

Daftar Pustaka

- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas Salmonella thypimurium Terhadap Ekstrak Daun Psidium guajava L. *J. Bioscientiae*;. **1** (1): 31-38.
- Bajpai, V. K., Rahman, A., & Kang, S. C. 2008. Chemical composition and inhibitory parameters of essential oil and extracts of Nandina domestica Thunb. to control food-borne pathogenic and spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, **125**(2), 117e122.
- Cheeke R,P. 2004. *Saponins: surprising benefits of desert plants*. USA: Linus Pailing Institute.
- Dwidjoseputro. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambaran; Jakarta
- Guerrero,G.L. 2016. Antimicrobial activity of plant-food by-products: a review focusing on the tropics. *J. Livestock Science* , S1871-1413(16)30082-8.
- Kumar S, Mahanti P, Rath S.K, Patra J.K. 2017. Qualitative Phytochemical Analysis and Antibacterial Activity of (*Dioscorea alata* L.): A Nutraceutical Tuber Crops of Rural Odisha. *Journal Alt Med Res* **3**(1): 122.
- Lewis, K., & Ausubel, F. M. 2006. Prospects for plant-derived antibacterials. *J.Nature Biotechnology*, **24**(12), 1504e1507.
- Pelczar,J.M dan Chan, E.C.S. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. Jakarta: Penerbit UI Press.
- Rubatzky, V.E. dan M. Yamaguchi. 1998. *Fisiologi Tumbuhan*. Alih Bahasa : Diah R. Lukman dan Sumaryono. ITB Bandung. 343 Hal
- Setyawati, R.N. Idiani,N. D. Sri, N.N.M. 2014. Pengaruh Ekstrak Etanol Umbi Uwi Ungu (*Dioscorea alata*.L) Terhadap Gambaran Histologis Mukosa Intestinum pada Mencit Model Alergi. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. <https://doi.org/10.18196/mmjkk.v14i2.9384>.
- Subandrio, W.K.A. 1995. *Kemoterapi Antimikroba, Antibiotika*. Fakultas MIPA Universitas Indonesia.
- Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., & Cliver, D. O. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, **21**(9), 1199e1218.
- Tiwari, B. K., Valdramidis, V. P., O'Donnell, C. P., Muthukumarappan, K., Bourke, P., & Cullen, P. J. 2009. Application of natural antimicrobials for food preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **57**(14), 5987e6000.
- Trustinah. 2013. *Karakteristik dan keragaman Morfologi Uwi-Uwian (Dioscorea sp.)*, Makalah disajikan dalam Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi : 717-726.
- Wallace, R. J. 2004. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of the Nutrition Society*, **63**(04), 621e629.
- Zheng, L, Bae, Y, M, Jung, K, S, Heu, S, Lee, S, Y. 2013. Antimicrobial activity of natural antimicrobial substances against spoilage bacteria isolated from fresh produce. *Food Control*. **32**(2):665-672.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Uwi (*Dioscorea spp.*)

Tanaman uwi (*Dioscorea spp.*) menghasilkan umbi yang digolongkan dengan umbi udara dan umbi yang terdapat dalam tanah, tanaman ini merupakan tumbuhan monokotil semusim, tumbuh merambat dengan arah belit ke kanan, panjang batang mencapai 10 meter, tidak berduri tetapi ada yang berbintik di bagian dasar, batang bersudut empat bersayap nyata, warna hijau atau keunguan, sering kali ada umbi di ketiak daun. Daun tunggal, pertulangan daun melengkung, dengan tujuh sampai dengan sembilan tulang daun, warna daun hijau atau keunguan, helaian daun bulat telur dengan pangkal berbentuk jantung dan ujung meruncing panjang, sistem perakaran serabut. Tanaman uwi (*Dioscorea spp.*) memiliki bunga berbentuk bulir, bunga jantan bulir rapat, bunga betina bulir tidak rapat, perbungaan terjadi pada bulan Mei-Juni, dengan pipih membulat sekelilingnya bersayap. Umbi di bawah tanah memiliki bentuk dan ukuran bervariasi (Budoyo, 2010).

Spesies *Dioscorea spp.*, di Indonesia memiliki ragam morfologi yang cukup luas, terdiri atas uwi buah (*Dioscorea bulbifera*), uwi upas (*Dioscorea nummularia*), uwi sawut (*Dioscorea pentaphylla*), uwi kelapa (*Dioscorea alata* L.), gembili (*Dioscorea esculenta*), gadung (*Dioscorea hispida*) dan beberapa spesies lainnya. Secara umum, untuk membedakan satu spesies

Dioscorea dengan spesies lainnya adalah arah lilitan dan bentuk batang, ada tidaknya duri pada batang, bentuk dan jumlah helaian daun, ada tidaknya buah di atas atau biasa disebut buah katak (aerial bulbil), bentuk umbi, jumlah dan ukuran umbi, serta warna umbi (Flach dan Rumawas, 1996).

Klasifikasi uwi menurut Budoyo (2010), sebagai berikut :

Divisi : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledoneae
Ordo : Liliales
Familia : Dioscoreaceae
Genus : *Dioscorea*
Spesies : *Dioscorea alata* L.

Umbi uwi (*Dioscorea spp.*) adalah tanaman yang penting di banyak negara tropis yang sebagian spesiesnya dibudidayakan untuk pangan dan obat-obatan (Li et al. 2011). Salah satu spesies yang terdapat di Indonesia adalah *Dioscorea alata* L (uwi, ubi kelapa, keribang, *water yam*). *Dioscorea alata* L. dalam bahasa Inggris disebut *greater yam*, *water yam* dan *tenmonths yam*. Dalam bahasa Indonesia disebut Uwi sedangkan dalam bahasa daerah Sulawesi disebut beragam nama seperti Lame, oppa, sura, kappa, kaporo.

Keanekaragaman uwi sangat banyak baik dilihat dari bentuk, ukuran, warna, maupun rasa umbinya. Terdapat lebih dari 600 spesies dari genus

Dioscorea spp. tersebar di berbagai negara, termasuk Indonesia, antara lain *Dioscorea hispida* (gadung), *Dioscorea esculenta* (gembili), *Dioscorea bulbifera* (gembolo), *Dioscorea alata* (uwi ungu/purple yam), *Dioscorea opposita* (uwi putih), *Dioscorea villosa* (uwi kuning) (Sri dan Erwan, 2013).

B. Umbi Uwi Ungu (*Dioscorea alata* L.)

Tanaman uwi ungu (*Dioscorea alata* L.) memiliki ciri-ciri kulit bagian dalam warna ungu tua, daging ungu muda, dan terdapat bercak ungu tidak beraturan (Prasetya, 2016). Uwi ungu (*Dioscorea alata* L.) Morfologi umbi secara umum memiliki panjang batang sebesar 10-25 m dengan diameter 1 cm (Lingga, 1986). Umbi ini tumbuh di tanah yang memiliki ketinggian 800 m dpi hingga ketinggian 2.700 m dpi. Pada musim kemarau umbinya mengalami masa istirahat, agar umbi tidak mengalami kebusukan selama masa istirahat maka disimpan ditempat yang kering atau dibungkus dengan abu. Menjelang musim hujan umbi akan bertunas dan dapat digunakan sebagai bibit. Setelah masa tanam 9-12 bulan, umbinya dapat dipanen (Plantus, 2008).





Gambar 1: Umbi uwi ungu (*Dioscorea alata* L).

C. Komposisi Kimia Tanaman Umbi Uwi Ungu.

Tanaman uwi (*Dioscorea spp.*) adalah tanaman penghasil umbi, memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi, mengandung vitamin, protein dan mineral. Karbohidrat sebagian besar dalam bentuk pati yang terdiri dari amilosa dan amilopektin (Sulistiyono, dan Marpaung, 2004). Karbohidrat uwi memiliki kadar amilosa tinggi yaitu 26,98–31,02% (Jayakody *et al.*, 2007). Mempunyai struktur yang stabil pada suhu tinggi dan pH rendah, uwi bersifat hipoglikemik (Chen dan Lin, 2007). Uwi mengandung nutrisi dan komponen fungsional seperti *mucin*, *dioscorin*, *allantoin*, *choline* dan asam amino esensial, Uwi ungu (*purple yam*) banyak mengandung antosianin (Fang *et al.*, 2011).

Tabel 1: Nilai Gizi Jenis Umbi Uwi

No	Jenis Umbi	Kandungan Gizi (% bb)					
		Air	Abu	Glukosa	Pati	Protein	Lemak
1	Manga (<i>Dioscorea alata</i> Yam)	61,75	0,51	2,00	1,80	4,09	0,51
2	Opha (<i>Dioscorea alata</i> Yam)	65,51	0,49	11,45	10,30	4,75	2,07
3	Ghofa (<i>Dioscorea esculenta</i> (Lour.) Burkill)	87,10	0,51	5,16	4,65	5,22	0,89
4	Tonea (<i>Colocasia esculenta</i> (L.) Schott)	78,39	0,35	0,30	0,27	6,25	0,03

Sumber : (Wahyuni dan Fery, 2015)

Komposisi kimia uwi adalah air 71,8%, karbohidrat 24,6%, protein 2,0%, lemak 0,1%, abu 1,0%, dan serat 0,5%. Uwi mempunyai kadar abu lebih tinggi dibandingkan dengan umbi lain (Njie *et al.*, 1998). Umbi uwi mengandung lendir yang terdiri dari mannan protein sebesar 5% yang berpengaruh pada sifat fisikokimia (Jayakody *et al.*, 2007).

Nilai gizi dalam umbi uwi berupa air 75%, karbohidrat 19,8%-31,8%, protein 0,6%-2,0%, lemak 0,2%, mineral (Kalsium 45 mg/100 gr, Fosfor 280 mg/100 gr, Besi 1,8 mg/100 gr) dan vitamin (B1 0,10 mg/100 gr, C 9 mg/100gr) (Prawiranegara, 1996). Umbi uwi dapat disimpan dalam bentuk tepung. Tepung umbi uwi dapat dikonsumsi dengan nilai gizi hampir sama dengan ubi jalar (Bressan *et al.*, 2007).

Tabel 2 : Komposisi Kimia Ekstrak Umbi Uwi Ungu dan Kulit Ari

Komponen	Air	Karbohidrat	Protein	Lemak	Abu
Ekstrak uwi	90.01 %	8.29 %	1.4%	0,02%	0.25 %
Rendemen uwi	93.55%	4.74%	1.22%	0.23%	0.26%
Kulit ari	93.74 %	5.22 %	0.70%	0,07%	0.27 %
Rendemen kulit ari	93.48%	5.94%	0.37%	0.08%	0.13%

Karbohidrat

Karbohidrat adalah senyawa yang mengandung unsur C, H dan O. Karbohidrat dapat ditemukan di dalam tumbuh-tumbuhan yaitu berkisar 75 %. Karbohidrat dapat dibagi menjadi beberapa kelompok berdasarkan jumlah unit gula yaitu, gula sederhana (monosakarida), disakarida, oligosakarida dan polisakarida. Monosakarida merupakan senyawa yang mengandung enam atau lima atom karbon. Monosakarida merupakan senyawa yang tidak berwarna, mempunyai rasa manis dan berbentuk

kristal serta larut dalam air. Salah satu jenis monosakarida yang penting adalah glukosa atau gula yang memiliki enam atom karbon. Glukosa merupakan monosakarida yang paling umum dan senyawa organik yang paling banyak terdapat di alam (Hamidjojo, 2005).

Polisakarida sebagai pembangun (architectural) misalnya selulosa, yang memberikan kekuatan pada batang kayu bagi tumbuhan, dan kitin, komponen selular dari kerangka luar serangga. Polisakarida nutrisi yang lazim ialah pati (yang terdapat dalam padi dan kentang) dan glikogen, yaitu karbohidrat yang siap dipakai dalam tubuh hewan. Polisakarida sebagai zat spesifik yaitu heparin, adalah polisakarida yang mencegah koagulasi darah (Fessenden, 1986).

Protein

Protein merupakan suatu senyawa polimer dari asam-asam amino dengan berat molekul yang tinggi (104 sampai 106). Protein sebagai pembentuk struktur sel yang menghasilkan hormon, enzim. Ditinjau dari segi kimia unsur-unsur dasar penyusun protein C, H, O dan N. Protein juga mengandung belerang, fosfor dan beberapa unsure logam seperti seng, besi dan tembaga. Banyaknya unsur N dalam suatu bahan pangan merupakan kriteria penetapan kadar protein (Anwar, 1994).

Protein merupakan polimer yang panjang dari asam-asam amino yang bergabung melalui ikatan peptida. Peptida adalah jenis ikatan kovalen yang menghubungkan suatu gugus karboksil satu asam amino dengan gugus asam amino lainnya sehingga terbentuk suatu polimer asam amino (Toha,

2001). Komposisi rata-rata unsur kimia yang terdapat dalam protein adalah karbon 55%, hidrogen 7%, oksigen 23%, nitrogen 16%, sulfur 1% dan kurang dari 1% fosfor (Winarno, 2004).

Berdasarkan strukturnya protein digolongkan menjadi struktur primer, sekunder dan tersier. Struktur primer yaitu struktur dasar dari protein. Susunan linier asam amino dalam protein merupakan suatu rangkaian unik asam amino yang menentukan sifat dasar dari berbagai protein, dan secara umum menentukan bentuk struktur sekunder dan tersier (Martoharsono, 1998).

Struktur tersier adalah susunan dari struktur sekunder yang satu dengan yang lain. Umumnya bentuk - bentuk sekunder ini dihubungkan oleh ikatan hidrogen, ikatan garam, ikatan hidrofobik, dan ikatan disulfida. Ikatan disulfide merupakan ikatan yang terkuat dalam mempertahankan struktur tersier protein (Gaman, 1992).

Lemak

Lemak merupakan suatu senyawa biomolekul, mempunyai sifat umum larut dalam pelarut - pelarut organik seperti eter, kloroform dan benzen, tetapi tidak larut dalam air. Lemak dan minyak (trigliserida atau triasilgliserol) merupakan ikatan ester antara asam lemak dan gliserol. Ikatan antara karbon yang satu dengan yang lainnya pada asam lemak dapat berupa ikatan jenuh dan dapat pula berupa ikatan tidak jenuh (rangkap) (Suwandi, 1989).

Kadar air

Kadar air adalah banyaknya air yang terkandung dalam bahan yang dinyatakan dalam persen. Kadar air menjadi salah satu karakteristik yang sangat penting pada bahan pangan karena air dapat mempengaruhi penampakan, tekstur dan cita rasa pada bahan pangan. Kadar air yang tinggi mengakibatkan mudahnya bakteri, kapang, dan khamir untuk berkembang biak sehingga akan terjadi perubahan pada bahan pangan (Sandjaja, 2009).

Kadar abu

Kadar abu adalah banyaknya sisa pembakaran sempurna dari suatu bahan. Penentuan kadar abu berhubungan erat dengan kandungan mineral yang terdapat dalam suatu bahan. Pengukuran kadar abu bertujuan untuk mengetahui besarnya kandungan mineral yang terdapat dalam makanan atau bahan pangan. Suatu bahan apabila dibakar sempurna pada suhu 500-600 °C selama beberapa waktu, semua senyawa organiknya akan terbakar menjadi CO₂, H₂O dan gas lain yang menguap (Sandjaja, 2009).

Tanaman *Dioscorea* memiliki kadar abu lebih tinggi dibanding jenis umbi - umbian lain. Kadar abu yang tinggi berbanding lurus dengan kandungan mineral yang dikandung. *Dioscorea* merupakan sumber energi dan menyumbangkan mineral penting bagi kesehatan. Mineral yang terkandung di dalam *Dioscorea* yaitu kalsium (Ca), Fosfor (P) dan Besi (Fe) (Njie *et al.*, 1998).

Serat

Serat kasar merupakan residu yang berasal dari bahan makanan yang mengandung senyawa karbohidrat setelah diperlakukan dengan asam atau alkali mendidih, dan terdiri dari selulosa dengan sedikit lignin dan pentose. Serat kasar juga merupakan kumpulan dari semua serat yang tidak bisa dicerna, komponen dari serat kasar ini yaitu terdiri dari selulosa, pentosa, lignin, dan komponen-komponen lainnya. Serat ataupun senyawa-senyawa yang termasuk dalam serat mempunyai sifat kimia yang tidak larut dalam air, asam atau basa meskipun dengan pemanasan ataupun hidrolisis (Sitompul, 2005).

Serat dibagi atas dua berdasarkan kelarutannya dalam air yaitu serat dapat larut dalam air dan yang tidak dapat larut air. Serat yang tidak dapat larut air adalah selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Serat yang dapat larut dalam air adalah pektin, gum, mucilage, aglikan dan alga. (Almaitsier, 2009). Serat yang larut dalam air cenderung bercampur dengan air membentuk jaringan gel (seperti agar) (Wirjatmadi *et al.*, 2002).

- Getah uwi

Kandungan getah dalam umbii ungu tinggi. Getah kental ini terdiri dari glikoprotein dan polisakarida seperti mannan dan selulosa (Tsukui *et al.*, 1999). Umbi uwi mengandung getah yang terdiri dari mannan - protein sebesar 5% yang mempengaruhi sifat fisikokimia dari umbi. Getah mengikat air sehingga dapat menghambat pembengkakan granula pati (Yeh *et al.*, 2009). Getah dapat digunakan sebagai pengental dalam produk

makanan. Getah sangat berguna karena mengandung diosgenin, prekursor progesteron, kortison dan steroid lainnya, tetapi dalam pembuatan pati, lendir dihilangkan karena dapat menghambat pengendapan butiran pati dari uwi (Fu *et al.*, 2004). Menurut Aprianita (2010), lendir mengandung gugus hidroksil dalam jumlah tinggi, lendir memiliki kapasitas ikat air yang besar, akibatnya lendir dapat mempengaruhi gelatinisasi dan sifat amilografi pati. Lendir adalah polisakarida larut yang membentuk koloid kental dalam air (Chiu *et al.*, 2009).

Umbi ungu dan umbi putih memiliki polisakarida non pati larut dalam air (PLA) yang mengandung gugus CH_3 , CH_2 , OH , NH , $\text{C}=\text{O}$, asetil (C-O), karboksilat (COOH), dan gugus C-O-C. Hidrolisat PLA mengandung glukosa lebih banyak, manosa, arabinosa, asam glukoronat, asam galakturonat dalam jumlah kecil. Akan tetapi dalam hidrolisat galaktosa dan rhamnosa dalam hidrolisat (Harijono, 2013). Polisakarida kental dari umbi uwi terdiri dari manosa, arabinosa, glukosa, galaktosa, xilosa, dan rhamnosa yang berkontribusi terhadap serat pangan larut air (Estiasih dkk., 2012). Selain sebagai antimikroba air dari getah uwi air getah uwi dapat digunakan sebagai pestisida yang ramah lingkungan (Ajisaka, 2008).

- **Glukomannan**

Mannan (glukomannan) merupakan polisakarida yang tersusun oleh satuan-satuan *D*-glukosa dan *D*-mannosa. Dalam satu molekul mannan terdapat *D*-mannosa sejumlah 67 persen dan *D*-glukosa sejumlah 33

persen, bentuk ikatan yang menyusun polimer mannan adalah B-1,4glikosida dan B-1,6-glikosida (Putu *et al.*, 2014).

Glukomannan mengandung jenis protein yang dapat berfungsi sebagai protein antimikroba salah satunya adalah lektin. Lektin merupakan kelompok protein yang berikatan dengan karbohidrat yang spesifik. Lektin banyak terdapat di biji maupun umbi (Candido *et al.*, 2001). Beberapa contoh lektin tanaman yang telah diuji aktivitas antibakterinya antara lain: umbi *A. maculatum* (Majumder, 2004), serta protein dari biji *D. regia* yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *E. coli* dan beberapa bakteri lainnya (Sammour, 1992).

Glukomanan merupakan polisakarida yang tersusun oleh satuan-satuan D-glukosa dan D-mannosa. Glukomanan dalam cairan akan membentuk gel yang mempunyai viskositas cukup tinggi sehingga berfungsi sebagai pengemulsi (emulgator) pada industri makanan, kertas dan kosmetika (Chairul, 2006).

- Glikoprotein

Glikoprotein merupakan gabungan karbohidrat dengan protein. Dengan jumlah karbohidrat 8-20 % (John, 1997). Glikoprotein mengandung rantai oligosakarida yang mengikat glikan dengan ikatan kovalen pada rantai polipeptida bagian samping.

Glikoprotein dari uwi merupakan polisakarida Larut Air (PLA) dari umbi berupa getah yang kental. Kandungan PLA dalam *Dioscorea spp* tinggi. Getah kental *Dioscorea spp* terdiri dari glikoprotein dan polisakarida seperti

mannan dan selulosa (Tsukui et al., 1999). Glikoprotein berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan antimikroba. Glikoprotein mengandung gugus CH₃, CH₂, OH, NH, C=O, asetil (C-O), karboksilat (COOH), dan gugus C-O-C. Hidrolisat PLA mengandung glukosa lebih banyak, manosa, arabinosa, asam glukoronat, asam galakturonat dalam jumlah kecil. Galaktosa dan rhamnosa tidak terdeteksi dalam hidrolisat (Harijono dkk, 2013). Polisakarida kental dari *Dioscorea* liar terdiri dari manosa, arabinosa, glukosa, galaktosa, xilosa, dan rhamnosa yang berkontribusi terhadap serat pangan larut air (Wu, 2005).

D. Antimikroba pada Tanaman

Antimikroba dapat bekerja secara bakterisidal (membunuh) atau bakteriostatik (menghambat pertumbuhan mikroba) (Pelczar and Chan, 1988). Berdasarkan sifat toksisitas selektif sifat antibakteri sebagai bakteriostatik pertumbuhan bakteri dikenal sebagai kadar hambat minimal dan konsentrasi minimal yang diperlukan untuk membunuh mikroba disebut dengan Kadar bunuh minimal antibakteri diantaranya adalah pH lingkungan, komponen perbenihan bakteri, stabilitas zat aktif, besarnya inokulum, lamanya inkubasi dan aktifitas metabolit bakteri (Suwandi, 2012).

Senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman memiliki aktivitas antibakteri dengan berbagai mekanisme yang dapat bekerja secara sinergi. Menurut Subandrio (1995), metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman memiliki mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri yang berbeda-beda. Bahan aktif yang bersifat sebagai

antibakteri dapat mengganggu proses fisiologis dan menghalangi terbentuknya komponen sel bakteri seperti sintesis dinding sel, membran sitoplasma sintesis protein dan sintesis asam nukleat .

Bahan aktif yang memiliki kelarutan tinggi pada pelarut polar, akan lebih mudah menembus lapisan fosfolipid membran sel sehingga lebih cepat mengganggu fungsi fisiologis bakteri dan pada akhirnya sel akan mengalami kematian (Kneblock *et al*, 1989). Beberapa kajian metabolit skunder tanaman berperan sebagai antimikroba (Bajpai, *et al.*, 2008; Tajkarimi *et al.*, 2010; Tiwari *et al.*, 2009).

- **Tanin**

Mekanisme tanin sebagai antibakteri menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase yang berperan dalam proses multiplikasi bakteri sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk dan memperbanyak diri (Masduki, 1996). Tanin menghilangkan kemampuan adesi mikroba dan membentuk ikatan kompleks dengan enzim dan protein transport bakteri (Cheeke, 2004). Senyawa tanin dapat menghambat aktivitas enzim protease, menghambat enzim pada protein transpor selubung sel bakteri, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik (Akiyama *et al.*, 2001).

Tanin merupakan kelompok senyawa polifenol yang memiliki aktifitas antibakteri, dengan mekanisme mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri, akibat

terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Ajizah, 2004).

- **Alkaloid**

Mekanisme kerja alkaloid yaitu dengan cara mengganggu terbentuknya komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga dapat mengakibatkan sel bakteri menjadi lisis. Terpenoid dapat menyebabkan terjadinya lisis pada sel bakteri dengan mengikat protein, lipid, dan atau karbohidrat yang terdapat pada membran sel (Harborne, 1987). Mekanisme alkaloid dan alkilamid sebagai antibakteri melalui interkalasi DNA (penambahan suatu molekul diantara basa DNA) (Cowan *et al.*, 1999).

Mekanisme antibakteri alkaloid yaitu komponen alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri (Karou, 2005). Hal yang sama dikemukakan oleh Dianita (2011), bahwa Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri dari bahan antimikroba alkaloid dan berberine bekerja dengan cara menghambat enzim yang berperan dalam proses replikasi DNA. Inhibisi replikasi DNA akan menyebabkan bakteri tidak dapat melakukan pembelahan sehingga menghambat pertumbuhan bakteri. Sementara itu, alkaloid yang terdapat dalam ekstrak dapat mengganggu terbentuknya jembatan silang komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tertentu.

- Saponin

Mekanisme saponin sebagai antibakteri Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel (Madduluri *et al.*, 2013). Sifatnya sebagai senyawa aktif permukaan disebabkan adanya kombinasi antara aglikon lipofilik dengan gula yang bersifat hidrofilik (Houghton dan Raman, 1998). Saponin bekerja sebagai antimikroba karena senyawa saponin dapat melakukan mekanisme penghambatan dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel bakteri dan menimbulkan kematian sel bakteri (Noer dan Nurhayati, 2006).

Saponin memiliki komponen aktif *aglycone* yang bersifat membranolitik yang dapat menyebabkan terjadinya penurunan tegangan permukaan dinding sel bakteri. Setelah tegangan permukaan dinding sel bakteri menurun, saponin membentuk kompleks dengan sterol yang menyebabkan pembentukan *single ion channel*. *Single ion channel* menyebabkan ketidakstabilan membran sel sehingga menghambat aktivitas enzim dalam transport ion yang berperan dalam kehidupan bakteri. Rusaknya membran sel ini sangat mengganggu kelangsungan hidup bakteri (Harborne, 1996). Saponin pada konsentrasi yang tinggi dapat melubangi sel dan mengganggu permeabilitasnya (Hassan, 2004).

Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi

kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel (Cavalieri *et al.*, 2005).

- **Flavanoid**

Komponen fenolik umumnya larut dalam pelarut organik yang sifatnya polar seperti methanol, etanol, dan air yang mempunyai cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. flavonoid termasuk dalam senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih atau suatu gula, sehingga larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, dan air (Harborne, 1996). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi (Rijayanti, 2014). Dalam penghambatan sintesis asam nukleat, cincin A dan B senyawa flavonoid berperan penting dalam proses interkelasi atau ikatan hydrogen, dengan menumpuk basa asam nukleat sehingga menghambat pembentukan DNA dan RNA. Sedangkan kerja flavonoid yang menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom, merupakan hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Cushnie, 2005).

Senyawa flavonoid memiliki mekanisme penghambatan dengan mencegah pembentukan energi pada membran sitoplasma dan menghambat motilitas bakteri, yang juga berperan dalam aksi antimicrobial serta protein ekstraseluler (Roisatin, 2005)

Flavonoid dalam konsentrasi tinggi menyebabkan kerusakan membran sel bakteri secara total dan mengendapkan protein sel sehingga terjadi denaturasi protein, sedangkan dalam konsentrasi rendah menyebabkan kebocoran sel bakteri sehingga keluarnya metabolit-metabolit penting dari sel bakteri. Membentuk senyawa kompleks dari protein ekstraseluler dan terlarut sehingga merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Li *et al.*, 2003).

Aktivitas senyawa flavonoid terhadap bakteri dilakukan dengan merusak dinding sel bakteri yang terdiri atas lipid dan asam amino. Lipid dan asam amino tersebut akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid sehingga dinding sel akan rusak dan flavonoid masuk ke dalam inti sel bakteri. Di dalam inti sel, flavonoid akan bereaksi berkontak dengan DNA dan menyebabkan rusaknya struktur lipid DNA sehingga bakteri akan lisis dan sel akan mati. Reaksi pengrusakan struktur lipid DNA disebabkan perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA dengan gugus alkohol flavonoid (Rustama dan Lingga, 2005).

- Fenolik

Fenolik komponen yang terkandung didalam flavanoid merupakan suatu alkohol yang bersifat asam (asam karbolat). Mekanisme senyawa fenol sebagai antibakteri dalam membunuh mikroorganisme yaitu dengan mendenaturasi protein sel. Sehingga ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan

membran sitoplasma sebab keduanya tersusun atas protein. Dengan demikian maka permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel menjadi lisis (Pelczar dan Chan, 1988). Flavanoid merupakan senyawa fenol, sementara senyawa fenol dapat bersifat koagulator protein (Dwidjoseputro, 2005).

- Terpenoid

Terpenoid mempunyai mekanisme antibakteri dengan cara merusak membran sel bakteri. Senyawa terpenoid mengakibatkan pemecahan membran oleh komponen-komponen lipolik, mengganggu permeabilitas membran sel jamur yang mengakibatkan terjadinya kerusakan krista sehingga energi yang dihasilkan untuk proses pertumbuhan dan perkembangan sel menjadi berkurang, dan pertumbuhan jamur menjadi terhambat (Cowan, 1999).

Terpenoid larut dalam lemak dan terdapat di dalam sitoplasma sel tumbuhan (Harbone, 1996). Kebanyakan peneliti berpendapat bahwa fungsi terpenoid rendah dalam tumbuhan, lebih bersifat ekologi daripada fisiologi. Banyak senyawa ini yang menghambat pertumbuhan tumbuhan pesaingnya dan dapat bekerja sebagai insektisida atau berdaya racun terhadap hewan tinggi (Robinson, 1995). Salah satu senyawa terpenoid yang mempunyai aktivitas antijamur adalah (R)-6-[(Z)-1-heptenil]-5,6-dihidro-2H-piran-2-one yang diisolasi dari *Hyptis ovalifolia* Benth.

Senyawa ini menunjukkan aktivitas antijamur secara in vitro terhadap *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Tricophyton mentagrophytes*, dan *Tricophyton rubrum*. Terpenoid bereaksi dengan porin pada membran luar dinding sel bakteri dan membentuk ikatan polimer yang kuat yang mengakibatkan rusaknya porin yang mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999).

E. Mekanisme Kerja Komponen Antimikroba

Antimikroba dapat mengakibatkan kerusakan komponen sel bakteri. Mekanisme kerja antimikroba menurut Suwandi (2012), yaitu:

1. Merusak Dinding Sel

Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukan atau mengubah setelah selesai terbentuk.

2. Merusak Membran Sel

Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lainnya dan memelihara komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membran sitoplasma dapat berakibat terhambatnya pertumbuhan sel sehingga menyebabkan kematian sel.

3. Menghambat Sintesis Protein Sel Mikroba

Kehidupan sel bergantung pada pemeliharaan molekul protein dan asam nukleat. Antimikroba dapat mengakibatkan koagulasi protein atau denaturasi bahan-bahan sel yang penting.

4. Menghambat Metabolisme Sel Mikroba

Setiap enzim dari beratus-ratus enzim berbeda-beda yang ada di dalam sel dan merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel.

5. Penghambatan Sintesis Asam Nukleat dan Protein

Protein, DNA dan RNA memegang peranan penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti gangguan apapun yang terjadi pada zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan sel.

F. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan komponen senyawa dari suatu bahan satu atau lebih dari bahan yang merupakan sumber komponennya. Proses pemisahan senyawa dari simplisian dilakukan dengan menggunakan pelarut tertentu sesuai dengan sifat senyawa yang akan dipisahkan. Pemisahan senyawa berdasarkan sifatnya di mana senyawa akan larut dengan senyawa yang sama tingkat polaritasnya. Bahan dan senyawa kimia akan mudah larut pada pelarut yang relative sama kepolarannya. Kepolaran suatu pelarut ditentukan oleh besarnya konstanta dielektriknya, yaitu semakin besar nilai konstanta dielektrik pelarut maka polaritasnya semakin besar. Beberapa aspek dalam pemilihan pelarut yaitu selektifitas merupakan metode pelarut yang hanya melarutkan komponen target yang diinginkan dan bukan komponen lain, kelarutan yaitu suatu kemampuan pelarut untuk melarutkan ekstrak yang lebih besar dengan

sedikit pelarut, toksisitas merupakan pelarut yang tidak beracun, penguapan yaitu pelarut yang digunakan mudah untuk diuapkan, ekonomis dimana harga pelarut relative murah menurut (Ahmad, 2006).

- Metode Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair diperoleh dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang paling cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung. Jenis ekstrak terdiri dari ekstrak encer, sediaan yang masih dapat dituang. Ekstrak kental, sediaan yang tidak dapat dituang dan memiliki kadar air sampai 30%. Ekstrak kering sediaan yang berbentuk serbuk, dibuat dari ekstrak tumbuhan yang diperoleh dari penguapan bahan pelarut. Ekstrak cair mengandung simplisia nabati yang mengandung etanol sebagai bahan pengawet.

Ekstraksi tunggal merupakan ekstraksi dengan melarutkan bahan yang akan diekstrak dengan satu jenis pelarut. Ekstraksi tunggal menghasilkan rendemen yang rendah dibandingkan dengan ekstraksi bertingkat. Ekstraksi bertingkat dilakukan secara berturut-turut dengan menggunakan pelarut non polar (misalnya kloroform), semipolar (etil asetat), pelarut polar (methano/etanol) (Sudarmadji dkk, 2007).

Metode maserasi merupakan ekstraksi dingin dengan cara penyarian dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dengan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di

luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

Metode Perkolasi merupakan proses penyarian simplisia dengan jalan melewati pelarut yang sesuai secara lambat pada simplisia dalam suatu percolator. Perkolasi bertujuan supaya zat berkhasiat tertarik seluruhnya dan biasanya dilakukan untuk zat berkhasiat yang tahan ataupun tidak tahan pemanasan. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Gerak kebawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan cairan di atasnya, dikurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan. Kekuatan yang berperan pada perkolasi antara lain: gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosa, adesi, daya kapiler dan daya geseran (friksi).

Metode refluks salah satu metode ekstraksi panas dengan sintesis senyawa anorganik menggunakan pelarut yang volatil. Pada kondisi ini jika dilakukan pemanasan biasa maka pelarut akan menguap sebelum reaksi berjalan sampai selesai. Prinsip dari metode refluks adalah pelarut volatil yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, namun akan didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut yang tadinya dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan turun lagi ke dalam wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung. Sedangkan aliran gas N₂ diberikan agar tidak ada uap air atau gas oksigen yang masuk

terutama pada senyawa organologam untuk sintesis senyawa anorganik karena sifatnya reaktif.

Metode Soxlet adalah suatu metode atau proses pemisahan suatu komponen yang terdapat dalam zat padat dengan cara penyaringan berulang-ulang dengan menggunakan pelarut tertentu, sehingga semua komponen yang diinginkan akan terisolasi. Sokletasi digunakan pada pelarut organik tertentu. Dengan cara pemanasan, sehingga uap yang timbul setelah dingin secara kontinyu akan membasahi sampel, secara teratur pelarut tersebut dimasukkan kembali ke dalam labu dengan membawa senyawa kimia yang akan diisolasi tersebut. Suatu pelarut akan cenderung larut dengan tingkat kepolaran yang sama begitupun dengan pelarut non polar (Ahmad, 2006).



Gambar 2: Evaporasi Ekstrak Etanol

- Pelarut Etanol

Etanol merupakan golongan alkohol dengan jumlah atom karbon dua dan mempunyai nilai kepolaran 0,68 (Ashurst, 1995). Keuntungan penggunaan etanol sebagai pelarut adalah mempunyai titik didih yang rendah, oleh karena itu, jumlah etanol yang tertinggal di dalam ekstrak

sangat sedikit. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, mikrobia sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, glikosida, kurkumin, kumarin, antraknon, flavonoid, steroid, damar dan klorofil, dengan demikian zat pengganggu yang terlarut hanya sedikit (Kemenkes RI, 1986). Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut. Keuntungan lain dari etanol mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim. Etanol (70%) sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, (Kemenkes RI, 1986).

