasiat untuk pengobatan (Pudjaatmaka, 2002). Ekstrak adalah sediaan kering, kental ataupun cair yang diperoleh dengan cara mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan cara menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlukan sehingga memenuhi baku yang telah disiapkan (Depkes, 2009).

Metode ekstraksi bahan alam, dikenal suatu metode dengan refluks. Menurut (Depkes, 2009) refluks adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Keuntungan cara ekstraksi ini yaitu dapat digunakan untuk mengekstraksi sampel yang memiliki tekstur yang kasar. Ekstrak pekat yang dihasilkan kemudian ditimbang. Dihitung rendemennya

dengan persamaan:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak pekat yang diperoleh}}{\text{berat sampel yang digunakan}} \times 100\%$$

Salah satu faktor yang dapat menentukan keberhasilan proses ekstraksi adalah jenis dan mutu dari pelarut yang digunakan. Pelarut yang baik, seharusnya memenuhi persyaratan sebagai berikut:

1. Harus dapat melarutkan semua zat wangi dalam bunga secara sempurna dan tidak dapat melarutkan bahan seperti lilin, pigmen, senyawa albumin.
2. Pelarut harus mempunyai titik didih yang cukup rendah, agar pelarut mudah diuapkan.
3. Pelarut tidak mudah larut di dalam air
4. Pelarut tidak mudah terbakar
5. Pelarut harus mempunyai titik didih yang seragam, sehingga jika diuapkan tidak tertinggal dalam minyak.

2.3.1 n-Heksan

n-Heksan merupakan hidrokarbon alkana rantai lurus yang memiliki 6 atom karbon dengan rumus molekul C₆H₁₄. Isomer n-heksan tidak reaktif dan digunakan secara luas sebagai pelarut inert di dalam reaksi organik karena n-heksan sendiri mempunyai sifat yaitu non polar. n-Heksan didapatkan dari hasil penyulingan minyak mentah dimana untuk produk industrinya ialah fraksi yang mendidih pada suhu 65-70 °C. n-heksan biasanya juga digunakan untuk mengekstrak minyak dan lemak yang memiliki kepolaran yang sama (Azis *et al.*, 2014). n-Heksan merupakan salah satu pelarut yang baik untuk mengekstraksi senyawa-senyawa yang memiliki sifat non polar. Dalam keadaan standar senyawa

ini merupakan cairan tak berwarna yang tidak dapat larut dalam air (Munawaroh & Handayani, 2010). Sifat fisika dan kimia *n*-heksan dapat dilihat pada Tabel 2.1.

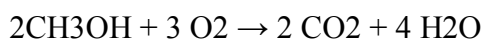
Tabel 2.1. Sifat Fisika Kimia *n*-heksan

Karakteristik	Syarat
Bobot Molekul	86,2 gram/mol
Warna	Tak Berwarna
Wujud	Cair
Titik Lebur	95°C
Titik Didih	69°C
Densitasi	0,6603 gr/ml pada 20°C

Sumber : (Munawaroh & Handayani, 2010)

2.3.2 Metanol

Metanol juga dikenal sebagai metil alkohol, wood alcohol atau spiritus, adalah senyawa kimia dengan rumus kimia CH₃OH. Methanol merupakan bentuk alkohol paling sederhana. Pada keadaan 1 atmosfer Metanol berbentuk cairan yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar, dan beracun dengan bau yang khas (berbau lebih ringan daripada etanol). Metanol digunakan sebagai bahan pendingin anti beku, pelarut, bahan bakar dan sebagai bahan aditif bagi etanol industri. Metanol diproduksi secara alami oleh metabolisme anaerobik oleh bakteri. Hasil proses tersebut adalah uap metanol (dalam jumlah kecil) di udara. Setelah beberapa hari, uap metanol teroksidasi oleh oksigen dengan bantuan sinar matahari menjadi karbon dioksida dan air. Reaksi kimia metanol yang terbakar di udara dan membentuk karbon dioksida serta uap air adalah sebagai berikut:



Api dari metanol biasanya tidak berwarna, Oleh karena itu harus berhati-hati bila berada dekat metanol yang terbakar, untuk mencegah cedera akibat api

yang tak terlihat. Karena sifatnya yang beracun, metanol sering digunakan sebagai bahan aditif bagi pembuatan alkohol untuk penggunaan industri; Penambahan "racun" akan menghindarkan industri pajak yang dapat dikenakan karena kalau etanol merupakan bahan utama untuk minuman keras (minuman beralkohol). Metanol kadang juga disebut sebagai wood alcohol karena Metanol dahulu merupakan produk samping dari distilasi kayu. Saat ini metanol dihasilkan melalui proses multi tahap. Secara singkat gas alam dan uap air dibakar dalam tungku untuk membentuk gas hidrogen dan karbon monoksida kemudian, gas hidrogen dan karbon monoksida bereaksi dalam tekanan tinggi dengan bantuan katalis untuk menghasilkan metanol. Tahap pembentukannya adalah endotermik dan tahap sintesisnya adalah eksotermik (Leksono *et al*, 2018).

2.3.3 Etil Asetat

Etil asetat merupakan senyawa yang memiliki sifat polar menengah atau semipolar yang volatil dan juga dapat melarutkan senyawa semipolar pada dinding sel seperti aglikon flavonoid. Etil asetat tidak mengandung racun dan tidak higroskopis. Disamping itu, etil asetat digunakan sebagai pelarut karena etil asetat dapat mencari senyawa-senyawa yang memberikan aktivitas antibakteri, diantaranya flavonoid polihidroksi dan fenol lainnya. (Wardhani & Sulistyani, 2012).

Etil asetat atau yang sering disebut Ethyl Acetate dalam nama dagang mempunyai rumus molekul yaitu ($\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) atau ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$) dengan berat molekul 88,106 g/mol (Mackay, D., dkk., 2006). Etil asetat adalah pelarut yang cukup polar yang memiliki keuntungan sebagai Volatile, relatif tidak

beracun, dan tidak higroskopis. Etil asetat umumnya dibuat dengan esterifikasi etanol dan asam asetat (Johnston, V. J., dkk. 2011). Etil asetat umumnya digunakan sebagai pelarut industri yang digunakan untuk cat, pelapis, noda kayu, pernis berbasis minyak dan enamel, perekat, selulosa, tinta, plastik, atau lemak. Selain itu, etil asetat dapat digunakan dalam pembuatan film dan pelat fotografi, sebagai perantara obat atau penghilang cat kuku (Johnston, V. J., dkk. 2011).

2.4 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mampu memberikan elektron (elektron donor) atau reduktor. Antioksidan juga merupakan substansi nutrisi ataupun non-nutrisi yang terkandung di dalam suatu bahan pangan yang dapat mampu untuk mencegah ataupun memperlambat terjadinya kerusakan oksidatif di dalam tubuh. (Winarsi, 2007).

Antioksidan diperlukan oleh tubuh manusia karena senyawaini memiliki system pertahanan antioksidan yang berlebihan, sehingga bila terjadi paparan radikal bebas yang berlebihan, maka tubuh manusia akan memerlukan antioksidan eksogen (yang berasal dari luar) baik dari asupan maupun vitamin (Malinggas, 2015).

Penelitian Tamat *et al.*, (2007) menyatakan bahwa antioksidan merupakan zat yang dapat menunda, memperlambat serta mencegah terjadinya proses oksidasi. Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan dan juga berperan penting dalam mempertahankan mutu produk pangan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh penyebab penyakit karsinogenik, kardiovaskuler dan penuaan dini (Rohman *et al.*, 2007).

2.4.1 Jenis-Jenis Antioksidan (Kartikawati, 2019).

Antioksidan berdasarkan sumbernya dibagi menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami tanpa ada penambahan senyawa kimia).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkap radikal bebas. Radikal bebas dihasilkan karena beberapa faktor, seperti asap, debu, polusi, kebiasaan mengonsumsi makanan cepat saji yang tidak seimbang antara karbohidrat, protein dan lemaknya. Senyawa antioksidan akan mendonorkan satu elektronnya pada pada radikal bebas yang tidak stabil sehingga radikal bebas ini bisa dinetralkan dan tidak lagi mengganggu metabolisme tubuh. Ada tiga macam mekanisme kerja antioksidan pada radikal bebas, yaitu:

1. Antioksidan primer yang mampu mengurangi dismutase (SOD), glutathion peroksidase, dan katalase stabil. Contohnya adalah superoksida yang dapat mengubah radikal superoksida menjadi molekul mengubahnya menjadi produk yang lebih.
2. Antioksidan air pembentukan radikal bebas baru dengan cara memutus reaksi berantai dan sekunder berperan mengikat radikal bebas dan mencegah amplifikasi senyawa radikal. Beberapa contohnya adalah vitamin A (betakaroten), vitamin C, vitamin E, dan senyawa fitokimia.
3. Antioksidan tersier berperan dalam mekanisme biomolekuler, seperti memperbaiki kerusakan sel dan jaringan yang disebabkan radikal bebas

2.4.2 Fungsi Antioksidan

Antioksidan yang sangat umum digunakan ialah senyawa fenol atau amina aromatis. Antioksidan dapat berperan sebagai inhibitor ataupun pemecah peroksida. Efektivitas antioksidan p-amino-fenol dan fenolat tergantung dari adanya gugus hidroksil bebas karena ester dan esternya tidak mempunyai pengaruh. Efisiensi fenolat dapat ditingkatkan dengan alkilasi pada posisi 2, 4, dan juga 6 (Cahyadi *et al.*, 2018) Antioksidan juga berfungsi sebagai penetralisir atau menekan dampak negatif yang diakibatkan oleh radikal bebas.

Fungsi utama antioksidan adalah untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi dari lemak serta minyak, oksidasi radikal bebas, memperkecil terjadinya proses kerusakan dalam makanan, memperpanjang masa pemakaian dalam bidang industri makanan, meningkatkan stabilitas lemak yang terkandung dalam makanan serta untuk mencegah hilangnya kualitas sensoris nutrisi (Kuncahyo & Sunardi, 2007). Efektivitas antioksidan p-amino-fenol dan fenolat tergantung dengan adanya gugus hidroksil bebas karena ester dan esternya tidak mempunyai pengaruh. Efisiensi fenolat dapat ditingkatkan dengan alkilasi pada posisi 2, 4, dan juga 6 (Cahyadi *et al.*, 2018).

2.4.3 Metode Pengukuran Aktivitas Antioksidan

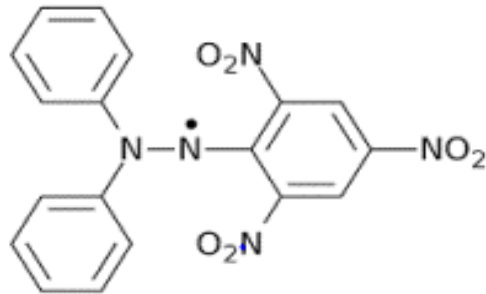
Uji aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode diantaranya yaitu dengan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) dan Hydroxyl Radical Activities (HORAC). Pada pengujian DPPH, senyawa antioksidan akan bereaksi dengan

radikal DPPH melalui mekanisme transfer atom hidrogen yang dapat menyebabkan peluruhan warna pada DPPH dari warna ungu menjadi kuning. DPPH diukur pada panjang gelombang 517 nm. Parameter dari pengujian metode DPPH yaitu nilai *Inhibition Concentration 50* (IC₅₀) atau konsentrasi yang dapat meredam aktivitas radikal bebas sebesar 50 %. Metode pengujian DPPH dipilih karena merupakan metode yang sederhana, relatif cepat untuk dikerjakan serta tidak membutuhkan banyak reagen. (Chandra *et al.*, 2019).

Pengelompokan nilai konsentrasi inhibisi dari suatu senyawa didasarkan pada aktivitas antioksidannya dimana suatu senyawa dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori kelompok sangat kuat apabila nilai IC₅₀-nya kurang dari 50 ppm, termasuk kelompok kuat jika nilai IC₅₀-nya berada diantara 50 – 100 ppm, termasuk kelompok sedang jika nilai IC₅₀ berada diantara 101-150 ppm dan termasuk kelompok lemah jika nilai IC₅₀-nya berada diantara 150 – 200 ppm (Permata *et al.*, 2018). Semakin rendah nilai IC₅₀ dari suatu senyawa maka senyawa tersebut memiliki kemampuan antioksidan yang semakin besar, hal ini dikarenakan nilai IC₅₀ menunjukkan besaran konsentrasi dari suatu senyawa dalam menghambat radikal bebas DPPH sebanyak 50 % (Prayoga *et al.*, 2019).

DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar serta sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan untuk beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi

berpasangan maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm akan hilang (Erawati, 2002).