Tabel 3: Sifat Pelarut dalam Ekstraksi

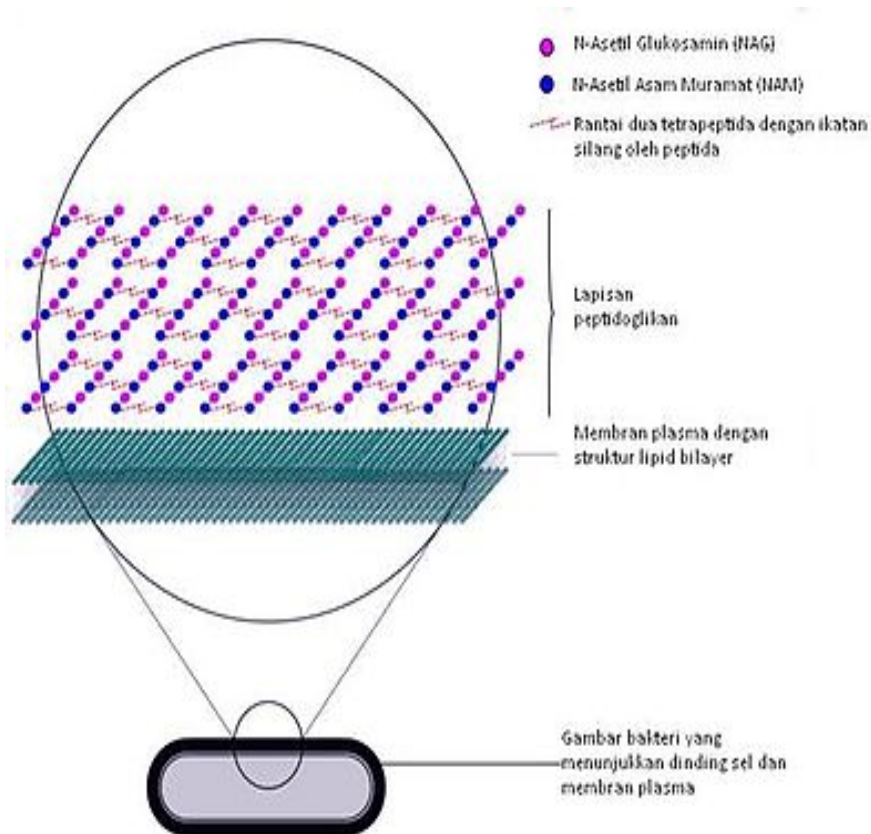
Pelarut	Polaritas	Titik didh (^o C)	Konstanta dielektrik	Indeks polaritas (%)
Heksana	0,00	68,70	2,40	0,010
Toluen	0,29	11,04	2,30	0,46
Benzene	0,32	80,10	6,00	0,058
Etil asetat	0,38	77,10	20,70	9,8
Aseton	0,47	56,20	18,30	5,1
Etanol	0,68	78,30	32,60	5,2
Methanol	0,73	64,80	78,50	5,1
Air	0,90	100,00	-	Larut

Sumber : Harborne (1996)

G. Bakteri Gram Positif

Sel bakteri Gram positif terdiri dari 90% peptidoglikan, ruang periplasma yang merupakan tempat enzim-enzim ekstraseluler dan membrane sitoplasma yang terlibat dalam proses respirasi. Peptidoglikan tersusun dari N-asetilglukosamin dan N-asetilmuramat yang saling berikatan satu sama lain serta asam-asam amino L alanin, D-alanin, D-

glutamat dan lisin. Sintesis dinding sel melibatkan sejumlah enzim untuk menggabungkan fosfoenolpiruvat dengan N-asetilglukosamin. Bakteri Gram positif memiliki 40 lapisan peptidoglikan, merupakan 50% dari bahan dinding sel. Bakteri Gram negatif hanya 1-2 lapisan peptidoglikan dan merupakan 5-10% dari bahan dinding sel. Setiap zat yang menghambat salah satu langkah biosintesis peptidoglikan akan menyebabkan dinding sel bakteri yang tumbuh menjadi lemah dan sel akan mengalami lisis (Jawetz *et al.*, 1996). Pada bakteri Gram positif dinding selnya mengandung peptidoglikan serta lapisan tipis asam teikoat dan asam teikoronat yang bermuatan negatif.



Gambar 3: Struktur Dinding Sel Bakteri Gram Positif.
 Sumber <https://id.wikipedia.org/wiki/Gram-positif> (Diakses Juni 2020)

- ***Staphylococcus aureus***

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif yang menghasilkan pigmen kuning, bersifat aerob fakultatif, tidak menghasilkan spora dan tidak motil, umumnya tumbuh berpasangan maupun berkelompok, dengan diameter sekitar 0,8-1,0 μm (Shaikh, 1999). Dinding selnya terdiri dari peptidoglikan yang sangat tebal dan memberi kekakuan untuk mempertahankan keutuhan sel (Morin dan Gorman, 1995).

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah :

Kerajaan : Bacteria

Filum : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Bangsa : Bacillales

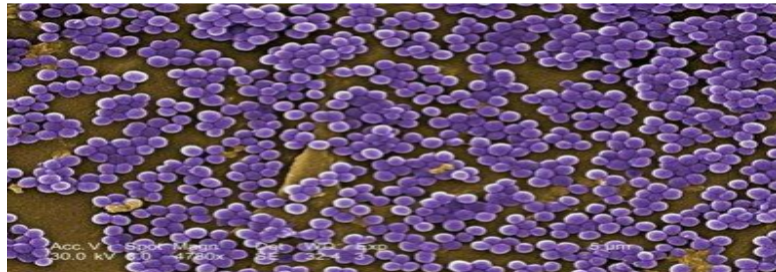
Suku : Staphylococcaceae

Marga : *Staphylococcus*

Jenis : *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri osmotoleran, yaitu bakteri yang dapat hidup di lingkungan dengan rentan konsentrasi zat terlarut (contohnya garam) yang tinggi, dan dapat hidup pada konsentrasi NaCl sekitar 3 Molar. *S. aureus* tumbuh dengan optimum pada suhu 37°C dengan waktu pembelahan 0,47 jam (Prescott *et al.*, 2002). Bersifat anaerob fakultatif, dapat tumbuh baik dengan kondisi habitat yang mengandung NaCl hingga 10 % dan pada suhu 60 °C hingga 30 menit (Bauman, 2007). *Staphylococcus aureus* tumbuh pada suhu 7-47,8°C dan

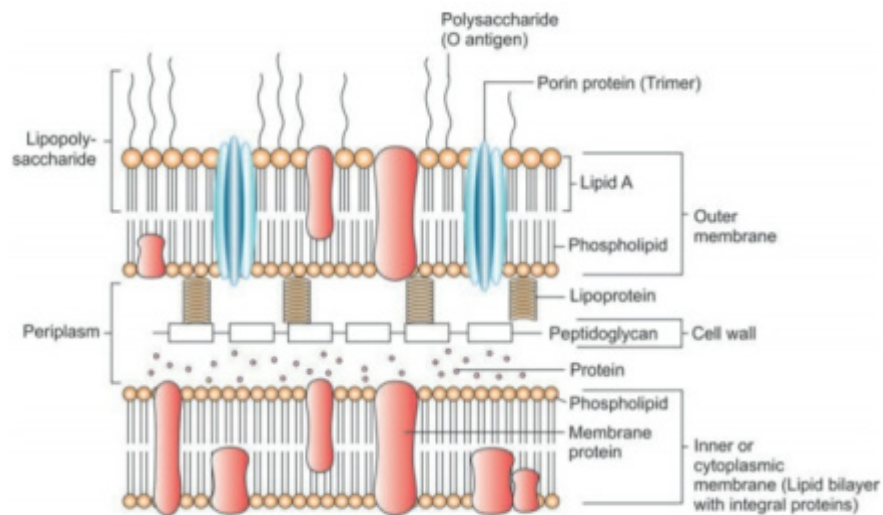
memproduksi enterotoksin antara suhu 10 - 46 °C (Jay, 1992). *Staphylococcus aureus* dapat bersifat toksin pada bahan pangan yang mengandung protein (Tatang dan wardah, 2014).



Gambar 4: Bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus*.
Sumber <https://id.wikipedia.org/wiki/Gram-positif> (Diakses Juni 2020)

H. Bakteri Gram Negatif

Lapisan luar bakteri gram negatif tersusun oleh lipopolisakarida (LPS) + lipoprotein, ruang periplasma dan membran sitoplasma. Bakteri Gram negatif mengandung 5-10% peptidoglikan. Lapisan lipopolisakarida (LPS) terikat dengan Ca dan Mg yang berfungsi sebagai penghalang masuknya senyawa-senyawa bakteriosin, enzim, dan senyawa hidrofobik (Alakomi *et al*, 2000). Menurut Purwoko (2007), dinding sel bakteri Gram negatif tersusun atas membran luar, peptidoglikan dan membran dalam. Peptidoglikan yang terkandung dalam bakteri Gram negatif memiliki struktur yang lebih kompleks dibandingkan Gram positif. Membran luarnya terdiri dari lipid, liposakarida dan protein. Peptidoglikan berfungsi mencegah sel lisis, menyebabkan sel kaku dan memberi bentuk kepada sel.



Gambar 5: Struktur Dinding Sel Bakteri Gram Negatif.
 Sumber Microbiology bybioearthworm.wordpress.com (Diakses Juni, 2020)

- ***Escherichia coli***

Bakteri *Escherichia coli* merupakan merupakan bakteri Gram negatif, bentuk batang, memiliki ukuran 2,4 mikro 0,4 hingga 0,7 mikro, bergerak, tidak berspora, positif pada tes indol, glukosa, laktosa, sukrosa (Greenwood *et al.*, 2007).

Menurut Salle (1961), Klasifikasi dari *Escherichia coli* adalah sebagai berikut :

- Divisio : Protophyta
- Subdivisio : Schizomycetea
- Kelas : Schizomycetes
- Ordo : Eubacteriales
- Familia : *Enterobacteriaceae*
- Genus : *Escherichia*
- Spesies : *Escherichia coli*

Pertumbuhan bakteri *E. coli* optimal pada suhu 37°C pada media yang memiliki kandungan pepton sebesar 1% yang digunakan sebagai sumber karbon dan nitrogen.

Bakteri *E. coli* dapat memfermentasi laktosa dan memproduksi indol yang berfungsi untuk mengidentifikasi bakteri yang terdapat atau mengkontaminasi makanan dan air. Bakteri *E. coli* dapat bertahan hidup hingga suhu 60°C pada waktu 15 menit atau pada suhu 55°C pada waktu 60 menit (Ganiswarna, 1995).

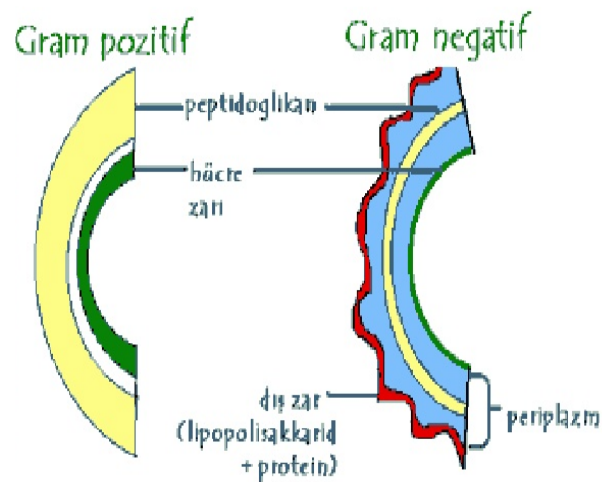
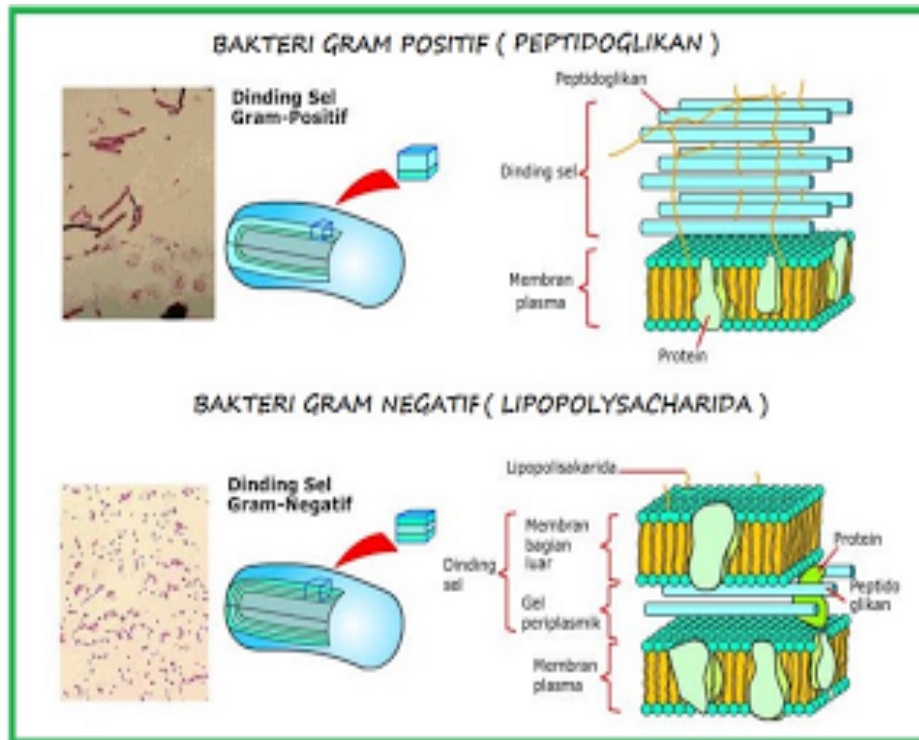
Biakan *E. coli* berupa koloni berwarna merah pada agar Mac Conkey yang menunjukkan bahwa dapat memfermentasi laktosa dan bersifat non patogen didalam usus (Gibson, 1996). Bakteri *E. coli* dapat bersifat patogen terutama akibat toksin yang dihasilkan. Bakteri *E. coli* menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus. (Jawetz *et al.*, 2005).

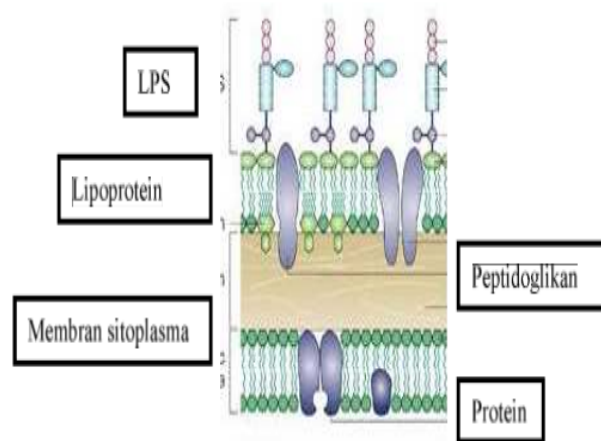
Bakteri *E. coli* dapat menginfeksi manusia melalui cemaran pada beberapa bahan pangan dan air. Jenis bahan pangan yang tercemar biasanya disebabkan oleh sanitasi air dan peralatan yang buruk. Sanitasi yang buruk penyebab banyaknya kontaminasi bakteri *E. coli* dalam air bersih yang dikonsumsi masyarakat (Adisasmito, 2007). Bakteri *E. coli* dan *B. cereus* sering terdapat pada makanan. Bakteri tersebut dapat mengkontaminasi makanan sehingga menyebabkan diare atau sakit perut apabila makanan tersebut dikonsumsi oleh manusia (Irianto, 2014).



Gambar 6: Bakteri *Escherichia coli*

Sumber <https://id.wikipedia.org/wiki/Gram-positif> (Diakses Juni 2020)





Gambar 7: Perbedaan Struktur Dinding Sel Bakteri Gram positif dan Bakteri Gram negatif.

I. Kapang

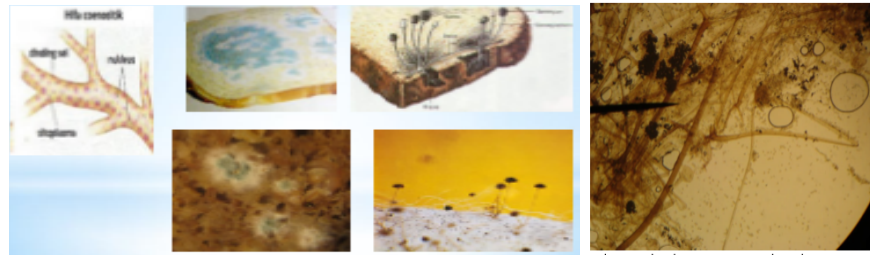
Kapang dianggap sebagai jamur dalam pangan karena dapat tumbuh pada berbagai kondisi, bahkan dimana kondisi beberapa bakteri tidak dapat tumbuh seperti pada pangan yang mempunyai pH dan a_w rendah, tekanan osmotik yang tinggi. Pertumbuhan kapang diinginkan dalam produksi keju dan pangan fermentasi seperti tempe dan tahu. Kapang merupakan organisme saprofitik, secara biokimia dapat memecahkan bahan-bahan organik kompleks menjadi sederhana yang dapat menyebabkan pembusukan dalam bahan pangan. Beberapa jenis kapang dapat memproduksi mikotoksin dan menyebabkan keracunan pangan. Kapang tumbuh dengan cara memperpanjang hifa. Satu hifa dapat menghasilkan spora aseksul (Sopandi dan Wardah, 2014).

- ***Rhizopus oligosporus***

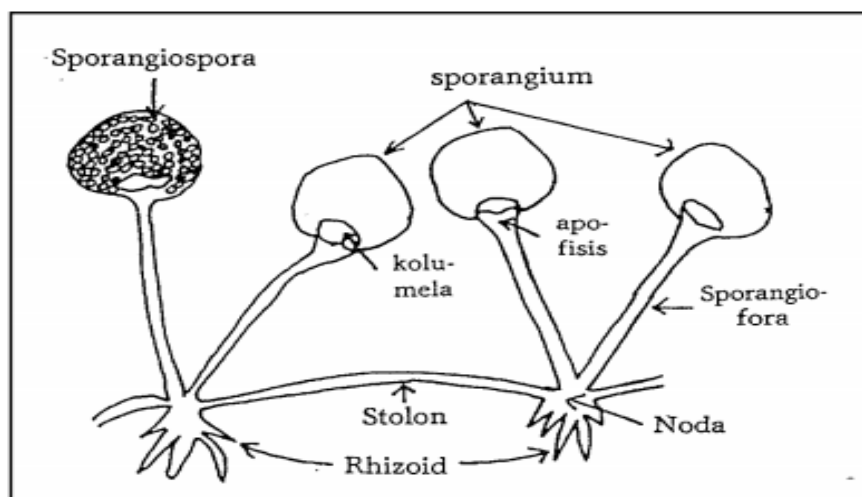
Kapang *Rhizopus* merupakan kapang yang tidak bersepta dan membentuk sporangiospora dalam sporangium. Dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai buah dan sayuran.

Kapang *Rhizopus oligosporus* mempunyai ciri dengan membentuk koloni dengan tinggi 1 mm atau lebih berwarna abu-abu kecoklatan, tumbuh pada suhu optimum 30-35°C, suhu minimum 42°C. Sporangiofor tunggal atau dalam kelompok dengan dinding halus atau agak sedikit kasar, dengan panjang lebih dari 1000 µm dan diameter 10-18 µm. Sporangia globosa yang pada saat masak berwarna hitam kecoklatan, dengan diameter 100-180 µm. Klamidospora banyak, tunggal atau rangkaian pendek, tidak berwarna, dengan berisi granula, terbentuk pada hifa, sporangiofor dan sporangia. Bentuk klamidospora globosa, elip atau silindris dengan ukuran 7-30 µm atau 12-45 µm x 7-35 µm (Madigan dan Martinko, 2006).

Karakteristik dari *Rhizopus* memiliki hifa nonseptat, mempunyai stolon dan rhizoid yang wananya gelap jika sudah tua, *Sporangiopora* tumbuh pada noda dimana terbentuk juga rhizoid, sporangia biasanya besar dan berwarna hitam, kolumela agak bulat dan apofisis berbentuk seperti cangkir, tidak mempunyai sporangiola, pertumbuhannya cepat, membentuk miselium seperti kapas (Fardiaz, 1989). Pertumbuhannya seksual dengan membentuk *Zigospora*, kapang bersifat heterotalik, dimana reproduksi seksual membutuhkan dua talus yang berbeda, dan reproduksi aseksual dengan sporangiospora (Filza, 2013).



Gambar 8: Kapang *Rhizopus*
Sumber wordpress.com (Diakses Juni, 2020)



Gambar 9: Morfologi kapang *Rhizopus* (Fardiaz, 1989).

Pengamatan *R. oligosporus* secara makroskopis menampilkan koloni berwarna abu-abu, pertumbuhannya cepat, dan membentuk miselium seperti kapas. Isolat memiliki rhizoid, stolon, sporangia pada ujung sporangiofora dan tidak bersepta (Ratna dkk. 2011)



Gambar 10 : Isolat *Rhizopus oligosporus* (Ratna dkk, 2011).

J. Khamir

Khamir merupakan mikroorganisme tunggal bersel satu dengan ukuran 5- 20 mikron. Ukuran khamir dapat lebih besar 5x lipat dari bakteri. Khamir dapat tumbuh pada media cair dan padat. Berkembangbiak secara seksual, membelah diri secara bertunas. Khamir dapat ditemukan pada buah dan daun-daunan yang membusuk. Kondisi yang mengandung glukosa dan pH rendah merupakan tempat pertumbuhan khamir (buah-buahan dan sirup). Khamir berperan penting dalam pangan karena merupakan salah satu penyebab kerusakan pangan.

- *Saccharomyces cerevisiae*

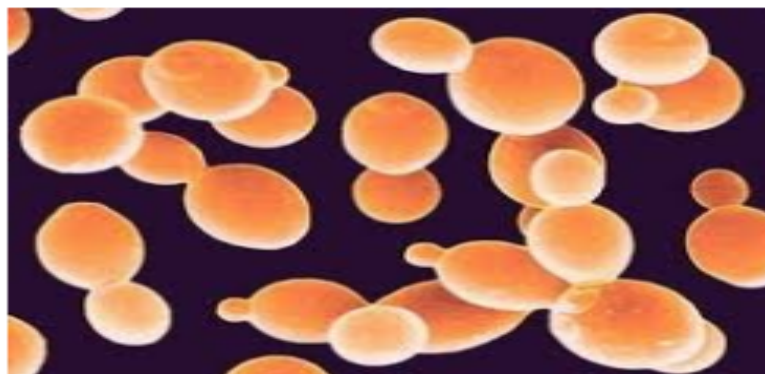
Saccharomyces merupakan khamir mempunyai bentuk sel bulat, oval atau memanjang. *Saccharomyces cerevisiae* digunakan dalam pengembangan roti fermentasi untuk produksi alkohol. Akan tetapi khamir dapat menyebabkan kerusakan pada bahan pangan, dengan produksi alkohol dan CO₂.

Saccharomyces cerevisiae dapat berkembang biak dalam gula sederhana seperti glukosa, maupun gula kompleks disakarida yaitu sukrosa. Memiliki kemampuan mengubah glukosa menjadi alkohol dan CO₂ Merupakan mikroorganisme bersel satu tidak berklorofil, tumbuh baik pada suhu 30°C dan pH 4,8. (Camacho *et al*, 2003).

Klasifikasi khamir *Saccharomyces cerevisiae* menurut Camacho et al, (2003) sebagai berikut :

Super Kingdom : Eukaryota
Phylum : Fungi
Subphylum : Ascomycota
Class : Saccharomycetes
Order : Saccharomycetales
Family : Saccharomycetaceae
Genus : *Saccharomyces*
Species : *Saccharomyces cerevisiae* `

Khamir *Saccharomyces cerevisiae* merupakan organisme fakultatif anaerob yang dapat menggunakan baik sistem aerob maupun anaerob untuk memperoleh energi dari pemecahan glukosa. Berkembang biak dengan baik pada kondisi aerobik, tetapi yang bersifat fermentatif dapat tumbuh secara anaerobik meskipun lambat. *Saccharomyces cerevisiae* dapat menghasilkan alkohol dalam jumlah yang besar (Elevri dan Putra, 2006).



Gambar 11 : Khamir *Saccharomyces cerevisiae*.
Sumber Microbio-Lab blogspot.com (Diakses Juni, 2020)

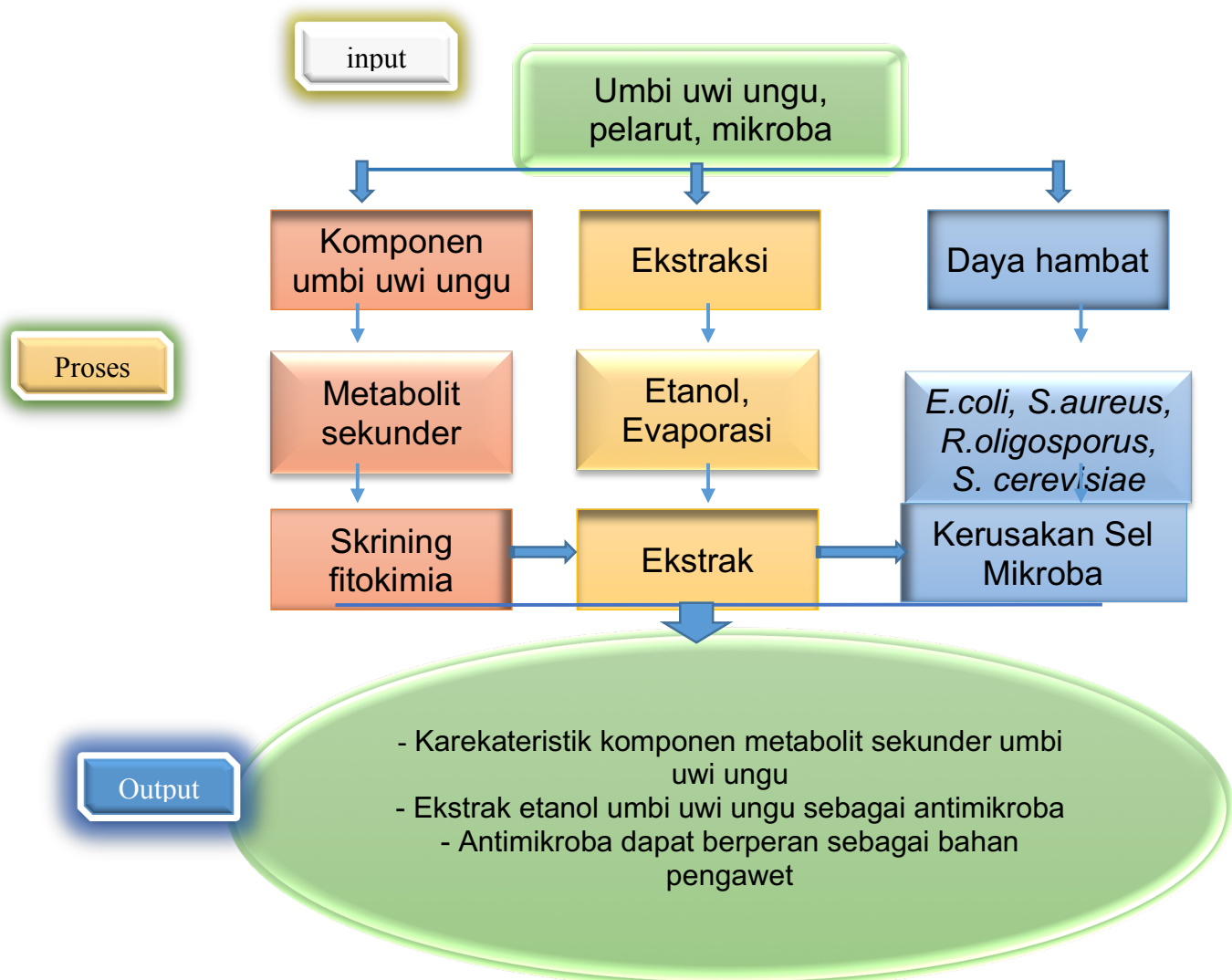
K. Pengawetan Bahan Pangan

Pengawetan merupakan salah satu upaya yang dilakukan guna memperpanjang masa simpan pangan, memperbaiki mutu dan keamanan pangan dari mikroorganisme. Kerusakan bahan pangan pada umumnya disertai dengan pembentukan senyawa beracun, serta hilangnya nilai gizi dari bahan pangan. Sehingga upaya untuk mencegah kerusakan tersebut dilakukan pengawetan. Jenis bahan pengawet yang digunakan dapat berasal penggunaan bahan sintetik maupun bahan alami dari tumbuhan. Ekstrak senyawa antimikroba alami dari tumbuhan dapat dijadikan suatu alternatif pengganti dalam penggunaan pengawet sintetik (Wallace, 2004).

Senyawa antimikroba alami dari tumbuhan dapat diperoleh dari kayu manis, thyme, rosemary, bawang putih, sage, oregano, basil, marjoram, gurih, dan cengkeh. Dengan mengekstrak minyak dari daun (basil, oregano, thyme, marjoram, rosemary, dan sage), bunga atau kuncup (cengkeh), biji (jintan, adas, peterseli, dan pala), umbi (bawang putih dan bawang), rimpang (jahe), buah (kapulaga dan lada), kulit kayu (kayu manis), dan bagian tanaman lainnya (Gutierrez *et al.*, 2008).

Ekstrak tanin dari daun jambu efek untuk mencegah jenis mikroba patogen pada daging (Meigy, 2014). Komponen antimikroba pada tanaman dapat berupa saponin, tannin, alkaloid, alkenyl phenols, glycoalkaloid, flavonoid, sesquiterpenes, lactones, terpenoid, and phorbol esters (Tajkarimi *et al.*, 2010). Komponen polifenol berupa flavonoid memiliki aktivitas antibakteri terhadap berbagai mikroorganisme patogen (Cushnie

dan Lamb, 2005). Senyawa polifenol hadir dalam komposisi struktural yang beragam, struktur kimia polifenol berperan dalam aktivitas antimikroba (Daglia, 2012). Penggunaan senyawa antimikroba dari ekstrak tumbuhan sangat baik untuk mengendalikan bakteri patogen dalam bahan pangan (Gyawali dan Hayek, 2015).



Gambar 12. Kerangka Konseptual Penelitian

L. Hipotesis

1. Ekstrak etanol umbi uwi ungu memiliki kandungan metabolit sekunder.
2. Komponen metabolit sekunder dapat berperan sebagai antimikroba.
3. Konsentrasi dari ekstrak etanol umbi uwi dapat menghambat pertumbuhan mikroba.
4. Ekstrak etanol umbi uwi ungu menyebabkan kerusakan pada sel-sel mikroba.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas Salmonella thypimurium Terhadap Ekstrak Daun Psidium guajava L. *J. Bioscientiae*;. **1** (1): 31-38
- Akiyama, H., Fuji., Yamasaki., dkk., 2001. Antibacterial Action of Several Tannins Agains Staphylococcus aureus., *Journal Antimicrob Chemother.* Vol. **48** : 487-91.
- Angiosperm Phylogeny Group (APG). 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants, APG III, *J. Botanical of the Linnaen Society* **161**: 105–121.
- Anwar, K., 1994. *Pengantar Praktikum Kimia Organik*. Universitas Gadjah Mada.
- Aprianita. 2010. Assessment of underutilized starchy roots and tubers for their applications in the food industry. Thesis. School of Biomedical and Health Sciences Victoria University. Werribee Campus. Victoria. Australia.
- Bajpai, V. K., Rahman, A., & Kang, S. C., 2008. Chemical composition and inhibitory parameters of essential oil and extracts of *Nandina domestica* Thunb. to control food-borne pathogenic and spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, **125**(2), 117e122.
- Buckle.K.A, Edwars.R.A, Wooton.M, 1985. *Ilmu Pangan*. UI-Press. Jakarta.
- Budoyo S. 2010. Kandungan Karbohidrat dan Pola Pita Isozim Pada Varietas Lokal Ubi Kelapa (*Dioscorea alata* L.) Tesis. di Kabupaten Karanganyar.
- Bressan, E., Veasey, E.A., Peroni, N., Felipim, A., Pacheco, K.M & Santos, 2007. Collecting yam (*Dioscorea* spp.) and sweet potato (*Ipomoea batatas*) germplasm in traditional agriculture small-holdings in the Vale do Ribeira, Sao Paulo, Brazil, *J. Published in Issue* **144**: 8-13.
- Candido, E. S., Pinto, M. F. S., Pelegrini, P. B., Lima, T. B., Silva, O. N., Pogue, R., Grossi-de-Sa, M. F., & Franco, O. L. 2011. Plant Storage Proteins with Antimicrobial Activity: Novel Insights into Plant Defense Mechanisms. *The FASEB Journal Article*; **25**: 1117-1125
- Cavaliere, SJ, Rankin, ID, Harbeck, RJ, Sautter, RS, McCarter, YS, Sharp, SE, Ortez, JA, Spiegel, C.A. 2005. *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. USA: American Society for Microbiology.
- Cheeke RP. 2004. *Saponins: surprising benefits of desert plants*. USA: Linus Pailing Institute

- Chen YT and Lin KW. 2007. Effects of heating temperature on the total phenolic compound, antioxidative ability and the stability of dioscorin of various yam cultivars. *Food Chemistry* **101**: 955–963
- Cowan, M.M, Kabara, Coley and Truant., 1999. Plant Product as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*;. **12**(4): 564-582
- Cushnie TP, Lamb Andrew J., 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* **26**: 343-356.
- Daglia, M. 2012. Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, **23**(2), 174e181.
- Dwidjoseputro. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambaran; Jakarta
- Estiasih dkk. 2012. Hypoglycemic Activity of Water Soluble Polysaccharides of Yam (*Dioscorea hispida Dents*) Prepared by Aqueous, Papain, and Tempeh Inoculum Assisted Extractions. *World Academy of Science, Engineering and Technology* Vol: **6** 2012-10-27.
- Fang Z, D Wu, Yü D, Ye X, Liu D, and Chen J. 2011. Phenolic compounds in Chinese purple yam and changes during vacuum frying, *Food Chemistry* **128**: 943–948
- Fessenden, R.J. dan Fessenden J.S., 1986. *Kimia Organik*. Edisi Ketiga. Erlangga. Jakarta
- Flach, M., F. Rumawas, 1996. *Plant Resources of South-East Asia* No. 9: Plants yielding non-seed carbohydrates, Prosea, Bogor, Indonesia.
- Fu YT, Huang PY, and Chu CJ. 2004. Use of continuous bubble separation process for separating and recovering starch and mucilage from yam (*Dioscorea pseudojaponica yamamoto*). *LWT* **38**: 735–744
- Gaman, P., M. 1992. *Ilmu Pangan Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi dan Mikrobiologi*. Edisikedua. Yogyakarta: UGM Press. Halaman 89-95.
- Ganiswara, 1995., (eds) *Farmakologi dan Terapi*, Universitas Indonesia, Gramedia, Indonesia, 571-573.
- Gibson, G.R., Beatty, E.R., Wang X., dan Cummings J.H. , 1996. Selective stimulation of Bifidobacteria in human colon by oligofructosa and inulin". *Gastroenterology*; **108**:975-982.
- Gomez, K. A dan Gomez, A. A. *Prosedur Statistik untuk Penelitian*. Jakarta: UI Press. 1995. 25.
- Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., & Bourke, P. (2008). The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International Journal of Food Microbiology*, **124**(1), 91e97.
- Gyawali, R and Hayek Y., 2015. Plant extracts as antimicrobials in food products:. Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-78242-034-7.00002>.
- Hamidjojo, H.S. 2005. *Kimia Organik*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Harborne, J. B. ., 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB

- Harborne JB. 1996 *Metode Fitokimia*, Penuntun Cara Modern Meenganalisis Tumbuhan, Terbitan ke-2. ITB Press, Bandung.
- Harijono, Teti Estiasih, Mulia W. Apriliyanti, Asmak Afriliana, dan Joni Kusnadi. 2013. Physicochemical and Bioactives Characteristics of Purple and Yellow Water Yam (*Dioscorea alata*) Tubers. *International Journal of PharmTech Research* Vol.5, No.4, pp 1691-1701.
- Hassan, SM., 2008. *Antimicrobial Activities of Saponin Rich Guar Meal Extract*. Texas: Texas A&M University.
- Indrastuti E, Harijono, Bambang S., 2012. Karakteristik tepung uwi ungu (*Dioscorea alata* L.) yang direndam dan dikeringkan sebagai bahan edible paper. *Jurnal Teknologi Pertanian* Vol. 13 No. 3 169-176.
- Kumar S, Jena PK., 2014. Chromatographic, antibacterial and FT-IR analysis of *Dioscorea pentaphylla* L. Tuber extracts. *Plant Sci Res*. 36(1&2):83-90.
- Jayakody L, Hoover R, Liu Q, and Donner E. 2007. Studies on tuber starches. II. Molecular structure, composition and physicochemical properties of yam (*Dioscorea sp.*) starches grown in Sri Lanka. *Carbohydrate Polymers* 69: 148– 163.
- Jawetz, E., J. L, Melnick dan E. A, Adelberg. 2005. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan* Edisi 4. Diterjemahkan oleh Bonang, G. Penerbit Buku Kesehatan Jakarta
- John M deman, 1997. Principles of food chemistry. Press ITB. Bandung.
- Kneblock, K.A., A. Pauli., B. Iberl, H. Weigland., N. Weis., 1989. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oil Components. *J. Essensial Oil Res*.
- Lewis, K., & Ausubel, F. M. , 2006. Prospects for plant-derived antibacterials. *Nature Biotechnology*, 24(12), 1504e1507.
- Li H, Wang Z, Liu Y. 2003. Review in the studies on tannins activity of cancer prevention and anticancer. *Zhong-Yao-Cai* 26(6): 444-448.
- Lu, Yeh-Lin, Cho-Yun Chia, Yen-Wenn Liu, dan Wen-Chi Hou. 2011. Biological Activities and Applications of Dioscorins, the Major Tuber Storage Proteins of Yam. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* Vol. 2, No. 1, pp.41-46
- Madduluri S, Rao KB, Sitaram B. 2013. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indegenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens of Human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*.:5(4): 679-684.
- Masduki., 1996. *Efek Antibakteri Ekstrak Biji Pinang (Areca catechu)* terhadap *S. aureus* dan *E. coli*, *Cermin Dunia Kedokteran*; 109: 21-24.
- Mayes, P., A., 1996. *Biosintesis Asam Lemak*. In: Hartono A, translator; Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, ed. *Biokimia Harper*. 24th eds. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; p. 222-9.

- Meigy N. M., 2014. Efektivitas ekstrak tannin pada daun jambu biji (*Psidium guajava* L) sebagai antimikroba. Disertasi. Fakultas ilmu pangan pertanian. Universitas Hasanuddin. Makasar
- Njie, D.N., T.R. Ramsey, and R.P. Singh., 1998. Thermal Properties of cassava, yam, and plantain. *J. Food Eng.* 37:63-76.
- Pelczar, J.M dan Chan, E.C.S., 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. Jakarta: Penerbit UI Press.
- Putu G.M., Tri H., Amrun H., 2014. Uji Aktivitas Protein Larut Air Umbi Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*, vol. 2 (2).
- Purwoko, T., 2007. *Fisiologi Mikroba*. PT. Bumi Aksara, Jakarta
- Rustama MM, Lingga MA., 2005. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Air dan Etanol Bawang Putih (*Allium sativum* L.) terhadap Bakteri Gram Negatif dan Gram Positif yang Diisolasi dari Udang Dogol (*Metapenaeus monoceros*), Udang Lobster (*Panulirus* sp.), dan Udang Rebon (*Mysis Acetes*). *Jurnal Biotika* 5(2): 35-40.
- Rijayanti RP., 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera indica* L) terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro. Disertasi. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. Pontianak
- Sammour, R. H and El-Shanshoury, A. R. 1992., *Antimicrobial Activity of Legume Seed Proteins*. Botanical Bulletin Academia Sinica 31: 185-190.
- Samson dan van Reenen-Hoekstra 1988., *Introduction to Food Borne Fungi*. Centralbureau Voor Schimmelcultures. Baarn. Delft
- Sandjaja, A. 2009. *Kamus Gizi Pelengkap Kesehatan Keluarga*. Jakarta: PT Kompas Media Nusantara
- Selle, P. H. and V. Ravindran. 2007. *Microbial phytase in poultry nutrition*. Anim. eed Sci. Technol. 135: 1-41.
<http://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.06.010>
- Simpson, G.M., 2010, *Plant Systematic*, University of Delhi, India.
- Sitompul S., Martini. 2005. *Penetapan Serat Kasar dalam Pakan Ternak Tanpa Ekstraksi Lemak*. Balai Penelitian Ternak. Biokimia: Metabolisme Biomolekul. Bandung: Alfabeta.
- Subandrio, W.K.A. 1995., *Kemoterapi Antimikroba*, Antibiotika. Fakultas MIPA Universitas Indonesia
- Sulistyono E., Marpaung J., 2004. Studi Karakter Umbi dan Kandungan Nutrisi *Dioscorea* spp. *Bul. Agronomi* 32 (2): 1
- Supardi, Imam., Sukamto., 1999. *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Penebit Alumni. Bandung
- Suwandi M, Sugianto B, Rahman A. 1989. *Kimia organik karbohidrat, lipid dan protein*. Jakarta: Program Pascasarjana Universitas Indonesia.
- Suwandi, Trijani. 2012. Pengembangan Potensi Antibakteri Kelopak Bunga Hibiscus Sabdariffa L. (*Rosela*) Terhadap *Sterptococcus Sanguinis*

- Penginduksi Gingivitis Menuju Obat Herbal Terstandar. Disertasi. Program Doktor Ilmu Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.
- Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., & Cliver, D. O., 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, **21**(9), 1199e1218.
- Tatang S, Wardah. 2013. *Mikrobiologi Pangan*. Penerbit Cv AndiOffset. Yogyakarta.
- Tiwari, B. K., Valdramidis, V. P., O'Donnell, C. P., Muthukumarappan, K., Bourke, P., & Cullen, P. J., 2009. Application of natural antimicrobials for food preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **57**(14), 5987e6000.
- Tsukui, M T. Nagashima, H. Sato, T. Kozima, dan W. Tanimura. 1999. Characterization of yam (*Dioscorea opposita Thunb.*) mucilage and polysaccharide with different varieties. *J Jpn Soc Food Sci Technol*, vol. **46**, pp 575-580.
- Wallace, R. J. 2004. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of the Nutrition Society*, **63**(04), 621e629.
- Winarno, F., G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia. Jakarta.
- Wirjatmadi, B. M. Adrianti dan S. Purwati. 2002. Pemanfaatan Rumput Laut (*Euchema Cottoni*) dalam Meningkatkan Nilai Kandungan Serat dan Yodium Tepung Terigu dalam Pembuatan Mie Basah. *Jurnal Penelitian Medika Eksakta*. **13** (1) : 11-17.
- Wu RT. 2005. *Polysaccharide Extract Of Dioscorea Sp And An Orally Active Pharmaceutical Composition Comprising The Same*. Patent US 20050196479A1
- Yulina., Filza. 2013., Isolasi dan Identifikasi Jamur Pendegradasi Amilosa pada Empulur Tanaman Sagu (*Metroxylon sagu Rottb.*). *Jurnal Ilmiah Edu Research* Vol.2 No.1. . 27-33.
- Yeh AI, Chan TY, and Chuang GC. 2009. Effect of water content and mucilage on physico-chemical characteristics of yam (*Discorea alata Purpurea*) starch. *Journal of Food Engineering* **95**: 106–114

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2018-November 2019, bertempat di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, dan Laboratorium LPPT Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

B. Rancangan penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam tiga tahapan penelitian meliputi : Tahap 1 ekstraksi dan identifikasi komponen umbi uwi ungu melalui metode skrining fitokimia dan kromatografi lapis tipis (KLT). Tahap 2 aplikasi penggunaan ekstrak etanol umbi uwi ungu (*Dioscorea alata* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Tahap 3 aplikasi penggunaan ekstrak etanol umbi uwi ungu (*Dioscorea alata* L.) dalam menghambat pertumbuhan kapang *Rhizopus oryzae* dan khamir *Saccharomyces cereviceae*. Rancangan penelitian pada tahapan satu hingga tahapan ketiga menggunakan empat variasi perlakuan konsentrasi etanol dan lama maserasi, serta aplikasi delapan variasi konsentrasi ekstrak etanol umbi uwi. Data hasil penelitian diolah dengan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial, apabila terdapat berpengaruh nyata ($p < 0.05$), maka dilakukan dengan uji lanjut BNJ/ tukey

untuk melihat pengaruh perlakuan konsentrasi etanol dan lama maserasi, daya hambat bakteri serta daya hambat kapang dan khamir.

C. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu corong *Buchner vacum*, kertas *whatman*, *rotary evaporator*, water batch, timbangan digital, alat-alat gelas, pisau, pipa kapiler, botol vial, wadah plastik, tissue, kertas, pulpen, penggaris, toples, pingset, saringan, aluminium foil, kapas. timbangan, lampu spiritus (bunsen), mikropipet, autoclave, laminar flow, oven, inkubator, mikroskop, botol vial, pinset.

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu umbi uwi ungu (*Dioscorea alata* L.), silica gel, kuersetin, asam galat, saponin standar, tanin standar, pelarut etanol 96%, 80%, 65%, 50%, aquadest, pereaksi *dragendroff*, NaOH 10%, pereaksi *Lieberman- Buchard*, butanol, H₂SO₄ 10 %, magnesium (Mg⁺), asam Sulfat (H₂SO₄) dan asam glasial (C₂H₄O₂) asam hidroclorida (HCl 2N). Bakteri *Escherichia coli*, bakteri *Staphylococcus aureus*, kapang, *Rhizopus oligosporus*, khamir *Saccaromyces cerevicea*, media *Mueller hinton* (MHA), Media media SDA (sabarote dextro agar), paper disk, aquadest, dimethylsulfoxide (DMSO), kapas, glutaraldehyde 2%, buffer phosphate pH 7,4, amyl acetate absolut.

D. Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan dalam penelitian ini yaitu analisa total rendemen, analisa kualitatif komponen metabolik sekunder dalam ekstrak getah meliputi zat flavanoid, tanin, fenol, alkaloid, terpenoid dan saponin,

analisa komponen dengan menghitung nilai R_f pada plat KLT, analisa diameter zona hambat mikroba, dan analisa kerusakan sel mikroba *Escherichia coli*, bakteri *Staphylococcus aureus*, kapang *Rhizopus oligosporus*, khamir *Saccaromyces cerevicea*.

E. Prosedur Penelitian

Penelitian ini terdiri dari 3 tahapan. Tahap pertama ekstraksi dan identifikasi kandungan ekstrak umbi uwi ungu (*Dioscorea alata* L). Umbi uwi diperoleh secara acak dari beberapa daerah (Enrekang, Soppeng, Selayar, Maros). Preparasi sampel dengan membersihkan umbi dari tanah, memisahkan umbi dari kulit ari, daging umbi kemudian diparut, ekstraksi menggunakan metode maserasi etanol (Harbrone, 1996). Prosedur penelitian secara umum meliputi: Skrining fitokimia secara kualitatif melalui metode tabung dengan menggunakan pereaksi *Dragendroff*, FeCl₃, Mg+HCl, as.glasial, HCl 2N. Identifikasi melalui kromatografi lapis tipis dilakukan dengan penyiapan fase diam Silica gel G60 F254/plat KLT dengan panjang 6,5 cm dan lebar 7 cm, kemudian dicuci dengan metanol (menghilangkan benda asing yang melekat pada plat KLT), lalu diaktivasi dalam oven pada suhu 100°C selama 10 menit. Fase gerak yang digunakan yaitu butanol, aquadest, asam asetat glasial (4 ml: 1 ml : 0,5 ml) untuk memisahkan komponen-komponen. Kemudian dilakukan pengamatan noda yang terbentuk pada UV-Vis 356 dan UV-Vis 256.

Penelitian tahapan kedua yaitu, aplikasi penggunaan ekstrak etanol umbi uwi ungu (*Dioscorea alata* L.) dalam menghambat pertumbuhan

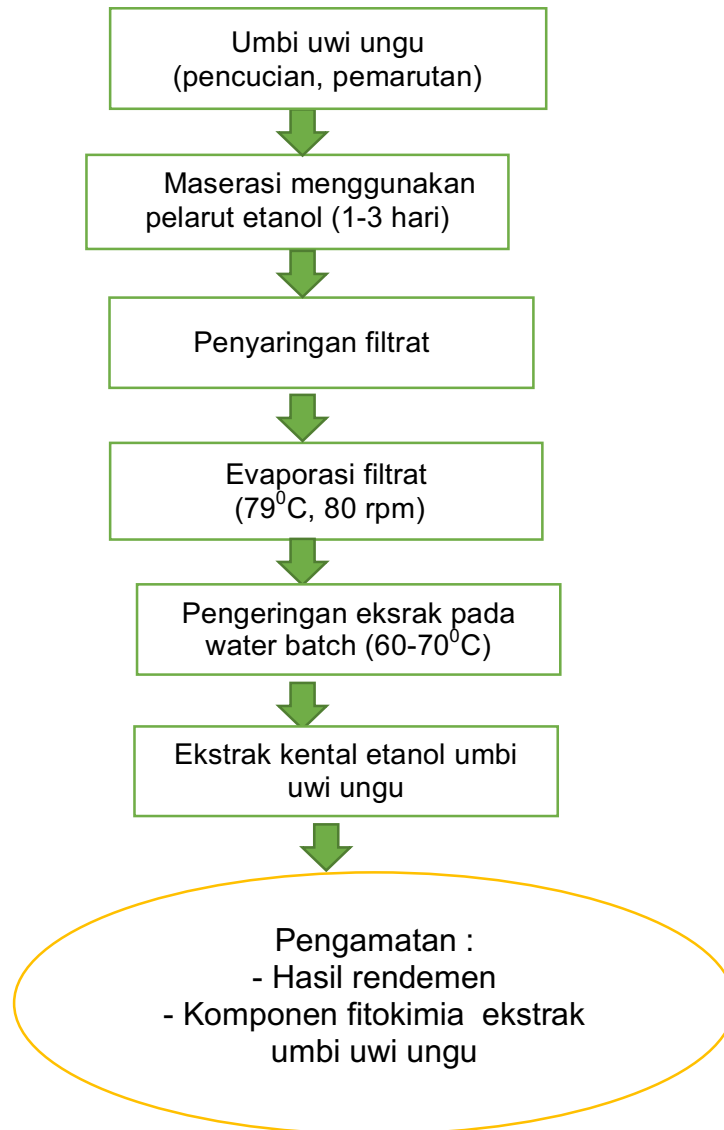
bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Prosedur penelitian secara umum yaitu, pembuatan media MHA (Mueller Hinton Agar) sebanyak 38 g kemudian dilarutkan ke dalam 1 L aquadest, selanjutnya dipanaskan dan diaduk hingga homogen menggunakan magnetik stirer. Media MHA kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Media dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 15 ml, kemudian media didinginkan hingga memadat untuk digunakan sebagai medium dalam pengujian zona hambat bakteri.

Penelitian tahapan ketiga yaitu aplikasi penggunaan ekstrak etanol umbi uwi ungu (*Dioscorea alata* L) dalam menghambat pertumbuhan kapang *Rhizopus oryzae* dan khamir *Saccharomyces cereviceae*. Prosedur penelitian yaitu meliputi pembuatan media SDA (*Sabaroad dextrosa agar*). Sebanyak 65 g media SDA dilarutkan ke dalam 1 L aquadest. Selanjutnya dilakukan sterilisasi media menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Media yang telah disterilisasi dituangkan sebanyak 15 ml kedalam cawan petri, kemudian media didinginkan hingga memadat untuk digunakan sebagai medium dalam pengukuran zona hambat pada kapang dan khamir.

Pembuatan 8 variabel konsentrasi ekstrak etanol umbi untuk mendapatkan 1%, 2%, 4%, 6%, 8%, 15%, 20%, 25% (%b/v) dalam 1 ml maka diperlukan ekstrak masing-masing sebanyak 0,01; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,15; 0,20; 0,25 (g) yang dilarutkan kedalam 1 ml *dimethyl sulfoxide* (DMSO) 1%.

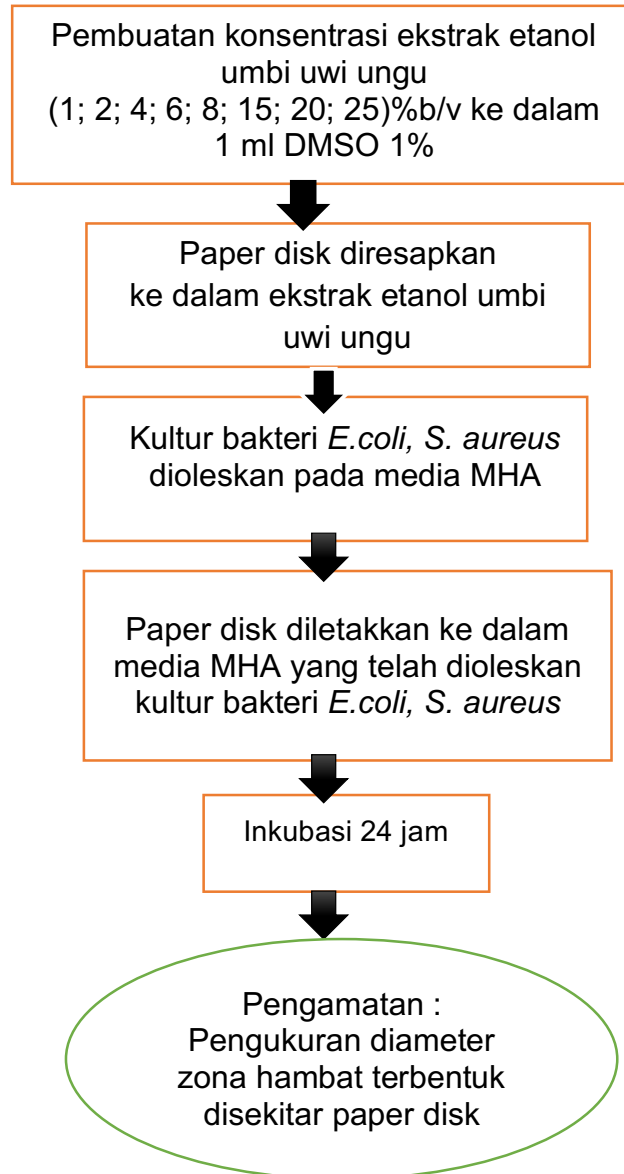
Tahapan penelitian secara umum dapat dilihat pada Gambar berikut :

TAHAP I



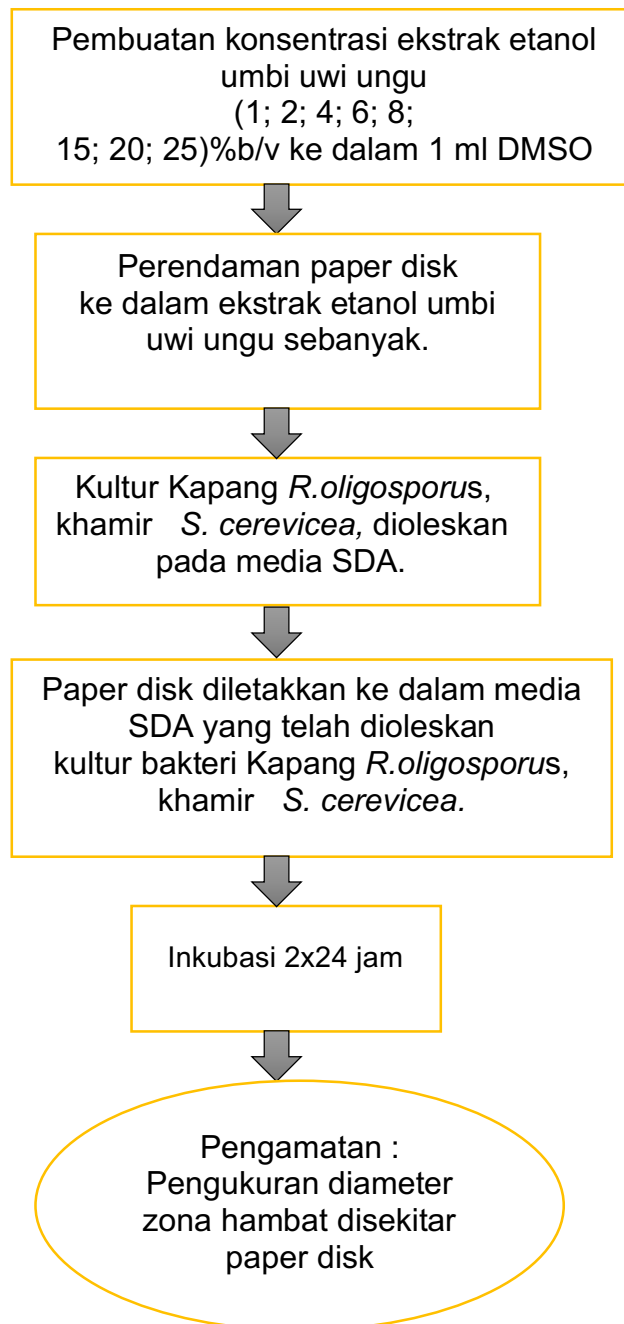
Gambar 13 : Ekstraksi Ubi Uwi Ungu

TAHAP II



Gambar 14 : Pengukuran Diameter Zona Hambat Bakteri *E.coli* dan *S.aureus*.

TAHAP III



Gambar 15: Pengukuran Diameter Zona Hambat Kapang *R. oligosporus* dan Khamir *S. cereviceae*.

DAFTAR PUSTAKA

- Fardiaz, S. 1989. *Analisa Mikrobiologi Pangan*. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Harborne JB. (1996). *Phytochemical Methods*. Terjemahkan. Padmawinata K., Soediro I. Penerbit ITB, Bandung.
- Kokate, C.K., Purohit, A.P. & Gokhale, S.B. 2001. *Pharmacognosy*. Nirali Prakashan, Maharashtra.
- Marliana, S.D., Suryanti,V.,and Suyono. 2005. The phytochemical screenings and thin layer chromatography analysis of chemical compounds in ethanol extract of pumpkin fruit (*Sechium edule Jacq. Swartz.*) *Biofarmasi* **3** (1): 26-31, ISSN: 1693-2242.
- Nisdian A, Izzata B, Didin E.I. 2012, Analisis Efek Ekstrak Polifenol Biji Kakao (*Theobroma cacao* L). *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian*, 1-7
- Salie, F., Eagle, P.F.K., Leng, H.M.J 1996 Preliminary antimicrobial screening of four south African Asteraceae species. *J. of Ethnopharmacology* **52** 27–33.
- Wagner, H., & Bladt, S. 1996. *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*. Springer Science & Business Medi.

BAB IV

EKSTRAKSI DAN IDENTIFKASI KOMPONEN EKSTRAK ETANOL UMBI UWI UNGU (*Dioacorea alata* L)

A. Abstrak

Umbi uwi ungu diidentifikasi memiliki komponen aktif. Tujuan penelitian mengidentifikasi komponen aktif sebagai antimikroba yang terdapat di dalam ekstrak etanol umbi uwi ungu. Identifikasi komponen dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol (96%, 80 %, 65%, 50%) dan menggunakan waktu maserasi 1,2,3 hari. Skrining fitokimia ekstrak etanol dilakukan secara kualitatif. Hasil riset menunjukkan interaksi faktor tunggal ekstraksi pelarut 96% maserasi 3 hari memberikan total rendemen sebesar 39,01%, lebih tinggi apabila dibandingkan dengan pelarut etanol 80 % sebesar 32,29%, etanol 65% sebesar 22,37%, dan etanol 50 sebesar 23,98%. Analisis sidik ragam hasil uji Tukey α 0,05 berbeda nyata. Identifikasi secara kualitatif dengan skrining fitokimia (skiring alkaloid,tanin, fenol, flavanoid,saponin, terpenoid) memperlihatkan jenis komponen yang terdapat pada ekstrak etanol umbi uwi berupa alkaloid, tanin, fenol, flavonoid, saponin, alkaloid, terpenoid. Penggunaan pelarut etanol 96% maserasi selama 3 hari, efektif dalam mengekstrak komponen yang terdapat pada ekstrak etanol umbi uwi. Komponen tersebut berpotensi sebagai agen antimikroba.

Extraction and identification of active compounds Ethanol yam extract (*Dioacorea alata* L)

Abstract

Yams is identified to contain active components. The purpose of this research is to identify active components in yam extract through variations in the concentration of ethanol solvents, which can potentially be an antimicrobial. Yam extraction with concentrations of ethanol (96%-50%) and maceration time (1-3 days). Phytochemical screening extracts was done qualitatively identification. The results show that 96% of solvent extraction for 3-day maceration gives a total yield of 39.01%, which is higher than the 80% of ethanol solvent (yield of 32.29%), 65% of ethanol (yield of 22.37%), and 50% of ethanol (yield of 23.98%). Qualitative identification of yam extract are in the form of alkaloids, tannins, phenols, flavonoids, saponins, alkaloids, steroids. The use of ethanol solvent with a concentration of 96% for 3-day maceration is effective in extracting phytochemical components in

yam. This type of compounds substance has the potential as an antimicrobia.

A. Pendahuluan

Tanaman umbi uwi memiliki beragam spesies yang terdapat diberbagai wilayah, secara khusus terdiri atas dua jenis warna umbi yaitu putih-kekuningan dan ungu dengan tekstur umbi keras dan bergetah. Uwi ungu (*Dioscorea alata L.*) mengandung antioksidan, antosianin (Fang *et al.*, 2011). Antosianin yang terdapat dalam umbi uwi ungu berupa sianidin-3-0-rutinosida sebagai pigmen utama, dan pelargonidin-5-0-monoglukosida dan sianidin-3-0-glukosida (Jose dan Muhammed, 2015). Uwi memiliki getah yang mengandung *allantoin* (Estiasih *et al.*, 2017). Umbi uwi bersifat hipoglikemik dan mengandung nutrisi serta komponen fungsional seperti *mucin*, *dioscin*, *allantoin*, *choline* dan asam amino esensial .

Penelitian pendahuluan melaporkan komponen proksimat umbi basah mengandung air 90,01%, karbohidrat 8,29%, lemak 0,02%, protein 1,43%, abu 0,25%. Karbohidrat umbi terdiri dari amilosa dan amilopektin. Berdasarkan komponen proksimat tersebut pemanfaatan umbi uwi lebih dominan kedalam bentuk tepung dan diversifikasi berbagai produk pangan olahan. Pengolahan produk-produk berbasis umbi diantaranya tepung uwi dalam pembuatan mie asin (Li *et al.*, 2011). Pembuatan mie kering dari umbi uwi (Estiasih *et al.*, 2017). Tepung uwi sebagai *edible paper* (Indrastuti, 2012), dan formulasi tepung uwi dalam pembuatan pangan olahan (Yusuf dkk., 2016).

Umbi uwi selain memiliki komponen proksimat, pada permukaan umbi juga mengandung getah yang diasumsikan bersifat fitokimia. Komponen

fitokimia terdapat secara luas terdapat pada bagian tanaman seperti buah, biji, getah, daun, bunga, batang, akar baik pada tanaman buah-buahan, sayuran, biji-bijian, rempah-rempah dan lain sebagainya. Skrining fitokomia metabolit sekunder dari berbagai bagian tanaman telah banyak dilaporkan antara lain metabolit sekunder dari ekstrak getah pisang (*Musa acuminata*) mengandung senyawa fenolik (Ranjan Kumar *et al.*, 2014), ekstrak komponen dari 31 jenis kulit buah-buahan mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, steroid-triterpenoids (Sihombing *et al.*, 2015), daun tanaman *Calophyllum inophyllum* mengandung alkaloid, triterpenoid, flavonoid, tanin, saponin, dan polyphenol (Susanto *et al.*, 2017). Komponen fenol dan polyphenol dari kulit tanaman *Michelia nilagirica* (Venkatadri *et al.*, 2017), ekstrak bunga dan daun turi (*Sesbania grandiflora* L. *poiri*) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid (Kurniati *et al.*, 2018). Komponen metabolit zat alkaloid, tanin, steroid, triterpenoid, flavonoid dari kulit *Aloe vera* (Benzidia *et al.*, 2018), komponen fitokimia dari buah berry (*C. monogyna*, *C. orientalis*, *C. pontica*, *C. rhipidophylla* and *C. turcicus*) fenol, asam fenolik, flavonoid, proantosianin (Bardakci *et al.*, 2019). Zat alkaloid, triterpenoid, polifenol dalam tanaman bermanfaat zat antimikroba (Barbieri *et al.*, 2017).

Tumbuhan yang memiliki metabolit sekunder tergolong sebagai zat aktif (diantaranya alkaloid, fenol, flavonoid, saponin, tanin, terpenoid), dimana zat tersebut dapat digunakan sebagai antimikroba maupun sebagai

obat herbal. Tumbuhan yang memiliki komponen metabolik sekunder berpotensi sebagai antimikroba (Harbone, 1996).

Berdasarkan uraian tersebut maka peneliti akan mengaplikasikan variasi konsentrasi etanol dan waktu maserasi dalam mengekstrak komponen umbi uwi ungu serta melakukan identifikasi ekstrak etanol umbi uwi ungu melalui skrining fitokimia dan kromatografi lapis tipis. Sehingga dapat mengetahui total rendemen dan jenis komponen metabolit sekunder ekstrak etanol umbi uwi yang berpotensi sebagai antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

C. Metode Penelitian

Rancangan penelitian

Rancangan penelitian pada tahapan ini menggunakan empat variasi konsentrasi etanol dan lama maserasi. Data hasil penelitian diolah dengan rancangan acak lengkap (RAL) 2 faktorial, apabila terdapat berpengaruh nyata ($p < 0.05$), maka dilakukan dengan uji lanjut BNJ/ tukey untuk melihat pengaruh perlakuan konsentrasi dan waktu maserasi.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu corong *Buchner vacuum*, kertas *whatman* no 1 *rotary evaporator*, water batch, timbangan digital, alat-alat gelas, pisau, pipa kapiler, botol vial, wadah plastik, tissue, kertas, pulpen, penggaris, toples, pingset, saringan, aluminium foil, kapas.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini umbi uwi ungu (*Dioscorea alata* L.), silica gel, kuersetin, asam galat, saponin standar, etanol 96%,

80%, 65%, 50%, akuades, pereaksi *Dragendroff*, NaOH 10%, pereaksi *Liberman- Buchard*, butanol, H₂SO₄ 10 %, Magnesium (Mg⁺), Asam Sulfat (H₂SO₄) dan Asam Glasial (C₂H₄O₂) Asam Hdroclorida (HCl 2N).

Prosedur Penelitian

Adapun metode dari penelitian ini meliputi:

1. Ekstraksi dan maserasi

Ekstraksi menggunakan metode maserasi (Harbone, 1996), umbi uwi sebanyak 500 g dimaserasi dengan 1000 ml pelarut etanol (96 %, 80%, 65% dan 50%) perbandingan bahan dan pelarut 1:2. Maserasi pada suhu ruang selama 1- 3 hari (24-72 jam) untuk masing-masing pelarut. Filtrat disaring melalui corong *Buchner vacum* menggunakan kertas *whatman* no 1 untuk memisahkan filtrat dan maserat. Kemudian filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* (60-79⁰C) hingga larutan menguap dan diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh dari hasil evaporasi diuapkan kembali kedalam waterbatch (60-70⁰C) hingga ekstrak yang diperoleh menjadi kering. Kemudian ekstrak yang telah mengering disimpan dalam refrigerator untuk pengujian secara kualitatif.

2. Identifikasi komponen zat aktif

Identifikasi komponen alkaloid dilakukan dengan menambahkan 2 ml HCl, 1 ml larutan *Dragendroff* (Larutan dragendroff dibuat dengan cara 0,8 g bismuth subnitrat ditambahkan dengan 10 ml asam asetat dan 40 ml air). Sebanyak 5 ml ekstrak (sampel) ditambahkan 2 ml HCL, kemudian dimasukkan 1 ml larutan *dragendroff*. Perubahan warna orange (jingga)

atau merah setelah penambahan pereaksi menunjukkan bahwa ekstrak mengandung zat alkaloid (Kokate, 2001).

Identifikasi komponen fenol dilakukan dengan membuat 1 g sampel yang ditambahkan 20 ml etanol 70%. Larutan yang dihasilkan dipipet sebanyak 1 ml. Kemudian ditambahkan 2 tetes larutan pereaksi FeCl_3 5%, terbentuknya warna biru tua / hitam kehijauan setelah penambahan pereaksi menunjukkan ekstrak mengandung fenol (Kokate, 2001).

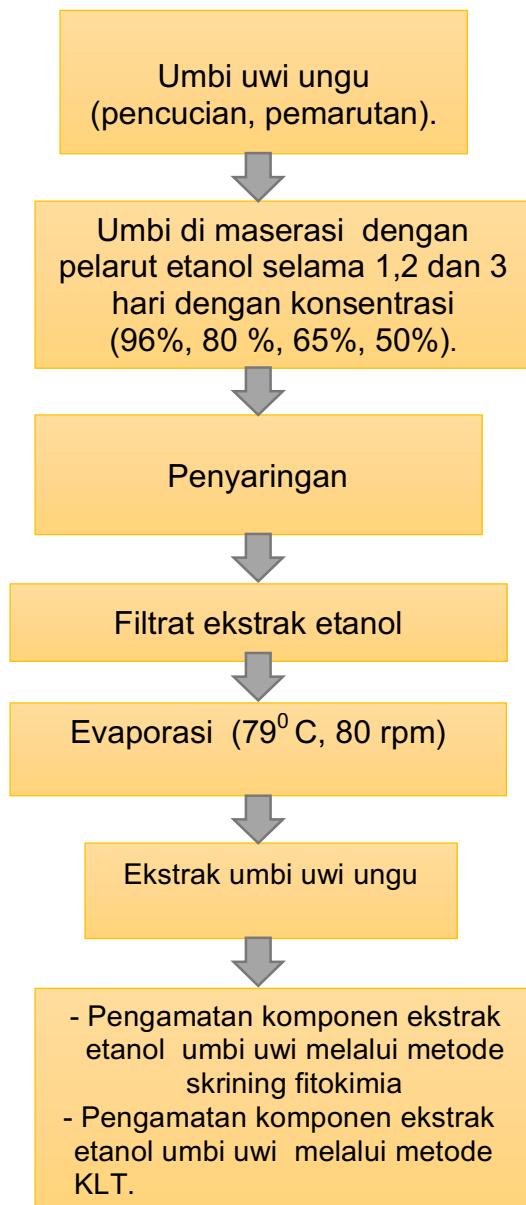
Identifikasi komponen tanin dilakukan dengan membuat 1 g sampel yang dimasukkan kedalam gelas piala, lalu ditambahkan 12 ml air panas dan dididihkan selama 15 menit kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan beberapa ml larutan FeCl_3 1%. Keberadaan zat tanin ditandai dengan timbulnya warna biru tua / hijau kehitaman setelah penambahan pereaksi FeCl_3 1% (Harbone, 1996).

Komponen flavonoid dideteksi dengan 0,5 gram sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi, yang kemudian ditambahkan serbuk Mg sebanyak 0,1 mg dan larutan HCL pekat 0,4 ml. Identifikasi adanya flavanoid setelah penambahan reagen akan terbentuk warna merah, kuning, orange (Harborne, 1996).

Identifikasi terpenoid dilakukan dengan penambahan 1 ml reagen Asam Sulfat (H_2SO_4) dan Asam Glisial ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$) akan terbentuk warna ungu tua (Harbone, 1996).

Identifikasi saponin dilakukan dengan uji busa dalam air panas. Sebanyak 1 ml sampel ditambahkan 1 tetes Asam Hidroclorida (HCl 2N),

kemudian setelah penambahn HCl 2N akan terbentuk busa yang stabil selama 30 detik pada permukaan tabung. Busa yang stabil terbentuk dan tidak hilang menunjukkan adanya kandungan saponin dalam bahan uji (Harbone, 1996).



Gambar 16: Diagram Alir Ekstraksi dan Identifikasi Ekstrak Etanol Umbi Uwi Ungu

3. Kromatografi lapis tipis (KLT) dan Nilai Rf

Identifikasi komponen metabolit sekunder ekstrak umbi uwi ungu menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan dengan mengambil sebanyak 0,01 g ekstrak etanol umbi dilarutkan dalam 1 ml etanol

kemudian ditotolkan dengan pipa kapiler pada fase diam dengan jarak 2,5 cm dari tepi bawah plat silica gel, kemudian dielusi sejauh 5 cm dalam chamber yang telah berisi eluen (butanol : asam glasial : aquadest steril) (4 ml: 0,5ml : 1ml), hingga lempeng terelusi kebatas lempeng dan dikeringkan. setelah kering dilakukan penyemprotan beberapa reagen untuk identifikasi komponen.

Identifikasi flavonoid standar baku kuarsetin dengan penyemprotan reagen sitoborat, reaksi positif ditunjukkan akan terbentuknya noda warna kuning. Pada pengamatan dengan sinar tampak dan berwarna biru pada UV 365 nm menegaskan adanya kandungan flavonoid (Marliana, 2005).

Identifikasi senyawa tanin standar baku asam tannat dengan penyemprotan FeCl_3 5 %. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna hitam setelah pemanasan (Banu dan Nagarajan, 2014).

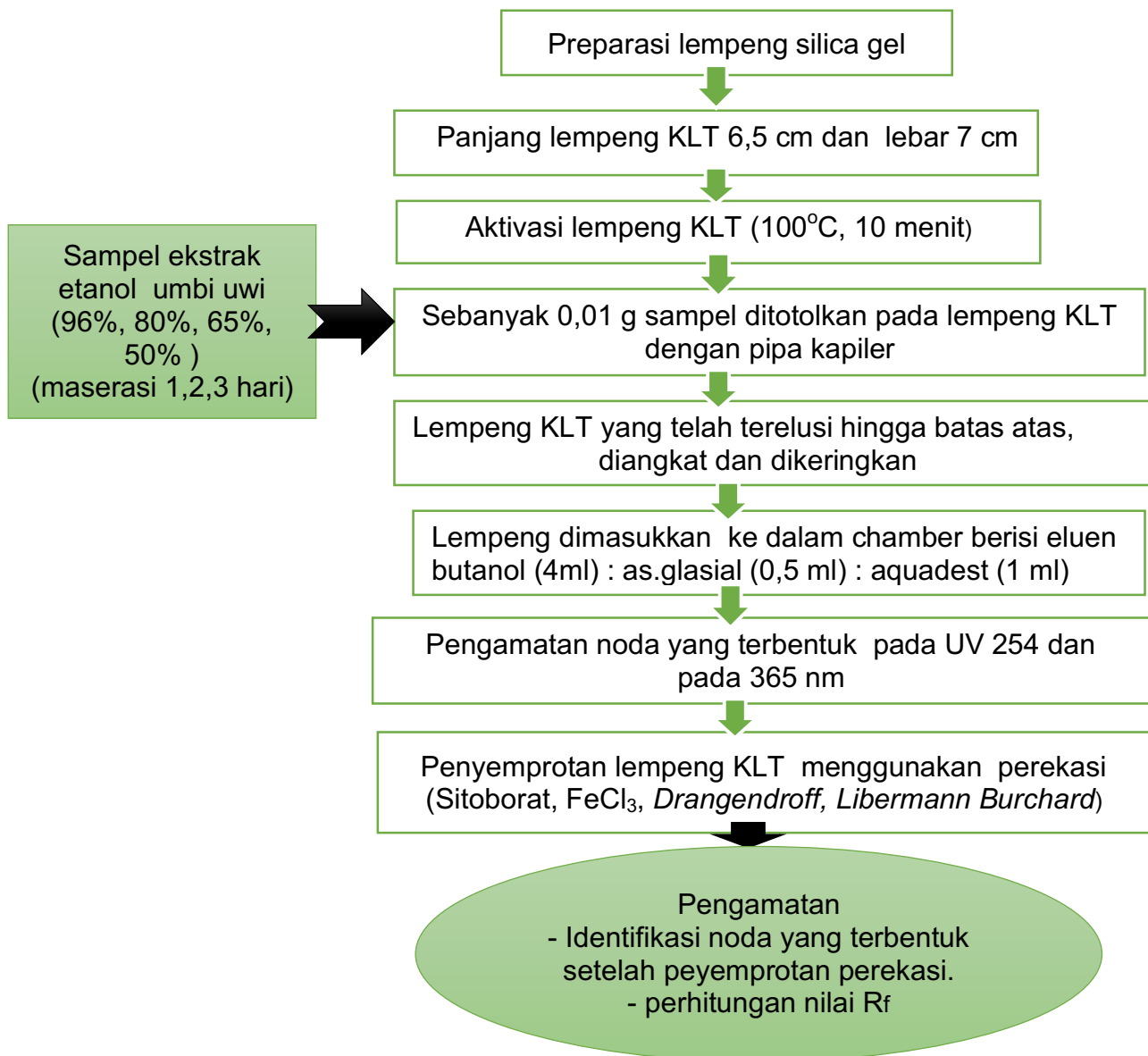
Identifikasi fenol standar baku asam galat dengan penyemprotan FeCl_3 5 %. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna hitam setelah pemanasan (Banu dan Nagarajan, 2014).