Gambar 2. 1 Molekul DPPH (Putri, 2020)

2.5 Total Fenol

Senyawa fenol adalah angka ragam senyawa dan berasal dari tumbuh-tumbuhan yang mempunyai ciri yang sama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua penyulih hidroksil. Umumnya merupakan mudah larut dalam air, karena sering kali berkaitan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat di dalam vakuola sel. Penentuan terhadap kandungan total fenol dapat dilakukan dengan cara menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu. Metode ini berdasarkan dengan kekuatan mereduksi dari gugus hidroksi fenolat. (Huang & Ingber, 2005). Senyawa fenol adalah kelas utama antioksidan yang terdapat dalam tumbuhan. Senyawa ini diklasifikasikan menjadi dua bagian yaitu fenol sederhana dan juga polifenol (Marlina *et al.*, 2005).

2.6 Bakteri Uji

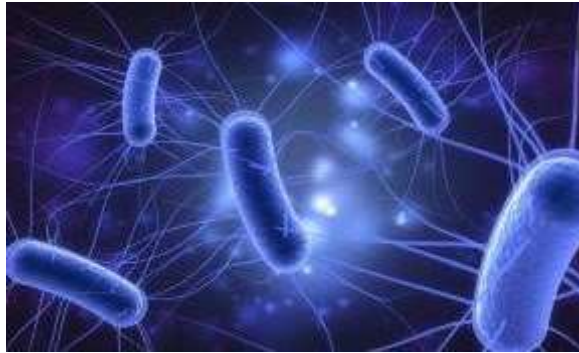
Menurut Jawetz, Melnick, & Adelberg (2015) menyatakan bahwa bakteri adalah mikroorganisme bersel dan berkembangbiak dengan cara membelah diri (aseksual). Bakteri mempunyai variasi ukuran baik dari penampangnya maupun

panjangnya. Namun umumnya, penampang bakteri berkisar diantara 0,7-1,5 μm dan panjangnya sekitar 1-6 μm .

Terdapat dua macam golongan bakteri yaitu bakteri gram positif dan juga bakteri gram negatif tergantung reaksinya terhadap pewarnaan gram. Perbedaan dari kedua bakteri ini yaitu dari struktur yang membentuk bakteri (Jawetz, Melnick, & Adelberg, 2015)

2.6.1 *Escherichia Coli*

Escherichia coli adalah bakteri Gram negatif yang banyak ditemukan pada *ileum caudal*, berbentuk batang pendek, dan dapat bergerak (Dwyana & Johannes, 2012). *Escherichia coli* merupakan bakteri yang termasuk dalam family *Enterobacteriaceae* dan merupakan salah satu group koliform yang dapat memfermentasikan laktosa dengan menghasilkan asam dan gas pada suhu 44⁰C, bersifat indol positif sehingga tidak dapat menggunakan sitrat, menghasilkan asam dari manitol pada suhu 37⁰C, bersifat merah metil (*methyl red*) positif, proskauer (VP) negatif. Pada biakan *Escherichia coli* bersifat aerob atau fakultatif anaerob dan tumbuh pada pembedihan biasa. Suhu optimum pertumbuhan adalah 37⁰C. *Escherichia coli* merupakan bakteri yang paling sering menyebabkan diare (Frank *et al.*, 2000). Bakteri *Escherichia Coli* dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 bakteri *Escherichia Coli* (Frank *et al.*, 2000)

2.7 Antibakteri

Antibakteri adalah bahan-bahan yang digunakan untuk membunuh infeksi mikroba pada manusia termasuk diantaranya antibiotik, antiseptik, desinfektan, dan preservatif (Djide, 2018). Antibakteri adalah obat pembasmi mikroba, khususnya mikroba yang merugikan manusia . Disini, mikroba yang dimaksud terbatas pada jasad renik yang tidak termasuk kelompok parasit (Djide, 2018). Zat antimikrobia dapat bersifat membunuh mikroorganisme atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

Antibakteri berdasarkan spektrum atau kisaran kerja antibakteri dapat dibedakan menjadi:

- a. Spektrum luas, yaitu antibakteri yang dapat menghambat atau membunuh bakteri baik gram positif maupun negatif.
- b. Spektrum sempit, yaitu antibakteri yang hanya mampu menghambat satu golongan bakteri saja, misalnya hanya dapat membunuh atau menghambat bakteri dari gram negatif saja atau hanya bakteri gram positif saja. (Djide, 2018).

Berdasarkan sifatnya, antibakteri dapat dibagi menjadi dua yaitu:

- a. Bakteriosid, bersifat membunuh mikroorganisme. Dalam Jumlah mikroorganisme akan berkurang bahkan habis, tidak dapat melakukan perkembang biakan.
- b. Bakteriostatik, bersifat menghambat atau menghentikan pertumbuhan mikroorganisme. (Dwyana & Johannes, 2012)

2.7.1 Metode Pengujian Antibakteri

1. Metode Difusi

Metode ini paling sering digunakan adalah metode difusi agar menggunakan cakram kertas, cakram kaca, pencetak lubang dalam menentukan kerentanan patogen bakteri terhadap obat-obatan antibakteri. Prinsip metode ini adalah dengan mengukur zona hambatan pertumbuhan bakteri yang terjadi akibat difusi zat yang bersifat sebagai antibakteri di dalam media padat melalui pencadangan. Daerah hambatan bakteri adalah daerah bening yang merupakan zona hambat di sekitar cakram. Luas zona hambat berbanding lurus dengan aktivitas antibakteri, semakin kuat daya aktivitas antibakteri maka semakin luas daerah zona hambatannya (Jawetz, Melnick, & Adelberg, 2005).

2. Metode Sumuran (Perforasi)

Bakteri uji yang umurnya 18-24 jam disuspensikan ke dalam media agar pada suhu sekitar 45°C. Suspensi bakteri dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah agar memadat, dibuat lubang-lubang dengan diameter 6-8 mm. Kedalam lubang tersebut dimasukkan larutan zat yang akan diuji aktivitasnya sebanyak 20µL, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Aktivitas

antibakteri dapat dilihat dari daerah bening yang mengelilingi lubang perforasi (Jawetz, Melnick, & Adelberg, 2005).

3. Metode Cakram Kertas

Zat yang akan diuji diserapkan ke dalam cakram kertas dengan cara meneteskan pada cakram kertas kosong larutan antibakteri sejumlah tertentu dengan kadar tertentu pula. Cakram kertas diletakkan diatas permukaan agar padat yang telah diolesi bakteri, diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas antibakteri dapat dilihat dari daerah hambat di sekeliling cakram kertas (Ngaisah, 2010).

4. Metode Dilusi

Pada metode ini yang biasa disebutkan dengan turbidimetri atau tabung, menggunakan pengenceran secara seri dari antibakteri dalam media broth dengan konsentrasi yang berbeda-beda, kemudian ditanami dengan mikroba uji pada konsentrasi tertentu (Djide, 2018).

a. Metode Pengenceran Tabung

Antibakteri disuspensikan dalam agar *Tryptic Soy Broth* (TSB) dengan pH 7,2-7,4 kemudian dilakukan pengenceran dengan menggunakan beberapa tabung reaksi. Selanjutnya dilakukan inokulasi bakteri uji yang telah disuspensikan dengan NaCl fisiologis steril atau dengan TSB, yang tiap mililiternya mengandung kurang lebih 10⁵-10⁶ bakteri. diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam, tabung yang keruh menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan tabung yang bening menunjukkan zat antibakteri yang bekerja (Jawetz, Melnick, & Adelberg, 2005).

b. Metode Pengenceran Agar

Zat antibakteri dicampur sampai homogen pada agar steril yang masih cair dengan suhu terendah mungkin ($\pm 45^{\circ}\text{C}$) dengan menggunakan berbagai konsentrasi aktif, larutan tersebut dituangkan ke dalam cawan petri steril kemudian setelah memadat dioleskan bakteri uji pada permukaannya.

2.8 Hipotesis

Ekstraksi kulit petai dengan menggunakan perbedaan jenis pelarut dapat berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri, aktivitas antioksidan, total fenol dan diameter zona hambat.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Februari 2021 – Februari 2022 di Laboratorium Rekaya Pengolahan Pangan, Kimia dan Biokimia, dan Mikrobiologi Fakultas Teknik dan Informatika Universitas PGRI Semarang.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian yaitu timbangan analitik, *cabinet dryer*, rotary evaporator vakum, corong buchner, kertas saring, alumunium foil, pengaduk gelas, pompa vakum, tabung reaksi, erlenmeyer, gelas ukur, autoklaf, lemari asam, vortex, bunsen, erlenmeyer, spektrofotometer, tabung reaksi, gelas ukur, mikro pipet, kapas, cawan petri, jarum ose, stirer, koloni counter, jangka sorong.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kulit petai yang didapatkan dari petani di Gunungpati Semarang, n-Heksana, methanol, ethyl asetat, biakan murni bakteri *E. Coli*, media nutrien agar, media nutrien broth, media MHA, reagen mayer, reagen dragendroff, serbuk Mg, alkohol, NaCl, amil alkohol, HCl 37%, aquades, FeCl₃, H₂SO₄, DPPH.

3.3 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu jenis pelarut yang digunakan. Tahapan penelitian yang digunakan adalah penelitian kuantitatif melalui dua tahap. Tahap pertama

adalah proses ekstraksi kulit petai menggunakan variasi pelarut metanol, n-heksan dan etil asetat menggunakan metode maserasi. Hasil ekstraksi yang didapat kemudian dilakukan pengujian terhadap masing – masing variasi pelarut untuk diuji kembali secara kuantitatif meliputi rendemen, uji fitokimia, total fenol, aktivitas antioksidan, uji antibakteri dan diameter zona hambat.

3.4 Tahapan Penelitian

3.4.1 Ekstraksi

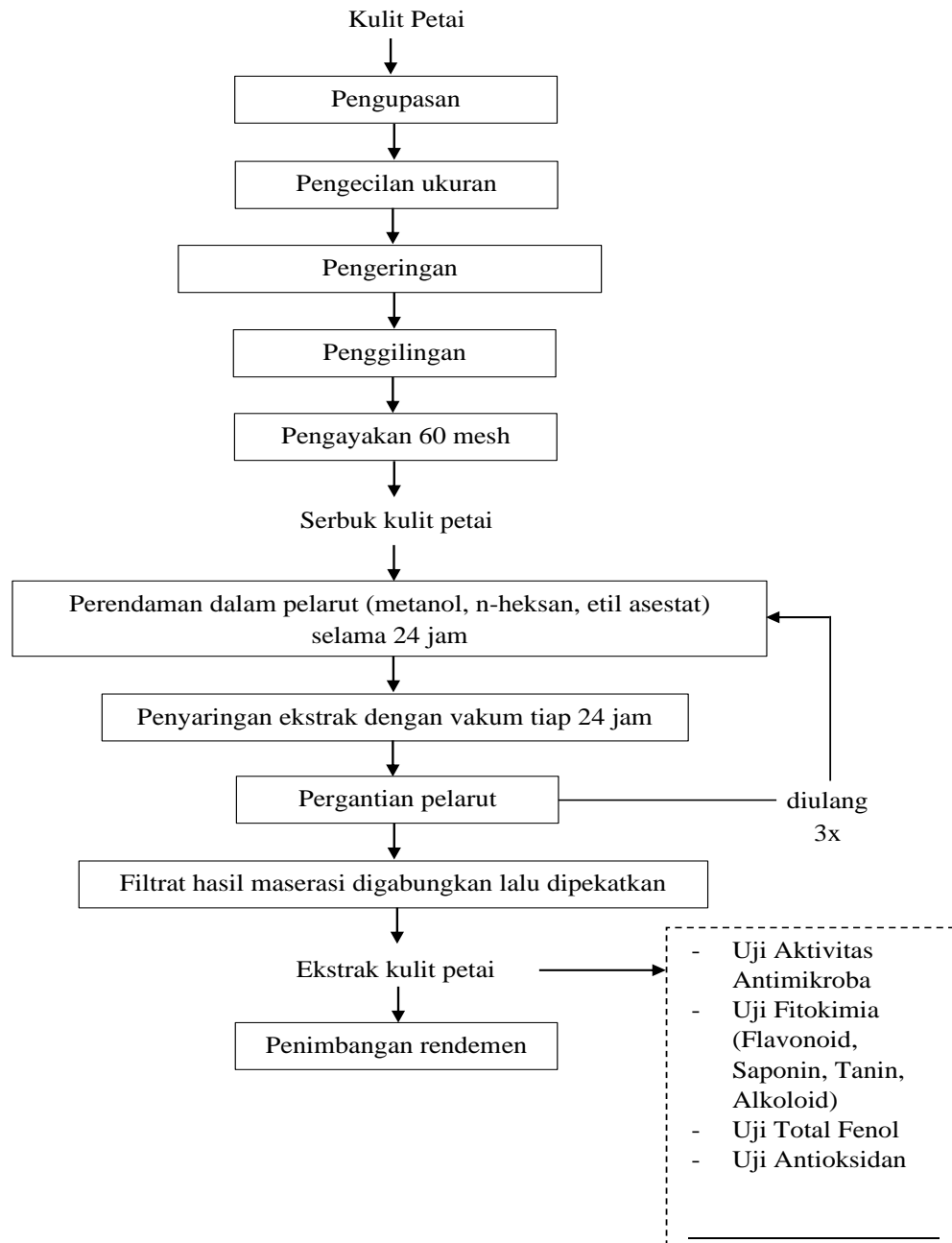
a. Preparasi Sampel (Faizal *et al.*, 2012).

Sampel yang digunakan berupa kulit petai segar dibersihkan dan dipilih yang tidak rusak atau cacat lalu diambil tangkai, biji buah serta kulit ari (yang membungkus biji) kemudian dicuci bersih lalu dipotong tipis-tipis. Kemudian dikeringkan dengan *cabinet dryer* dengan suhu 50°C selama 18 jam. Sampel yang sudah kering lalu diblender dan diserbukan dengan ayakan *mesh* ukuran 60. Sampel yang telah siap berupa serbuk kulit petai yang kering.

b. Ekstraksi Kulit Petai (Faizal *et al.*, 2012)

Serbuk kulit petai masing – masing 50 gram kemudian direndam dalam metanol, etil asetat dan n-heksan dengan perbandingan pelarut 1: 10 (b/v) selama 3 x 24 jam, dimana setiap 24 jam ekstrak disaring dengan *pompa vacuum* dan serbuk kulit petai yang sudah digunakan, kemudian dimaserasi kembali dengan pelarut baru. Maserasi dilakukan pada suhu ruang dan sesekali dibantu dengan pengadukan. Filtrat hasil maserasi digabungkan kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum*. Suhu yang digunakan pada *rotary evaporator vacuum* untuk ekstrak metanol, n-heksan dan etil asetat 55°C.

Tahapan-tahapan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1 dibawah ini.



Gambar 3.1. Diagram Alir Tahapan Penelitian

3.4.2 Analisis Sampel

1. Uji Antibakteri

a. Peremajaan Bakteri *E. Coli* (Fasya *et al.*, 2016)

Alat-alat yang akan digunakan yaitu cawan petri, tabung reaksi dan mikro pipet disterilkan dengan cara dibungkus dengan menggunakan kertas payung. Media NA (*Nutrien Agar*) dibuat dengan mengambil 2 gram lalu dilarutkan dalam 100 ml aquades di dalam erlenmeyer dan ditutup dengan kapas. Bahan diatas kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sesudah disterilkan menggunakan autoklaf media NA kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi secara aseptik dan didiamkan pada suhu kurang lebih 1 jam pada posisi miring.

Biakan bakteri *E. Coli* diambil sebanyak 1 ose lalu kemudian digoreskan pada media NA miring secara aseptik. Tabung harus didekatkan ke api pada saat menggoreskan bakteri. Tabung kemudian ditutup dengan menggunakan kapas dan diinkubasi selama 24 jam pada inkubator dengan suhu 37°C.

b. Pembuatan Inokulum Bakteri *E. Coli* (Fasya *et al.*, 2016)

Media NB diambil sebanyak 1,8 gram kemudian dilarutkan dalam 100 ml aquades di dalam erlenmeyer kemudian ditutup dengan menggunakan kapas. Dipanaskan hingga mendidih dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tabung reaksi ditutup dengan kapas, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 15 psi. Biakan murni bakteri *E. Coli* diambil sebanyak 2 ose disuspensikan ke dalam 100 ml media NB. Kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam.

c. Perhitungan Jumlah Sel Bakteri (Alawiyah *et al.*, 2016)

Tabung reaksi sebanyak 16 buah diisi dengan NaCl 0,85% steril sebanyak 9 ml/tabung reaksi. Inokulum bakteri *E. Coli* dalam media NB diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung pertama lalu dihomogenisasi menggunakan vortex dan dihitung sebagai pengenceran pertama (10^{-1}). Larutan dari tabung pertama di pipet sebanyak 1 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung kedua sehingga dapat diperoleh pengenceran kedua (10^{-2}). Seterusnya sampai didapat pengenceran 10^{-8} . Perhitungan jumlah sel bakteri dilakukan menggunakan metode *total plate count* (TPC). Masing-masing pengenceran diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang sudah berisi media NA. Cawan petri digoyang-goyang hingga merata kemudian diamkan hingga membeku lalu diinkubasi dengan posisi terbalik selama 24 jam pada suhu 37°C . Cara menghitungnya adalah dengan memilih cawan petri yang mempunyai koloni dengan jumlah antara 30-300. Apabila perbandingan antara kedua pengenceran < 2 , nilai yang diambil adalah rata-rata dari kedua nilai tersebut dengan tetap memperhatikan nilai pengencerannya. Jika perbandingan > 2 , maka yang diambil antara terbesar atau terkecil.

d. Uji Aktivitas Antibakteri (Alawiyah *et al.*, 2016)

Media MHA (*Muller Hinton Agar*) sebanyak 3,8 gram dilarutkan dalam 100 ml aquades dalam erlenmeyer memakai hotplate dengan suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ dan magnetic stirrer hingga diperoleh larutan jernih. Media ini lalu disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Larutan MHA kemudian dituangkan ke dalam cawan petri, dan didinginkan dalam suhu ruang

kurang lebih 1 jam. Media jika sudah dingin masing-masing ditambahkan dengan 0,1 ml larutan bakteri *E.coli* dan diratakan menggunakan triangle. Kertas cakram diameter 5 mm lalu direndam pada ekstrak kulit petai yang dihasilkan sebanyak 90% (v/v) (Karlina dan Yudha, 2013) dan kontrol selama \pm 10 menit, lalu diangin-anginkan sampai tidak ada larutan yang menetes. Kontrol yang digunakan yaitu kloramfenikol dan DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*). Kontrol positif yaitu digunakan Kloramfenikol 5 mg/ml sedangkan untuk kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 0,5%. Kertas cakram diletakkan pada permukaan media dengan menggunakan pinset steril dan ditekan sedikit. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam sampai muncul daerah hambatannya. Uji aktivitas antibakteri pada masing-masing pelarut dilakukan sebanyak 3 kali. Zona hambat diukur dengan menggunakan penggaris untuk menentukan aktivitas bakterinya.

$$\text{Zona hambat} = \text{diameter zona bening} - \text{diameter zona cakram}$$

2. Analisis Fitokimia (Yulianti *et al.*, 2014)

a. Uji flavonoid

Ekstrak kulit petai ditimbang sebanyak 0,1 gr dan dilarutkan ke dalam 10 ml air panas. Sebanyak 5 ml filtrat diambil dan direaksikan dengan 0,5 gr serbuk mg, 2 ml alkohol klorohidrat (HCl 37% dan methanol 95% dengan volume 1:1) dan 2 ml amil alkohol. Kemudian dikocok dengan kuat. Hasil positif uji flavonoid ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi warna jingga / kuning / merah pada lapisan amil alkohol.

b. Uji Saponin

Sebanyak 0,1 g ekstrak kulit petai ditambahkan 10 ml air aquades, kemudian dimasukkan ke tabung reaksi. Lalu dikocok dengan menggunakan *vortex* selama 30 menit. Hasil positif uji saponin akan menghasilkan buih yang stabil pada larutan (Whardani *et al.* 2018).

c. Uji Tanin

Sebanyak 0,1 gr ekstrak kulit petai dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan beberapa tetes FeCl₃ 1%. Uji positif ditunjukkan adanya perubahan warna hitam kehijauan atau biru tua (Permata *et al.*, 2018).

d. Uji Alkaloid

Sebanyak 0,1 gr ekstrak kulit petai ditambahkan 5 mL amonia 25% dan 20 ml kloroform. Bahan tersebut dicampur kemudian campuran disaring sampai diperoleh lapisan air dan lapisan pelarut organik. Lapisan organik kemudian dibagi menjadi dua, masing-masing ditambahkan 2 tetes reagen mayer dan reagen dragendorff. Hasil positif bahan yang mengandung alkaloid jika dapat menghasilkan warna orange dengan adanya penambahan reagen dragendorff dan terbentuknya endapan putih jika ditambahkan dengan reagen mayer (Whardani *et al.* 2018).

3. Uji Total Fenol (Prayoga *et al.*, 2019)

Pengujian pendahuluan dilakukan dengan membuat larutan Na₂CO₃ sebanyak 1 gram. Pengenceran dilakukan secara bertingkat dan dilarutkan ke dalam 50 ml Aquades. Lalu membuat larutan standar dengan menggunakan asam galat sebanyak 0,05 gram. Kemudian dilakukan pengenceran 50 ml lalu di ambil sebanyak 25 ml. Setelah itu diencerkan 50 ml dan diambil kembali sebanyak 5 ml.

Pengenceran dilakukan kembali sebanyak 20 ml untuk kemudian dibuat larutan standar dengan perbandingan asam galat 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1 ml dengan aquades 1; 0,8; 0,6; 0,4; 0,2 dan 0 ml. kemudian ditambahkan masing-masing standar dengan Na_2CO_3 sebanyak 5 ml lalu di lakukan pengocokan menggunakan vortex dan di inkubasi selama 10 menit. Setelah itu ditambahkan folin 0,5 ml dan di lakukan pengocokan kembali menggunakan vortex kemudian di inkubasi selama 30 menit. Setelah itu di analisis menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 750 mm.

4. Uji Antioksidan

Pembuatan larutan pendahuluan DPPH ditimbang sebanyak 0,0048gram dalam labu takar 20 ml metanol kemudian membuat 6 kali ulangan dengan beberapa kombinasi larutan untuk menentukan larutan kontrol. Dengan perbandingan aquades dan DPPH untuk mengetahui larutan standar yang akan digunakan untuk penentuan campuran sampel. Kemudian membuat blanko untuk absorbansi pertama kali. Setelah menentukan larutan standar lalu membuat pengenceran ekstrak sampel dengan mengambil ekstrak sampel 3 ml kemudian di encerkan dalam labu takar 20 ml aquades. Membuat 5 tingkatan perbandingan pengenceran yaitu: 1; 2; 3; 4; dan 5 ml dalam 20 ml. lalu masing - masing setiap perbandingan sampel diambil pipet 3 ml larutan sampel dimasukan dalam tabung reaksi ditambah dengan DPPH 0,7 ml penentuan pengambilan sampel dan DPPH ditentukan dari pembuatan larutan kontrol kemudian dilakukan pengocokan dan di inkubasi selama 30 menit setelah itu di analisis dengan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 517 mm.

3.5 Analisis Data

Data hasil pengujian dilakukan analisis dengan menggunakan *One Way Anova*. Apabila hasil analisisnya menunjukkan berbeda nyata antara perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf 5%. Analisis data dilakukan dengan menggunakan program SPSS 25.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Rendemen Ekstrak Kulit Petai

Rendemen adalah presentase produk yang didapat dari hasil membandingkan berat awal bahan dengan berat akhirnya. Rendemen dihitung dengan menggunakan cara menghitung berat akhir sampel (serbuk kulit petai dan ekstrak kulit petai) yang dihasilkan melalui proses pengolahan dibandingkan dengan berat awal bahan (kulit petai dan ekstrak kulit petai). Metode ekstraksi yang digunakan yaitu ekstraksi maserasi. Ekstraksi maserasi dilakukan menggunakan tiga variasi pelarut, yaitu metanol, etil asetat dan n-heksan. (Sudjadi, 2018).

Proses ekstraksi maserasi, pelarut yang digunakan akan berdifusi ke dalam sampel kulit petai lalu melarutkan senyawa-senyawa yang mempunyai tingkat kepolaran yang sama dengan pelarut yang digunakan. Kelebihan metode ekstraksi maserasi yaitu tidak perlu menggunakan suhu, sehingga senyawa-senyawa yang sensitif terhadap suhu tidak akan mengalami dekomposisi (Fasya et al., 2016). Serbuk kulit petai yang dihasilkan dari kulit petai basah yang digunakan 2183 gram menjadi 456 gram dengan rendemen yang dihasilkan adalah 0,20%. Berikut adalah hasil ekstraksi maserasi berwarna coklat dan hijau kekuningan dengan rendemen ekstrak disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Rendemen Ekstrak Kulit Petai dari Berbagai Pelarut

Jenis Pelarut	Rendemen (%)
Metanol	76,6
Etil Asetat	73,3
n-heksan	46,6

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 4.1 didapatkan rendemen ekstrak kulit petai pada berbagai pelarut yang digunakan. Ketiga jenis ekstrak berbentuk cair dengan aroma yang khas. Karakteristik warna filtrat relatif sama antara etil asetat dengan n-heksan yaitu hijau kekuningan, sedangkan ekstrak metanol mempunyai warna coklat pekat. Ekstrak etanol kulit petai menghasilkan rendemen paling tinggi. Sedangkan ekstrak n-heksan kulit petai menghasilkan rendemen paling rendah. Hal ini berarti bahwa sampel kulit petai lebih banyak mengandung senyawa polar karena ekstrak tertinggi diperoleh dari pelarut metanol, dibuktikan dengan analisis fitokimia yang diperoleh. Senyawa yang bersifat semipolar dan nonpolar terdapat dalam jumlah yang relatif lebih sedikit di dalam kulit petai. Hal ini menunjukkan senyawa-senyawa yang aktif pada kulit petai cenderung larut dalam pelarut polar. (Chandra *et al.*, 2019)

4.2 Analisis Fitokimia

Analisis fitokimia dilakukan untuk mengetahui adanya tidaknya senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam suatu bahan alam (Senet *et al.*, 2018). Tumbuhan dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang biasanya dimanfaatkan dalam industri farmasi. Flavonoid, Alkaloid, tanin, steroid, dan saponin merupakan beberapa golongan senyawa kimia yang merupakan hasil metabolisme sekunder pada tumbuhan. Metabolit sekunder merupakan hasil samping dari proses biosintesis, dengan struktur kimia yang kompleks. (Kumalasari *et al.*, 2019).