Identifikasi alkaloid standar baku alkaloid dengan penyemprotan reagen Dragendroff, hasil menunjukkan penampakan bercak noda warna kuning, orange setelah penyemprotan reagen dragendroff (Harborne, 1996).

Identifikasi saponin dan terpenoid standar baku sapogenin dengan penyemprotan reagen vanilin asam sulfat (*Liebermann Bucard*). Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna ungu, ungu

kemerahan, biru setelah penyemprotan maupun pemanasan (Wagner, 1996). Identifikasi pengukuran noda R_f (retension faktor) dilakukan dengan mengamati jarak pemisahan noda dan jarak tempuh eluen kemudian dihitung untuk mendapatkan nilai R_f dengan rumus pada persamaan berikut

$$R_f = \frac{\text{jarak noda (jarak yang ditempuh senyawa)}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$



Gambar 17: Diagram Alir Identifikasi Komponen dengan Metode KLT.

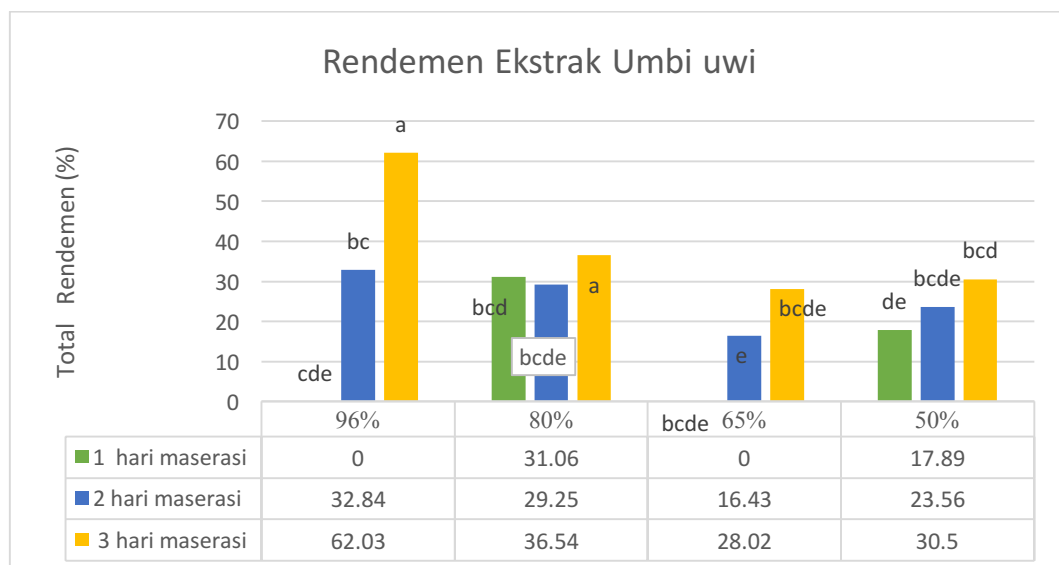
Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan dalam penelitian ini yaitu analisa total rendemen, analisa kualitatif komponen matabolit sekunder dalam ekstrak etanol umbi uwi meliputi zat flavanoid, tanin, fenol, alkaloid, terpenoid dan saponin, analisa komponen dengan menghitung nilai Rf pada plat KLT.

D. Hasil dan Pembahasan

1. Pengaruh konsentrasi dan lama maserasi terhadap total rendemen

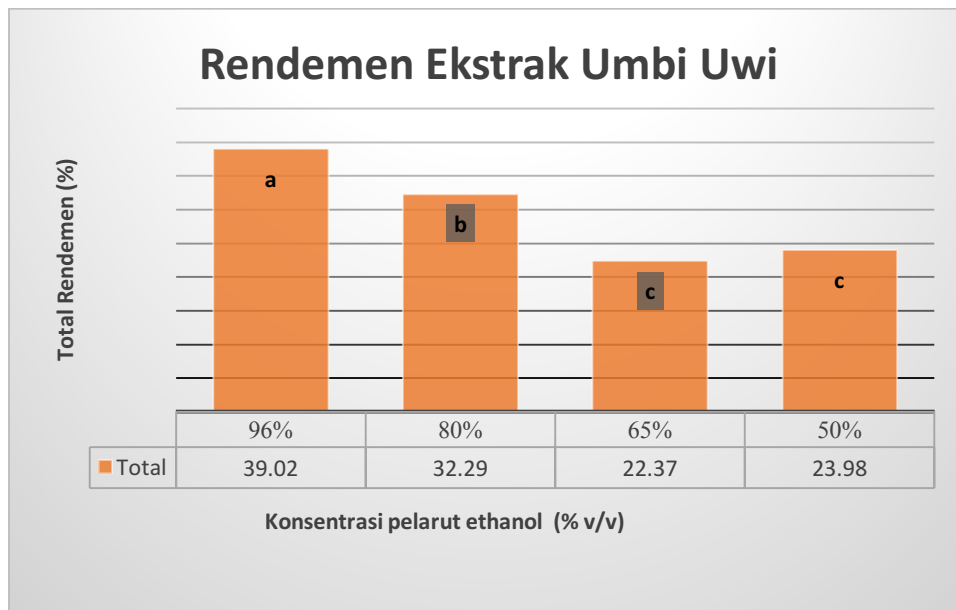
Ekstraksi etanol umbi uwi menggunakan pelarut etanol bersifat polar atau semi polar bertujuan untuk melarutkan zat aktif baik polar maupun semi polar dari umbi uwi. Etanol merupakan pelarut yang efektif untuk mengekstraksi karena dapat mengekstraksi senyawa polar maupun non polar (Lumempouw *et al.*, 2012). Konsentrasi pelarut dan waktu maserasi berpengaruh terhadap total rendemen.



Gambar 18: Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Rendemen.

Hasil pengamatan rendemen ekstrak etanol umbi uwi yang sudah dalam kering pada Gambar 18 menunjukkan bahwa terdapat interaksi yang sangat nyata pada perlakuan konsentrasi pelarut etanol dan perlakuan lama maserasi terhadap rata-rata rendemen. Hasil uji BNP α 0,05 (pada intertaksi perlakuan variasi konsentrasi pelarut dan waktu maserasi), menunjukkan bahwa rata-rata rendemen tertinggi dihasilkan pada perlakuan konsentrasi pelarut etanol 96% dan lama maserasi 3 hari berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Konsentrasi pelarut dan lama maserasi akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung komponen aktif. Komponen akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam dan di luar sel, maka larutan yang terpekat didalam sel akan terdesak keluar. Peristiwa tersebut berulang hingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan dalam sel (Suwandi, 2012).

Analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi pelarut etanol dan perlakuan waktu maserasi yang berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap rata-rata rendemen. Dimana masing-masing sampel berbeda dimaserasi selama 1 hari, 2 hari, 3 hari dan diperoleh total rendemen yang tinggi pada sampel yang telah dimaserasi 3 hari. Hal ini disebabkan karena selama proses maserasi molekul pelarut mula-mula akan berdifusi ke dalam matriks sampel yang diekstrak kemudian kontak dengan senyawa dan menarik senyawa sesuai dengan kepolaran pelarut tersebut (Arumtika, 2019).



Gambar 19: Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Rendemen.

Hasil uji BNJ/tukey α 0,05 interaksi faktor tunggal (variasi konsentrasi pelarut) pada Gambar 19, menunjukkan bahwa rata-rata rendemen tertinggi dengan berat awal bahan 500 g dihasilkan pada perlakuan konsentrasi pelarut etanol 96% berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Sedangkan perlakuan konsentrasi pelarut etanol 65% menghasilkan rendemen terendah. Berdasarkan hasil sidik ragam diketahui kadar rendemen maserasi selama 3 hari menunjukkan hasil yang tertinggi pada ekstrak etanol 96%. Hasil riset Khaerati *et al.*, (2020) mengemukakan golongan senyawa yang terdeteksi pada penggunaan etanol 96% ekstrak umbi uwi mengandung flavanoid, saponin triterpenoid, tanin, steroid, alkaloid, dan terpenoid.

Pengaruh waktu maserasi yang lama mengakibatkan komponen terekstrak lebih besar sehingga kadar rendemen juga akan meningkat. Hasil rendemen merupakan efektivitas metode maserasi. Sayuti (2017),

mengemukakan bahwa semakin lama waktu ekstraksi, kontak bahan dengan pelarut akan semakin lama, sehingga terjadi pengendapan massa secara difusi sampai terjadi kesetimbangan konsentrasi larutan didalam dan diluar bahan ekstrak.

Penggunaan pelarut etanol bersifat *like-dissolvent-like* dimana senyawa polar larut dalam pelarut polar, semi polar dengan pelarut semi polar, begitupun dengan zat non polar akan larut dalam pelarut non polar. Pelarut etanol memiliki indeks polaritas 5,2 dengan sifat larut sehingga dalam ekstraksi dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel simplisia dan proses ekstraksi menjadi lebih efisien dalam menarik komponen polar hingga semi polar (Siedel, 2008). Pelarut etanol merupakan pelarut yang memiliki kepolaran tinggi (Sayuti, 2017).

Beberapa hasil riset telah melaporkan komponen ekstrak dari umbi memiliki metabolit sekunder, Okiqbo *et al.*, (2015) melaporkan bahwa ekstrak etanol uwi positif mengandung saponin, alkaloid, tanin, flavanoid dan fenol. Dan Kumar *et al.*, (2017) memaparkan bahwa pada umbi uwi terdapat komponen berupa saponin, tanin, terpenoid, steroid.

Sifat dari beberapa komponen metabolit sekunder yang terdeteksi tergolong cenderung bersifat polar dan semi polar. Seperti flavonoid bersifat polar, karena adanya ikatan gugus gula. Kemudian golongan fenolik bersifat polar, dan saponin cenderung polar karena ikatan glikosida yang dimiliki (Harbone, 1996). Alkaloid mengandung nitrogen sebagai bagian dari sistem sikliknya serta mengandung substituen yang bervariasi

seperti gugus amina, amida, fenol, dan metoksi sehingga alkaloid bersifat semipolar (Dewi *et al.*, 2013). Senyawa terpenoid dapat larut dalam lemak, berada didalam sitoplasma sel tumbuhan, sedangkan senyawa triterpenoid ada yang memiliki struktur siklik berupa alkohol yang menyebabkan senyawa ini cenderung bersifat semipolar (Harbone, 1996; Fitriah *et al.*, 2017).

2. Identifikasi secara kualitatif komponen dalam ekstrak etanol umbi uwi ungu.

Tabel 4: Hasil Uji Skrining Fitokimia dalam Ekstrak Etanol Umbi Uwi.

Komp aktif	Konsentrasi pelarut etanol												Ket
	96 %			80 %			65 %			50%			
	1 hari	2 hari	3 hari	1 hari	2 hari	3 hari	1 hari	2 hari	3 hari	1 hari	2 hari	3 hari	Pereaksi / Warna
Alka loid	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	<i>Dragendro ffl</i>
Tani n	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	++	Merah- Jingga FeCl ₃ / biru tua- hijau kehitaman
Flav anoi d	+++	+++	++	++	++	+++	+++	+	++	+++	++	++	Mg + HCl / Merah, kuning- jingga
Fen ol	+++	++	+++	+++	++	++	+++	++	++	+++	+++	+++	FeCl ₃ / biru tua- hijau kehitaman
Ter pen oid	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	+++	As.Glasial +H ₂ SO ₄ / Merah- keungguan
Sap onin	+	++	++	+	+	+	++	++	++	+	+++	++	HCl 2N/ Terbentuk busa

Keterangan : + (Warna Sedang).

++ (Warna Kuat).

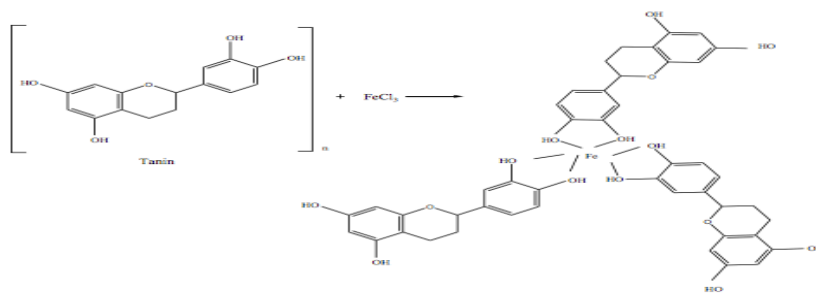
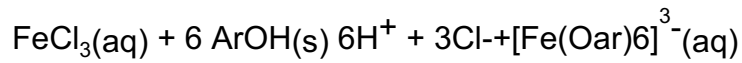
+++ (Warna Sangat kuat).

Identifikasi kualitatif melalui metode skrining fitokimia (uji tabung) dilakukan untuk mendeteksi golongan komponen yang terdapat dalam ekstrak. Pereaksi warna digunakan untuk melihat reaksi warna yang terbentuk dalam metode skrining uji tabung (Padmasari *et al.*, 2013). Uji tabung dengan penggunaan variasi konsentrasi etanol bertujuan untuk mengoptimalkan golongan komponen yang terekstrak dengan pelarut yang berbeda. Hasil penelitian yang ditemukan pada Tabel 4 untuk mengidentifikasi adanya komponen alkaloid, tanin, saponin, fenol, flavanoid, terpenoid. Hasil riset Stehanie *et al.*, (2020) mengemukakan bahwa pada ekstrak etanol uwi mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan steroid atau triterpenoid.

Keberadaan alkaloid terdeteksi warna sangat kuat pada konsentrasi etanol 96% (1 dan 3 hari), 80% (1 dan 2 hari), 65% dan 50% (1 dan 3 hari). Identifikasi tanin terdeteksi sangat kuat pada etanol 96% (1 hingga 3 hari), 80% (2 dan 3 hari), 65% (1 dan 3 hari) dan 50% (1 hari). flavanoid sangat kuat terdapat pada etanol 96% (1 dan 2 hari), 80% (3 hari), 65%(1 hari), serta 50% (1 hari). Kemudian fenol warna sangat kuat pada konsentrasi 96% (1 dan 3 hari), 80% (1 hari), 65% (1 hari), 50% (1-3 hari). Komponen terpenoid diperoleh warna sangat kuat pada etanol 96% (1-3 hari), untuk 80%, 65%, 50% yaitu (2 dan 3 hari). Serta untuk komponen saponin terdeteksi warna sangat kuat pada etanol 50% (1 hari). Hasil yang diperoleh jika dikaitkan dengan nilai kepolaritasan maka etanol 96% dominan dalam mengekstrak zat semipolar seperti tanin, alkaloid dan terpenoid, etanol

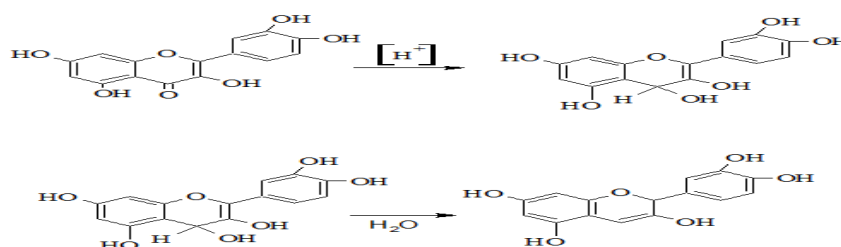
80%, 65% dan 50% dominan terekstrak zat polar dan semipolar diantaranya fenol, saponin, flavanoid. Nilai indeks polaritas etanol yaitu 5,2 (Harborne, 1996; Khalid *et al.*, 2011). Berdasarkan pengamatan nilai indeks polaritas masing-masing pelarut etanol diperoleh etanol 96% sebesar 5,35, etanol 80% sebesar 5,96, etanol 65% sebesar 6,53, dan etanol 50% sebesar 7,1.

Komponen ekstrak etanol umbi uwi berdasarkan hasil pengamatan perubahan warna pada Tabel 4 uji tabung (etanol 96%-50%) ditemukan komponen berupa fenol (warna hijau kehitaman), tanin (warna hijau kehitaman), flavonoid (warna merah kekuningan), alkaloid (warna jingga), terpenoid (merah keunguan) dan saponin (terdapat busa). Perubahan warna hijau-kehitaman pada ekstrak setelah penggunaan pereaksi FeCl_3 , mengidentifikasi adanya kandungan zat fenol dan tanin dalam ekstrak getah. Ion Fe^{3+} yang mengalami hidridasi berperan dalam proses pembentukan warna ekstrak yang diuji dengan penambahan pereaksi FeCl_3 (Marliana *et al.*, 2005). Fenol mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} ditandai dengan warna biru kehitaman (besi (III) hesasianoferat) (Hanani, 2015). Tanin yang bereaksi dengan FeCl_3 menghasilkan warna biru kehitaman (Harbone, 1996).



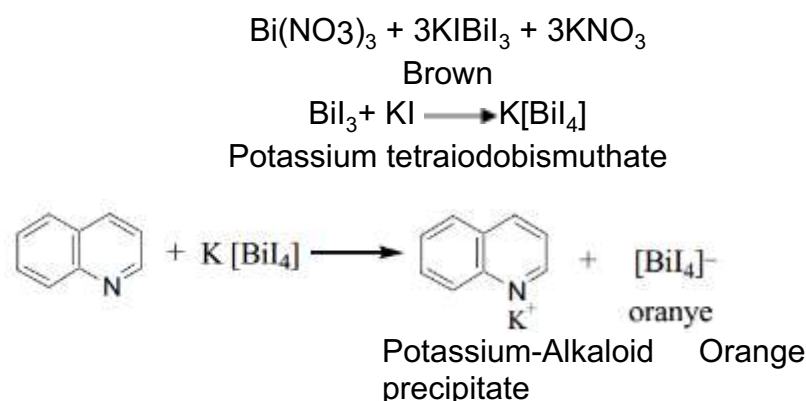
Gambar 20: Reaksi Fenol dan Tanin dengan Penambahan FeCl_3 (Parbuntari, 2018).

Identifikasi flavonoid dengan penambahan asam clorida dan Magnesium dari hasil pengamatan menunjukkan warna kuning hingga jingga. Flavonoid berbentuk warna merah kuning hingga jingga pada saat penambahan HCl dan Mg. Proses pembentukan warna yang terdapat dalam senyawa flavonoid (merah tua-jingga) terjadi karena proses reduksi inti Benzopirin akibat penambahan HCl dan logam Mg (Dian dan Zusfahair, 2016). Reduksi dengan Magnesium dan Asam Klorida pekat memberi warna kuning kemerahan (Robinson, 1995).



Gambar 21: Reaksi Flavonoid dengan Penambahan Pereaksi Mg dan HCl (Parbuntari *et al.*, 2018).

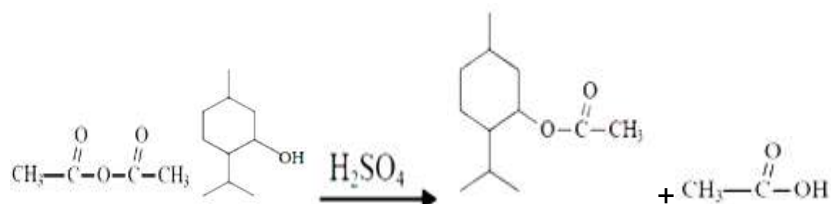
Identifikasi alkaloid dengan penambahan pereaksi *Dragendorff* hasil pengamatan menunjukkan warna coklat, jingga dan merah. Penggunaan pereaksi *Dragendorff* diikuti dengan terbentuknya warna endapan (Kalium-alkaloid) coklat hingga kuning positif adanya alkaloid (Marliana *et al.*, 2005). Alkaloid dengan penambahan pereaksi *Dragendorff*, Nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam (Miroslav, 1971).



Gambar 22 : Reaksi Alkaloid dengan Penambahan Pereaksi *Dragendorff* (Miroslav, 1971).

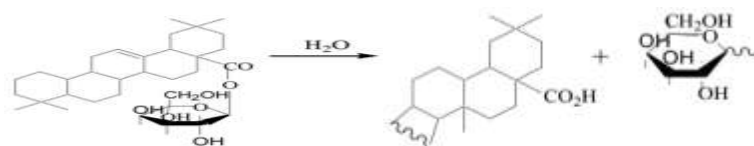
Identifikasi komponen terpenoid dalam ekstrak getah menggunakan pereaksi *Liebermann-Buchard* (Asam Glacial + H_2SO_4) hasil menunjukkan terbentuknya warna ungu maupun merah jingga pada ekstrak. Pereaksi diperoleh dengan penambahan reagen asam asetat dan asam sulfat sehingga menimbulkan warna. Minhatun (2014), memaparkan terjadinya perubahan warna ketika penambahan asam asetat dan asam sulfat berikatan dengan terpenoid. Penggunaan *Liebermann - Buchard* untuk mengidentifikasi komponen terpenoid maupun triterpenoid menyebabkan

perubahan warna ungu, merah, dan jingga, steroid warna biru. Identifikasi terpenoid/triterpenoid setelah penambahan reagen H_2SO_4 terbentuk warna merah bata. Sedangkan untuk identifikasi steroid dengan penambahan reagen melalui dinding tabung reaksi terbentuk warna coklat disertai dengan adanya cincin hijau. Terbentuknya cincin ungu yang menunjukkan adanya kandungan terpenoid. Golongan triterpenoid/ steroid akan mengalami dehidrasi dengan penambahan asam kuat dan membentuk garam yang memberikan sejumlah reaksi warna (Mukhlis, 2010).



Gambar 23: Reaksi Identifikasi Terpenoid (Parbuntari, 2018).

Identifikasi saponin dalam ekstrak ditandai dengan terbentuknya buih / busa pada saat penambahan HCl 2N. Pembentukan buih terjadinya akibat gugus hidrofil berikatan dengan air, gugus hidrofobik berikatan dengan udara. Buih dapat terbentuk karena glikosida dalam air membentuk busa dan glukosa yang terhidrolisis (Dian dan Zufahair, 2016).



1-Arabinopiriosyl- 3 asetyl oleanoleic Aglycone Glucose

Gambar 24: Reaksi Hidrolisis Saponin (Rusdi, 1990).

3. Identifikasi komponen ekstrak etanol umbi uwi berdasarkan nilai Rf (retension faktor) pada plat KLT.

Tabel 5: Hasil Perhitungan Rf Identifikasi komponen Alkaloid pada Ekstrak Etanol Umbi Uwi.

Alkaloid							
Konsentrasi ekstrak etanol	Hari	UV 256		Rf	UV 365		Keterangan
		Rf	Visual warna		Visual	Warna	
96 %	1	-	-	-	-		
	2	-	-	-	-		
	3	0,78	Kuning-orange				Baku pembanding Quinin UV 256
80 %	1	-	-	0,81	-		
	2	0,78	Kuning-orange	-	-		(4,3 Rf 0,78)
	3	0,78	Kuning-orange	0,81			
65 %	1	-	-	0,81	-		
	2	0,78	Kuning-orange	0,81	-		Baku pembanding Quinin UV 365
	3	0,78	Kuning-orange	-	-		
50 %	1	-	-	0,81	-		(4,5 Rf 0,81)
	2	-	-	-	-		
	3	0,78	Kuning-orange	0,81			

Tabel 6: Hasil Perhitungan Rf Identifikasi komponen Tanin pada Ekstrak Etanol Umbi Uwi.

Tanin				
Konsentrasi ekstrak etanol	Hari	Rf	Visual Warna	Keterangan
96 %	1	0,71	Hitam	
	2	0,71	Hitam	
	3	0,71	Hitam	
80 %	1	-	-	Baku
	2	-	-	pembandingan
	3	0,71	Hitam	Asam tannat
65 %	1	0,71	Hitam	(3,9 Rf 0,71)
	2	0,71	Hitam	
	3	0,71	Hitam	
50 %	1	0,71	Hitam	
	2	-	-	
	3	-	-	

Tabel 7: Hasil Perhitungan Rf Identifikasi komponen Flavanoid pada Ekstrak Etanol Umbi Uwi.

Flavanoid						
Konsentrasi ekstrak etanol	Hari	UV 256		UV 365		Keterangan
		Rf	Visual warna	Rf	Visual warna	
96 %	1	0,96	Kuning	0,96	Kuning	
	2	0,96	Kuning	0,96	Kuning	Baku
	3	-	-	0,96	Kuning	pembandingan
80 %	1	-	-	-	-	kuersetin
	2	-	-	-	-	
	3	-	-	-	-	(5,3 Rf
65 %	1	-	-	0,96	Kuning	0,96)
	2	-	-	-	-	
	3	-	-	-	-	
50 %	1	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	
	3	-	-	-	-	

Tabel 8: Hasil Perhitungan Rf Identifikasi komponen Fenolik pada Ekstrak Etanol Umbi Uwi.

Konsentrasi ekstrak etanol	Hari	Fenol		Keterangan
		Rf	Visual Warna	
96 %	1	0,76	Hitam	(4,2 Rf 0,76)
	2	0,76	Hitam	
	3	0,76	Hitam	
80 %	1	-	-	
	2	0,76	-	
	3	0,76	Hitam	
65 %	1	0,76	Hitam	
	2	0,76	Hitam	
	3	0,76	Hitam	
50 %	1	-	-	
	2	-	-	
	3	-	-	

Tabel 9 : Hasil Perhitungan Rf Identifikasi komponen saponin dan terpenoid pada Ekstrak Etanol Umbi Uwi.

Konsentrasi ekstrak etanol	Hari	Saponin		Terpenoid		keterangan
		Rf	Visual warna	Rf	Visual warna	
96%	1	-	-	0,63	Merah keunguan	Baku pembandingan sapogenin (1 Rf 0,2)
	2	-	-	0,27	Merah keunguan	
	3	-	-	0,50	Merah keunguan	
80%	1	-	-	0,27	merah keunguan	
	2	0,87	Biru keunguaan	0,50	Merah keunguan	
	3	0,87	Biru keunguaan	0,50	Merah keunguan	
65%	1	-	-	0,50	Merah keunguan	
	2	-	-			
	3	-	-			
50%	1	-	-	0,50	Merah keunguan	
	2	-	-			
	3	-	-			

Analisis KLT dilakukan dengan menotolkan ekstrak etanol pada plat KLT yang dilusikan dengan fase gerak butanol : asam glacial : aquadest (4: 0,5 : 1). Hasil analisa komponen alkaloid pada Tabel 5 menggunakan reagen *dragendorff* pada penampakan dibawah UV 256 nm diperoleh nilai Rf 0,78 pada sampel 96% (3 hari), 80% (2 dan 3 hari), 65% (2 dan 3 hari), 50% (3 hari). Dan penampakan dibawah UV 365 nm diperoleh nilai Rf 0,81 pada sampel 80% (1 hari), 65% (2 hari), 50% (1 dan 3 hari). Penampakan bercak noda yang timbul setelah penyemprotan *dragendorff* yaitu warna kuning keorangean-jingga. Penggunaan reagen *dragendorff* untuk identifikasi zat alkaloid pada ekstrak daun srikaya (*Annona Squamosa* L) setelah penyemprotan terbentuk warna jingga (Isti *et al.*, 2018). Ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L) setelah penyemprotan *dragendorff* timbul bercak berwarna jingga (Adeane *et al.*, 2018).

Identifikasi komponen tanin dan fenol pada Tabel 6 dan Tabel 8 dengan penyemprotan reagen FeCl_3 pada plat KLT yang telah dilusi menunjukkan beberapa titik noda berwarna hitam baik setelah penyemprotan FeCl_3 maupun setelah pemanasan lempeng KLT, dengan nilai Rf tanin yaitu 0,71 teridentifikasi dalam ekstrak 96% (1-3 hari), ekstrak 80% (3 hari), 65% (1-3 hari), 50% (1 hari) masing-masing Rf 0,71, 0.89. Kemudian titik noda nampak pada plat KLT identifikasi fenolik nilai Rf yaitu 0,76 dalam ekstrak etanol 96% (1-3 hari), 80% (2- 3hari, 65% (1-3 hari). Reagen FeCl_3 merupakan pereaksi khas untuk deteksi senyawa fenolik dan tanin. Tanin dan fenol ditunjukkan dari adanya perubahan warna setelah

penambahan FeCl_3 yang dapat bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil pada senyawa tanin. Penambahan FeCl_3 menghasilkan warna hijau kehitaman yang menunjukkan adanya tanin terkondensasi. Perubahan bercak warna menjadi hitam atau kebiruan setelah pemanasan hal tersebut menunjukkan bahwa hasil positif mengandung zat tanin maupun fenol. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna bercak menjadi biru atau hitam kuat setelah pemanasan (Harborne, 1996). Penggunaan reagen FeCl_3 dapat mendeteksi senyawa fenolik dan zat tanin yang ditandai terjadinya perubahan warna hijau hingga biru kehitaman (Alam *et al.*, 2012).

Identifikasi komponen flavonoid pada Tabel 7 menggunakan reagen sitoborat pada plat KLT, hasil pengamatan menunjukkan penampakan pada UV 256 nm terdapat beberapa titik yang berpendar hijau nilai R_f yaitu 0,96 pada ekstrak 96% (1-2 hari). Penampakan pada UV 365 nm diperoleh nilai R_f 0,96 pada ekstrak 96% (1-3 hari), ekstrak 65% (1 hari). Setelah penyemprotan plat KLT dengan reagen sitoborat nampak beberapa titik berwarna kuning. Flavonoid dapat dideteksi dengan pereaksi sitoborat, terbentuk perubahan warna kuning kehijauan pada pengamatan UV 366/365 nm (Alam *et al.*, 2012). Penambahan sitoborat dalam mendeteksi keberadaan flavanoid akan menunjukkan perubahan warna kuning hingga jingga setelah penyemprotan (Djoko dan Perdana, 2015). Flavonoid dan tanin merupakan bagian dari senyawa fenolik. Flavonoid yang memiliki gugus hidroksi yang akan memberikan fluoresensi kuning intensif pada UV 366, jika bereaksi dengan asam borat. Flavonoid mempunyai tipe yang

beragam dan terdapat dalam bentuk bebas (aglikon) maupun terikat sebagai glikosida. Aglikon polimetoksi bersifat non polar, aglikon polihidroksi bersifat semi polar, sedangkan glikosida flavonoid bersifat polar karena mengandung sejumlah gugus hidroksil dan gula (Harbone, 1996)

Identifikasi saponin dan terpenoid pada Tabel 9 menggunakan reagen vanillin asam sulfat, hasil yang diperoleh pada plat KLT yang telah dielusi menunjukkan beberapa bercak noda ungu, biru, ungu-kemerahan baik setelah penyemprotan vanillin maupun setelah pemanasan. Nilai Rf 0,87 pada ekstrak 80% (2-3 hari) terbentuk warna biru keunguan. Nilai Rf 0,63 pada ekstrak 96% (1 hari), nilai Rf 0,27 96% (2 hari) dan 80% (1 hari). Kemudian nilai Rf 0,50 pada ekstrak 96% 3 (hari) 80% (2-3 hari) 65% (2 hari) 50% (2-3 hari). Berdasarkan hasil pengamatan setelah penyemprotan dan pemanasan reagen Vanillin Asam Sulfat terjadi perubahan warna dalam ekstrak getah yaitu ungu, ungu kemerahan, merah keunguan dan biru. Perubahan warna ungu pada bercak setelah penggunaan pereaksi vanillin asam sulfat mengidentifikasi adanya komponen triterpenoid, steroid, dan minyak atsiri (Wagner, 1996). Perubahan warna setelah pemanasan dan penyemprotan menjadi ungu menunjukkan hasil yang positif adanya zat golongan triterpenoid (Yohannes, 2017). Identifikasi terpenoid pada ekstrak daun sudamala (*Artemisia vulgaris* L) setelah penyemprotan dengan pereaksi vanilin asam sulfat terbentuk noda berwarna ungu (Arundina *et al.*, 2015).

Perbandingan hasil identifikasi komponen melalui skrining dan identifikasi melalui metode KLT, diperoleh nilai Rf yang sama dengan baku pembanding positif mengandung alkaloid hanya pada sampel etanol 96% (3 hari), 80% dan 65% (2 hari dan 3 hari), 50% (1 hari dan 3 hari). Sedangkan pada uji skrining semua sampel ekstrak terjadi perubahan warna yang dikategorikan sebagai komponen alkaloid. Hasil penegasan uji KLT identifikasi komponen tanin diperoleh nilai Rf sejajar sama baku pembanding pada sampel etanol 96%, 65% (1-3 hari), pada sampel 80% (3 hari), 50%(1 hari) dan fenol diperoleh positif pada sampel 96%, 65% (1-3 hari), 80% (2-3 hari). Sementara hasil uji skrining terhadap semua sampel ekstrak positif mengandung tanin dan fenol yang ditandai dengan terjadi perubahan warna hitam atau hitam kebiruan. Selanjutnya uji KLT zat flavanoid terdeteksi hanya pada sampel 96% (1-3 hari), 65% (1 hari). Kemudian uji penegasan untuk saponin dan terpenoid melalui KLT diperoleh nilai Rf yang tidak sejajar (negatif) dengan baku standar yang digunakan. Sedangkan berdasarkan hasil uji skrining semua sampel teridentifikasi adanya zat saponin dan terpenoid. Perbedaan hasil identifikasi komponen yang diperoleh dapat diakibatkan karena penggunaan eluen yang kurang tepat dalam pemisahan komponen sehingga nilai Rf baku pembanding dan Rf pada sampel berbeda.

E. Kesimpulan

Waktu maserasi mempengaruhi total rendemen, semakin lama waktu maserasi total rendemen yang diperoleh semakin besar, maserasi 3 hari dengan konsentrasi pelarut 96% berdasarkan uji BNJ interaksi (variasi konsentrasi pelarut dan waktu maserasi) memberikan hasil rendemen yang tertinggi 62,03% dan interaksi faktor tunggal (variasi konsentrasi pelarut) diperoleh 39,01%. Identifikasi komponen melalui skrining fitokimia diperoleh positif berupa fenolik, tanin, flavonoid, alkaloid, terpenoid dan saponin pada semua sampel etanol. Berdasarkan identifikasi yang telah dilakukan ekstrak etanol umbi uwi mengandung senyawa metabolik sekunder yang berpotensi untuk dapat dikembangkan sebagai zat antimikroba.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeanne, W. C., Schadu, J., & Andriani, W. N. 2018. Identifikasi Alkaloid Pada Daun Sirsak (*Annona Mucriata* L). *Jurnal Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes*.
- Alam, G., Mufidah, Massi, N., RT, F.M., Rahim, A dan Usmar 2012. Skrining Komponen Kimia Dan Uji Aktivitas Mukolitik Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber Purpureum Roxb*) Terhadap Mukosa Usus Sapi Secara In Vitro, *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, **16**(3), 123-126.
- Arumtika T, Harijono 2019. Pengaruh Pengeringan dan lama Maserasi dengan Pelaru ganda Etanol dan Heksana Terhadap senyawa Bioaktif Kulit Buah Palembang Putri (*Veitchia merillii*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol.7 No.1: 17-28.
- Babu V, Ameer K, Chirom A, Marimuthu R, R, Paul A 2017. ' in vitro assessment on medicinal properties and chemical composition of *Michelia nilagirica* bark *Asian Pac J Trop Biomed* **7**(9): 782–790 <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.08.003>
- Banu, R. H., Nagarajan, N. 2014. TLC and HPTLC finger printing of leaf extracts of *Wedelia chinensis* (Osbeck) Merrill, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, **2**(6), 29-33
- Barbieri, R. *et al.* 2017 'Phytochemicals for human disease: An update on plant-derived compounds antibacterial activity', *Microbiological Research*. Elsevier GmbH., 196, pp. 44–68. <http://dx.doi:10.1016/j.micres.2016.12.003>.
- Bardakci, H., E. Celep, T. Gözet, Y. Kan, H. Kırmızıbekmez. 2019 'Phytochemical characterization and antioxidant activities of the fruit extracts of several *Crataegus* taxa', *South African Journal of Botany*, **124**, pp. 5–13. doi: 10.1016/j.sajb.2019.04.012.
- Benzidia, B. *et al.* 2018. 'Chemical composition and antioxidant activity of tannins extract from green rind of *Aloe vera* (L.) *Burm. F.*', *Journal of King Saud University - Science*. The Authors. doi: 10.1016/j.jksus.2018.05.022.
- Dewi, I.D.A.D.Y., Astuti, K.W., Warditiani, N.K. 2013. ' Phytochemical screening of 95% ethanol extract of mangosteen rind (*Garcinia mangostana* L.), *Journal of Pharmacy Udayana*.
- Estiasih T, Widya.D.R.P, Elok.W. 2017. *Umbi-Umbian dan Pengolahannya*.UB Press. Malang.
- Fang Z, D Wu, Yü D, Ye X, Liu D, and Chen J. 2011. Phenolic compounds in Chinese purple yam and changes during vacuum frying, *Food Chemistry* **128**: 943–948.
- Febrilliant D S, Hakun W A, Arief W, Setiyo G. 2017. Identification of phytochemical compounds in *Calophyllum inophyllum* leaves. *Asian Pac J Trop Biomed* **7**(9): 773–781 <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.08.001>.
- Fitriah, Mappiratu, Prismawiryanti. 2017. Antibacterial Activity Test of Johar

- Plant Leaf Extract (*Cassia siamea* Lamk.) Using Several Levels of Solvent Polarity. *J. chemical research.* **3** (3), pp 242-251 e-ISSN: 2477-5398.
- Harbone, J. B. 1996. *Phytochemical methods guide the modern way of analyzing plants.* Matter II, Translated by K. Padawinata and I. Soediro. Bandung: ITB.
- Isti D.J, Portuna P.k, Khemasili K. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri dan Analisa bioautografi kromatografi Lapis Tipis Ekstrak etanol daun Srikaya (*Annona Squamosa L*) terhadap *Enterococcus Faecalis* secara in vitro. *Jurnal Odonto dental.* **5**:2.
- Jenny R . Sihombing, *et al.* 2015. Phytochemical screening and antioxidant activities of 31 fruit peel extract from Sumatra, Indonesia. *Chem. Pharm. Res.* **7**(11):190-196.
- Khaerati K. Delina A.2020. Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Air-Etanol, n-Heksan, dan Etil Asetat Uwi Banggai (*Dioscorea alata L.*) Dengan Metode Induksi Aloksan Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal Farmasi Galenika* **6** (2): 243 – 252 ISSN: 2442-8744 (electronic); 2442-7284
- Khalid H.M., Aminah A., Khairiah J., Vimala S. 2011. Antioxidant Activity of Pink-Flesh Guava (*Psidium guajava L.*): Effect of Extraction Techniques and Solvents *Journal Food Anal. Methods* **4**:100–107 DOI 10.1007/s12161-010-9139-3.
- Kokate, C.K., Purohit, A.P. & Gokhale, S.B. 2001. *Pharmacognosy.* Nirali Prakashan, Maharashtra.
- Kurniati, N. F., Garmana, A. N. and Aziz, N. 2018. ‘Antibacterial and Antifungal Activity of Ethanol Extracts of Roots, Flowers and Turi Leaves (*Sesbania Grandiflora L. Poir*)’, *Acta Pharmaceutica Indonesia*, **42**(1), pp. 1–8.
- Kurniawati I, Maftuch, Anik M. H. 2016. Penentuan Pelarut dan Lama Ekstraksi Terbaik pada Teknik Maserasi (*Gracilaria sp.*). *Jurnal Ilmu Perikanan.* **7** (3). ISSN : 2086-3861.
- Kumar S, Mahanti P, Rath S.K, Patra J.K. 2017. Qualitative Phytochemical Analysis and Antibacterial Activity of (*Dioscorea alata L.*): A Nutraceutical Tuber Crops of Rural Odisha. *Journal Alt Med Res* **3**(1): 122.
- Li PH, Huang CC, Yang MY, and Wang CCR. 2011. Textural and sensory properties of salted noodles containing purple yam our. *Food Research International:* 1-6.
- Lumempouwa L.I., E. Suryantoa, J.J.E. Paendonga. 2012. Anti UV-B activity of phenolic extracts from corn cobs (*Zea mays L.*). " *J. Unstrat of mipa online*, **1**(1), pp.1-4.
- Markham, K.R. 1982. *How to Identify Flavonoids* (Bandung : Institute of Technology).
- Minhatun N., Tukiran, Suyatno, dan Nurul H. 2014. Phytochemical Screening Tests on Hexane, Chloroform and Methanol Extracts from the Patikan Kebo Plant (*Euphorbiaehirtae*). *Proceedings of the*

- National Chemistry Seminar*, ISBN:978-602-0951-00-3. B-279 - B-286.
- Miroslav, V. 1971. *Detection and Identification of Organic Compound*. New York: Planum Publishing Corporation and SNTC Publishers of Technical Literatur.
- Ningsih, D.R., Zufahair., Dwi, Kartika. 2016. Identification of Secondary Metabolites and Soursop Leaf Extract Activity Test as Antibacterial, *Journal of Molecules*. Vol. **11**. No. 1. (101 – 111).
- Okiqbo R.N, Opara P. U. Anuagasi C. L. 2015. Efficacy of extracts of water yam (*Dioscorea alata*) and aerial yam (*Dioscorea bulbifera*) peels in the control of white yam (*Dioscorea rotundata*) rot. *Journal of Agricultural Technology*. **11** (8): 1823-1842 ISSN 1686-9141.
- Ranjan Kumar, et al. 2014. 'Study of Antioxidant and Antimicrobial Properties, Phytochemical screening and analysis of Sap Extracted from Banana (*Musa acuminata*) pseudostem', *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, pp. 976–2612.
- Robinson T. 1995. High organic plant content. Bandung ITB.
- Rusdi. 1990. *Herbs as a source of medicinal ingredients*. Padang: Andalas University Research Center.
- Sihombing, J. R. et al. 2015. 'Phytochemical screening and antioxidant activities of 31 fruit peel extract from Sumatera, Indonesia', *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, **7**(11), pp. 190–196.
- Susanto, D. F. , Hakun W A, Arief W, Setiyo G. 2017. 'Identification of phytochemical compounds in Calophyllum inophyllum leaves', *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. Elsevier B.V., **7**(9), pp. 773–781. doi: 10.1016/j.apjtb.2017.08.001.
- Stephanie.C.S., Khildah K, Ihwan. 2020. Toksisitas Akut dan Lethal Dosis (LD50) Ekstrak Etanol Uwi Banggai Ungu (*Dioscorea alata* L.) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Ilmiah Medicamento* **6**(1), 10-14
- Venkatadri, B. et al. 2017. 'In vitro assessment on medicinal properties and chemical composition of Michelia nilagirica bark', *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. Elsevier B.V., **7**(9), pp. 782–790. doi: 10.1016/j.apjtb.2017.08.003.
- Wagner, H., and Bladt, S. 1996. *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*. Springer Science & Business Medi.
- Yusuf, M. Fifi A, Nur F,U,A. 2016. 'Formulation of Baruasa Glukomanan-Rich Based of Purple Yam (*Dioscorea alata* L.)', *Journal Galung Tropical*, **5**(2), pp. 97–108.
- Yohannes A, Fitria L A , and Yori Y .2017. Thin layer chromatography (TLC) analysis and antihyperuricemic activity of bamboo shoots extract (*Schizostachyum brachycladum* Kurz (Kurz) in male white mice) . *Journal of Pharmaceutical & Clinical Science*, **3**(2), 146-152

BAB V

KOMPONEN AKTIF DALAM EKSTRAK ETANOL UMBI UWI (*Dioscorea alata* L) MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI (*E. coli* dan *S. aureus*)

A. Abstrak

Identifikasi komponen metabolit sekunder ekstrak etanol umbi uwi, dari hasil penelitian awal menemukan adanya komponen saponin, tanin, flavonoid, fenolik, alkaloid, dan terpenoid. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengukur diameter zona hambat terbentuk akibat paparan aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol umbi uwi terhadap pertumbuhan bakteri. Serta menganalisa kerusakan sel bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Metode zona hambat bakteri menggunakan difusi agar, dengan pengujian terhadap 8 konsentrasi ekstrak etanol umbi uwi (1-25)%b/v. Penggunaan kontrol positif berupa tetrasiklin. Hasil penelitian menunjukkan daya hambat terkecil dari ekstrak etanol umbi uwi yaitu pada konsentrasi 1%, dimana konsentrasi tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* (zona hambat 8,62 mm). Dan menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif *Escherichia coli* (zona hambat 9,30 mm). Sedangkan untuk konsentrasi ekstrak etanol umbi uwi terbesar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* yaitu sebesar 25% (21,77 mm, 13.35 mm). Konsentrasi ekstrak etanol umbi uwi 1% efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (*S. aureus*) dan Gram negatif (*Escherichia coli*). Ekstrak etanol umbi uwi ini memiliki aktivitas zona hambat lebih besar pada bakteri Gram positif dari pada bakteri Gram negatif.

Active compounds of ethanol extract yam (*Dioscorea alata* L) in inhibition of bacterial growth (*E.coli* and *S.aureus*)

Abstract

Yam extract has secondary metabolic components that can act as antibacterials. Secondary metabolic compounds from the initial research results are saponins, tannins, flavonoids, phenols, alkaloids, and terpenoids. The study aimed to measure the diameter of the inhibition zone formed due to exposure to the antibacterial activity of the yam extract against bacterial growth and to analyze cell damage of *S.aureus* and *E.coli* bacteria. The method inhibition zone using agar diffusion, was carried out by testing 8 variations of extract concentration (1-25)%b/v with tetracycline positive control. The results showed that the minimum inhibitory of yam

extract with a concentration of 1% inhibited the growth of Gram-positive *S. aureus* bacteria with inhibition zone 8,62 mm. Meanwhile, the inhibition zone for Gram-negative *E. coli* bacteria's growth forms a minimum inhibition zone of 9,30 mm. The maximum extract concentration in inhibiting *S. aureus* and *E. coli* bacteria's growth is 025% (21,77 mm, 13,35 mm). Yam extract 96 % maceration for three days with an extract concentration of 1% effective in inhibiting the growth of Gram-positive (*S. aureus*) and Gram-negative (*E. coli*) bacteria.

B. Pendahuluan

Umbi uwi mengandung komponen metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antimikroba. Penelitian tahap pertama telah mengidentifikasi komponen dalam ekstrak etanol umbi uwi berupa alkaloid, tanin, fenolik, flavanoid, saponin, dan terpenoid. Beberapa penelitian terkait pada bagian umbi uwi diidentifikasi menunjukkan adanya flavanoid, fenolik, terpenoid, tanin, saponin, alkaloid, golongan polisakarida, asam organik (Adeosun *et al.*, 2016, Eleazu *et al.*, 2016). Komponen metabolik sekunder yang terdapat pada tumbuhan berupa alkaloid, terpenoid, tanin, fenolik (Guil, 2016). Tanaman yang mengandung saponin, fenol, flavanoid, tannin, alkaloid, terpenoid, seskuiterpen, ester phorbol, glikoalkaloids, dan laktone bersifat sebagai agen antimikroba (Lewis dan Ausubel, 2006; Tajkarimi *et al.*, 2010). Pada bagian-bagian tanaman/tumbuhan yang memiliki komponen metabolit sekunder berpotensi sebagai antimikroba (Bajpai *et al.*, 2008; Tajkarimi *et al.*, 2010; Tiwari *et al.*, 2009). Antibakteri merupakan senyawa yang digunakan untuk menghambat bakteri, yang terdapat dalam suatu organisme sebagai metabolit sekunder. Mekanisme senyawa antibakteri secara umum dilakukan dengan cara merusak dinding sel, mengubah permeabilitas membran, mengganggu sintesis protein, dan menghambat kerja enzim (Pelczar dan Chan, 2008). Senyawa yang berperan dalam merusak dinding sel antara lain fenol, flavonoid, dan alkaloid. Senyawa fitokimia tersebut berpotensi sebagai antibakteri alami pada bakteri patogen, contohnya terhadap bakteri

Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli*. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi. Menurut Kusuma (2010), *Escherichia coli* merupakan bakteri yang bersifat patogen, menyebabkan gangguan pencernaan pada manusia serta mengganggu sistem kerja dari organ lambung.

Berdasarkan kajian dari kandungan komponen yang terdapat umbi uwi diasumsikan bahwa komponen tersebut efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada bakteri Gram positif dan Gram negatif. Sehingga tujuan dari penelitian ini untuk mengukur diameter zona hambat yang terbentuk akibat paparan aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol umbi uwi terhadap pertumbuhan bakteri dan menganalisa kerusakan sel bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

C. Metode Penelitian

Rancangan penelitian

Rancangan penelitian pada tahapan ini menggunakan delapan variasi konsentrasi ekstrak etanol umbi uwi. Analisis data dilakukan dengan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial, untuk mengetahui apakah ada perbedaan atau pengaruh pada setiap perlakuan diameter zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, kemudian jika terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji BNJ/tukey dengan taraf nyata ($p < 0.05$).

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu alat gelas, timbangan, lampu spiritus (bunsen), micropipet, autoclave, laminar flow, oven, inkubator, mikroskop, botol vial, pinset.

Bahan yang digunakan bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, media Mueller hinton agar (MHA), paper disk, akuades, dimethylsulfoxide (DMSO), tetrasiklin, kapas, glutaraldehyde 2%, buffer phosphate pH 7,4, amyl acetate absolut.

Prosedur Penelitian

Pengujian aktivitas antimikroba *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Pengujian aktivitas antimikroba menggunakan metode difusi agar (Salie *et al.*, 1996; Ncube *et al.*, 2008) yang bertujuan untuk mengetahui sensitivitas mikroba uji terhadap zat antimikroba. Isolat bakteri yang digunakan berupa *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Sebanyak 1 jarum ose suspensi bakteri digoreskan kedalam media Mualler Hinton agar (MHA) secara steril dalam laminar flow. Kemudian masing-masing ekstrak etanol umbi uwi (1-25)%b/v yang diperoleh dengan menimbang sampel sebanyak 0,01 g- 0,25 g yang dilarutkan kedalam 1 ml *dimethyl sulfoxide* (DMSO) 1% diresapkan kedalam paper disk. Selanjutnya paper disk dimasukkan kedalam cawan petri yang telah dioleskan isolat bakteri. Kontrol positif yang digunakan *dimethyl sulfoxide* (DMSO) dan kontrol negatif berupa tetrasiklin. Cawan petri yang telah berisi ekstrak dan masing-masing bakteri diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 18-24 jam.

Setelah 24 jam dilakukan pengamatan zona bening yang terbentuk disekitar media menggunakan jangka sorong.

Pengujian daya hambat terkecil dilakukan dengan membuat 1% ekstrak etanol umbi uwi yang dilarutkan 1 ml dengan DMSO 1%. Paper disk diresepkan kedalam ekstrak. Kemudian 1 jarum ose suspensi bakteri digoreskan kedalam media Mualler Hilton agar secara steril dalam laminar flow. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah 24 jam dilakukan pengamatan zona bening yang terbentuk disekitar media menggunakan jangka sorong.

Pengamatan kerusakan sel mikroba dengan *scanning electron microskopis* (SEM). (Nisdian dkk., 2012).

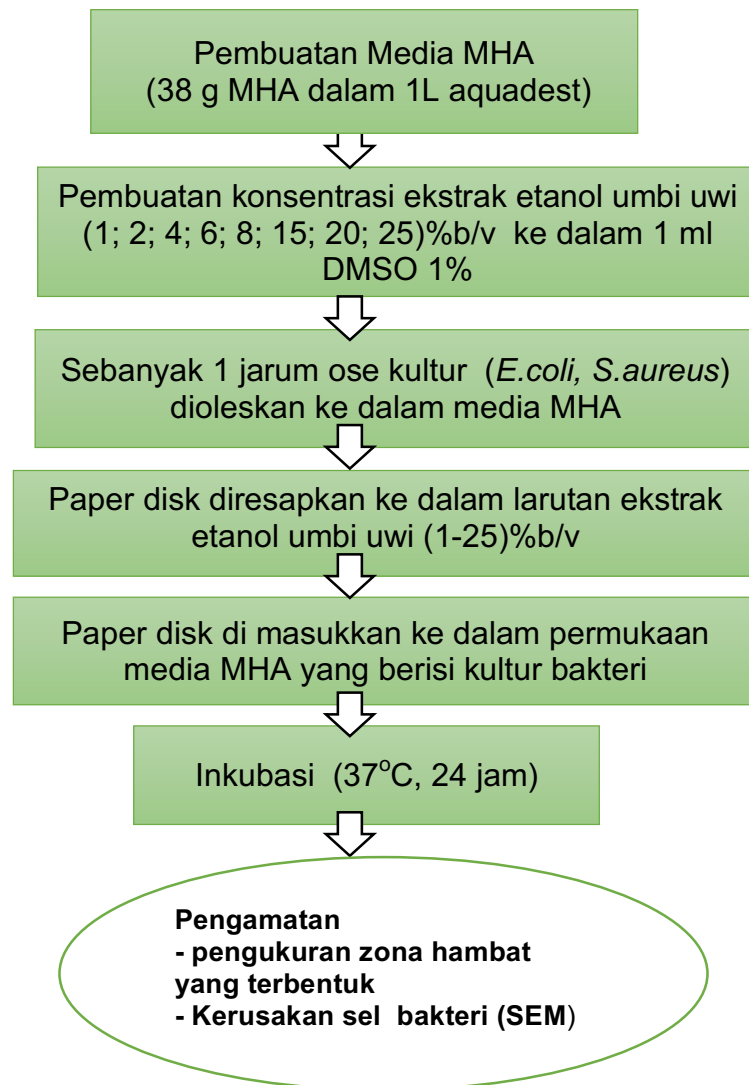
Preparasi Sampel Mikroba.

Suspensi sel murni bakteri yang telah diberi perlakuan ekstrak etanol umbi uwi (sampel maserasi 3 hari) yaitu jenis *Escherichia coli* (sampel 96%) dan *Stapylococcus aureus* (sampel 50%) dimasukkan ke dalam larutan fiksasi *glutaraldehyde* 2% selama 2-3 jam suhu 4°C, kemudian di sentrifus dengan kecepatan rendah selama 15 detik. Dicuci dengan larutan *buffer phosphate* pH 7,4 selama 3 kali masing-masing selama 5 detik pada suhu 4°C, kemudian disentrifus dengan kecepatan rendah selama 15 detik. Post fiksasi dengan larutan osmium tetraoxida 1% selama 1-2 jam suhu 4°C, disentrifus dengan kecepatan rendah selama 15 detik. Dicuci dengan larutan *buffer phosphate* pH 7,4 selama 3 kali masing-masing selama 5 detik pada suhu 4°C, kemudian disentrifus dengan kecepatan rendah selama 15 detik. Dehidrasi dengan etanol bertingkat: 30%, 50%, 70%,

masing-masing selama 15-20 menit pada suhu 4°C, kemudian disentrifus dengan kecepatan rendah selama 15 detik. Dilanjutkan dehidrasi 15-20 menit suhu ruangan, kemudian disentrifus dengan kecepatan rendah selama 15 detik. Diganti dengan *amyl acetate absolut*. Bakteri yang akan dikeringkan dipipet dan diteteskan pada object glass dengan luas 16 mm² yang sudah dibersihkan dengan alkohol.

Pengamatan *scanning electron mikroskopis* SEM.

Bakteri yang telah dikeringkan dilakukan penempelan pada *stub* (*holder*) dengan menggunakan lem khusus. Pelapisan dengan alat vakum evaporator dan bahan pelapisnya adalah emas murni atau karbon, sampel diamati dan dipotret pada SEM (*scanning electron microscope*).



Gambar 25: Diagram Alir Pengukuran Zona Hambat Bakteri

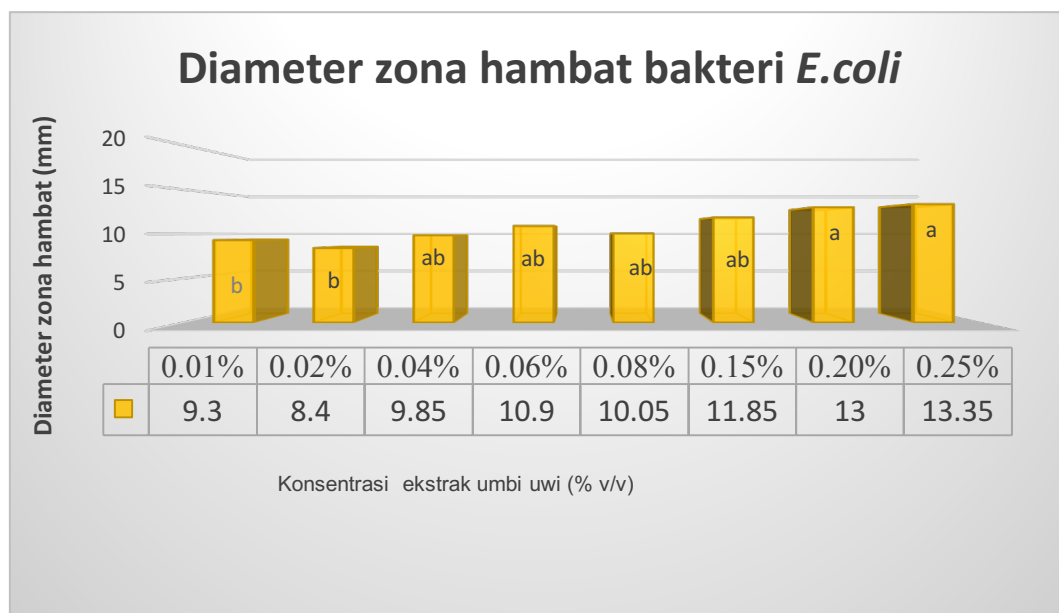
Parameter Pangamatan

Parameter pengamatan dalam penelitian ini yaitu analisa diameter zona hambat pada bakteri *Escherichia coli* dan *Stapylococcus aureus*, kemudian pengukuran zona hambat terkecil, pengamatan kerusakan struktur sel bakteri *Escherichia coli* dan *Stapylococcus aureus*.

D. Hasil dan Pembahasan

1. Aktivitas antimikroba bakteri Gram Negatif *Escherichia coli*.

Hasil penelitian pengukuran zona hambat aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Stapylococcus aureus* yang memiliki total rendemen yang tertinggi (sampel 96% dengan perlakuan maserasi 3 hari).

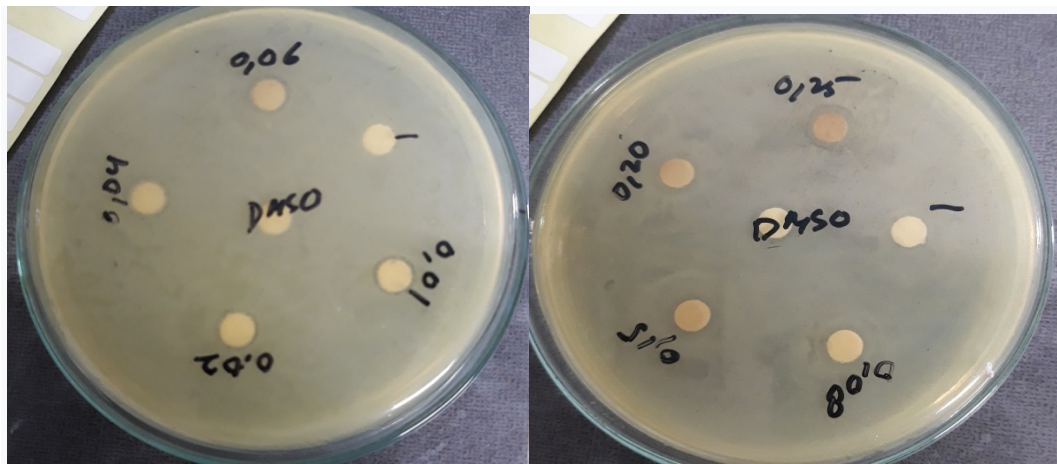


Gambar 26: Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat (mm) Terhadap Aktivitas Bakteri *Escherichia coli* (-) dengan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Umbi Uwi Ungu.

Diameter zona hambat pada bakteri *Escherichia coli* dengan variasi konsentrasi ekstrak etanol pada Gambar 26 berdasarkan hasil uji Tukey α 0,05 menunjukkan bahwa rata-rata zona hambat tertinggi dihasilkan pada sampel ekstrak etanol 96% dengan konsentrasi 25%, berbeda nyata dengan sampel ekstrak konsentrasi 2% dan konsentrasi konsentrasi 1%, tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan pada konsentrasi 4%, konsentrasi 6%, konsentrasi 8%, konsentrasi 15% dan konsentrasi 20%.

Perlakuan bakteri *Escherichia coli* sampel ekstrak etanol 96% dengan konsentrasi 2% menghasilkan zona hambat terendah.

Pengaruh konsentrasi untuk pembentukan zona hambat didasarkan pada diameter yang terbentuk, dimana semakin besar konsentrasi ekstrak umbi yang digunakan maka diameter zona hambat yang terbentuk juga akan semakin besar. Pada konsentrasi ekstrak etanol umbi uwi 1% terbentuk diameter 9,3 mm, sedangkan ekstrak 25% sebesar 13,35 mm. Hal ini disebabkan karena semakin besar konsentrasi yang diberikan maka jumlah komponen metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak juga akan semakin banyak. Hal ini juga didukung oleh Amrie *et al.*, (2014), yang menyatakan bahwa konsentrasi bahan yang tinggi akan menghasilkan daya hambat antimikroba yang semakin tinggi. Perbedaan besarnya daerah hambatan ini disebabkan oleh adanya komponen zat aktif yang terkandung pada ekstrak umbi uwi. Besaran konsentrasi zat aktif pada fraksi organik akan mempengaruhi kecepatan difusi bahan antimikroba ke dalam medium tempat mikroba tumbuh untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroba tersebut. Selain itu kemampuan menghambat pertumbuhan mikroba juga dipengaruhi oleh kepekaan pertumbuhan mikroba terhadap konsentrasi antimikroba yang diberikan.



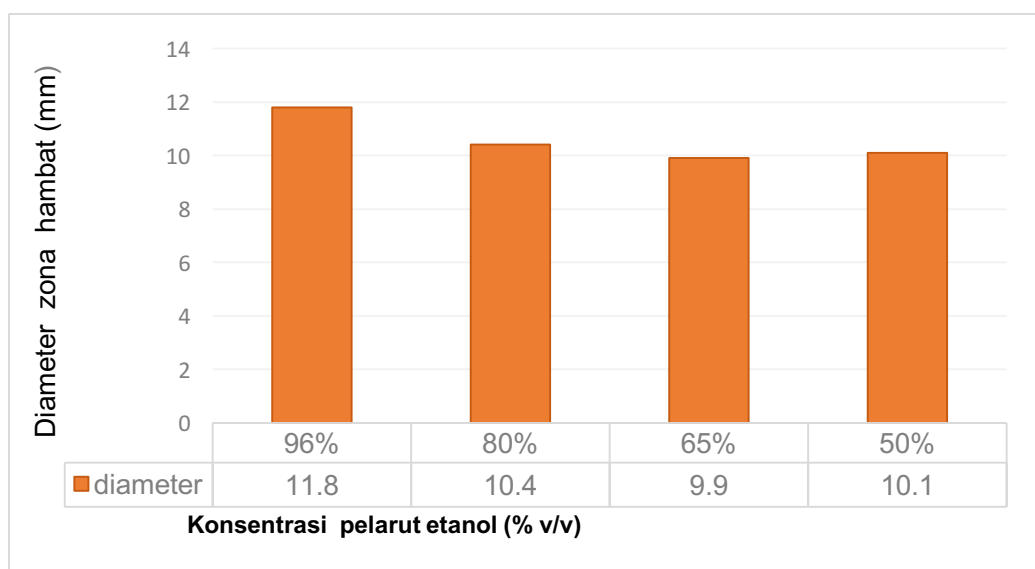
Gambar 27 Hasil Pengamatan Zona Hambat (mm) yang Terbentuk pada Bakteri *E.coli* dengan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Umbi Uwi Ungu.

Aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* Gambar 27 dipengaruhi oleh konsentrasi bahan. Penggunaan ekstrak etanol umbi uwi pada konsentrasi 1% hingga 25% (b/v) memberikan daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* dimana penggunaan dimethyl sulfoxide (DMSO) tidak memberikan pengaruh penghambatan bakteri.

Jumlah ekstrak yang cukup besar maka diameter yang terbentuk pada media akan besar pula. Komponen metabolit sekunder yang telah diidentifikasi secara skrining fitokimia berupa fenol, tanin, saponin, flavanoid, alkaloid, terpenoid merupakan zat aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Fenol menyebabkan membrane sel bakteri mengalami lisis karena terjadi koagulasi protein (Parwat *et al.*, 2008). Fenol dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif, merusak dinding sel, dan reaksi mutagenik (Miah *et al.*, 2018). Tanin dapat menginaktifkan enzim sel mikroba (Ngajow *et al.*, 2013). Steroid mengakibatkan rusaknya membran plasma sel mikroba (Wiyanto,

2010). Flavonoid merusak sel bakteri (Darmawati *et al.*, 2015). Alkaloid menghambat sintesa dinding sel (Nikham, 2012). Terpenoid mempunyai mekanisme antibakteri dengan cara merusak membran sel bakteri (Cowan, 1999).

Berdasarkan hasil pengukuran zona hambat (termasuk diameter paper disk) pada Gambar 26 dan Gambar 27 pada penelitian variasi konsentrasi ekstrak etanol umbi uwi ungu yang digunakan diperoleh daya hambat terendah yaitu pada konsentrasi 1% di mana pada konsentrasi tersebut merupakan kategori sedang yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Sehingga dilanjutkan pengujian aktivitas daya hambat terendah pada sampel ekstrak etanol umbi uwi ungu (96%, 80%, 65%, dan 50%).



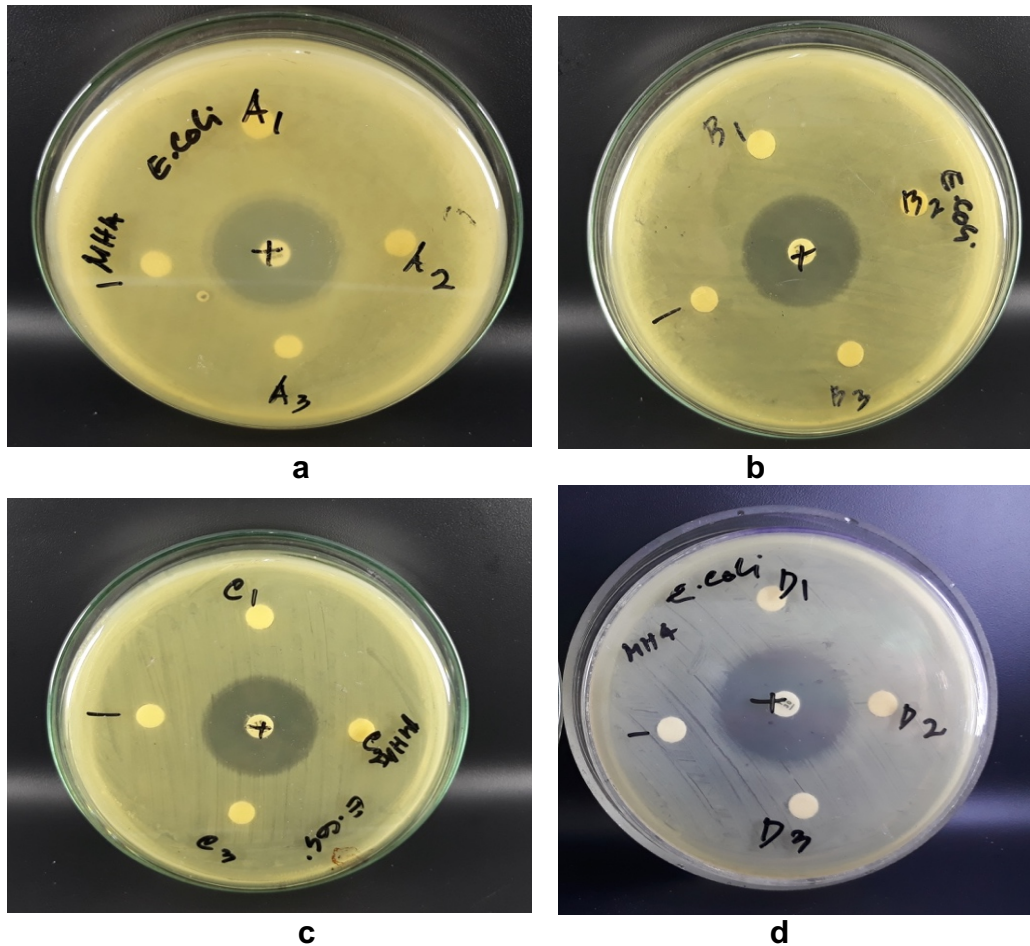
Gambar 28: Hasil Zona Hambat (mm) *E. coli* pada Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol (1%).

Hasil pengamatan pada Gambar 28 menunjukkan bahwa perlakuan bakteri *Escherichia coli* sampel ekstrak umbi uwi 1% dengan konsentrasi

etanol 96 % menghasilkan diameter zona hambat tertinggi sebesar 11,8 mm, sedangkan terendah sebesar 9,9 mm pada perlakuan bakteri *Escherichia coli* konsentrasi 65 %. Analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan bakteri *Escherichia coli* terhadap konsentrasi pelarut etanol berpengaruh tidak nyata terhadap rata-rata diameter zona hambat *Escherichia coli* ekstrak umbi uwi 1%.

Penggunaan kontrol negatif berupa DMSO sebagai pelarut konsentrasi tidak memiliki aktivitas antibakteri sehingga aktivitas antibakteri hanya berasal dari larutan uji. Diameter zona penghambatan pada bakteri *Escherichia coli* yang terbentuk menunjukkan bahwa jenis konsentrasi etanol 96% memberikan diameter zona hambat yang tertinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol lainnya. Hal ini dapat disebabkan oleh kemampuan pelarut etanol 96% dalam mengekstrak komponen-komponen sampel lebih efisien, sehingga memberikan daya hambat yang besar. Kemampuan daya hambat yang besar dengan nilai konsentrasi minimum dapat dikategorikan sebagai antimikroba yang memiliki aktivitas yang tinggi terhadap pertumbuhan mikroba. Etanol memiliki indeks polaritas 5,2 dapat menarik senyawa polar maupun non polar seperti flavanoid, tanin, alkaloid, terpenoid maupun sterol (Puspitasari *et al.*, 2013). Flavanoid bersifat polar, dapat larut pada pelarut metanol, etanol, butanol, aseton, air, dimetilsulfoksida (Savitri, 2014). Penggunaan pelarut etanol efisien dalam mengekstrak senyawa antibakteri berupa tanin, fenol dan flavonoid, hal ini disebabkan oleh kemampuan etanol dalam menembus membran sel untuk

mengekstrak bahan intraseluler yang berasal dari tanaman (Septiani, 2017). Besarnya zona hambat yang terbentuk dapat ditentukan berdasarkan tinggi rendahnya suatu aktivitas komponen yang terdapat dalam fraksi (Musnina *et al.* 2019).



Gambar 29: Hasil Pengamatan Zona hambat (mm), a). Ekstrak Etanol 96%, b).Ekstrak Etanol 80%, c). Ekstrak Etanol 65%, d). Ekstrak Ethanol 50% Terhadap Bakteri *E. coli*.

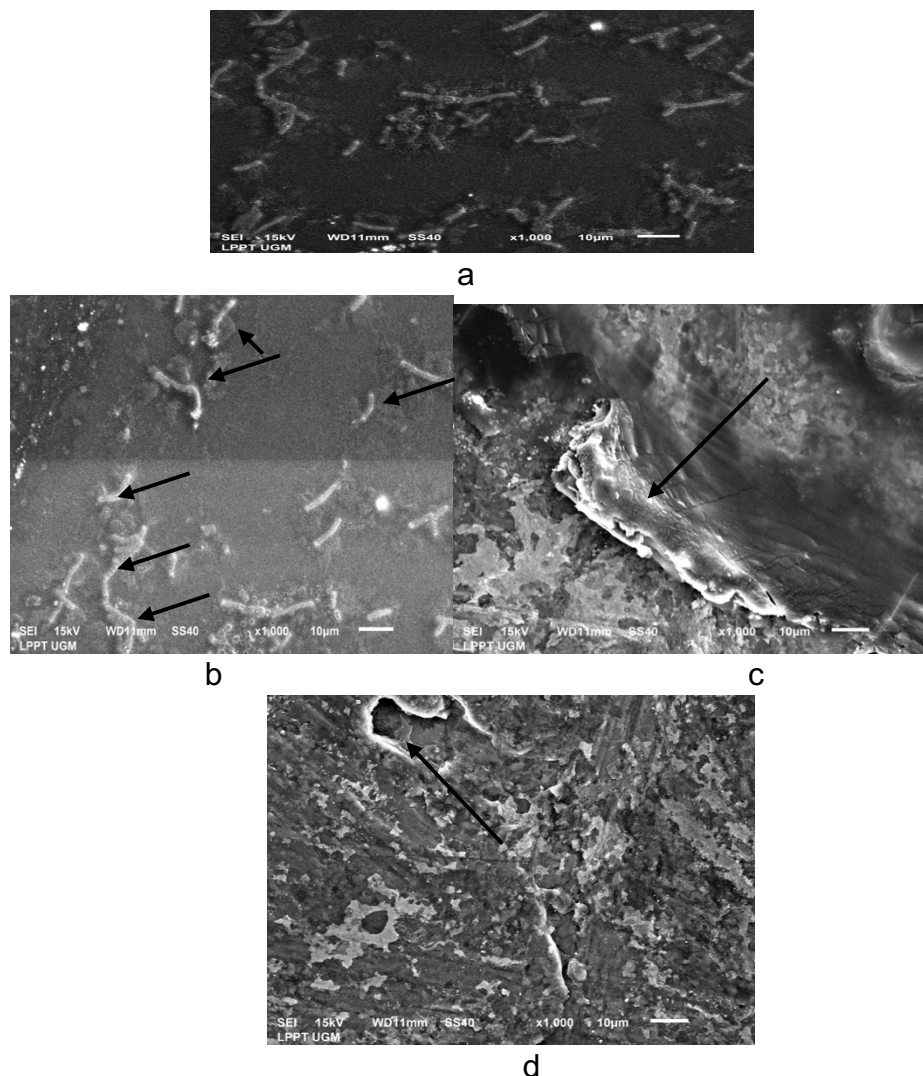
Aktivitas zona hambat (termasuk diameter paper disk) pada Gambar 29 menunjukkan bahwa ekstrak etanol umbi uwi dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif *Escherichia coli* yang ditunjukkan dengan terjadinya pembentukan zona hambat disekitar medium yang

berisi kultur bakteri dan ekstrak etanol umbi. Efektivitas aktivitas komponen zat dalam ekstrak etanol umbi mengakibatkan terbentuknya zona bening yang menandakan bahwa aktivitas bakteri *Escherichia coli* terhambat. Aktivitas antibakteri ini dapat disebabkan keberadaan komponen fitokimia dalam bahan seperti tanin, fenol, flavanoid, alkaloid dan terpenoid. Tanin bersifat menghambat sintesis protein sel bakteri (Scalbert, 1991), flavanoid merusak membran sel bakteri karena mengandung gugus karbonil, dapat membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein dapat larut dengan dinding sel bakteri (Cowan 1999; Ravikumandar 2010), alkaloid memiliki senyawa lipofilik yang dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel (Rastina, 2015). Saponin bersifat antibakteri dengan cara meningkatkan permeabilitas membran sel yang mengakibatkan membran sel menjadi tidak stabil dan mengakibatkan hemolisis (Dewi *et al.*, 2015). Fenol menyebabkan membran sel bakteri mengalami lisis karena terjadi koagulasi protein (Parwat *et al.*, 2008). Mekanisme antibakteri pada terpenoid dengan merusak membran sel bakteri (Cowan, 1999).