Berikut dibawah ini disajikan hasil analisis fitokimia ekstrak kulit petai secara kualitatif ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Analisis Fitokimia Ekstrak Kulit Petai

Pelarut	Flavonoid	Saponin	Tanin	Alkoholoid	
				Mayer	Dragendorff
Metanol	+	+	-	+	+
Etil Asetat	-	-	+	-	-
n-heksan	-	-	-	-	-

Keterangan : (+) menunjukkan hasil positif, (-) menunjukkan hasil negatif

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit petai mengandung senyawa flavonoid dengan terbentuknya perubahan warna yang terjadi pada lapisan amil alkohol berwarna kuning. Adanya penambahan serbuk magnesium dan asam klorida saat pengujian flavonoid akan menyebabkan tereduksinya senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak sehingga menimbulkan reaksi warna kuning yang merupakan ciri-ciri adanya senyawa flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa polifenol merupakan senyawa yang paling banyak terdapat di dalam tumbuhan (Kiromah *et al.*, 2021).

Menurut Mukti (2012) flavonoid adalah turunan fenol yang dapat menyebabkan denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri dimana flavonoid dalam merusak sel bakteri akan memanfaatkan perbedaan kepolaran diantara lipid penyusun sel bakteri dengan gugus alkohol terhadap senyawa flavonid. Flavonoid memiliki aktivitas Antibakteri dengan mengganggu fungsi metabolisme melalui perusakan dinding sel yang menyebabkan denaturasi protein mikroba (Yusuf, 2018)

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan mudah terdeteksi melalui kemampuannya dalam membentuk busa. Saponin adalah suatu glikosida alamiah yang terikat dengan steroid atau triterpena. Saponin juga merupakan senyawa aktif yang bersifat antibakteri dalam ekstrak daun kendali. Saponin adalah senyawa

aktif yang menimbulkan busa apabila dikocok dalam air. Saponin bekerja dengan meningkatkan permeabilitas membran sel sehingga membran menjadi tidak stabil dan mengakibatkan hemolisis sel (Rosidah, *et al.* 2014).

Hasil positif uji saponin ditunjukkan pada ekstrak metanol kulit petai dengan terbentuknya busa atau buih setelah ditamhkannya aquades lalu dikocok kuat menggunakan vortex selama 10 menit. Menurut penelitian Rini (2017) ekstrak metanol kulit petai menunjukkan hasil positif uji saponin. Saponin memiliki aktivitas Antibakteri dengan cara mengganggu tegangan pada dinding sel bakteri. Saat tegangan pada dinding sel terganggu oleh zat Antibakteri maka, zat Antibakteri akan dengan mudah masuk ke dalam sel lalu mengganggu metabolisme bakteri tersebut sehingga terjadilah kematian sel bakteri (Karlina, *et al.*, 2013).

Uji tanin dilakukan dengan cara menambahkan larutan FeCl_3 1%. Uji positif ditunjukkan pada ekstrak etil asetat kulit petai. Hasil penelitian ini juga didukung pada penelitian yang dilakukan oleh Dewi (2010) Pelarut etil asetat bisa mengekstrak senyawa yang bersifat semi polar, salah satunya adalah tanin. Tanin merupakan senyawa polifenol dengan rasa sepat dan kelat, dapat dengan protein serta menggumpalkan protein, bereaksi dengan asam amino maupun alkaloid. Tanin banyak ditemukan pada berbagai jenis tanaman, dimana pada tanaman tanin berfungsi sebagai pengatur pertumbuhan dan mekanisme perlindungan diri dari hama dan herbivora. Terbentuknya warna hijau atau biru yang dihasilkan pada sampel setelah penambahan FeCl_3 kemungkinan senyawa tanin akan membentuk

ion Fe^{3+} . Sedangkan hasil ekstrak yang ditunjukkan pelarut metanol dan n-heksan adalah negatif. (Permata *et al.*, 2018).

Uji alkaloid dilakukan dengan cara penambahan reagen atau pereaksi Mayer dan Dragendorff. Hasil positif ditunjukkan pada ekstrak metanol kulit petai pada kedua reagen yaitu Mayer dan juga Dragendorff, sedangkan pada ekstrak n-heksan dan etil asetat ekstrak kulit petai baik pada reagen Mayer dan Dragen menunjukkan hasil negatif.

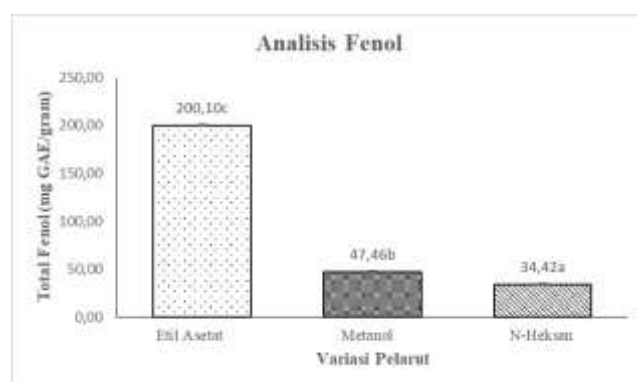
Hasil positif pada uji menggunakan reagen Mayer ditunjukkan dengan hasil terbentuknya endapan berwarna putih. Hal ini dapat diperkirakan endapat tersebut merupakan kompleks dari kalium-alkaloid. Pada pembuatan reagen Mayer, larutan HgCl_2 (Merkuri (II) Klorida) ditambah dengan Kalium Iodida (KI) akan bereaksi menghasilkan endapan Merkuri (II) Iodida. Apabila Kalium Iodida yang ditambahkan berlebih, maka akan terbentuk Kalium Tetraiodomerkurat (II). Alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas dan dapat digunakan untuk membentuk ikatan koordinat dengan ion logam. Saat pengujian alkaloid dapat diperkirakan nitrogen pada alkaloid bereaksi dengan ion logam Hg dari Kalium Tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks merkuri-alkaloid yang mengendap (Marliana & Suryanti, 2015)

Hasil positif pada reagen Dragendorff ditandai dengan perubahan warna menjadi orange. Warna tersebut yaitu kompleks logam dengan alkaloid. Pada pembuatan reagen Dragendorff Bismut Nitrat akan bereaksi dengan Kalium Iodida membentuk Bismut (III) Iodida yang akan larut dalam iodide berlebih

membentuk Kalium Tetraiodobismutat. Dalam uji alkaloid memakai reagen Dragendorff, pasangan elektron bebas pada nitrogen digunakan membentuk ikatan kovalen dengan bismut menghasilkan orange sampai merah (Marliana dan Suryanti, 2005).

4.3 Uji Total Fenol

Senyawa fenol adalah kelas utama antioksidan yang terdapat dalam tumbuhan. Senyawa ini diklasifikasikan menjadi dua bagian yaitu fenol sederhana dan juga polifenol (Marlina *et al.*, 2005). Senyawa fenol adalah angka ragam senyawa dan berasal dari tumbuh-tumbuhan yang mempunyai ciri yang sama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua penyulih hidroksil. Umumnya merupakan mudah larut dalam air, karena sering kali berkaitan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat di dalam vakuola sel. Hasil analisis total fenol ekstrak kulit petai dengan perbedaan jenis pelarut dapat dilihat pada Gambar 4.1



Gambar 4.1 Analisis Fenol pada ekstrak kulit petai dengan berbagai pelarut

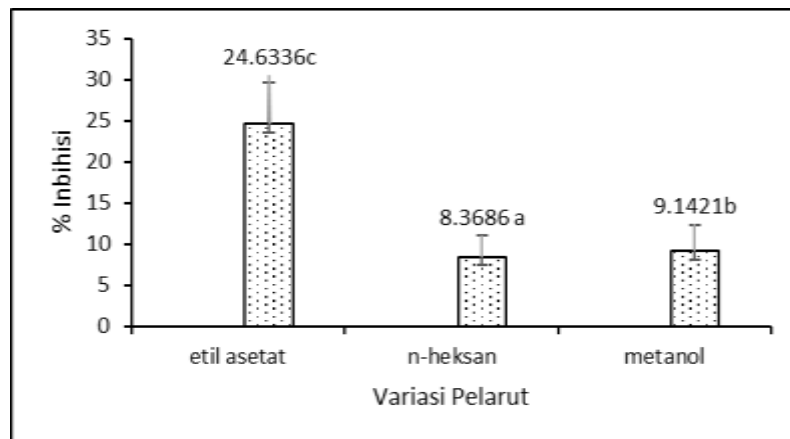
Berdasarkan Gambar 4.1 analisis fenol diatas nilai tertinggi pada analisis fenol dengan menggunakan pelarut etil asetat menghasilkan nilai 200,10 mg

GAE/ml , sedangkan hasil analisis fenol menggunakan pelarut metanol yaitu 47,46 mg GAE/ml , dan analisis fenol menggunakan pelarut n-heksan menghasilkan nilai terendah yaitu 34,42 mg GAE/ml. Berdasarkan hasil total fenol dengan menggunakan 3 pelarut hasilnya berbeda nyata, karena pengaruh perlakuan yang di berikan. Menurut penelitian Yura (2016) nilai tertinggi total fenol menggunakan pelarut etil asetat dengan ekstrak daun melinjo menghasilkan nilai 1,56 mg/g. Menurut penelitian Senet (2017) kandungan total fenol ekstraksi buah kersen dengan pelarut etanol menghasilkan 238,6 mg/g dan menggunakan pelarut etil asetat menghasilkan 848,8 mg/g. Menurut Aisyah and Ari (2012) total fenol pada ekstrak rumput laut *S. duplicatum* nilai tertinggi dengan menggunakan pelarut etil asetat yaitu 267,25 mg/g dan pada pelarut metanol menghasilkan total fenol 270,25 mg/g dan pada pelarut N-heksan menghasilkan 252,42 mg/g total fenol.

Menurut penelitian Prayoga (2019) total fenol pada ekstrak daun petai menggunakan pelarut metanol menghasilkan nilai tertinggi dibandingkan etil asetat yaitu 23,33 mg/g dan 17,44 mg/g. Analisis fenol ekstrak kulit petai dengan 3 variasi pelarut, pelarut metanol yang digunakan hasilnya lebih tinggi karena pelarut metanol dapat melarutkan senyawa polar atau non-polar yang terkandung pada ekstrak kulit petai. Total fenol ekstrak kulit petai dengan pelarut metanol menghasilkan nilai tertinggi dibandingkan dengan pelarut lainnya, sehingga antioksidan yang terdapat pada ekstrak kulit petai lebih kuat dibandingkan menggunakan pelarut n-heksan maupun etil asetat.

4.4 Uji Antioksidan

Aktivitas antioksidan yang berasal dari tanaman atau tumbuhan kerap dihubungkan dengan kandungan fenol dan flavonoid. Senyawa senyawa fenol telah dilaporkan mempunyai aktivitas antioksidan karena sifat redoksnya (Winarsi, 2017). Uji antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH (2,2- diphenil-1-picrylhydrazyl), dimana aktivitas antioksidan diukur berdasarkan kemampuan dari antioksidan itu sendiri untuk mendonorkan atom hidrogen ke radikal bebas dari DPPH. Hasil analisis aktivitas antioksidan ekstrak kulit petai dapat dilihat pada gambar 4.2 perlakuan ekstrak dengan menggunakan variasi berbagai pelarut menunjukan hasil yang berbeda nyata sehingga mampu menghambat radikal bebas dari DPPH. Aktivitas antioksidan diukur dengan mengukur jumlah penurunan intensitas warna ungu pada DPPH yang sebanding dengan adanya pengurangan konsentrasi yang terdapat pada larutan DPPH. Penurunan nilai absorbansi DPPH memiliki arti bahwa telah terjadi adanya penangkapan radikal bebas dari DPPH oleh sampel. Menurut Zuhra *et al.* (2018) penangkapan radikal tersebut mengakibatkan mengakibatkan ikatan rangkap diazo pada DPPH berkurang sehingga terjadinya penurunan absorbansi.