2. Perubahan morfologi dinding sel bakteri *E.coli* setelah penambahan ekstrak getah uwi.

Sel bakteri gram negatif *Escherichia coli* memiliki ciri yang berbentuk batang pendek, dengan ukuran 0.4-0.7 nm x 1, 4 nm, tumbuh pada rentang 20-40⁰C, optimum pada 37⁰C. *E.coli* memiliki ukuran sekitar 2 mikrometer dan diameter 0.5 mikrometer. Volume sel *E. coli* berkisar 0,6-0,7 mikrometer kubik (Sopandi dan Wardah, 2014).

Perubahan morfologi sel bakteri melalui pengamatan *scanning electron microscope* pada Gambar 30 setelah penambahan ekstrak umbi uwi 1% mengakibatkan sel bakteri mengalami kerusakan dinding sel, serta penampakan sel sudah tidak berbentuk batang lurus (membengkok) dan terdapat lekukan.

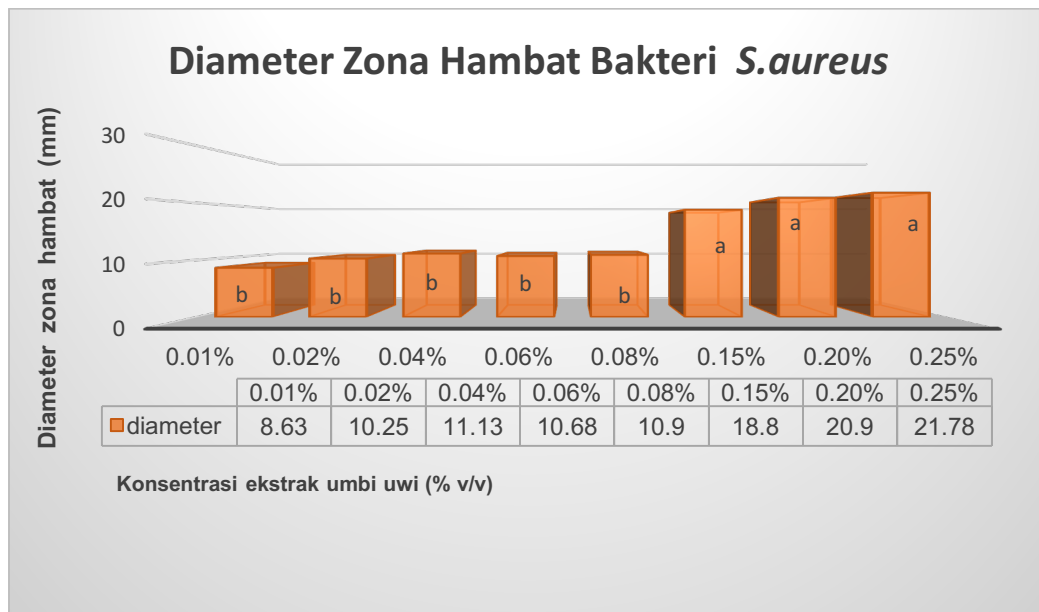


Gambar 30: Perubahan Morfologi *Escherichia coli* Akibat Paparan Ekstrak Umbi Uwi. a) Kenampakan Morfologi Sel *Escherichia coli*, b) Sel Bakteri *Escherichia coli* Mengalami Perubahan Bentuk Setelah Penambahan Ekstrak Umbi Uwi, c) dan d) Sel *Escherichia coli* Mengalami Lekukan Bentuk Sel.

Perubahan morfologi sel *Escherichia coli* dapat disebabkan oleh keberadaan komponen berupa zat saponin yang bersifat antibakteri dengan cara meningkatkan permeabilitas membran sel yang mengakibatkan membran sel menjadi tidak stabil dan mengakibatkan hemolisis (Dewi *et al.*, 2015). Komponen yang berperan yaitu fenol menyebabkan membran sel bakteri mengalami lisis karena terjadi koagulasi protein (Parwat *et al.* 2008). Tanin dapat menginaktifkan enzim sel mikroba (Ngajow *et al.* 2013), alkaloid menghambat sintesa dinding sel (Nikham, 2012). Zat aktif (antibakteri) ketika bereaksi dengan sisi aktif dari membran dan meningkatkan permeabilitasnya maka dapat menjadi penyebab dari kerusakan membran sel bakteri.

3. Aktivitas antimikroba terhadap bakteri Gram Positif *Staphylococcus aureus*.

Diameter zona hambat yang terbentuk pada bakteri *Staphylococcus aureus*. menggunakan variasi konsentrasi ekstrak etanol umbi (1% - 25%) menunjukkan pembentukan diameter zona hambat yang berbeda-beda. Konsentrasi 25% menunjukkan zona hambat tertinggi.



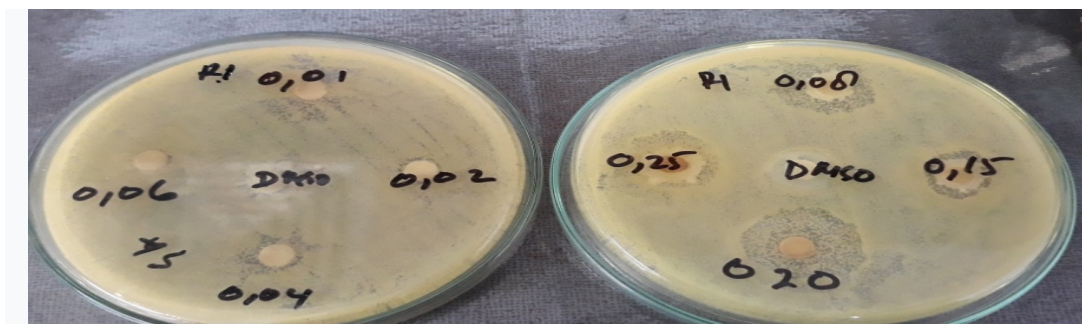
Gambar 31: Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat (mm) Terhadap Aktivitas Bakteri *S.aureus* (+) dengan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Umbi Uwi.

Hasil uji Tukey α 0,05 pada Gambar 31, menunjukkan bahwa rata-rata zona hambat tertinggi dihasilkan pada perlakuan bakteri *Staphylococcus aureus* sampel ekstrak etanol 96% dengan konsentrasi ekstrak umbi 25% berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan dengan konsentrasi 15% dan konsentrasi 20%. Konsentrasi ekstrak umbi 1% menghasilkan zona hambat terendah.

Diameter zona penghambatan bakteri *Staphylococcus aureus* yang terbentuk menunjukkan bahwa variasi konsentrasi memberikan pembentukan diameter daya hambat yang berbeda juga. Konsentrasi ekstrak 1% diameter zona hambat yang terbentuk sebesar (8,63 mm), sedangkan konsentrasi ekstrak etanol sebesar 25% terbentuk zona hambat (21,78 mm) terlihat potensi penghambatan. Dalam hal ini zona

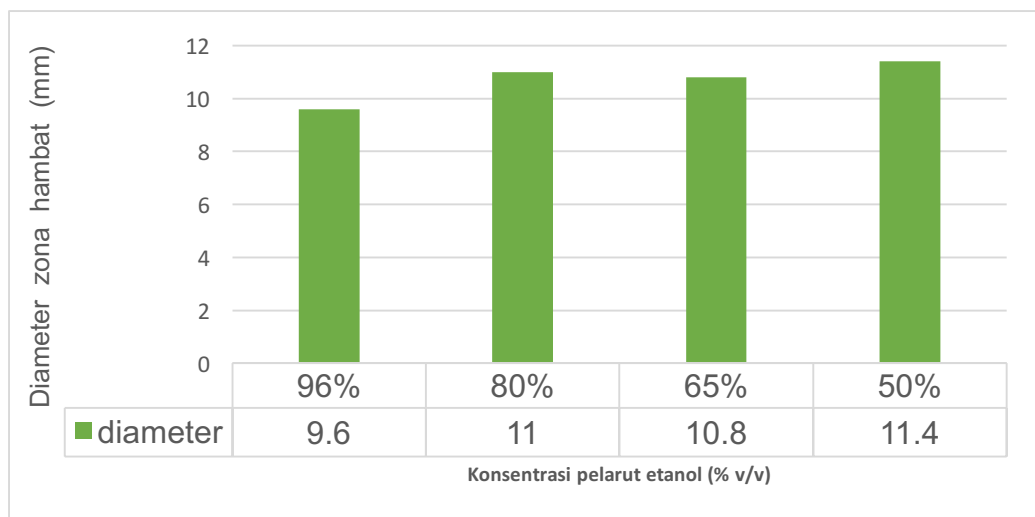
hambat yang terbentuk merupakan salah satu respon bakteri terhadap ekstrak etanol umbi uwi sebagai agen antibakteri. Berdasarkan hasil penelitian Fitriah *et al.*, (2017), menyatakan bahwa ekstrak etanol yang mengandung komponen alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin memiliki kemampuan daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus*. Penelitian Anantaworasakul (2011), juga menemukan bahwa aktivitas antibakteri terbaik terhadap bakteri Gram positif terdapat pada ekstrak etanol dari bagian tanaman turi.

Konsentrasi ekstrak umbi menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak umbi 25% memiliki aktivitas daya hambat yang sangat kuat apabila dibandingkan dengan daya hambat yang terbentuk pada bakteri Gram negatif *Escherichia coli*. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* lebih peka terhadap zat antibakteri jika dibandingkan dengan bakteri *Escherichia coli*. Struktur dinding sel dari masing-masing bakteri yang berbeda menyebabkan tingkat sensitivitas yang berbeda.



Gambar 32: Hasil Pengamatan Zona Hambat (mm) yang Terbentuk pada Bakteri *S.aureus* dengan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Umbi Uwi Ungu.

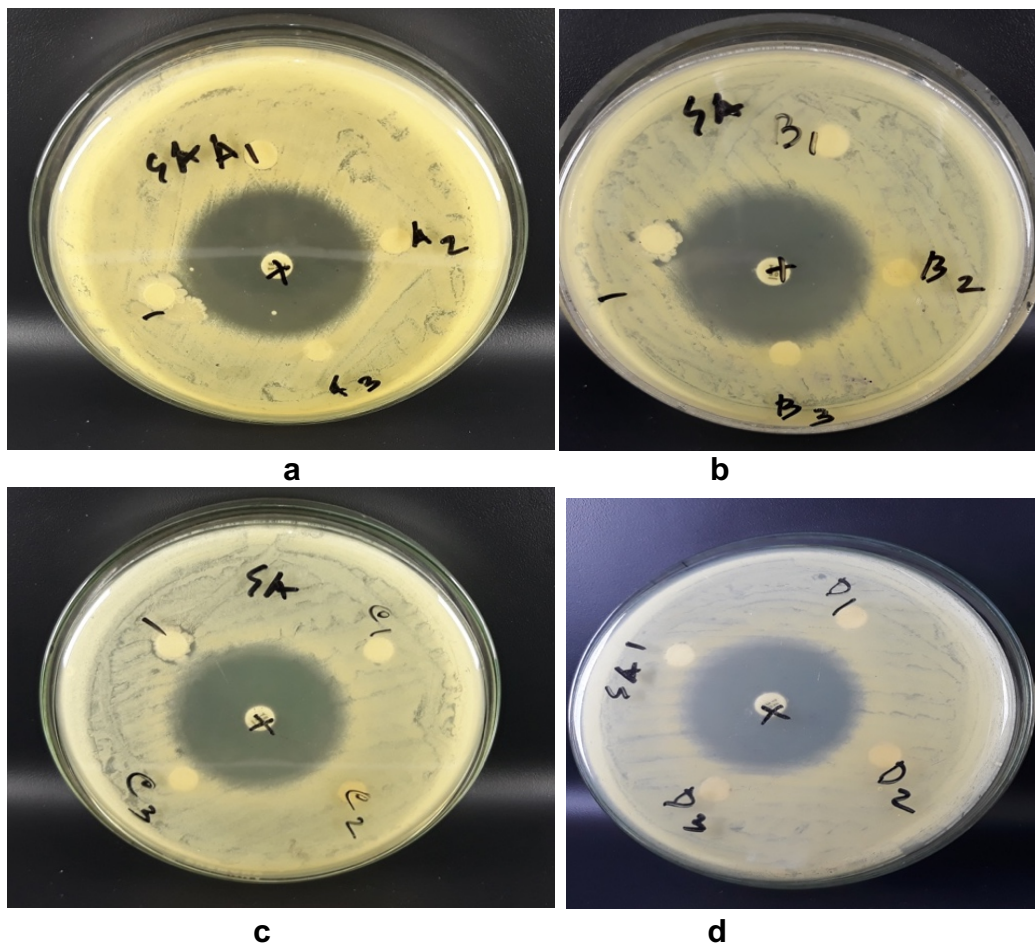
Berdasarkan pengamatan panjang diameter zona hambat (termasuk diameter paper disk) yang terbentuk Gambar 32 merupakan respon kepekaan bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap besarnya konsentrasi antibakteri yang diberikan. Konsentrasi antibakteri, suhu inkubasi, pH media, dan besarnya jumlah inokulum merupakan faktor yang memberikan pengaruh terhadap aktivitas antibakteri. Selain itu perbedaan komponen zat aktif dalam ekstrak juga merupakan penyebab perbedaan panjang diameter zona hambat. Hal ini sesuai dengan pendapat Prescott (2005), bahwa ukuran dari zona hambat dipengaruhi oleh beberapa hal, seperti senyawa antibakteri, konsentrasi senyawa antibakteri, tingkat sensitifitas dari organisme serta kecepatan difusi ekstrak.



Gambar 33: Hasil Pengamatan Zona Hambat (mm) yang Terbentuk pada Bakteri *S.aureus* dengan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Umbi Uwi Ungu.

Hasil pengamatan Gambar 33 menunjukkan bahwa perlakuan bakteri *Staphylococcus aureus* sampel ekstrak umbi uwi 1% dengan konsentrasi

etanol 50% menghasilkan diameter zona hambat tertinggi sedangkan terendah konsentrasi 90%. Zona hambat tertinggi pada konsentrasi etanol 50% sebesar 11,43 mm, terendah pada etanol 96% sebesar 9,6 mm. Sedangkan untuk bakteri *Escherichia coli* yang tertinggi pada konsentrasi 96% sebesar 11,76 mm, terendah pada konsentrasi 65% sebesar 9,93 mm. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas ekstrak umbi uwi efektif dalam menghambat bakteri Gram negatif dan Gram positif.



Gambar 34 : Hasil pengamatan zona hambat (mm), a). ekstrak etanol 96%, b) ekstrak etanol 80%, c) ekstrak etanol 65%, d) ekstrak ethanol 50% terhadap bakteri *S. aureus*.

Zona bening yang terbentuk (termasuk diameter paper disk) pada Gambar 34 untuk ke empat perlakuan sampel yang digunakan dalam menghambat *Stapylococcus aureus* menunjukkan bahwa dengan penggunaan konsentrasi ekstrak terkecil (1%) dapat menghambat pertumbuhan *Stapylococcus aureus*. Hal ini dapat disebabkan oleh komponen yang terkandung dalam ekstrak umbi uwi yang bersifat antimikroba, ekstrak umbi uwi menggunakan pelarut etanol dimana pelarut ini dapat melarutkan berbagai senyawa dan bersifat universal (Wayan *et al.*, 2017).

Nilai daya hambat tertinggi bakteri Gram negatif *Escherchia coli* sebesar 11,76 mm sedangkan daya hambat *Stapylococcus aureus* Gram positif 11,43 mm. Hal ini disebabkan oleh perbedaan struktur dinding sel yang dimiliki oleh kedua jenis bakteri. Dinding sel pada bakteri Gram negative lebih kompleks dibandingkan dengan dinding sel pada bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif memiliki susunan dinding sel yang terdiri dari peptidoglikan, polisakarida (asam teikoat) dan sedikit lipid sedangkan bakteri Gram negatif lebih banyak mengandung lipid dan sedikit peptidoglikan (Jawetz *et al.*, 2006).

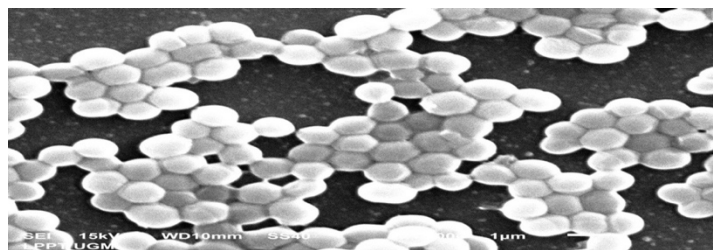
Daya hambat terkecil dari antibakteri *Stapylococcus aureus* dengan konsentrasi 1% ditemukan sampel pada jenis ekstrak 50% (11,43 mm), terendah pada konsentrasi 96% (9,6 mm). Berdasarkan nilai daya hambat tertinggi (50%) yang diperoleh maka dilanjutkan dengan pengamatan

kerusakan sel *Staphylococcus aureus* akibat penambahan ekstrak umbi uwi 1%.

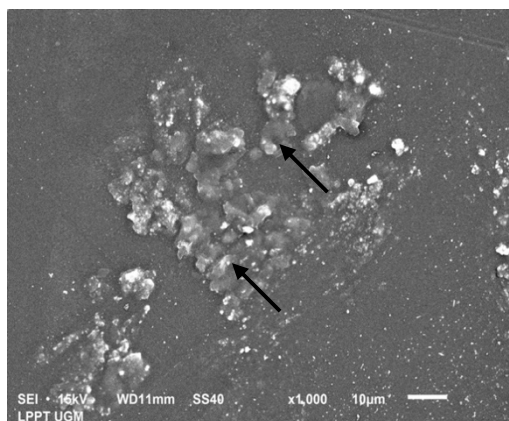
4. Perubahan morfologi dinding sel bakteri *Staphylococcus aureus* setelah penambahan ekstrak umbi uwi.

Hasil penelitian analisis kerusakan sel mikroba dengan SEM dilakukan pengamatan pada sampel ekstrak umbi (1%) yang memiliki zona hambat tertinggi. Sel normal *Staphylococcus aureus* memiliki ukuran 0,5 - 2,0 nm. Berbentuk sel berbentuk bulat, dan berkelompok seperti pada terdapat dalam Gambar 35 (a).

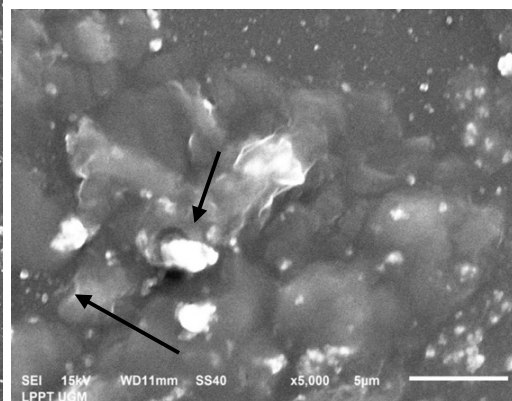
Pengaruh penambahan ekstrak umbi uwi 1% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada Gambar 35 (b,c,d) mengakibatkan kerusakan pada dinding sel.



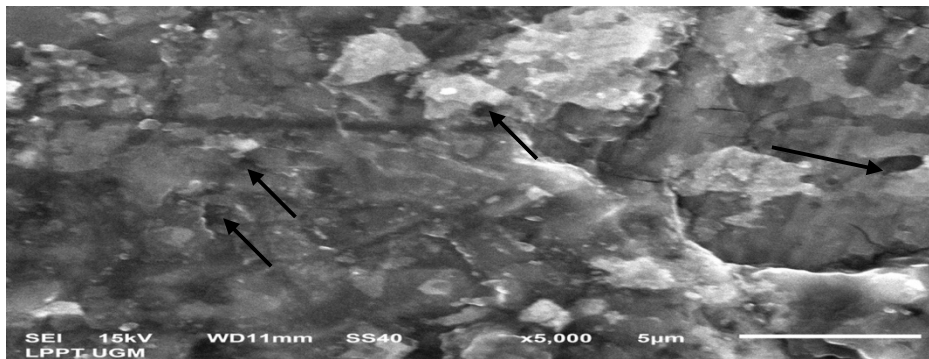
a



b



c



d

Gambar 35: Perubahan Morfologi *S. aureus* Akibat Paparan Ekstrak Etanol Umbi Uwi. a) Kenampakan Morfologi Sel *Staphylococcus aureus*. b) c) d) Sel Bakteri *Staphylococcus aureus* Mengalami Kerusakan Setelah Penambahan Ekstrak umbi uwi pada dinding sel Bakteri.

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap nilai zona hambat pada masing-masing ekstrak etanol untuk bakteri Gram negatif *Escherichia coli* terdapat nilai zona hambat yang tertinggi pada ekstrak etanol 96% (11,8mm). Sedangkan untuk nilai zona hambat pada bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* tertinggi terdapat pada etanol 50% (11,4 mm). Hal ini dapat disebabkan oleh tingkat kepolaran masing-masing pelarut. Berdasarkan perhitungan, tingkat kepolaran etanol 96% berkisar 5,35, etanol 80% yaitu 5,96, etanol 65% yaitu 6,53 dan etanol 50% yaitu 7,1. Nilai indeks polaritas etanol dan air yaitu 5,2 dan 9 (Harborne, 1996). Indeks polar etanol 5,2 dan air 10 (Khalid *et al*, 2011).

Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dominan dihambat oleh komponen metabolik sekunder yang bersifat semi polar. Metabolit sekunder yang berperan dalam kerusakan sel bakteri yaitu fenol mengakibatkan membrane sel bakteri mengalami lisis karena terjadi koagulasi protein yang dikuti dengan keluarnya isi sel (Parwat *et al.*, 2008).

Flavonoid merusak sel bakteri (Darmawati *et al.*, 2015). Terpenoid mempunyai mekanisme antibakteri dengan cara merusak membran sel bakteri (Cowan, 1999).

E. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa komponen fitokimia dalam ekstrak etanol umbi uwi dengan penggunaan konsentrasi 25% membentuk diameter zona hambat yang lebih besar sedangkan konsentrasi terkecil 1% menghasilkan zona hambat terkecil. Ekstrak etanol umbi uwi memiliki aktivitas zona hambat yang besar pada bakteri Gram positif daripada bakteri Gram negatif. Penggunaan konsentrasi terendah dan keberadaan zat metabolit sekunder pada ekstrak etanol uwi berupa saponin, tanin, alkaloid, fenol, flavanoid, dan terpenoid menyebabkan terjadinya perubahan morfologi pada bentuk sel bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeosun, O.M., Arotupin, D.J., Toba, O.A., Adebayo, A.A. 2016. Antibacterial activities and phytochemical properties of extracts of *Dioscorea bulbifera* L inn (Air Potatoe) tubers and peels against some pathogenic bacteria. *J. Phytopharm.* **5** 20–26.
- Amrie AGA, Ivan, Anam S, Ramadhanil. 2014. Effectiveness Test of Leaf Extracts and Roots of *Harrisoni aperforata* Merr. against the growth of *Vibrio cholerae* bacteria. *J. of Natural Science* **3** (3) 331-340.
- Anantaworasakul P, Klayraung S, Okonologi S. 2011. Antibacteria Activities of *Sesbania grandiflora* Extracts, *J. Drug Discov Ther* **5** (1) 12- 17. Doi : 10.5582/ddt.v5.1.12.
- Bajpai, V.K., Rahman, A., Kang, S.C. 2008 Chemical composition and inhibitory parameters of essential oil and extracts of *Nandina domestica* Thunb. to control food-borne pathogenic and spoilage bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* **125** (2) 117–122.
- Cui W, Eskin NAM, Biliaderis CG and Mazzad G. 1995 Synergistic interactions between yellow mustard polysaccharides and galactomannans. *J. Carbohydrate Polymer* **21** 123-127.
- Cowan MM. *Plant products as antimicrobial agents*. Clin Microbiol Rev. 1999;12(4): 564 – 582.
- Darmawati AASK, Bawa IGAG, Suirta IW. 2015. Isolation and Identification of Flavonoid Compounds in Jackfruit Leaves (*Artocarpus heterophyllus* L) and Antibacterial Activity against *Staphylococcus aureus* Bacteria. *J. Chemical* **9** 203-210.
- Estiasih. T, Wahyu. A. P, Nur, I. P. 2012. Hypoglycemic Activity of Water Soluble Polysaccharides of Yam (*Dioscorea hispida* Dents) Prepared by Aqueous, Papain, and Tempeh Inoculum Assisted Extractions. *World Academy of Science, Engineering and Technology* **6**.
- Eleazu Co, Kolawole S, Awa E. 2013. Phytochemical composition and fungalcation of aqueous and ethanolic extracts of the peels of two yam varieties. *Medaromat plants* **2** 128. Doi:10.4172/2167-0412.1000128.
- Fitriah, Mappiratu, Prismawiryanti. 2017. Antibacterial Activity Test of Johar Plant Leaf Extract (*Cassia siamea* Lamk.) Using Several Levels of Solvent Polarity. *J. chemical research.* (3) 242-251 e-ISSN: 2477-5398.
- Ganiswara. 1995 *Pharmacology and Therapy* (University Indonesia : Jakarta) p 571-573.
- Guil G, Ramos C, Morena J.C, Zuniga Parades M, Carlosama-Yepep. 2016 *Antimicrobial activity of plant-food by-products: A review focusing on the tropics*.
- Lewis, K., & Ausubel, F. M. 2006 Prospects for plant-derived antibacterials. *J. Nature Biotechnology*, **24** 504 - 507.

- Lia Febrina, Ida Duma Riris, Saronom Silaban. 2017 Activity antibacterial to *Escherichia coli* and antioxidant of extract water of leaf binara plant (*Artemisia vulgaris* L.) after blanching. *J. Chemistry Education*. **9** (2) 311-317.
- Musnina W O S, Wahyuni W, Malik F, Timung Y O and Sabandar C W. 2019. Antimicrobial activity of ethanol extract and organic fraction of rhizome wualae (*Etingera elatior* (Jack) R.M. Smith) *Pharmauho Journal Farm. Sains, and healthy*. **5** 1-6.
- Ngajow M, Abidjulu J, Kamu VS . 2013. Antibacterial Effect of steam Matoa (Pometiapinnata) Skin Extract on *Staphylococcus aureus* Bacteria in vitro. *Journal. of Mipa Unsrat* **2**(2) 182-132.
- Nikham, Basjir TE. 2012. Antibacterial Raw Materials from MahkotaDewa Fruit (*Phaleria Macrocarpa* (Scheff) Boerl.) Results of Gamma Irradiation and Antibiotics on Pathogenic Bacteria. *Proceedings of the Scientific Meeting of Materials Science and Technology*. (South Tangerang :Serpong).
- Nisdian A, Izzata B, Didin E.I. 2012, Analisis Efek Ekstrak Polifenol Biji Kakao (*Theobroma cacao* L). *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian*, 1-7.
- Parwata IMO, Dewi PFS 2008 Isolation and Antibacterial Activity Test of Essential Oil from Galangal Rhizome (*Alpinagalanga* L.). *J. Chemical* **2** (2) 100-104.
- Pelczar MJ, Chan ESC. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. Ratna SH dkk, penerjemah: Jakarta: UI Pr. Terjemahan dari: Elements of Microbiology. Sirait M. 2007. Penuntun Fitokimia dalam Farmasi. Bandung: ITB.
- Prescott, LM. 2005 Microbiology. *J. Chemistry Education*. (New York: Mc.Grow-Hill). **9** (2)311-317.
- Puspitasari, L., Swastini, D.A., dan Arisanti, C.I.A. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 95% Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Farmasi Udayanan*.
- Rastina, Sudarwanto M and Wientarsih I. 2006. Antibacterial activity of Ethanol Extract of Curry Leaves Against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas sp.* *J. Medicine. Animal* **9** 185–8.
- Ravikumar S, K. Nanthini devi, T.T. Ajith kumar and M. Ajmalkhan. 2011. Antibacterial activity of seagrass species of cymodocea serrulata against chosen bacterial fish pathogens. *J. Annals of Biological Research*, **2** (1) : 88-93
- Scalbert A.1991. *Antimicrobial properties of tannins Phytochemistry* 30 3875–83.
- Septiani, Eko N.D, Ima W. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (*Cymodocea rotundata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology (IJFST)* **13** (1) : 1-6.

- Salie, F., Eagle, P.F.K., Leng, H.M.J. 1996. Preliminary antimicrobial screening of four south African Asteraceae species. *J. of Ethnopharmacology* **52** 27–33.
- Shajeela, P.S., Tresina, P.S., Mohan, V.R. 2013. Fatty acid composition of wild yam. *J. Trop. Subtrop. Agroecosystems* **16** 35–38.
- Tsukui, M T. Nagashima, H. Sato, T. Kozima, dan W. Tanimura.1999. Characterization of yam (*DioscoreaoppositaThunb.*) mucilage and polysaccharide with different varieties. *J.JpnSoc Food Sci Technol.***46**. 575-58.
- Wayan S.A, Kusmiati Handayani. 2017. Aktivitas Antibakteri dan Identifikasi Senyawa Kimia Asam LEmak dari Mikroalga *Lyngbya* sp. *Biopropal Industri*. **8**(2) :: 99-10.

BAB VI

KOMPONEN AKTIF DALAM EKSTRAK ETANOL UMBI UWI UNGU (*Dioscorea alata* L) MENGHAMBAT PERTUMBUHAN KAPANG (*R. oligosporus*) dan KHAMIR (*S. cerevicea*).

A. Abstrak

Aplikasi metabolit sekunder pada bagian tanaman banyak dimanfaatkan sebagai antimikroba, salah satunya dalam penelitian ini memanfaatkan ekstrak etanol umbi uwi untuk menghambat pertumbuhan kapang dan khamir. Tujuan penelitian untuk mengukur diameter zona penghambatan yang terbentuk pada kapang *R. oligosporus* dan khamir *S. cerevisiae* serta menganalisa kerusakan sel pada kapang dan khamir. Penentuan efektivitas zona hambat bakteri dilakukan dengan pengujian 8 konsentrasi etanol ekstrak umbi uwi (1; 2; 4; 6; 8%;15;20; 25;)%b/v. Aktifitas daya hambat menggunakan metode difusi dengan kontrol positif ketoconazol. Analisis kerusakan sel menggunakan metode Scanning electron microscope (SEM). Hasil penelitian diperoleh aktivitas daya hambat ekstrak etanol umbi uwi terhadap pertumbuhan kapang *R. Oligosporus* konsentrasi 1 % sebesar (9,6 mm), konsentrasi 2 % (10,65 mm), 4 % (11,35 mm), 6 % (12,1 mm), 8 % (13,35 mm), 15 % (15,5 mm), 20 % (17,4 mm), 25% (18,15 mm). Sedangkan aktivitas daya hambat khamir *S. cerevicea* pada konsentrasi 1% zona hambat sebesar (18,4 mm), 2% (21,3 mm), 4 % (22,85 mm), 6% (23,62 mm), 8% (22,55 mm),15% (23,95 mm), 20% (23,7 mm), dan konsentrasi 25% (27,25 mm). Konsentrasi ekstrak etanol umbi uwi terkecil 1 % mengakibatkan sel jamur dan pada sel khamir mengalami perubahan bentuk yang tidak beraturan. Hal ini menunjukkan bahwa komponen dalam ekstrak etanol diasumsikan dapat mencegah pertumbuhan kapang *R. Oligosporus* dan khamir *S. Cerevisiae*.

Active compounds of ethanol extract yam (*Dioscorea alata* L) in inhibition of microbia growth (*R. oligosporus* and *S. cerevisiae*)

Abstract

The application of active compounds in plant parts is widely used as an antimicrobia. One of them in this study utilizes yam extract to inhibit the growth of mold and yeast. The study aimed to measure the diameter of the zone of inhibition formed in *R. oligosporus* and *S. cerevicea* yeasts and analyze cell damage in molds and yeasts. Determination of the effectiveness of the bacterial inhibition zone was carried out by testing 8 variations of extract concentration (1%, 2%,4%, 6%,8%, 15%, 20%,25%)b/v

by diffusion method with ketoconazole positive control and DMSO negative control. Analysis of cell damage using SEM. The results showed that the inhibitory activity of the active compound extract of yam against the growth of *R. Oligosporus* with a concentration of 1% (9,6 mm), a concentration of 2% (10,65 mm), 4% (11,35 mm).), 6% (12,1 mm), 8% (13,35 mm), 15% (15,5 mm), 20% (17,4 mm), 25% (18,15 mm). While the yeast inhibition activity of *S.cerevisiae* at a concentration of 1% inhibition zone (18,4 mm), 2% (21,3 mm), 4% (22,85 mm), 6% (23,62 mm), 8% (22,55 mm), 15 % (23,95 mm), 20% (23,7 mm), and concentrations of 25% (27,25 mm). A minimum concentration of 1% uwi sap extract results in the fungal cells leaking and the yeast cells undergoing irregular changes in shape. This indicates that the sap extract components can prevent the growth of *R. oligosporus* and *S. Cerevicea* yeasts.

B. Pendahuluan

Kapang dan khamir dapat tumbuh dan berkembang biak dengan cepat di daerah yang kelembapannya yang tinggi. Kapang dan khamir merupakan jenis mikroorganisme yang dapat menyebabkan timbulnya penyakit dan kerusakan pada tumbuhan, hewan, manusia dan bahan pangan. Zat antimikroba ada yang bersifat sintesis dan natural bertujuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba.

Pemanfaatan zat aktif dari bagian tanaman baik sebagai zat antijamur, sediaan obat tradisional maupun pengawet alami saat ini banyak dikembangkan. Diantaranya, ekstraksi minyak atsiri dari daun jeruk purut efektif menghambat pertumbuhan jenis jamur *Aspergillus* sp penyebab aflatoxin pada pangan (Rini yanti dkk., 2017). Ekstrak rimpang wualae mampu menghambat jenis jamur *C. albicans* (Sitti dkk., 2019). Aktivitas ekstrak kulit bawang merah sebagai memiliki daya hambat yang besar terhadap jamur *Trichophyton mentagrophytes* (Melzi dkk., 2019). Ekstrak Etanol bagian bunga dan akar tanaman *Prosopanche americana* menghambat pertumbuhan khamir *Saccaromyces* (Quiroga *et al.*, 2001). Ekstrak minyak kayu manis dalam bentuk nanoemulsi memiliki aktivitas daya hambat yang besar terhadap beberapa jenis jamur diantaranya jamur *Rhizopus* (Puntipa *et al.*, 2019). Pengembangan bagian lain dari tanaman berupa komponen getah juga berpotensi sebagai antimikroba, yaitu getah pelepah pisang dilaporkan mengandung zat fenol sebagai antibakteri (Randhan dkk., 2015), gel lidah buaya mengandung saponin, sterol,

antrakuinon (Purbaya, 2003). Ekstrak gel lidah buaya menghambat pertumbuhan bakteri (Ariyanti *et al*, 2012). Ekstrak daun jarak dilaporkan mengandung saponin, flavanoid dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans* (Sukmawati *et al.*, 2017).

Penelitian sebelumnya identifikasi komponen dalam ekstrak umbi uwi ditemukan adanya komponen aktif. Dimana pada pengamatan daya hambat terhadap bakteri ditemukan bahwa ekstrak dari umbi uwi ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.aureus*.

Umbi uwi mengandung flavanoid, fenol, terpenoid, tannin, saponin, alkaloid, golongan polisakarida, asam organik, dan oksalat (Adeosun *et al.*, 2016, Eleazu *et al.*, 2016, Shajeela *et al.*, 2013). Selain komponen umbi uwi sebagai antimikroba, air dari getah uwi dapat digunakan sebagai pestisida yang ramah lingkungan (Ajisaka 2008).

Metode pengawetan pangan hingga saat ini banyak memanfaatkan beberapa bagian tanaman, salah satunya dalam penelitian ini ingin mengembangkan dan memanfaatkan zat aktif dari ekstrak umbi uwi sebagai pengawet pangan dalam menghambat pertumbuhan jamur maupun khamir. Sehingga tujuan dari penelitian mengamati diameter zona penghambatan yang terbentuk pada kapang *R.oligosporus* dan khamir *S.cerevisiae* serta menganalisa kerusakan sel pada kapang dan khamir.

C. Metode Penelitian

Rancangan penelitian

Rancangan penelitian pada tahapan ini menggunakan delapan variasi konsentrasi ekstrak getah. Analisis data dilakukan dengan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial, untuk mengetahui apakah ada perbedaan atau pengaruh pada setiap perlakuan diameter zona hambat pada kapang *R. oligosporus* dan khamir *S. cerevisiae*, kemudian dilanjutkan dengan uji BNJ / tukey dengan taraf nyata ($p < 0.05$).

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu alat gelas, timbangan, lampu spiritus (bunsen), micropipet, autoclave, laminar flow, oven, inkubator, mikroskop, botol vial, pinset.

Bahan yang digunakan *Rhizopus oligosporus* dan khamir *Saccharomyces cerevisiae*. media media SDA (sabarote dextro agar), paper disk, aquadest, dimethylsulfoxide (DMSO), ketoconazole, kapas, glutaraldehyde 2%, buffer phosphate pH 7,4, amyl acetate absolut.

Prosedur Penelitian

Pengujian aktivitas antimikroba *Rhizopus oligosporus* dan *Saccaromyces cerevisiae*.