Gambar 4.2 Aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit petai dengan berbagai pelarut

Berdasarkan gambar 4.2 Analisis Antioksidan diatas nilai tertinggi pada analisis antioksidan dengan menggunakan pelarut etil asetat menghasilkan nilai 24,63 sedangkan hasil analisis fenol menggunakan pelarut N-Heksan memiliki nilai terendah yaitu 8,36, dan analisis fenol menggunakan pelarut metanol menghasilkan nilai yaitu 9,14. Berdasarkan hasil total fenol dengan menggunakan 3 pelarut menghasilkan hasil yang berbeda nyata, karena pengaruh dari perlakuan yang di berikan. Pemanasan dapat menyebabkan terjadinya dekomposisi senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya.

4.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas Antibakteri dilakukan untuk mengetahui aktivitas Antibakteri pada ekstrak metanol, n-heksan, dan etil asetat kulit petai. Uji aktivitas Antibakteri pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Alasan menggunakan metode difusi cakram dalam penelitian ini karena lebih praktis, cukup teliti dan mudah dilakukan.

Zona hambat yang terbentuk dari uji aktivitas Antibakteri akan dibandingkan dengan zona hambat dari kertas cakram yang berisi kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah kloramfenikol. Sedangkan untuk kontrol negatifnya menggunakan DMSO. Pengujian aktivitas Antibakteri ini dilakukan menggunakan metode difusi cakram dengan bakteri uji yaitu *Escherichia coli* (gram negatif), alasan menggunakan bakteri *E.Coli* karena kesensitifan bakteri tersebut terhadap senyawa Antibakteri tertentu.

Uji aktivitas Antibakteri menggunakan metode difusi agar, yaitu dengan cara menempelkan kertas cakram yang telah direndam terlebih dahulu ke dalam ekstrak kulit petai pada media MHA yang sudah ditambahkan dengan bakteri *E.Coli*. aktivitas Antibakteri ini ditentukan dengan mengukur zona hambat yang terbentuk di sekitaran kertas cakram. Ekstrak yang digunakan untuk pengujian aktivitas Antibakteri mempunyai konsentrasi 90% (v/v) dengan DMSO 0,5% berfungsi sebagai pengencer. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol dengan konsentrasi sebesar 5 mg/ml. Untuk kontrol negatifnya menggunakan DMSO dengan konsentrasi 0,5%. Diameter zona hambat yang dihasilkan disajikan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Rata rata diameter zona hambat ekstrak kulit petai metanol, n-heksan dan etil asetat terhadap bakteri e.coli

Jenis Ekstrak	Rata – rata Zona Hambat (mm)
	E. Coli
Metanol	1.47 ± 0.59 ^a
n-Heksan	0.30 ± 0.25 ^b
Etil Asetat	0.76 ± 0.10 ^c

Keterangan : kontrol (+) Cloramfenikol, kontrol (-) ; DMSO 0,5%

Menurut Susanto & Ruga (2012), jika diameter zona hambatnya sebesar 5mm atau kurang dari 5 mm maka aktivitas penghambatannya dikategorikan lemah, jika diameter zona hambatnya sebesar 6-10 mm maka dapat dikategorikan sedang, dan jika diameter zona hambatnya sebesar 11-20 mm atau lebih maka dapat dikategorikan kuat, sedangkan jika diameter zona hambatnya melebihi 21 mm dapat dikategorikan penghambatannya sangat kuat. Berdasarkan Tabel 4.3 menunjukkan bahwa hanya pelarut metanol yang memiliki aktivitas daya hambat, sedangkan untuk pelarut n-heksan dan etil asetat tidak memiliki aktivitas daya hambat. Untuk metanol pada ulangan pertama memiliki aktivitas daya hambat yang dikategorikan sangat kuat, sedangkan pada ulangan kedua untuk aktivitas daya hambatnya dapat dikategorikan kuat. Untuk kontrol positif yaitu dengan menggunakan kloramfenikol menghasilkan zona hambat dengan kategori sangat kuat pada bakteri *E.Coli* di ulangan pertama dan pada ulangan kedua masuk dalam kategori kuat.

Bakteri *E.Coli* mempunyai struktur dinding sel yang lebih kompleks. Hal ini diperkuat dengan pernyataan Jawetz, Melnick, & Adelberg, (2005) *E.Coli* termasuk dalam bakteri dengan gram negatif yang mempunyai resisten terhadap beberapa antibakteri, hal ini dapat disebabkan oleh tiga lapisan dinding sel dari bakteri gram negatif, sehingga ada beberapa senyawa yang tidak akan mampu merusak jaringan yang terdapat di dalam dinding sel bakteri *E.Coli*. Dinding sel bakteri gram negatif mengandung tiga polimer yaitu, lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida dan lapisan terdalamnya yaitu peptidoglikan dan

membran luar berupa bilayer (mempunyai ketahanan lebih baik terhadap senyawa yang keluar ataupun masuk sel dan dapat menyebabkan toksik).

Menurut Helmiyati & Nurrahman (2010), menambahkan bahwa dinding sel dari bakteri gram negatif hanya mengandung sedikit sekali peptidoglikan dan berada diantara selaput luar dan selaput dalam dinding sel. Dinding sel bakteri gram negatif sebelah luar merupakan komponen yang terdiri dari fosfolipid dan beberapa protein yang sering juga disebut sebagai auto player.

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan kloramfenikol. Berdasarkan Tabel 4.3 kontrol positif yang mempunyai zona hambat yang paling luas yaitu 30 mm pada ulangan pertama pada bakteri *E.Coli*. kloramfenikol mempunyai efektivitas antibiotik yang dapat digolongkan sangat kuat dalam hal menghambat pertumbuhan bakteri uji. Menurut Jawetz, Melnick, Adelberg, et al., (2005), kloramfenikol merupakan penghambat yang dikategorikan kuat terhadap sintesis protein pada mikroorganisme. Mekanisme penghambatan kloramfenikol yaitu dengan cara memblokir pada asam amino di rantai peptide yang mulai timbul pada unit 50S ribosom dengan mengganggu sistem kerja peptidyl transferase. Jadi mengakibatkan proses pertumbuhan mikroorganismenya menjadi terganggu.

Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah DMSO (*Dimetil Sulfoksida*). DMSO ini digunakan dalam penelitian ini karena dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar dan non polar dan DMSO ini tidak akan mengganggu hasil pengamatan dikarenakan tidak memberikan aktivitas terhadap pertumbuhan bakteri. Menurut Natheer et al., (2012), DMSO digunakan sebagai

kontrol negatif adalah pelarut yang digunakan sebagai pengencer dari senyawa yang akan diujikan. Hasil uji dari aktivitas Antibakteri dari kontrol negatif adalah tidak menghasilkan zona hambat untuk bakteri uji. Hal ini dikarenakan larutan DMSO tidak mengandung senyawa-senyawa Antibakteri.

Zona hambat tertinggi ekstrak kulit petai terdapat pada ekstrak kulit petai yang menggunakan pelarut metanol. Hal ini karena didukung oleh kandungan senyawa aktif yang ada pada ekstrak metanol kulit petai. Adapun salah satu senyawa yang terdapat dalam ekstrak kulit petai adalah senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid bersifat polar, sehingga senyawa tersebut lebih mudah masuk dan menembus lapisan peptidoglikan yang juga bersifat polar dibandingkan dengan lapisan lipid yang bersifat non polar seperti yang terdapat pada bakteri *E.Coli* (Dewi, 2010). Komponen khusus yang terkandung dalam bakteri gram negatif antara lain protein, fosfolipida, dan lipopolisakarida. Bakteri *E.Coli* memiliki dinding sel yang mempunyai sifat permeabilitas yang cukup tinggi yang memungkinkan zat aktif yang terdapat di dalam ekstrak kulit petai tidak dapat menembus dinding sel dari bakteri *E.Coli*, yang mengakibatkan bakteri tersebut tidak mengalami kerusakan ataupun terhambat pertumbuhannya (Masduki, 2016). Mekanisme penghambatan bakteri *E.Coli* diduga diakibatkan karena adanya senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak kulit petai seperti flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid.

Saponin adalah zat yang jika berinteraksi dengan dinding sel bakteri, maka dinding sel tersebut akan mengalami lisis atau pecah (Pratiwi, 2018). Saponin akan mengganggu tegangan yang terdapat pada permukaan dinding sel bakteri,

maka saat tegangan pada permukaan sel terganggu zat antibakteri, maka akan dengan mudah masuk ke dalam sel lalu mengganggu metabolisme hingga akhirnya terjadi kematian bakteri.

Senyawa tanin juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengkoagulasi protoplasma bakteri (Pratiwi, 2008). Menurut Masduki, (2016) tanin mempunyai peranan penting sebagai antibakteri dengan cara mengikat protein sehingga pada pembentukan dinding sel akan mengalami penghambatan. Mekanisme penghambatan tanin sendiri ialah dengan cara dinding sel bakteri yang telah mengalami lisis atau pecah akibat senyawa saponin dan flavonoid sehingga menyebabkan senyawa tanin dapat mudah masuk ke dalam sel bakteri dan mengkoagulasi protoplasma pada sel bakteri *E. coli*.

Senyawa alkaloid diduga mempunyai kemampuan sebagai antibakteri dengan mekanisme mengganggu komponen penyusunnya yaitu peptidoglikan yang terdapat pada sel bakteri, sehingga lapisan yang terdapat pada dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan akan menyebabkan kematian sel bakteri (Trimanto et al., 2018).

Menurut Gunawan (2009) senyawa alkaloid juga ikut berperan penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Gugus nitrogen yang terdapat pada alkaloid akan bereaksi dengan asam amino penyusun di dinding sel bakteri sehingga dapat menyebabkan terjadinya perubahan struktur dari asam amino. Perubahan struktur asam amino akan memicu terjadinya lisis yang ada di sel bakteri sehingga bakteri tersebut akan mengalami kematian.

Kandungan minyak atsiri genus *Ocimum* memiliki aktivitas antibakteri dan

kandungan minyak atsiri tersebut hanya berpengaruh dalam aktivitas antibakteri, bukan aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan lebih dipengaruhi oleh kandungan senyawa fenolik yang berdasarkan pada penelitian ini lebih bersifat polar. Bendini *et al.* 2006 melakukan penelitian mengenai hubungan antara kandungan fenolik dengan aktivitas antioksidan dan antibakteri dari lima spesies *Passiflora* di Italia. Penelitian tersebut melaporkan bahwa *P. nitida*, *P. foetida*, dan *P. palmeri* memiliki aktivitas Antibakteri dan antioksidan yang tinggi. *P. tenuifila* dan *P. coriacea* menunjukkan aktivitas antioksidan namun tidak menunjukkan aktivitas Antibakteri. (Trimanto *et al.*, 2018).

Tingginya aktivitas antioksidan berhubungan dengan tingginya jumlah senyawa o-diphenol dan katekin. Beberapa komponen yang tidak diketahui, sementara diidentifikasi sebagai struktur isomer yang muncul dan senyawa tersebut berhubungan dengan aktivitas Antibakteri yang muncul. Pada penelitian ini, ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan dan kandungan total fenol yang paling tinggi diantara dua ekstrak lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang ada disebabkan karena kehadiran senyawa fenolik. Di sisi lain, aktivitas antibakteri tertinggi ditunjukkan pada ekstrak metanol. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa yang berperan dalam aktivitas antibakteri tidak berasal dari senyawa fenolik pada ekstrak etil asetat yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi, namun berasal dari senyawa lain yang terdapat pada ekstrak metanol. Niswah, *et al.* (2014)

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan pemurnian atau fraksinasi ekstrak yang digunakan (metanol, n-heksan, etil asetat) supaya ada peningkatan terhadap zona hambat.
2. Perlu dilakukan penelitian pengujian aktivitas antibakteri dengan menggunakan mikroorganisme patogen lainnya untuk mengetahui kemampuan dari kulit petai sebagai zat Antibakteri atau antifungi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alawiyah, T., Khotimah, S., & Mulyadi, A. (2016). Aktivitas antijamur ekstrak teripang darah (*Holothuria atra jeager.*) terhadap pertumbuhan jamur *Malassezia furfur* penyebab panu. *Jurnal Protobiont*, 5(1).
- Azis, T., Febrizky, S., & Mario, A. D. (2014). Pengaruh jenis pelarut terhadap persen yield alkaloid dari daun salam india (*Murraya koenigii*). *Jurnal Teknik Kimia*, 20(2).
- Bendini A, Cerretani L, Pizzolante L, Toschi TG, Guzzo F, Ceoldo S, Marconi AM, Andreetta F, Levi M. 2006. *Phenol content related to antioxidant and antimicrobial activities of Passiflora spp. extracts.* *Eur. Food Res Technol* 223:102–109.
- Cahyadi, W., Gozali, T., & Fachrina, A. (2018). Pengaruh konsentrasi gula stevia dan penambahan asam askorbat terhadap karakteristik koktil bawang dayak (*Eleutherine palmifolia*). *Pasundan Food Technology Journal*, 5(2), 154–163.
- Depkes, R. I. (2009). *Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor: 661. MENKES/SK/IV/2009 tentang Farmakope Herbal Indonesia Edisi Pertama.*
- Dewi, F. K. (2010). *Aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah mengkudu (Morinda citrifolia, Linnaeus) terhadap bakteri pembusuk daging segar.*
- Djide, N. (2008). Dasar-dasar mikrobiologi farmasi. *Makassar: Lembaga Penerbitan Universitas Hasanuddin, Hal*, 340–342.
- Dwyana, Z., & Johannes, E. (2012). Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Alga Merah *Eucheuma Cottonii* Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 7(1).
- Erawati, Y. (2002). *Uji Daya Meredam Radikal Bebas Terhadap 1, 1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazyl (DPPH) Dari Ekstrak Biji Buah Anggur Putih Varietas Belgia Secara Spektrofotometri Tampak.*
- Faizal, A., Jompa, J., & Nessa, N. (2012). Pemetaan Spasio-Temporal Ikan-Ikan Herbivora Di Kepulauan Spermonde, Sulawesi Selatan [Spatio-temporal mapping of herbivorous fishes at Spermonde Islands, South Sulawesi]. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 12(2), 121–133.
- Fasya, A. G., Dinasti, A. R., Shofiyah, M., Rahmawati, L. M., Millati, N., Safitri, D. A., Handoko, S., Hanapi, A., & Ningsih, R. (2016). Ekstraksi, Hidrolisis dan Partisi Metabolit Sekunder dari Mikroalga *Chlorella sp.* *ALCHEMY*, 5(1), 5–8.
- Frank, C., Mohamed, M. K., Strickland, G. T., Lavanchy, D., Arthur, R. R., Magder, L. S., El Khoby, T., Abdel-Wahab, Y., Anwar, W., & Sallam, I. (2000). *The role of parenteral antischistosomal therapy in the spread of hepatitis C virus in Egypt. The Lancet*, 355(9207), 887–891.




- González-Lamothe, R., Mitchell, G., Gattuso, M., Diarra, M. S., Malouin, F., & Bouarab, K. (2009). *Plant antimicrobial agents and their effects on plant and human pathogens. International Journal of Molecular Sciences, 10*(8), 3400–3419.
- Harbone, J. (1987). *Metoda fitokimia, penuntun cara modern menganalisis tumbuhan.*(edisi ke-2). *Diterjemahkan Oleh K Padmawinata DanI Soediro ITB, Bandung.*
- Helmiyati, A. F., & Nurrahman, N. (2010). Pengaruh konsentrasi tawas terhadap pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif. *Jurnal Pangan Dan Gizi, 1*(1), 116514.
- Huang, S., & Ingber, D. E. (2005). Cell tension, matrix mechanics, and cancer development. *Cancer Cell, 4*(1), 71–79.
- Hudalah, D., Winarso, H., Woltjer, J., & Linden Gerard, J. J. (1998). *Policy network and institutional capacity: An analysis of peri-urban environmental and infrastructure planning conflicts in Indonesia.* no.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. (2005). *Mikrobiologi Kesehatan. Penerbit Buku Kesehatan. Jakarta.*
- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., Brooks, G. F., Butel, J. S., & Ornston, L. N. (2005). *Mikrobiologi kedokteran. Jakarta: EGC.*
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., & Kurniadi, M. T. B. (2008). *Buku ajar fitokimia jurusan kimia laboratorium kimia organik.* FMIPA Universitas Airlangga.
- Kuncahyo, I., & Sunardi. (2007). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi, l.) Terhadap 1, 1-diphenyl-2- Picrylhidrazyl(DPPH).*
- Malinggas, F. (2015). *Uji daya hambat ekstrak buah mengkudu (M. citrifolia, L) terhadap pertumbuhan Streptococcus mutans secara in vitro. Pharmacon, 4*(4).
- Marliana, S. D., & Suryanti, V. (2015). Suyono. 2005. *Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (Sechium edule Jacq. Swartz.) dalam ekstrak etanol. Biofarmasi, 3*(1), 26–31.
- Marlina, S. D., Suryanti, V., & Suyono. (2005). The phytochemical screenings and thin layer chromatography analysis of chemical compounds in ethanol extract of labu siam fruit (*Sechium edule Jacq. Swartz.*). *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry, 3*(1), 26–31. <https://doi.org/10.13057/biofar/f030106>
- Masduki, I. (1996). Efek antibakteri ekstrak biji pinang (*Areca catechu*) terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. *Cermin Dunia Kedokteran, 109*(2).
- Munawaroh, S., & Handayani, P. A. (2010). Ekstraksi minyak daun jeruk purut (*citrus hystrix DC*) dengan pelarut etanol dan N-heksana. *Jurnal Kompetensi Teknik, 2*(1).
- Natheer, S. E., Sekar, C., Amutharaj, P., Rahman, M. S. A., & Khan, K. F. (2012). *Evaluation of antibacterial activity of Morinda citrifolia, Vitex trifolia and Chromolaena odorata. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 6*(11), 783–788.
- Ngaisah, S. (2010). *Identifikasi dan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun sirih merah (piper crocatum ruiz & pav.) Asal Magelang.*




- Nuria, M. C., & Faizatun, A. (2009). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas L*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Mediagro: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 5(2).
- Pratiwi, S. I. (2008). *Aktivitas antibakteri tepung daun jarak (Jatropha curcas L.) pada berbagai bakteri saluran pencernaan ayam broiler secara in vitro.*
- Prawira, M. (2013). *Daya Hambat Dekok Daun Kersen (Muntingia Calabura L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus Penyebab Penyakit Mastitis Pada Sapi Perah.* Universitas Brawijaya.
- Prayoga, D. G. E., Nocianitri, K. A., & Puspawati, N. N. (2019). Identifikasi senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak kasar daun pepe (*Gymnema reticulatum Br.*) pada berbagai jenis pelarut. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 8(2), 111–121.
- Pudjaatmaka, A. H. (2002). *Kamus kimia.* PT Balai Pustaka.
- Putri, A. M. (2020). Perbandingan Aktifitas Antioksidan Terhadap Biji Bunga Matahari (*Helianthus Annuus L.*) Dengan Tumbuhan Lainnya. *Journal of Research and Education Chemistry*, 2(2), 85. [https://doi.org/10.25299/jrec.2020.vol2\(2\).5667](https://doi.org/10.25299/jrec.2020.vol2(2).5667)
- Rahayu, S., Kurniasih, N., & Amalia, V. (2015). Ekstraksi dan identifikasi senyawa flavonoid dari limbah kulit bawang merah sebagai antioksidan alami. *Al-Kimiya: Jurnal Ilmu Kimia Dan Terapan*, 2(1), 1–8.
- Robinson, T. (1991). *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*, diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB: Bandung.
- Rohman, A., Riyanto, S., & Hidayati, N. K. (2007). Aktivitas Antioksidan, Kandungan Fenolik Total, Dan Flavonoid Total Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*). *AGRITECH*, 27(4), 147–152.
- Sardjono, A. (2010). *Hak kekayaan intelektual dan pengetahuan tradisional.* Alumni.
- Sellappan, S., & Akoh, C. C. (2002). Flavonoids and antioxidant capacity of Georgia-grown *Vidalia* onions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(19), 5338–5342.
- Senet, M. R. M., Parwata, I. M. O. A., & Sudiarta, I. W. (2017). Kandungan total fenol dan flavonoid dari buah kersen (*Muntingia calabura*) serta aktivitas antioksidannya. *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*, 187–193.
- Susanto, D. S., & Ruga, R. (2012). Studi kandungan bahan aktif tumbuhan meranti merah (*Shorea leprosula Miq*) sebagai sumber senyawa antibakteri. *Mulawarmnan Scientifie*, 11(2), 181–190.
- Tamat, S. R. , Wikanta, T., & Maulina, L. S. (2007). Aktivitas antioksidan dan toksisitas senyawa bioaktif dari ekstrak rumput laut hijau *Ulva reticulata Forsskal.* *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 5(1), 31–36.
- Trimanto, T., Dwiyantri, D., & Indriyani, S. (2018). Morfologi, Anatomi Dan Uji Histokimia Rimpang *Curcuma aeruginosa* Roxb; *Curcuma longa L.* DAN *Curcuma heyneana* Valetton dan Zijp. *Berita Biologi*, 17(2), 123–133.




- Tuntun, M. (2016). Uji efektivitas ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan*, 7(3), 497–502.
- Volk, W. A., & Wheeler, M. F. (1988). Mikrobiologi Dasar, Jilid I, Edisi Kelima. *Diterjemahkan Oleh Markham. Penerbit Erlangga, Jakarta.*
- Wardhani, L. K., & Sulistyani, N. (2012). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun binahong (*Anredera scandens (L.) Moq.*) terhadap *Shigella flexneri* beserta profil kromatografi lapis tipis. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2(1), 1–6.
- Winarsi, H. (2007). *Antioksidan alami & radikal bebas.*
- Yulianti, D., Susilo, B., & Yulianingsih, R. (2014). Pengaruh Lama Ekstraksi Dan Konsentrasi Pelarut Etanol Terhadap Sifat Fisika-Kimia Ekstrak Daun Stevia (*Stevia rebaudiana bertonii M.*) Dengan Metode *Microwave Assisted Extraction (Mae)*. *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*, 2(1), 35–42.
- Yura, S., Sulaiman, M. I., & Novita, M. (2016). Pengaruh jenis pelarut terhadap aktivitas antioksidan dan kandungan fenol beberapa jenis bayam dan sayuran lain. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 1(1), 935–940.
- Yusuf, S. R. (2018). Uji Aktivitas Mukolitik Fraksi Etil Asetat Daun Lantana *Camara L.* Secara *In Vitro*. University of Muhammadiyah Malang.

LAMPIRAN

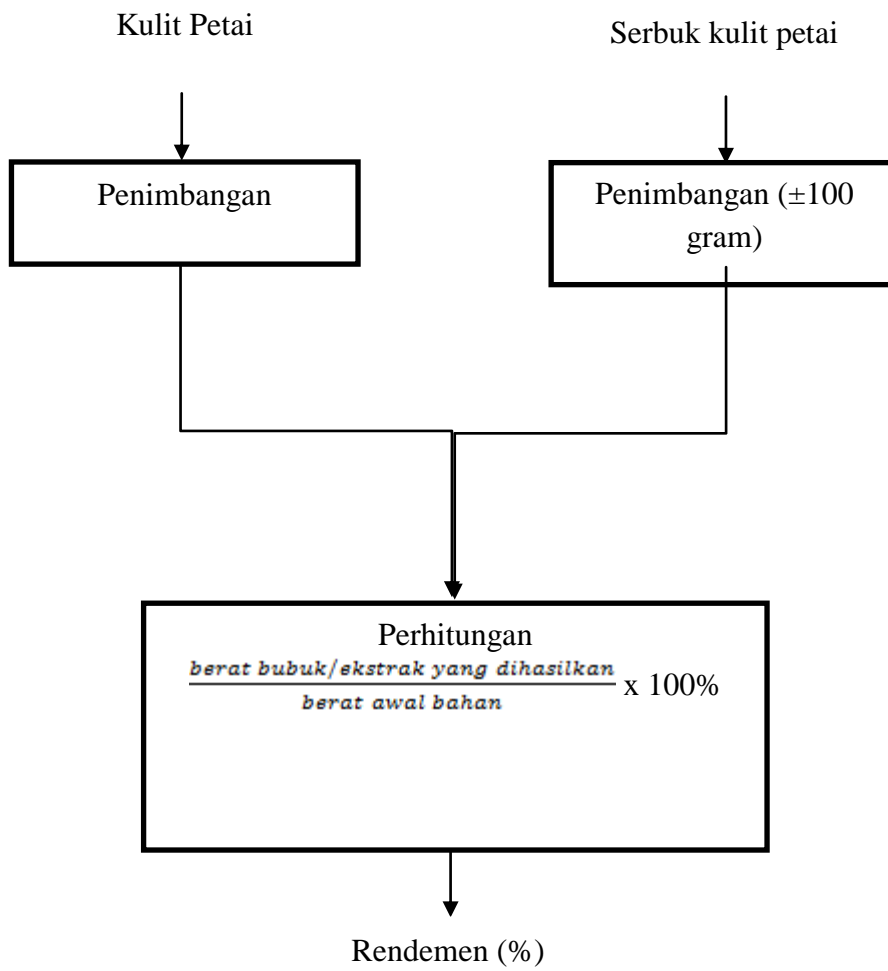
Lampiran 1. Dokumentasi penelitian

No	Foto	Keterangan
1.		Hasil Uji Saponin
2.		Hasil Diameter Zona Hambat Bakteri
3.		Hasil uji fitokimia