Pengujian aktivitas antimikroba menggunakan metode difusi agar (Salie et al., 1996 ; Ncube et al., 2008). Isolat bakteri yang digunakan berupa *Rhizopus oligosporus* & *Saccaromyces cerevisiae*. Kemudian sebanyak 1 jarum ose suspensi mikroba digoreskan ke dalam media

secara steril dalam laminar flow. Selanjutnya paper disk diresapkan ke dalam ekstrak umbi uwi untuk masing-masing konsentrasi (1; 2; 4; 6; 8; 15; 20; 25)%b/v yang telah dilarutkan 1 ml ke dalam *dimethyl sulfoxide* 1%. Kemudian paper disk dimasukkan kedalam cawan petri yang telah dioleskan isolat mikroba. Kontrol positif yang digunakan *dimethyl sulfoxide* (DMSO) dan kontrol negatif ketokonazol. Cawan petri yang telah berisi ekstrak dan masing-masing bakteri diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 2x24 jam. Kemudian dilakukan pengamatan zona bening yang terbentuk disekitar media menggunakan jangka sorong.

Pengujian daya hambat terendah dilakukan dengan membuat 1% (0,01 g) ekstrak umbi uwi yang dilarutkan 1 ml dengan DMSO 1%. Kemudian 1 jarum ose suspensi mikroba digoreskan kedalam SDA agar secara steril dalam laminar flow. Selanjutnya paper disk diresapkan ke dalam ekstrak etanol umbi uwi (1%). Dinkubasi pada suhu 37⁰C selama 2x 24 jam. Setelah 2x24 jam dilakukan pengamatan zona bening yang terbentuk disekitar media menggunakan jangka sorong.

Pembuatan 8 variabel konsentrasi ekstrak etanol umbi untuk mendapatkan 1%, 2%, 4%, 6%, 8%, 15%, 20%, 25% dalam 1 ml maka diperlukan ekstrak masing-masing sebanyak 0,01; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,15; 0,20; 0,25 (g) yang dilarutkan kedalam 1 ml *dimethyl sulfoxide* (DMSO) 1%.

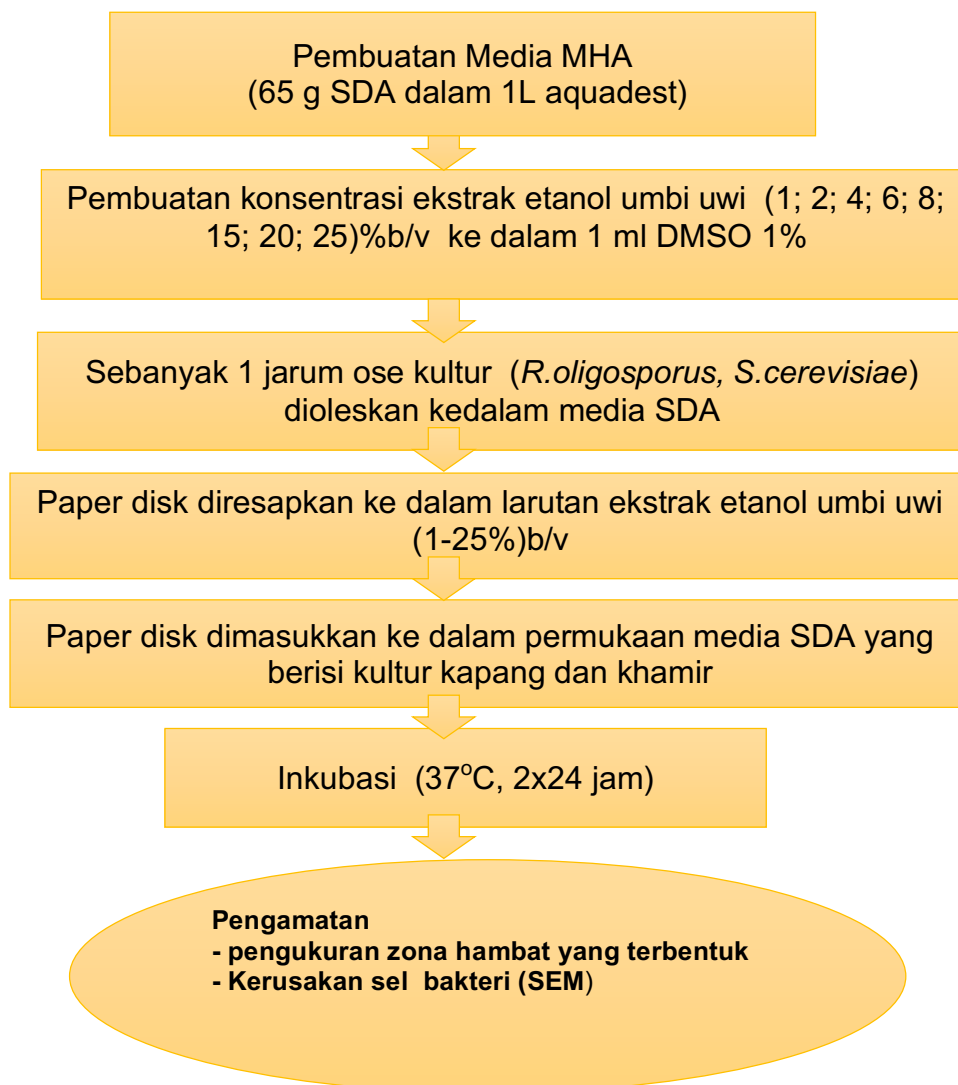
Pengamatan kerusakan sel mikroba dengan *scanning electron mikroskopis* (SEM).

Preparasi Sampel Mikroba.

Suspensi sel murni mikroba yang telah diberi perlakuan ekstrak etanol uwi (maserasi 3 hari) 96% (*S. cerevisiae*), 50% (*R. oligosporus*) dimasukkan ke dalam larutan fiksasi *glutaraldehyde* 2% selama 2-3 jam suhu 4°C, kemudian di sentrifus dengan kecepatan rendah selama 15 detik. Dicuci dengan larutan *buffer phosphate* pH 7,4 selama 3 kali masing-masing selama 5 detik pada suhu 4°C, kemudian disentrifus dengan kecepatan rendah selama 15 detik. Post fiksasi dengan larutan osmium tetraoksida 1% selama 1-2 jam suhu 4°C, disentrifus dengan kecepatan rendah selama 15 detik. Dicuci dengan larutan *buffer phosphate* pH 7,4 selama 3 kali masing-masing selama 5 detik pada suhu 4°C, kemudian disentrifus dengan kecepatan rendah selama 15 detik. Dehidrasi dengan etanol bertingkat: 30%, 50%, 70%, masing-masing selama 15-20 menit pada suhu 4°C, kemudian disentrifus dengan kecepatan rendah selama 15 detik. Dilanjutkan dehidrasi dengan etanol 80%, 90% sebanyak dua kali, masing-masing selama 15-20 menit suhu ruangan, kemudian disentrifus dengan kecepatan rendah selama 15 detik. Diganti dengan *amyl acetate absolut*. Bakteri yang akan dikeringkan dipipet dan diteteskan pada object glass dengan luas 16 mm² yang sudah dibersihkan dengan alkohol.

Pengamatan *scanning electron mikroskopis* SEM.

Bakteri yang telah dikeringkan dilakukan penempelan pada *stub* (*holder*) dengan menggunakan lem khusus. Pelapisan dengan alat vakum evaporator dan bahan pelapisnya adalah emas murni atau karbon, sampel diamati dan dipotret pada SEM (*scanning electron microscope*)



Gambar 36: Diagram Alir Pengukuran Zona Hambat Kapang dan Khamir.

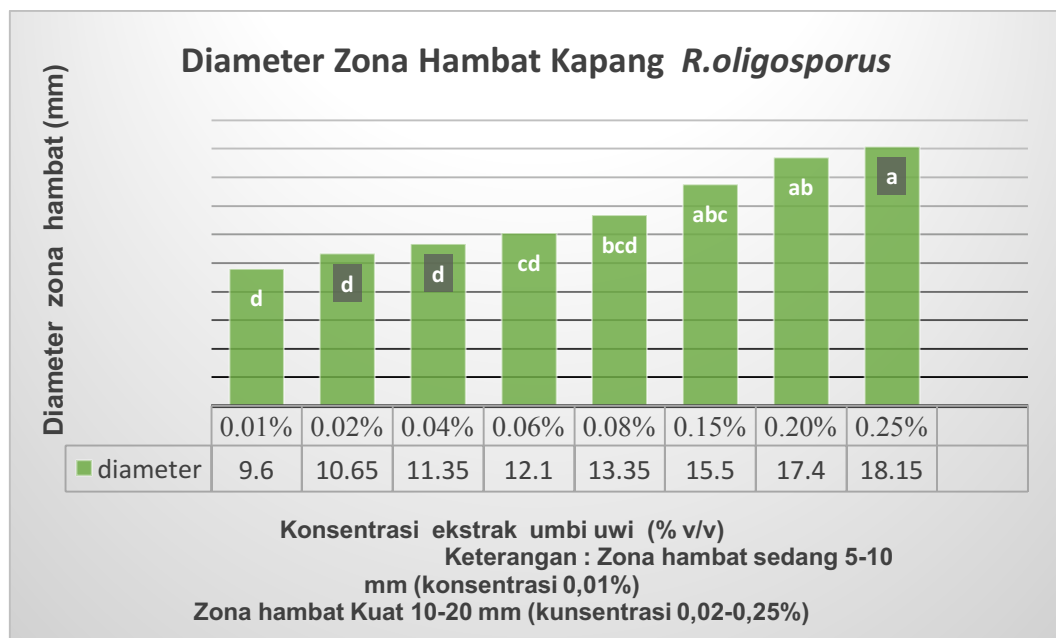
Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan dalam penelitian ini yaitu analisa diameter zona hambat pada bakteri *Rhizopus oligosporus* dan *Saccaromyces cerevisiae* pengukuran zona hambat minimum, pengamatan kerusakan struktur sel bakteri pada *R. oligosporus* dan *S. cerevisiae*.

D. Hasil dan Pembahasan

1. Aktivitas antimikroba kapang *Rhizopus oligosporus*.

Hasil pengamatan terhadap pengukuran zona hambat jenis kapang *Rhizopus oligosporus* untuk ekstrak umbi uwi konsentrasi etanol 96% disajikan pada Gambar (1).

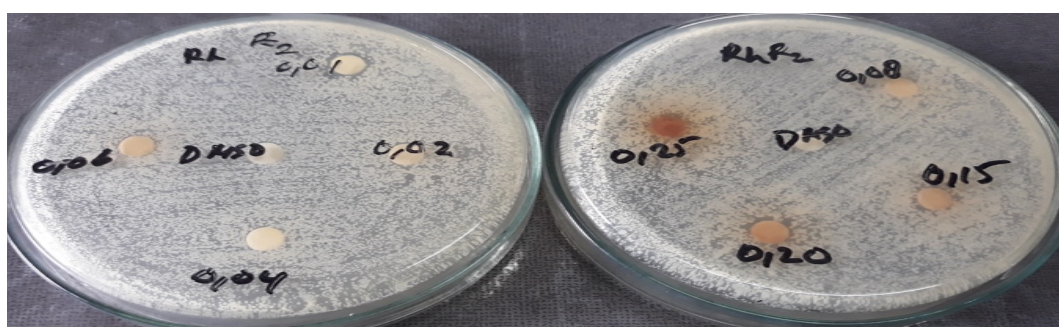


Gambar 37: Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat (mm) Terhadap Aktivitas Kapang (*R. oligosporus*) dengan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Umbi Uwi Ungu

Aktivitas daya hambat *Rhizopus oligosporus* yang terbentuk pada Gambar 37 menunjukkan penggunaan level konsentrasi ekstrak etanol

umbi uwi ungu sebesar 1%-25% berpengaruh terhadap zona yang terbentuk. Hasil uji Tukey α 0,05, menunjukkan bahwa rata-rata zona hambat tertinggi dihasilkan pada perlakuan bakteri *Rhizopus oligosporus* sampel ekstrak 96% dengan konsentrasi ekstrak etanol umbi 25% berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, tetapi tidak berbeda nyata dengan konsentrasi ekstrak etanol umbi 15 % dan konsentrasi 20 %. Perlakuan bakteri *Rhizopus oligosporus* sampel ekstrak 96% dengan konsentrasi 1% menghasilkan zona hambat terendah.

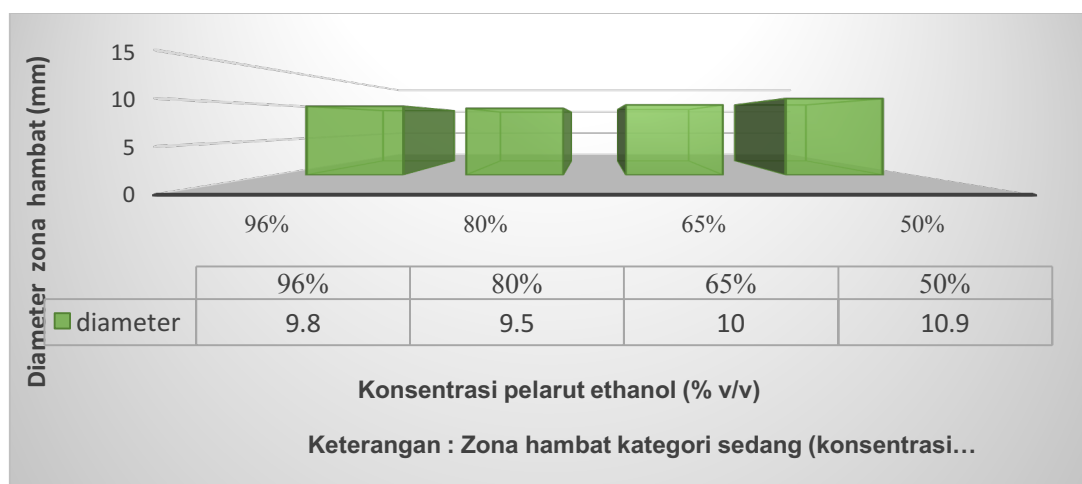
Pada hasil penelitian dapat terlihat bahwa penggunaan level konsentrasi ekstrak etanol umbi yang tinggi maka kandungan senyawa aktif dalam ekstrak juga akan semakin tinggi, sehingga kemampuan untuk menghambat pertumbuhan kapang *Rhizopus oligosporus* (zona hambat) dalam media akan semakin besar. Penambahan konsentrasi ekstrak umbi yang tinggi maka komponen bahan aktif antibakterinya juga akan semakin tinggi (Ningtyas, 2010). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak umbi yang diberikan, maka zat antibakteri akan lebih besar dan akan lebih mudah melakukan penetrasi kedalam sel mikroorganisme (Maleki *et al.* 2008).



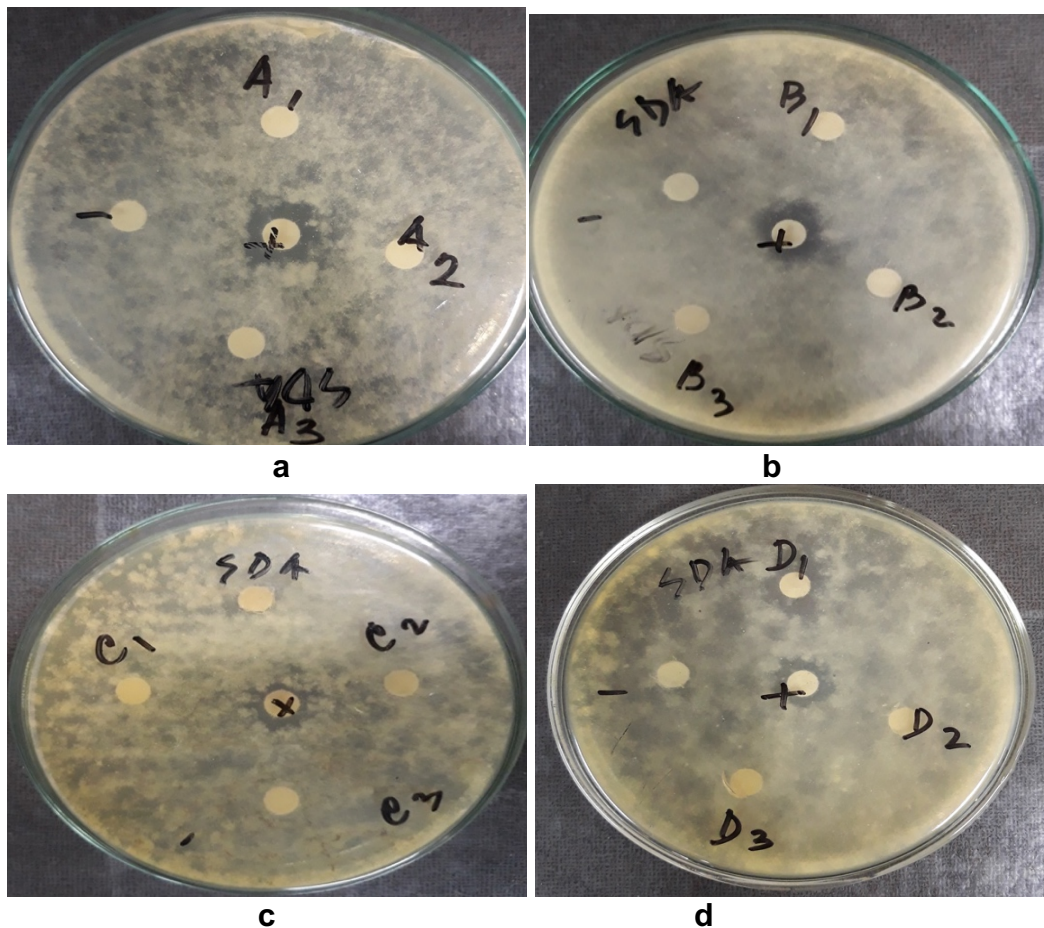
Gambar 38 : Hasil Pengamatan Zona Hambat (mm) yang Terbentuk pada Kapang *R. oligosporus* dengan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Umbi Uwi Ungu.

Zona hambat (termasuk diameter paper disk) yang terbentuk pada Gambar 38 untuk konsentrasi terkecil 1 % diperoleh diameter zona hambat sebesar 9,6 mm, sedangkan konsentrasi tertinggi 25 % terbentuk zona sebesar 18,15 mm.

Berdasarkan data yang diperoleh diperlukan identifikasi selanjutnya terhadap daya hambat terkecil pada konsentrasi 1% yang diujikan terhadap ke empat konsentrasi etanol (96%, 80%, 65%, 50%) Bertujuan untuk mengetahui efektivitas kemampuan konsentrasi ekstrak terkecil tersebut dalam menghambat pertumbuhan dari *Rhizopus oligosporus*. Hasil pengamatan rata-rata diameter zona hambat dan sidik ragam disajikan Gambar (3), analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan bakteri *Rhizopus Oligosporus* sampel ekstrak etanol umbi 1% berpengaruh tidak nyata terhadap rata-rata diameter zona hambat bakteri *Rhizopus Oligosporus* sampel ekstrak etanol umbi 1%.



Gambar 39 : Hasil Pengukuran Zona Hambat (mm) *R. oligosporus* pada Berbagai Pengaruh Konsentrasi Etanol (1% ekstrak etanol umbi uwi).



Gambar 40: Hasil Pengamatan Zona Hambat (mm). a) Ekstrak Etanol 96%, b) Ekstrak Etanol 80%, c) Ekstrak Etanol 65%, d) Ekstrak Etanol 50% Terhadap Kapang *R. oligosporus*.

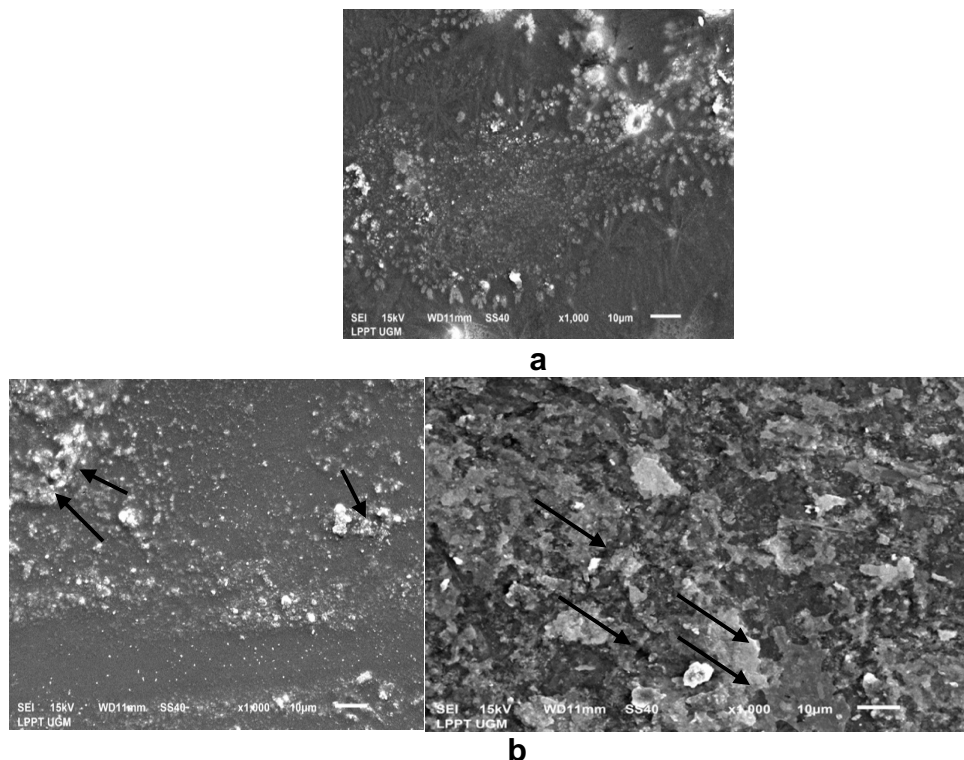
Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pada kapang *Rhizopus oligosporus* sampel ekstrak etanol umbi uwi 1% dengan konsentrasi 50% menghasilkan diameter zona hambat (termasuk diameter paper disk) sebesar (10,93 mm), sedangkan terendah pada konsentrasi 96 % sebesar (9,50 mm). Komponen fitokimia berupa tanin dan saponin diketahui dapat menghambat jamur patogen (Okwu, 2004). Hasil riset Okiqbo *et al.*, (2015), memaparkan ekstrak etanol 70% dari umbi uwi sedang dan efektif (13,04-94,44 %) dalam menghambat pertumbuhan pada

miselium jamur uji *Botryodiplodia theobromae* *lerotia rolfsii*, *Botryodiplodia theobromae* and *Fusarium oxysporum*.

Hasil pengamatan penggunaan konsentrasi terkecil 1 % terhadap jenis ekstrak etanol dari umbi uwi pada Gambar 4 menunjukkan ekstrak etanol 96% zona hambat yang terbentuk sebesar 8,5 mm, ekstrak 80 % terbentuk zona 9,5 mm, ekstrak 65% zona hambat sebesar 10,03 mm, ekstrak ethanol 50% zona hambat 10,93 mm. Kemampuan ekstrak etanol umbi uwi dalam menghambat pertumbuhan khamir ini disebabkan oleh adanya kandungan fitokimia yang terkandung dalam pada ekstrak yang berperan sebagai antimikroba. Ekstrak etanol umbi uwi berdasarkan skrining fitokimia mengandung fenol, flavanoid, tanin, saponin, alkaloid, terpenoid. Dimana ikatan gugus OH pada komponen fenolik bersifat antimikroba yang dapat mendenaturasi sel protein, merusak dinding sel dan enzim -enzim bakteri. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan rusaknya struktur protein (Pelczar dan Chan, 1988). Senyawa flavanoid dapat menghambat sintesis asam nukleat dan fungsi dari membran sel (Rijayanti, 2014). Senyawa tanin mampu menginaktivasi enzim destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik (Akiyama *et al.*, 2001).

2. Perubahan morfologi dinding sel kapang *R. oligosporus* setelah penambahan ekstrak etanol umbi uwi.

Rhizopus oligosporus memiliki ciri-ciri struktur yang berhifa, hifa nonseptat, pertumbuhannya cepat, dan membentuk miselium seperti kapas (Fardiaz, 1989). Penampakan sel *Rhizopus oligosporus* pada Gambar 41 menunjukkan dengan penambahan ekstrak ethanol 50% getah uwi konsentrasi 1 % mengakibatkan bagian dari sel jamur nampak mengalami kerusakan.



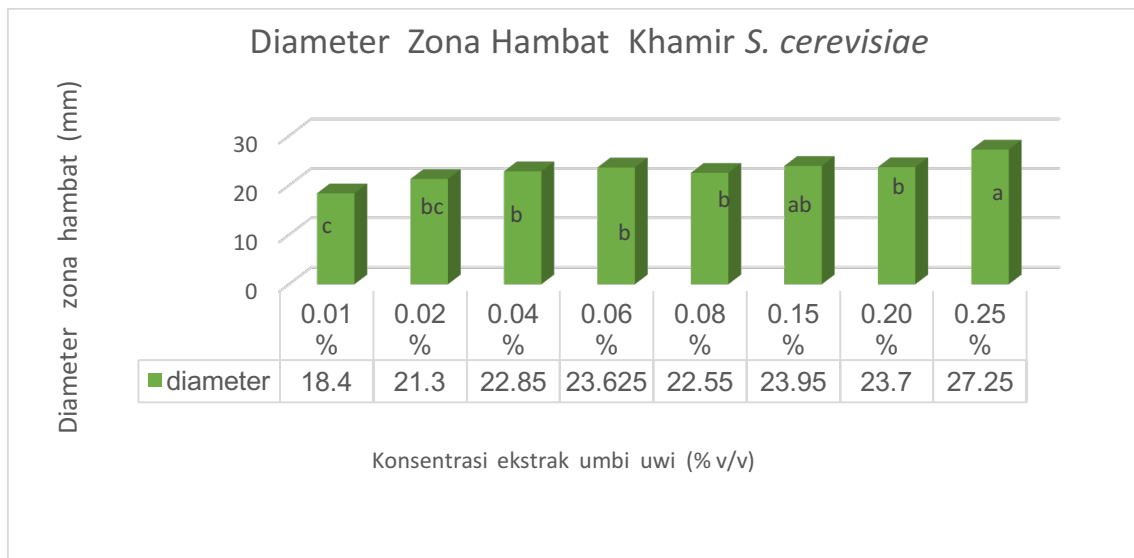
Gambar 41: Perubahan Morfologi *R. oligosporus* Akibat Paparan Ekstrak Etanol Umbi uwi. a) Kenampakan Sel Kapang *R. oligosporus*, b) Sel Kapang Mengalami Perubahan Bentuk Setelah Penambahan Ekstrak Etanol Umbi uwi.

Komponen metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak umbi uwi mengakibatkan kerusakan pada sel mikroba. Zat aktif dalam umbi uwi memiliki berbagai mekanisme yang dapat bekerja secara sinergi dalam

menghambat pertumbuhan mikroba diantaranya, senyawa saponin dapat mengakibatkan kebocoran sel bakteri dan senyawa intraseluler akan keluar yang mengakibatkan kematian pada sel bakteri (Nuria, 2009). Zat aktif terpenoid mengakibatkan pemecahan membran oleh komponen-komponen lipolik, mengganggu permeabilitas membran sel jamur yang mengakibatkan terjadinya kerusakan krista sehingga energi yang dihasilkan untuk proses pertumbuhan dan perkembangan sel menjadi berkurang, dan pertumbuhan jamur menjadi terhambat (Cowan, 1999). Senyawa alkaloid dapat merusak dinding sel bakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga menyebabkan sel bakteri menjadi lisis dan menuju kematian sel (Darsana *et al.*, 2012).

3. Aktivitas antimikroba terhadap Khamir *Saccharomyces cerevisiae*

Hasil pengamatan daya hambat ekstrak etanol 96% terhadap khamir *Saccharomyces cerevisiae* pada Gambar 6. Hasil pengamatan rata-rata diameter zona hambat dan sidik ragam hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan bakteri *Saccaromyces cerevisiae* sampel ekstrak 96% berpengaruh sangat nyata terhadap rata-rata diameter zona hambat *Saccaromyces cerevisiae*

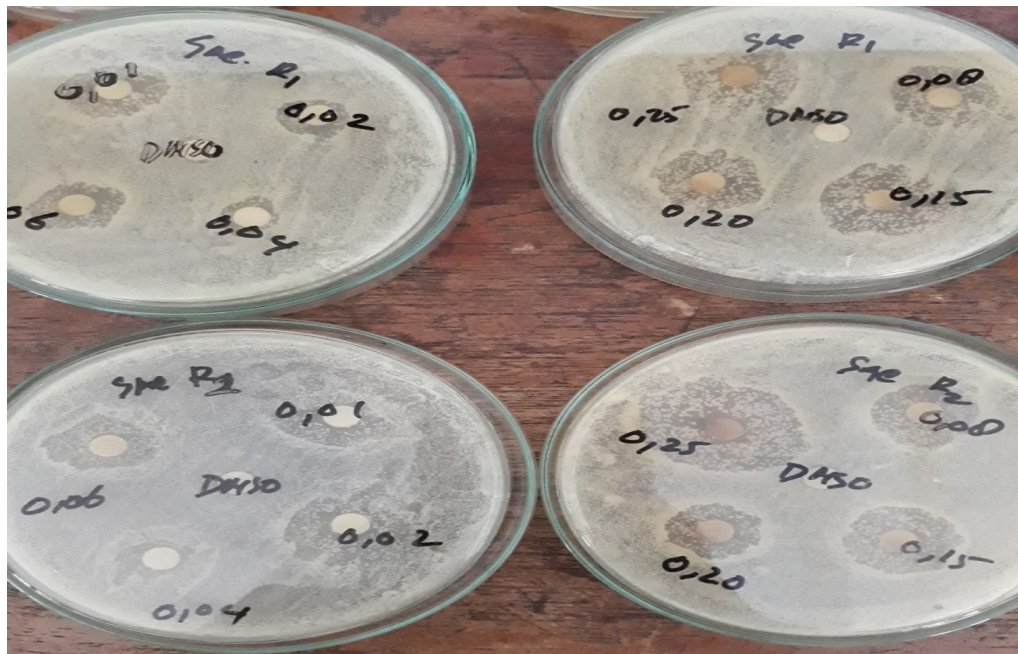


Gambar 42: Hasil pengukuran diameter zona hambat (mm) terhadap aktivitas Khamir (*S.cerevisiae*) dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol umbi uwi ungu.

Pengukuran zona hambat khamir *S. cerevisiae* Gambar 42 pada konsentrasi ekstrak etanol umbi uwi 1%-25%. Berdasarkan hasil uji Tukey α 0,05 menunjukkan bahwa rata-rata zona hambat tertinggi dihasilkan pada konsentrasi ekstrak etanol umbi uwi 25%, berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, tetapi tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 15 % yaitu (23,95 mm). Perlakuan khamir *Saccaromyces cerevisiae* dengan konsentrasi 1% menghasilkan zona hambat terendah yaitu (18,40).

Penggunaan konsentrasi ekstrak etanol umbi 1-25% diperoleh diameter daya hambat yang cukup besar pada konsentrasi 25%. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi yang tinggi maka semakin efektif dalam menghambat pertumbuhan khamir *Saccaromyces cerevisiae*. Semakin tinggi konsentrasi bahan antimikroba maka akan semakin tinggi daya hambat yang terbentuk (Amrie *et al.*, 2014). Pelczar dan Chan (1988),

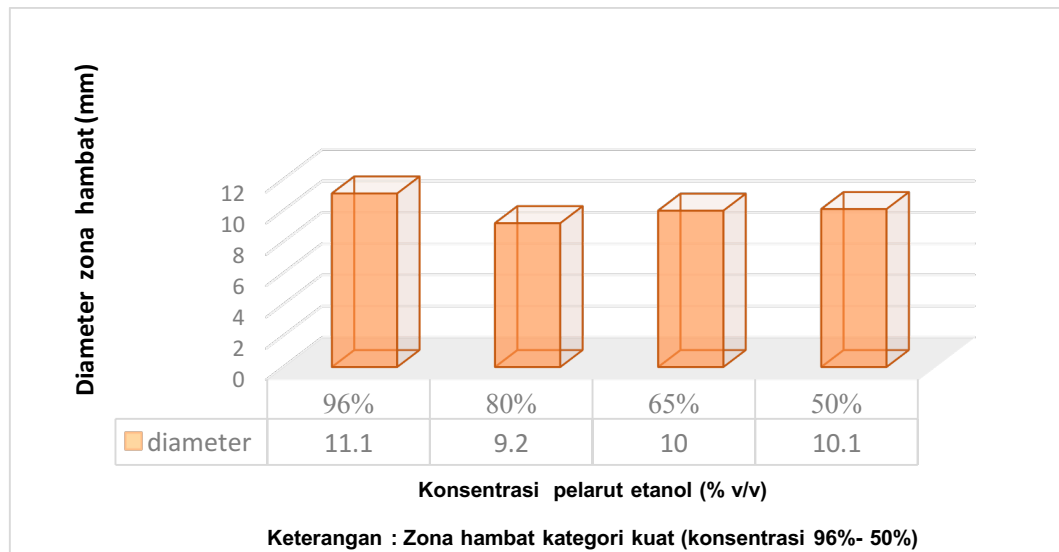
mengemukakan bahwa konsentrasi suatu bahan antimikroba, merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas bahan antimikroba tersebut.



Gambar 43: Hasil Pengamatan Zona Hambat (mm) yang Terbentuk pada Kapang *S. cerevisiae* dengan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Umbi Uwi Ungu.

Pengukuran zona hambat disekitar medium / disk pada Gambar 43 terlihat zona terbentuk disekitar medium yang digunakan. Dimana diameter zona hambat yang diperoleh pada konsentrasi 25% berbeda nyata terhadap rata-rata diameter zona hambat khamir *Saccaromyces cerevisiae* dan zona hambat yang terkecil pada ekstrak 1%. Hal ini menunjukkan bahwa komponen dalam ekstrak etanol umbi dapat mencegah pertumbuhan pada khamir *S. cerevisiae*. Semakin besar konsentrasi ekstrak maka zona bening yang terbentuk akan semakin besar.

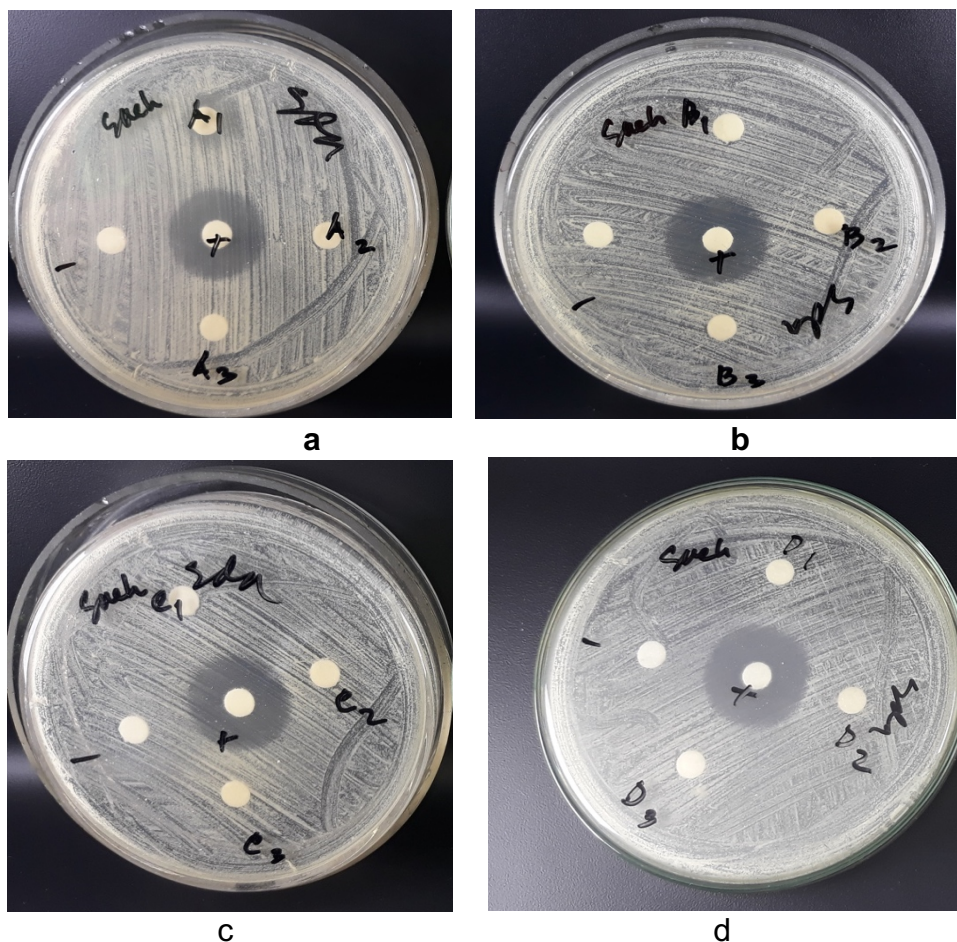
Identifikasi daya hambat minimum pada konsentrasi 1% terhadap ke empat jenis ekstrak terlihat pada Gambar 44.



Gambar 44: Hasil pengukuran zona hambat (mm) *S. cerevisiae* pada pengaruh berbagai konsentrasi etanol (0,01% ekstrak umbi uwi).