4.		Pengecilan Ukuran Menggunakan Blender
5.		Hasil Serbuk Halus Kulit Petai
6		Penimbangan Kulit Petai Basah

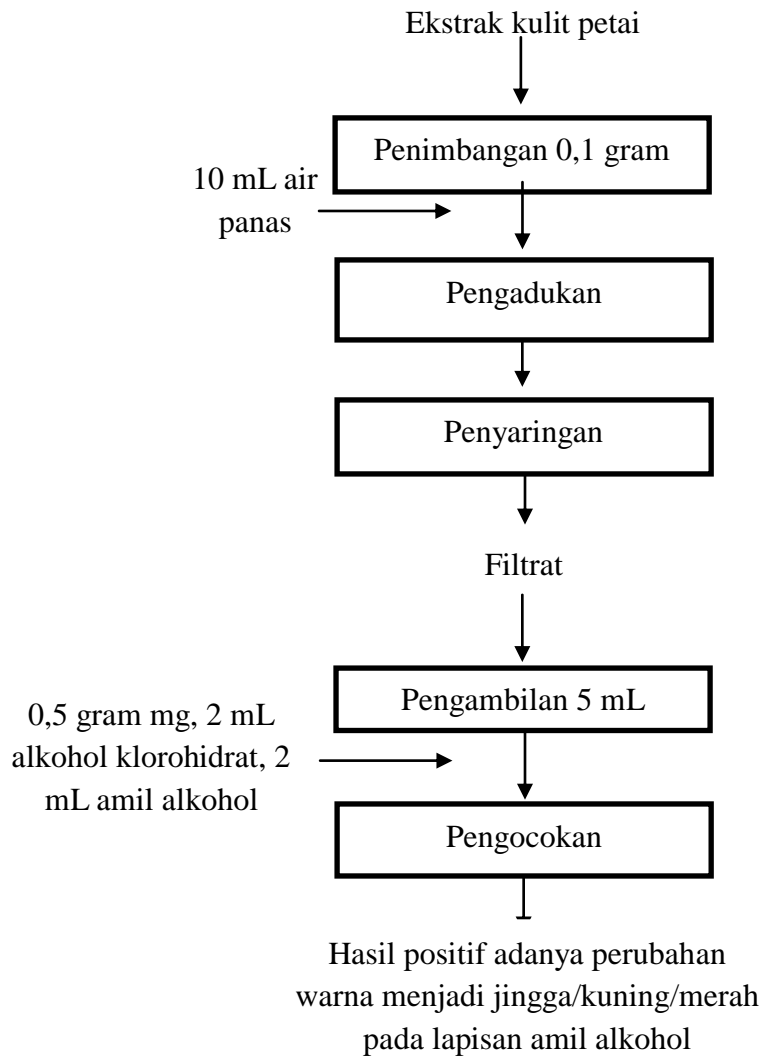
7.		Pengayakan Serbuk Kulit Petai Menggunakan Ayakan Mesh 60
8.		Proses Ekstraksi Serbuk Kulit Petai
9.		Hasil Ekstrak Kental Kulit Petai

Lampiran 1. Diagram Alir Analisis Rendemen

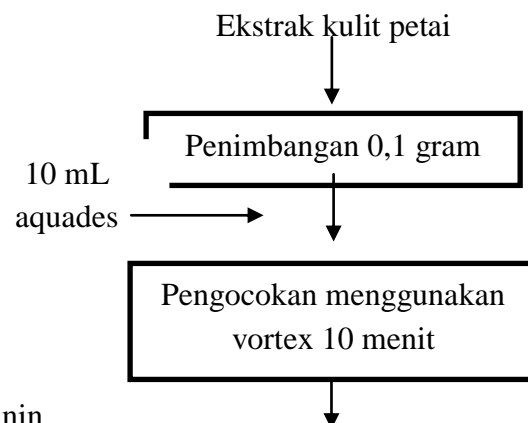


Lampiran 2. Uji Fitokimia

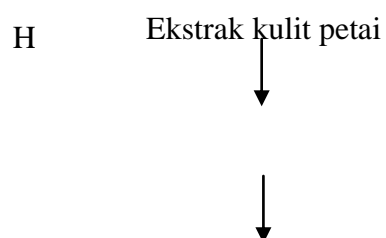
- Uji Flavonoid

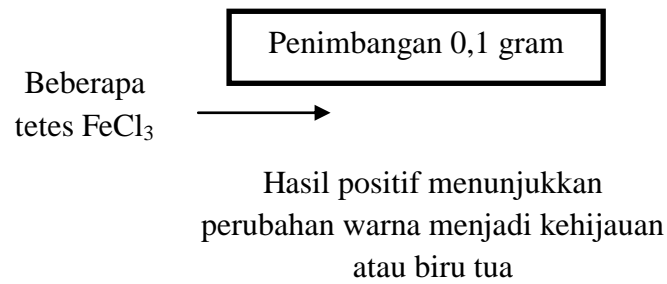


- Uji Saponin

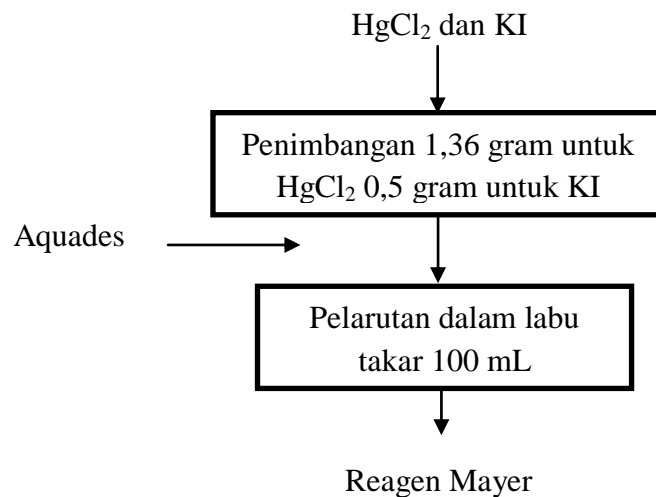


- Uji Tanin

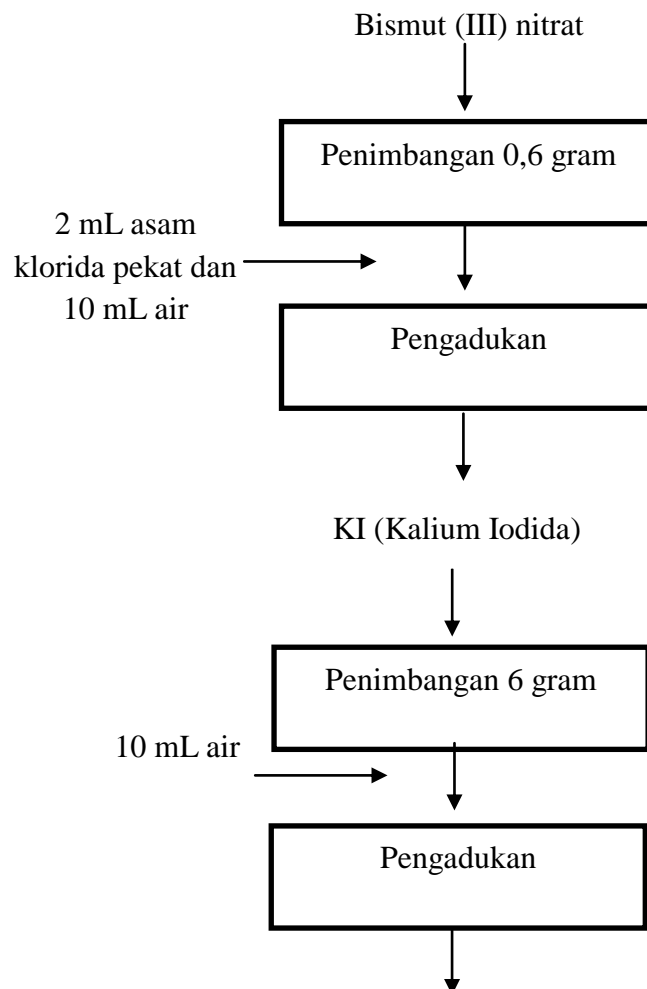


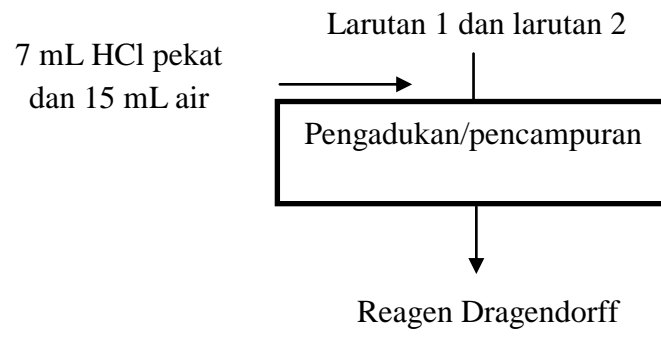


- Uji Alkoloid
Pembuatan Reagen Mayer

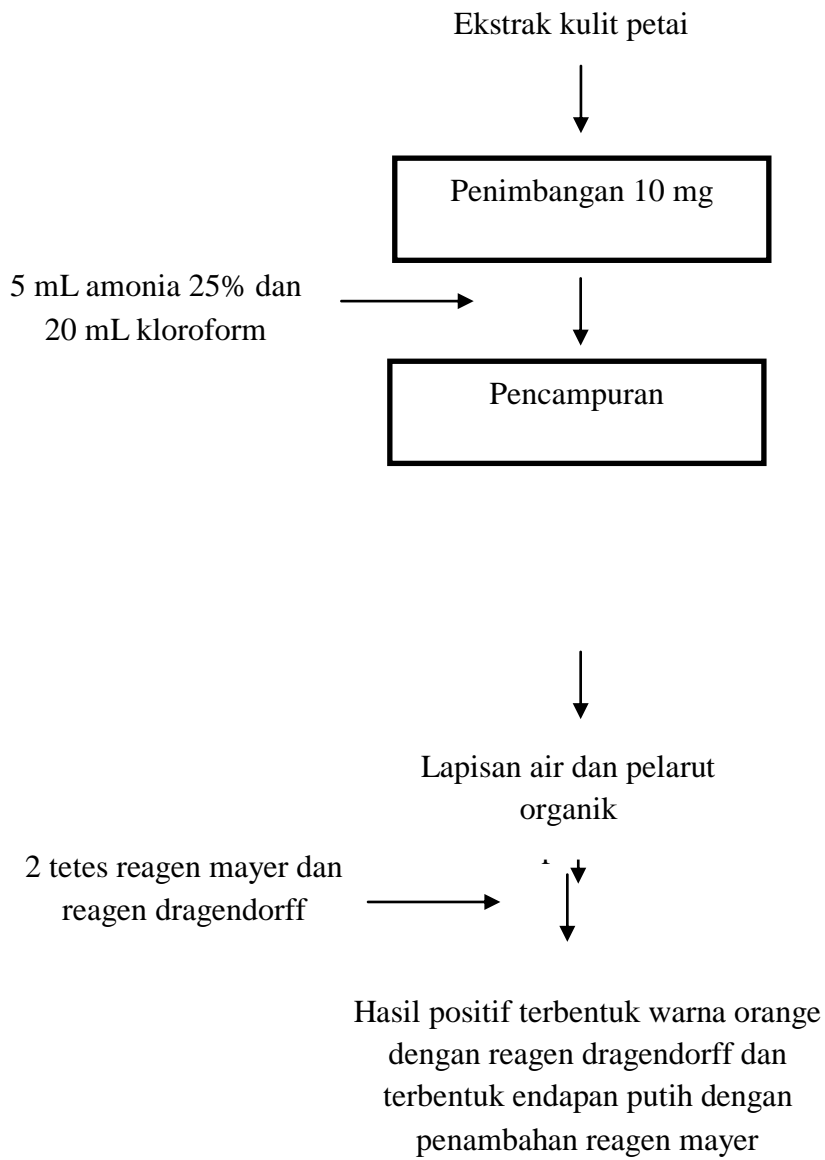


- Pembuatan Reagen Dregendorff

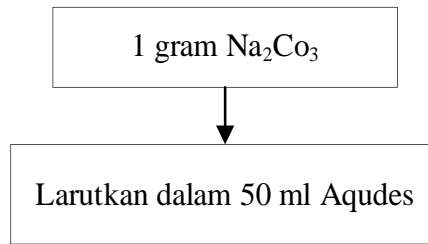




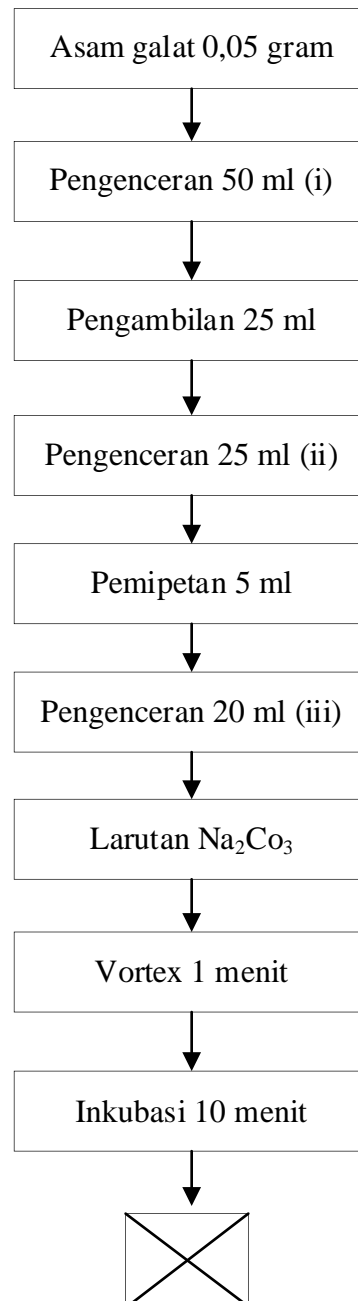
Pengujian Alkoloid



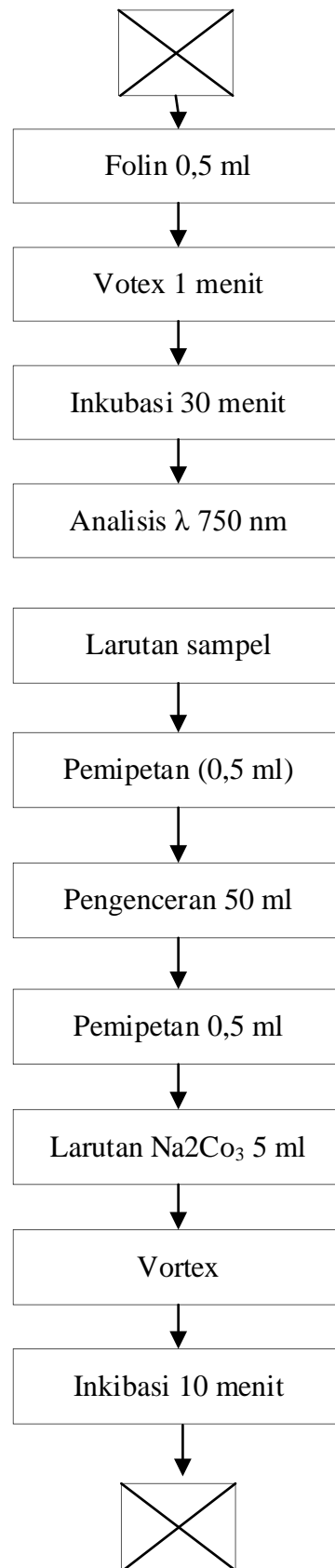
Lampiran 3. Uji Total Kandungan Fenol

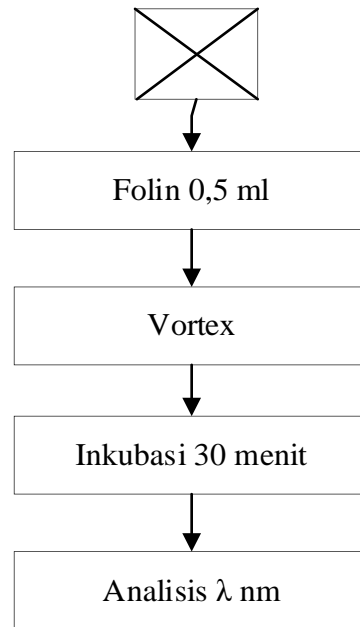
1). Pembuatan larutan Na_2CO_3 

2). Pembuatan Standar



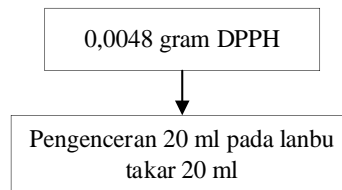
3). Pengujian sampel





Lampiran 4. Uji Aktivitas Antioksidan

1). Pembuatan larutan DPPH



2). Larutan kontrol

Blanko = 4 mL Akuades + 0,5 mL metanol

Uji coba = U1 → 3 mL Akuades + 0,5 mL DPPH = 0,735

U2 → 3 mL Akuades + 0,7 mL DPPH = 0,977

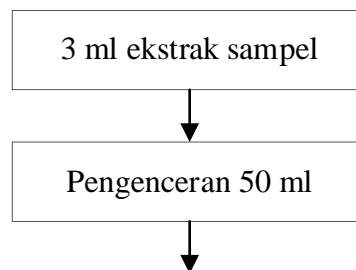
U3 → 3 mL Akuades + 0,8 mL DPPH = 1,103

U4 → 4 mL Akuades + 0,5 mL DPPH = 0,627

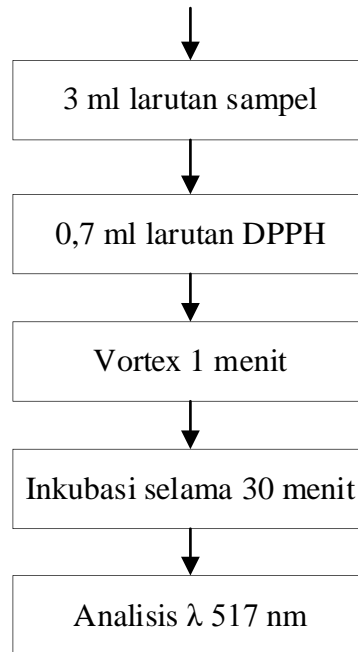
U5 → 4 mL Akuades + 0,7 mL DPPH = 0,808

U1 → 4 mL Akuades + 0,8 mL DPPH = 0,807

3). Pengujian sampel



3x Pengulangan $\frac{1}{50}$ $\frac{2}{50}$ $\frac{3}{50}$ $\frac{4}{50}$ $\frac{5}{50}$ ml pengenceran / ml aquades



Rendemen Ekstrak Kulit Petai

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak pekat yang diperoleh}}{\text{berat sampel yang digunakan}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen Etil asetat} = \frac{110}{150} \times 100\% = 0,73 \%$$

$$\text{Rendemen n-heksan} = \frac{70}{150} \times 100\% = 0,46 \%$$

$$\text{Rendemen Metanol} = \frac{115}{150} \times 100\% = 0,76 \%$$

Lampiran Uji Anova Antioksidan.

ANOVA

ekstrak					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	505.130	2	252.565	17.582	.003
Within Groups	86.188	6	14.365		
Total	591.318	8			

- **Uji ANOVA**

Berdasarkan output Anova diatas didapat nilai sig. < 0.05 maka dapat disimpulkan ke tiga larutan berbeda secara nyata.

- **Uji Homogenitas**

ekstrak

Duncan^a

pelarut	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
n-heksan	3	8.36867	
metanol	3	9.14233	
etil asetat	3		24.63367
Sig.		.811	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran Uji Anova Total Fenol

- Uji ANOVA

ANOVA

KadarFenol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	509146294.222	2	254573147.111	13198.069	.000
Within Groups	115732.000	6	19288.667		
Total	509262026.222	8			

Berdasarkan output Anova diatas didapat nilai sig. < 0.05 maka dapat disimpulkan ke tiga larutan berbeda secara nyata.

- Uji Homogenitas

KadarFenol

Duncan^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Etil Asetat	3	3442.3333		
N-Heksan	3		4746.3333	
Metanol	3			20009.6667
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 1.**Descriptives**

Kadar total fenol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
methanol	2	46.3400	1.58392	1.12000	32.1091	60.5709	45.22	47.46
ethyl asetat	2	200.5600	0.65054	.46000	194.7151	206.4049	200.10	201.02
N-heksan	2	31.8150	3.68403	2.60500	-1.2847	64.9147	29.21	34.42
Total	6	92.9050	83.66155	34.15469	5.1076	180.7024	29.21	201.02

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
ulangan	Based on Mean	28687923435196090000000000000.000	2	3	.000
	Based on Median	28687923435196090000000000000.000	2	3	.000
	Based on Median and with adjusted df	28687923435196090000000000000.000	2	1.000	.000
	Based on trimmed mean	43466550659388015000000000000.000	2	3	.000

ANOVA

ulangan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	34979.773	2	17489.886	3179.199	.000
Within Groups	16.504	3	5.501		
Total	34996.277	5			

KadarFenol

Duncan^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Etil Asetat	3	3442.3333		
N-Heksan	3		4746.3333	
Metanol	3			20009.6667
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
perlakuan	1	Etil Asetat	3
	2	N-Heksan	3
	3	Metanol	3

Multivariate Tests^a

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Intercept	Pillai's Trace	.626	10.047 ^b	1.000	6.000	.019
	Wilks' Lambda	.374	10.047 ^b	1.000	6.000	.019
	Hotelling's Trace	1.675	10.047 ^b	1.000	6.000	.019
	Roy's Largest Root	1.675	10.047 ^b	1.000	6.000	.019
perlakuan	Pillai's Trace	.008	.023 ^b	2.000	6.000	.977
	Wilks' Lambda	.992	.023 ^b	2.000	6.000	.977
	Hotelling's Trace	.008	.023 ^b	2.000	6.000	.977
	Roy's Largest Root	.008	.023 ^b	2.000	6.000	.977

a. Design: Intercept + perlakuan

b. Exact statistic

**BUKU BIMBINGAN SKRIPSI**

NAMA	CHRISNANDA MAFIANA
NPM	16690014
PROGRAM STUDI	TEKNOLOGI PANGAN
DOSEN PEMBIMBING	1. Fafa Nurdyansyah S.TP.,M.Sc 2. Dr. Pi. Rizky Muliani Dwi Ujjanti, S.Si., M.Si.

PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN**FAKULTAS TEKNIK DAN INFORMATIKA****UNIVERSITAS PGRI SEMARANG****2020**

Buku Bimbingan Skripsi-Program S1



UNIVERSITAS PGRI SEMARANG
FAKULTAS TEKNIK DAN INFORMATIKA

Kampus: Jalan Sidodadi Timur Nomor 24 Dr. Cipto, Semarang – Indonesia 50125
 Telp. (024) 8316377, Faks. (024)8448217, Email: upgrisng@gmail.com. Homepage:
 www.upgrisng.co.id

LEMBAR PEMBIMBINGAN SKRIPSI

Nama Mahasiswa : Chrisnanda Mafiana
 NPM : 16690014
 Program Studi : Teknologi Pangan
 Judul Skripsi : AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN
 EKSTRAK KULIT PETAI (*Parkia Spectosa* Hassk.)
 BERDASARKAN PERBEDAAN JENIS PELARUT

Dosen Pembimbing I : Fafa Nurdyansyah S.TP.,M.Sc
 Dosen Pembimbing II : Dr. Pi. Rizky Muliani Dwi Ujianti, S.Si., M.Si.

No.	Hari, tanggal	Uraian Bimbingan	Paraf
1.	Selasa, 11-10-2020	Konsultasi Penelitian yang dilakukan	
2.	Rabu, 18-10-2020	Konsultasi Rancangan Percobaan	

Dosen Pembimbing,

Fafa Nurdyansyah S.TP.,M.Sc
 NIDN. 0622118901

Mahasiswa,

Chrisnanda Mafiana
 NPM 16690014


UNIVERSITAS PGRI SEMARANG
FAKULTAS TEKNIK DAN INFORMATIKA

 Kampus: Jalan Sidodadi Timur Nomor 24 Dr. Cipto, Semarang - Indonesia 50125
 Telp. (024) 8316377, Faks. (024)8448217, Email: upgrismg@gmail.com Homepage:
www.opgrisng.co.id

No.	Hari, tanggal	Uraian Bimbingan	Paraf
3.	Rabu, 27-10-2021	Pembuatan serbuk kulit petai	
	Kamis, 8-11-2021	Proses maserasi ekstrak kulit petai	
4.	Senin, 15-11-2021	menggunakan tiga variasi pelarut (methanol, etil asetat, n-heksan)	
5.	Selasa, 4-1-2022	Percobaan Pembuatan ekstrak kulit petai (laboratorium USM)	
6.	Senin, 17-1-2022	Konsultasi Mengenai Hasil pembuatan ekstrak	
7.	Rabu, 9-2-2022	Percobaan pembuatan ekstrak kulit petai (laboratorium UPGRIS)	
8.	Senin, 28-2-2022	Konsultasi Hasil Pembuatan ekstrak kulit petai.	
9.	Senin, 7-3-2022	Percobaan uji fitokimia (flavonoid, saponin, tanin, alkaloid)	
10.	Senin, 28-3-2022	Konsultasi mengenai hasil uji fitokimia	
11.	Senin, 4-4-2022	Percobaan peremajaan bakteri <i>E.Coli</i>	
12.	Rabu, 6-4-2022	Konsultasi hasil peremajaan bakteri <i>E.Coli</i>	
13.	Senin, 11-4-2022	Pembuatan inokulum bakteri <i>E.Coli</i>	
14.	Selasa, 19-4-2022	Perhitungan jumlah sel bakteri	
15.	Selasa, 25-4-2022	Uji aktivitas antibakteri	
16.	Rabu, 27-4-2022	Pengukuran zona hambat	
17.	Selasa, 17-5-2022	Percobaan uji antioksidan	
18.	Kamis, 19-5-2022	Konsultasi mengenai hasil uji antioksidan	
19.	Senin, 23-5-2022	Percobaan uji total fenol	
20.	Rabu, 25-5-2022	Konsultasi mengenai hasil uji total fenol	