Diameter zona hambat pada Gambar 44 terhadap pertumbuhan khamir *Saccaromyces cerevisiae* sampel ekstrak etanol umbi uwi 1% dengan konsentrasi sampel etanol 96% menghasilkan diameter zona hambat tertinggi sebesar 11,1 (mm), sedangkan terendah pada konsentrasi 80% sebesar 9,2 (mm). Sedangkan untuk diameter zona hambat *Rhizopus oligosporus* tertinggi pada ekstrak etanol 50% (10,93mm), dan terendah ekstrak etanol 96%. Perbedaan diameter zona hambat dapat dipengaruhi oleh struktur sel yang dimiliki oleh mikroorganisme tersebut. *R. oligosporus* dapat memproduksi agen antimikroba (Wang *et al.*, 1969), sehingga mengakibatkan diameter zona yang terbentuk lebih rendah dibandingkan dengan khamir *S. cerevisiae*. Khamir memiliki mikrostruktur

terdiri dari kapsul, dinding sel, membran sitoplasma, nukleus, vakuola, mitokondria, polifosfat dan sitoplasma (Fardiaz, 1992), sedangkan sel jamur mengandung senyawa fosfolipid, sterol, protein nukleus, mitokondria, retikulum endoplasma, ribosom, apparatus golgi, peroksisom, glioksisom, hidrogenesom, lisosom dan liposom. Selain itu dinding spora jamur lebih tebal dari pada dinding hifa, memiliki membran sel yang melindungi isi sel. (Moore- Landecker, 1996).



Gambar 45: Hasil pengamatan zona hambat (mm), a). ekstrak etanol 96%, b) ekstrak etanol 80%, c) ekstrak etanol 65%, d) ekstrak etanol 50% terhadap khamir *S. cerevisiae*.

Lingkaran diameter zona hambat (termaksud diameter paper disk)

Gambar 45 yang tinggi pada sampel konsentrasi etanol 96% dan 50%

dapat disebabkan oleh besarnya kandungan zat antimikroba pada bahan. Komponen fitokimia berupa alkaloid, fenol, tanin, flavanoid, saponin, terpenoid dalam ekstrak merupakan faktor yang menyebabkan kerusakan pada bagian sel kapang maupun khamir. Tanaman dari umbi memiliki kandungan fitokimia yang kompleks (Okbu dan Ndu, 2006).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh terhadap pengukuran zona hambat kapang *R.oligosporus* dan khamir *S.cerevisiae* Untuk nilai tertinggi daya hambat *R.oligosporus* pada etanol 50% sebesar (10,9 mm), sedangkan untuk khamir *S. cerevisiae* pada etanol 96% sekitar (11,1mm). Hal ini berdasarkan nilai kepolaran masing-masing pelarut, etanol 96% berkisar 5,35, etanol 80% yaitu 5,96, etanol 65% yaitu 6,53 dan etanol 50% yaitu 7,1. Nilai indeks polaritas etanol dan air yaitu 5,2 dan 9 (Harborne, 1996). Indeks polar etanol 5,2 dan air 10 (Khalid *et al*, 2011).

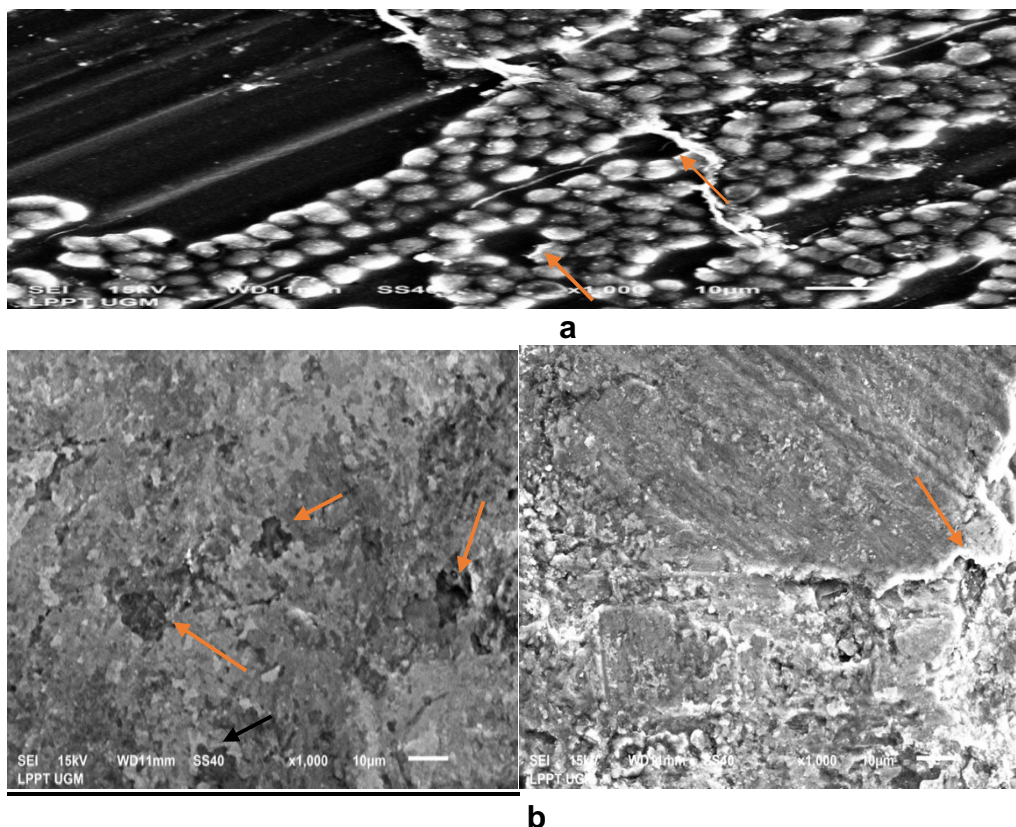
Sampel konsentrasi etanol 96% yang memiliki daya hambat tertinggi kemudian dilakukan pengamatan dengan metode SEM untuk mengetahui jenis kerusakan yang terjadi pada sel khamir akibat penambahan konsentrasi ekstrak etanol umbi uwii 1%.

4. Perubahan morfologi dinding sel Khamir *S. cerevisiae* setelah penambahan ekstrak etanol umbi uwi.

Khamir *Saccharomyces cerevisiae* merupakan cendawan berupa khamir (yeast) sejati tergolong eukariot mempunyai potensi kemampuan yang tinggi sebagai imunostimulan, dan bagian yang bermanfaat tersebut adalah dinding selnya. *Saccharomyces cerevisiae* secara morfologi hanya

membentuk blastospora berbentuk bulat lonjong, silindris, oval atau bulat telur yang dipengaruhi oleh strainnya. Berkembang biak dengan membelah diri melalui “budding cell”.

Khamir *Saccharomyces cerevisiae* mempunyai bentuk sel bulat, oval bahkan memanjang dengan penambahan ekstrak etanol umbi uwi 1% Gambar 46 mengakibatkan bentuk sel khamir mengalami perubahan bentuk yang tidak beraturan dan kerusakan sel.

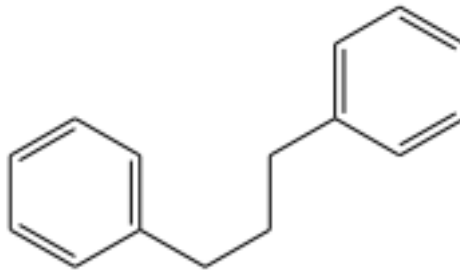


Gambar 46 : Perubahan Morfologi *S.cerevicea* Akibat Paparan Ekstrak Getah Uwi. a) Kenampakan Morfologi Sel *S. cerevicea*. b) Sel Bakteri *S. cerevicea* Mengalami Perubahan Bentuk yang Tidak Beraturan.

Hasil pengamatan dari *Scanning electron mikroskopis* (SEM) terhadap kerusakan sel kapang dan khamir yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol umbi uwi berpotensi merusak dinding sel dan

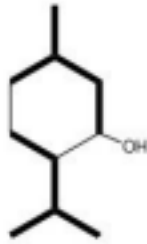
menghambat pertumbuhan kapang *Rhizopus oligosporus* dan khamir *Saccaromyces cerevisiae*. Metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak umbi uwi diantaranya fenol, flavonoid, tanin, saponin, terpenoid dan alkaloid menyebabkan kerusakan pada sel kapang dan khamir. Metabolit sekunder bersifat sebagai antimikroba yang dapat bekerja secara sinergisme dalam merusak dinding sel, merusak membran plasma, menghambat sintesis protein, menghambat sintesis asam nukleat dan menghambat sintesis metabolit - metabolit penting pada bakteri (Pratiwi, 2008).

Mekanisme zat aktif fenol merusak sel dengan mendenaturasi protein yang mengakibatkan rusaknya struktur protein (Palczar dan Chan, 1988). Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenol yang memiliki banyak gugus -OH dengan adanya perbedaan keelektronegatifan yang tinggi, sehingga sifatnya polar. Flavonoid dapat berefek antibakteri melalui kemampuan untuk membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein yang dapat larut serta dengan dinding sel bakteri (Robinson, 1995). Flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai respon terhadap infeksi mikroba, jadi secara in vitro flavonoid efektif sebagai substansi antijamur antimikroba yang membunuh banyak mikroorganisme. Kemungkinan aktivitasnya dikarenakan kemampuan flavonoid membentuk ikatan dengan protein terlarut dan dinding sel bakteri, semakin lipofilik suatu flavonoid semakin merusak membran mikroba (Cowan, 1999)



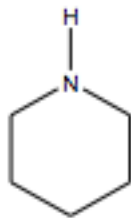
Gambar 47. Struktur Inti Senyawa Flavonoid (Robinson, 1995).

Terpenoid larut dalam lemak dan terdapat di dalam sitoplasma sel tumbuhan (Harbone, 1996). Kebanyakan peneliti berpendapat bahwa fungsi terpenoid rendah dalam tumbuhan, lebih bersifat ekologi dari pada fisiologi. Banyak senyawa ini yang menghambat pertumbuhan tumbuhan pesaingnya dan dapat bekerja sebagai insektisida atau berdaya racun terhadap hewan tinggi (Robinson, 1995). Salah satu senyawa terpenoid yang mempunyai aktivitas antijamur adalah (R)-6-[(Z)-1-heptenil]-5,6-dihidro - 2H - piran - 2 - one yang diisolasi dari *Hyptis ovalifolia* Benth. Senyawa ini menunjukkan aktivitas antijamur secara *in vitro* terhadap *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Tricophyton mentagrophytes*, dan *Tricophyton rubrum*. Bereaksi dengan porin pada membran luar dinding sel bakteri dan membentuk ikatan polimer yang kuat yang mengakibatkan rusaknya porin yang mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati Cowan (1999).



Gambar 48. Struktur Inti Senyawa Terpenoid (Senyawa Mentol) (Robinson, 1995).

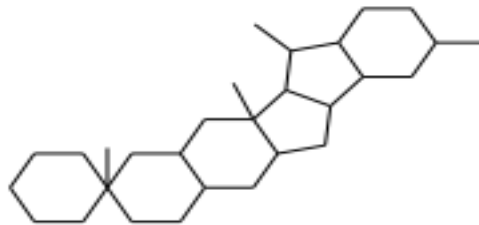
Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada 28 sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson, 1995). Golongan alkaloid dapat diidentifikasi dengan menggunakan pereaksi dragendrof (Kalium tetraiodobismutat) dan pereaksi meyer (Kalium tetraiodomerkurat). Endapan terbentuk karena adanya pembentukan kompleks antara ion logam dari reagen dengan senyawa alkaloid. N H



Gambar 49. Struktur Inti Senyawa Alkaloid (Robinson, 1995).

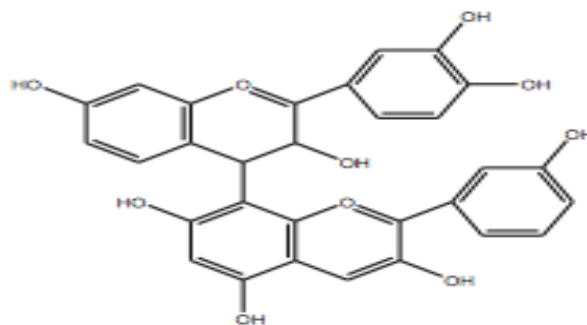
Saponin adalah suatu glikosida yang mungkin ada pada banyak macam tanaman. Saponin mempunyai efek membranolitik yaitu membentuk kompleks dengan kolestrol di membran sel protozoa (Cheeke, 2000). Saponin mempunyai efek antibakteri dan antijamur yang bagus. Efek antijamur dan antibakteri terganggu dengan adanya gugus

monosakarida dan turunannya. Saponin dapat berfungsi sebagai detergen. Detergen memiliki struktur yang dapat berikatan dengan molekul hidrofilik dan molekul-molekul organik non polar (lipofilik) sehingga mampu merusak membran sitoplasma dan membunuh bakteri (Cheeke, 2000).



Gambar 50. Struktur Senyawa Inti Saponin (Robinson, 1995).

Tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Ajizah, 2004). Efek antibakteri tanin antara lain melalui : reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik. Senyawa tanin jika direaksikan dengan $FeCl_3$ menghasilkan senyawa kompleks berwarna hijau kehitaman atau biru tua.



Gambar 51. Struktur Senyawa Tanin (Robinson, 1995).

E. Kesimpulan

Ekstrak etanol umbi uwi mengandung metabolit sekunder yang dapat berperan sebagai antimikroba dalam menghambat pertumbuhan kapang *R. oligosporus* dan khamir *S. cerevisiae*. Konsentrasi ekstrak yang terendah mengakibatkan sel jamur *R. oligosporus* dan sel khamir *S. cerevisiae* mengalami perubahan bentuk pada dinding sel yang tidak beraturan dan terjadi kerusakan sel sehingga dapat mengakibatkan kematian pada sel mikroba.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeosun, O.M., Arotupin, D.J., Toba, O.A., Adebayo, A.A. 2016 Antibacterial activities and phytochemical properties of extracts of *Dioscorea bulb tubers* and peels against some pathogenic bacteria. *J. Phytopharm.* **5** 20–26.
- Akiyama, H., Fuji., Yamasaki. 2001. Antibacterial Action of Several Tannins Against *Staphylococcus aureus.*, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* **48** : 487-91.
- Ariyanti NK, Darmayasa IBG, Sudirga SK. 2012. Daya hambat ekstrak kulit daun lidah buaya (*Aloe barbadensis Miller*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922. *Jurnal Biologi.* **16**(1): 1-4.
- Cowan MM. *Plant products as antimicrobial agents.* Clin Microbiol Rev. 1999. 12(4): 564 – 582.
- Fardiaz, S. 1989. Analisa Mikrobiologi Pangan. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Hamid K. M, Aminah A, Khairiah J, Vimala S. 2011. Antioxidant Activity of Pink-Flesh Guava (*Psidium guajava* L.): Effect of Extraction Techniques and Solvents. *Food Anal. Methods* **4**:100–107 DOI 10.1007/s12161-010-9139-3
- Harbone J. 1996. Methods of plant analysis. In: *Phytochemical Methods.* London : Chapman and Hall.
- Maleki, S., S. M. Seyyednejad, M. N. Damabi and H. Motamedi. 2008. Antibacterial activity of the fluid of Iranian *Torilis leptophylla* against some clinical pathogens. *Journal of Biological Science.* Volume **11** (9): 1286-1289.
- Melzi O. Haiyul F. Erenda Y. 2019. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol dari Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) dengan Metode Difusi Cakram.. *Pharmaceutical Sciences and Research.* **6** (1) : 62-68.
- Moore-Landecker, M.E. 1996. *Fundamentals of the fungi,* Fourth edition, PrenticeHall, Inc., New Jersey.
- Ncube N S, Afolayan A J and Okoh A I. 2008. Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: Current methods and future trends *African J. Biotechnol.* **7** 1797–806.
- Okiqbo R.N, Opara P. U. Anuagasi C. L. 2015. Efficacy of extracts of water yam (*Dioscorea alata*) and aerial yam (*Dioscorea bulbifera*) peels in the control of white yam (*Dioscorea rotundata*) rot. *Journal of Agricultural Technology.* **11** (8): 1823-1842 ISSN 1686-9141.
- Okwu, D.E. 2004. Phytochemicals and vitamin content of indigenous species of South Eastern Nigeria. *Journal of Sustainable African Environment.* **6**:30-34.
- Okwu, D.E. and Ndu, C.U. 2006. Evaluation of the Phytonutrients, Mineral and Vitamin Contents of some Varieties of Yam (*Dioscorea* spp). *International Journal of Molecular and Advanced Sciences* **2**(2):199-203.

- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan.1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jilid 2. Terjemahan Ratna Siri Hadioetomo. UI-Press. Jakarta.
- Puntipa P, Satoshi I, Ubonrat S. 2019. Response surface methodology for optimization of *cinnamon* essential oil nanoemulsion with improved stability and antifungal activity. *J. Ultrasonics - Sonochemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.021>.
- Purbaya, J.R. 2003. *Mengenal dan Memanfaatkan Khasiat Aloe vera*. cv Pionerjaya. Bandung. Hal 21-165.
- Quiroga E. N. Antonio, Marta A.V, and Emma N. 2001. Screening antifungal activities of selected medicinal plants." ***Journal of Ethnopharmacology*** LXXIV: 89-96.
- Rijayanti RP. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang(*Mangifera indica* L) terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro. Disertasi. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungura. Pontianak.
- Rini Y. Pudji W. Yudi P. 2017. Karakterisasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Anti Jamur Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) terhadap *Aspergillus*." *Jurnal Teknologi Pertanian*. **8**(2).
- Robinson. T. 1995. High organic plant content. Bandung ITB.
- Pratiwi, S.T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta: Erlangga
- Salie F, Eagles PFK, Lens HMJ. 1996. Preliminary antimicrobial screening of four South African Asteraceae species. *J. Ethnopharmacol.* **52** 27-33.
- Sitti M.W,. Wahyuni , Fadhliyah M. 2019. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol dan Fraksi Organik Rimpang Wualae. *Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan* **5**(1) ISSN: 2442-9791
- Sukmawati, I. N. Kundera, and G. B. 2017. Shamdas, "Antimicrobial Effectiveness of *Jatropha Curcas* L. Extract on the Growth of *Candida albicas* Mushrooms and Their Utilization as Learning Media ," *e-JIP BIOL*. vol. **5**, no. 2, pp. 142–159, 2017, [Online]. Available: 9375-30599-1-Sm. ISSN 2338-1795
- Wang, J., et al. 2008. Optimisation of Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Wheat Bran. *J. Food Chemistry*, **106**: p. 804-810. 36

BAB VII

PEMBAHASAN UMUM

1. Pengaruh konsentrasi dan waktu maserasi terhadap rendemen ekstrak etanol umbi uwi ungu.

Dalam penelitian ini diperoleh hubungan interaksi konsentrasi pelarut etanol dan waktu maserasi terhadap rendemen dimana penggunaan konsentrasi pelarut etanol 96% dan lama maserasi 3 hari menghasilkan rendemen ekstrak tertinggi sebesar 62,03% yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya serta waktu maserasi yang berbeda. Konsentrasi pelarut dan waktu maserasi berpengaruh terhadap rendemen dimana semakin lama proses maserasi maka rendemen yang diperoleh juga semakin tinggi. Sehingga untuk memperoleh rendemen yang maksimal maserasi 36 jm (3 hr) lebih efektif.

2. Identifikasi kualitatif zat aktif dalam ekstrak etanol umbi uwi.

Kandungan komponen yang terdapat dalam ekstrak etanol umbi uwi yang diperoleh melalui skrining fitokimia positif terdapat komponen alkaloid. Penggunaan pereaksi *Dragendorff* mengakibatkan perubahan warna jingga. Komponen tanin dan fenolik dengan pereaksi FeCl_3 mengakibatkan perubahan warna hijau kehitaman. Komponen flavanoid (pereaksi $\text{Mg}+\text{HCl}$) mengakibatkan perubahan warna merah kekuningan hingga jingga, dan komponen saponin (pereaksi HCL 2N) terbentuk busa. Selanjutnya komponen terpenoid (pereaksi as glacial+ H_2SO_4)

mengakibatkan terbentuk warna merah keunguan. Hal ini diketahui berdasarkan identifikasi kualitatif menggunakan pereaksi warna tertentu, dimana setelah penambahan pereaksi warna tersebut diperoleh perubahan warna yang tergolong kuat hingga sangat kuat dalam ekstrak etanol umbi. Sedangkan pengujian melalui kromatografi lapis tipis untuk mempertegas keberadaan komponen dalam ekstrak diperoleh juga zat alkaloid menggunakan standar baku berupa quinin diperoleh nilai Rf 0,78 terdapat pada perlakuan 96% (3 hr), 80% (1 hr, 2 hr, 3 hr), 65 % (1 hr, 2 hr, 3 hr), 50% (1 hr, 3 hr) . Zat flavanoid standar baku kuersetin nilai Rf 0,96 yang sejajar standar baku yaitu pada perlakuan 96% (1 hr, dan 2 hr), serta pada 65% (1 hr). Zat fenol standar baku asam galat nilai Rf 0,89 pada perlakuan 96% (2 hr). Zat tanin dengan standar baku dengan tannin standar nilai Rf 0,71 pada perlakuan 96% (1 hr, 2hr, 3 hr), 80% (3 hr), 65% (1hr, 2 hr, 3 hr), 50% (1 hr). Dan zat saponin serta triterpenoid dengan standar baku saponin. nilai Rf 0,52 pada 96% (1 hr, 2 hr, 3hr), 80% Rf 0,87 , 0,50 dan 0,27 pada (1 hr, 2hr, 3 hr), 65% nilai Rf 0,50 pada (2 hr), dan 0,5 nilai Rf 0,27, 0,52 pada (2 hr, 3 hr).

Nilai Rf yang diperoleh menandakan bahwa dalam ekstrak umbi ada zat yang sama dengan jenis standar baku yang digunakan. Kemudian identifikasi komponen dengan KLT ini dilakukan dengan menyemprotkan pereaksi warna pada lempeng KLT yang telah diberi ekstrak. Pereaksi warna digunakan untuk melihat reaksi warna yang terbentuk dalam metode skrining fitokimia maupun pada metode plat KLT.

3. Aplikasi senyawa aktif ekstrak etanol umbi uwi dalam menghambat bakteri *E. coli*, *S. aureus*

Komponen aktif yang terdeteksi dalam ekstrak etanol umbi uwi digunakan untuk mengetahui kemampuan komponen dalam ekstrak untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Aplikasi ekstrak getah uwi pada konsentrasi 1% hingga 25% memberikan daya hambat terhadap bakteri *E. coli*. Pada konsentrasi ekstrak 1% terbentuk diameter sebesar 9,3 mm, diameter, sedangkan ekstrak 25% sebesar 13,35 mm. Pada bakteri *S. aureus* dengan konsentrasi 25% diperoleh diameter sebesar 21,78 mm. Konsentrasi 1% zona hambat terendah sebesar 8,63 mm. Dari hasil diameter yang diperoleh dapat diketahui bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak yang digunakan maka diameter zona hambat yang terbentuk juga akan semakin besar. Zona hambat maupun zona bening yang terbentuk dalam medium menandakan bahwa adanya komponen antibakteri dalam zat yang menghambat pertumbuhan bakteri uji (*E. coli* dan *S. aureus*).

Konsentrasi daya hambat minimum bakteri *E. coli* pada konsentrasi ekstrak etanol 1% diperoleh pada perlakuan etanol 96% menghasilkan diameter zona hambat tertinggi sebesar 11,8 mm dan yang terendah pada etanol 65% sebesar 9,9 mm. Sedangkan pada bakteri *S. aureus* diameter zona hambat tertinggi sebesar 11,4 mm, pada ethanol 50%, dan terendah pada ethanol 90% dengan diameter 9,6 mm. Kemampuan daya hambat yang besar dengan nilai konsentrasi minimum dapat dikategorikan sebagai

antimikroba yang memiliki aktivitas yang tinggi terhadap pertumbuhan mikroba.

4. Perubahan morfologi dinding sel bakteri *E. coli* dan *S. aureus* setelah penambahan ekstrak umbi uwi.

Aplikasi ekstrak umbi uwi sekitar 1% mengakibatkan sel bakteri *E.coli* dan mengalami kerusakan dinding sel, kenampakan sel sudah tidak berbentuk batang lurus dan terdapat lekukan. Sedangkan kerusakan sel pada bakteri *S. aureus* mengalami kerusakan pada dinding sel dimana sel terlihat berubah bentuk, dan tidak beraturan.

Aktivitas komponen zat dalam ekstrak etanol umbi uwi mengakibatkan aktivitas bakteri *E. coli* dan *S. aureus* terhambat dan struktur sel bakteri mengalami kerusakan. Komponen metabolit sekunder (Alkaloid, flavanoid, fenol, tanin, saponin, terpenoid) dalam ekstrak etanol umbi uwi yang telah diidentifikasi melalui skrining fitokimia dan profil KLT menyebabkan kerusakan pada sel bakteri. Dimana fenol menyebabkan membran sel bakteri mengalami lisis karena terjadi koagulasi protein, tannin dapat menginaktifkan enzim sel mikroba, saponin mengakibatkan rusak membran plasma sel mikroba, flavonoid merusak sel bakteri, alkaloid menghambat sintesis dinding sel, Terpenoid mempunyai mekanisme antibakteri dengan cara merusak membran sel bakteri.

5. Aplikasi senyawa aktif ekstrak umbi uwi dalam menghambat kapang *R. oligosporus* dan Khamir *S. cerevisiae*.

Zat antimikroba bertujuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba, aplikasi ekstrak etanol umbi uwi dapat menghambat pertumbuhan mikroba jenis kapang *R. oligosporus* dan Khamir *S. cerevisiae*. Konsentrasi ekstrak 1%-25% membentuk zona hambat disekitar medium *R. oligosporus*. Konsentrasi 25% terbentuk zona hambat tertinggi 18,15 mm, sedangkan konsentrasi 1% terbentuk zona hambat terendah 9,60 mm. Kemudian pengukuran zona hambat terhadap khamir *S. cerevisiae* dengan konsentrasi 25% diperoleh zona hambat sebesar 27,25 mm . Konsentrasi 1% diperoleh zona hambat sebesar 18,4 mm. Hal ini menggambarkan bahwa aplikasi ekstrak etanol umbi uwi memberikan pengaruh terhadap zona yang terbentuk pada kapang dan khamir. Sedangkan untuk level konsentrasi menggambarkan bahwa konsentrasi ekstrak yang tinggi maka kandungan komponen bahan aktif dalam ekstrak juga akan semakin tinggi, sehingga kemampuan untuk menghambat pertumbuhan kapang *Rhizopus oligosporus* dan khamir *Saccharomyces cerevisiae* (zona hambat) dalam media akan semakin besar.

Konsentrasi daya hambat terkecil 1% terhadap kapang *Rhizopus Oligosporus* diperoleh zona hambat tertinggi pada perlakuan 50% sebesar 10,93 sebesar mm, dan terendah sebesar 9,50 mm pada perlakuan 96%. Sedangkan diameter zona hambat pada *Saccharomyces cerevisiae* tertinggi pada perlakuan 96% yaitu sebesar 11,07% mm, terendah pada

ekstrak 80% sebesar 9,23 mm. Terbentuknya diameter zona bening disebabkan adanya kandungan zat fitokimia pada bahan berupa alkaloid, fenol, tanin, flavanoid, saponin, terpenoid yang merupakan faktor penyebab kerusakan pada bagian sel kapang maupun khamir.

6. Perubahan morfologi dinding sel kapang *R. oligosporus* dan Khamir *S. cerevicea*.

Perubahan morfologi dinding sel pada kapang *Rhizopus oligosporus* dan khamir *Saccaromyces cerevisiae* setelah penambahan konsentrasi 1% ekstrak etanol umbi uwi mengakibatkan bagian dari sel mikroba mengalami perubahan bentuk yang tidak beraturan dan kerusakan sel. Kerusakan sel kapang dan khamir yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol umbi uwi (1%) dapat merusak dinding sel dan menghambat pertumbuhan kapang *Rhizopus oligosporus* dan khamir *Saccaromyces cerevisiae*. Metabolik sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol umbi uwi (fenol, flavonoid, tanin, saponin, terpenoid dan alkaloid) menyebabkan kerusakan pada sel kapang dan khamir. Metabolit sekunder bersifat sebagai antimikroba yang dapat beraksi dengan cara merusak dinding sel, merusak membran plasma, menghambat sintesis protein, menghambat sintesis asam nukleat dan menghambat sintesis metabolit-metabolit penting pada mikroba.

7. Keunggulan dan kelemahan

Keunggulan dalam penelitian ini yaitu ;

1. Konsentrasi pelarut etanol serta waktu maserasi yang lama sangat mempengaruhi total rendemen ekstrak umbi yang diperoleh. Dalam penelitian ini dihasilkan ekstrak etanol umbi uwi dengan metode maserasi, dan evaporasi yang menggunakan bahan baku utama berupa umbi uwi ungu.
2. Pada penelitian ini diperoleh informasi terkait komponen yang terkandung di dalam ekstrak umbi uwi. Komponen aktif dalam ekstrak etanol umbi uwi (tanin, fenol, flavanoid, alkaloid, terpenoid dan saponin) efektif dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Dimana analisa komponen dalam ekstrak umbi diperoleh dengan metode skrining fitokimia maupun uji KLT. Metode ini memudahkan dalam mendeteksi komponen pada bahan uji.
3. Aplikasi ekstrak etanol umbi uwi konsentrasi terkecil mengakibatkan kerusakan terhadap struktur dan dinding sel mikroorganisme pada bakteri jenis Gram negatif *E. coli*, Gram positif *S. aureus*, kapang jenis *R. oligosporus*, serta pada khamir jenis *S.cerevisiae*. Sehingga ekstrak etanol umbi uwi dengan dengan konsentrasi minim dapat digunakan sebagai antibakteri dan dapat direkomendasikan sebagai bahan pengawet pangan yang alami.

Kelemahan dalam penelitian ini yaitu ;

Penggunaan eluen berupa butanol:air: asam glasial yang digunakan untuk identifikasi komponen metabolit melalui KLT tidak menghasilkan pemisahan noda yang baik sehingga beberapa sampel tidak terdeteksi sejajar dengan baku pembanding. Serta tidak dilakukan fraksinasi dalam penentuan komponen zat aktif.

BAB VIII

KESIMPULAN UMUM

1. Ekstrak komponen dari umbi uwi ungu mengandung alkaloid, tanin, fenol, flavanoid, saponin dan terpenoid.
2. Identifikasi kemampuan komponen metabolik sekunder dari ekstrak etanol umbi uwi ungu ditemukan dapat menghambat pertumbuhan mikroba (*E.coli*, *S.aureus*, *R.oligosporus*, *S.cerevisiae*).
3. Pengaruh konsentrasi ekstrak etanol umbi uwi yang terendah (1%) menghasilkan zona hambat yang tertinggi pada bakteri *E.coli* (etanol 96%). Konsentrasi ekstrak etanol tertinggi (25%) diperoleh zona hambat tertinggi pada khamir *S.cerevisiae* (etanol 96%).
4. Morfologi kerusakan sel mikroba setelah aplikasi ekstrak etanol umbi uwi ungu mengakibatkan sel *E.coli* mengalami lekukan bentuk pada dinding sel. Kemudian pada *S.aureus* mengalami kerusakan sel. Sedangkan pada kapang *R.oligosporus* dan khamir *S.cerevisiae* mengalami perubahan bentuk yang tidak beraturan.

REKOMENDASI

Komponen ekstrak etanol umbi uwi ungu yang diidentifikasi mengandung tanin, fenol, flavanoid, alkaloid, saponin dan terpenoid dapat berpotensi menghambat pertumbuhan pada bakteri *E.coli* dan khamir *S.cerevisiae*. Sehingga rekomendasi untuk pengaplikasian ekstrak etanol umbi uwi ungu lebih lanjut sebagai pengawet bahan pangan yaitu pada pangan yang mudah mengalami kerusakan akibat bakteri *E.coli* seperti bahan pangan mentah yang banyak mengandung protein, dan pada buah-buahan yang mudah dirusak oleh khamir serta pada sari buah anggur yang dapat menjadi asam akibat keberadaan khamir.

A. LAMPIRAN HASIL

Lampiran 1a. Rata-rata Rendemen Pada Perlakuan Konsentrasi Pelarut Etanol dan Lama Maserasi.

perlakuan konsentrasi ethanol (%,v/v)	ulangan			Total	rata-rata
	I	II	III		
96% 1 hari	24,34	21,42	20,71	66,47	22,16
96% 2 hari	30,17	30,44	37,93	98,54	32,85
96% 3 hari	60,03	52,02	74,05	186,1	62,03
80% 1 hari	30,07	29,49	33,63	93,19	31,06
80% 2 hari	29,38	31,13	27,26	87,77	29,26
80% 3 hari	35,01	38,04	36,59	109,64	36,55
65 % 1hari	24,18	20,15	23,65	67,98	22,66
65% 2 hari	16,46	15,51	17,33	49,3	16,43
65% 3 hari	28,02	27,03	29,02	84,07	28,02
50% 1 hari	19,29	17,61	16,79	53,69	17,90
50% 2 hari	26,52	21,71	22,46	70,69	23,56
50% 3 hari	30,02	32,02	29,46	91,5	30,50
Total	353,49	336,57	368,88	1058,94	

Lampiran 1b. Hasil Pengamatan Rendemen Pada perlakuan Konsentrasi Pelarut Etanol dan Lama Maserasi

perlakuan waktu maserasi	Konsentrasi ethanol (%, v/v)				rata-rata
	96 %	80%	65%	50%	
1 hari	22,16	30,16	22,66	17,89	23,44
2 hari	32,85	29,26	16,44	23,56	25,53
3 hari	62,04	36,55	28,02	30,5	39,28
Total	39,02	32,29	22,37	23,98	

Lampiran 1c. Sidik Ragam Rendemen Pada Perlakuan Konsentrasi Pelarut Etanol dan Lama Maserasi.

SK	DB	JK	KT	F- hitung	ket	F-tabel	
						0,05	0,01
Perlakuan	11	4698,60	427,15	15,84	**	2,63	4,02
Perendaman pelarut etanol (k)	3	1614,90	538,30	19,96	**	3,41	5,74
Maserasi (m)	2	1776,23	888,11	32,94	**	3,81	6,70
interaksi (k x M)	6	1307,47	217,91	8,08	**	2,92	4,62
galat	13	350,53	26,96				
Total	35	5049,126					

Keterangan : ** : Berpengaruh sangat nyata

Lampiran 1d. Uji Lanjut Rendemen Pada Perlakuan Konsentrasi Pelarut Etanol dan Lama Maserasi.

konsentrasi pelarut etanol (k)	Lama Maserasi (m)		
	1 hari (m1)	2 hari (m2)	3 hari (m3)
96 % (k1)	22,16 cde	32,85 bc	62,03 a
80 % (k2)	31,06 bcd	29,26 bcde	36,55 b
65 % (k3)	22,66 bcde	16,43 e	28,02 bcde
50 % (k4)	17,90 de	23,56 bcde	30,50 bcd
NP. Tukey α 0,05	14,06		

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama (a,b,c,d,e) tidak berbeda nyata pada uji lanjut Tukey taraf kepercayaan α 0,05

Lampiran 1e. Uji Lanjut Rendemen Pada Perlakuan Konsentrasi Pelarut Etanol dan Lama Maserasi.

konsentrasi pelarut etanol (k)	Maserasi (m)			rata-rata	NP. Tukey α 0.05
	1 hari (m1)	2 hari (m2)	3 hari (m3)		
96 % (k1)	22,16	32,85	62,03	39,01 a	6,5
80 % (k2)	31,06	29,26	36,55	32,29 b	
65 % (k3)	22,66	16,43	28,02	22,37 c	
50 % (k4)	17,90	23,56	30,50	23,99 c	
rata-rata	23,44 y	25,53 y	39,28 x		
NP. Tukey α 0.05	4,59				

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom (a,b,c) dan baris (x,y) tidak berbeda nyata pada uji lanjut BNJ/Tukey taraf kepercayaan α 0,05

Lampiran 1f: Hasil Pengamatan Skrining Fitokimia Secara Kualitatif Pada Ekstrak Etanol Umbi Uwi

Konsentrasi U1	hari	Alkaloid (dragendrof) Warna jingga	Tannin($FeCl_3$) Birutua/ hijau kehitaman	FLavanoid (Mg+amil alcohol) Merah,kuning- jingga	Fenol($FeCl_3$) Birutua/ hijaukehitaman	Terpenoid (asglacial+ H_2SO_4)	Saponin (HCl 2N) Terbentuk busa
96%	1	+++	+++	++ (kuning- cklt)	+++	++	+
	2	+++	+++	+++	++	++	++
	3	+++	+++	++ (mrhmuda)	++	++	++
80 %	1	+++	++	+	++	++	+
	2	+++	+++	+++	+++	++	+++
	3	++	++	++	++	++	+
65 %	1	+++	+++	+++	+++	++	+
	2	+++	++	+ kuning	++	++	+
	3	+++	+++	++ coklat	+++	++	+++
50 %	1	++	++	+	++	++	+
	2	+++	+++	+++	+++	++	+++
	3	+++	+++	+++	+++	++	+++

Konsentrasi U2	hari	Alkaloid (dragendrof) Warna jingga	Tannin(feCl3) Birutua/ hijau kehitaman	FLavanoid (Mg+amil alcohol) Merah,kuning- jingga	Fenol(Fecl3) Birutua/ hijau kehitaman	Terpenoid (asglacial+ H2so4)	Saponin (Hcl 2N) Terbentuk busa
96%	1	+++	+++	+++	+++	+++	-
	2	++	+++	+++	+++	+++	-
	3	+++	+++	+++	+++	+++	+
80 %	1	++	++	++	+++	++	+
	2	+++	+++	++	++	+++	+
	3	+++	+++	+++	+++	+++	+
65 %	1	+++	+++	+++	+++	++	-
	2	++	++	+	++	+++	-
	3	+++	+++	++	++	+++	++
50 %	1	+++	+++	+++	+++	++	+
	2	++	++	++	+++	+++	+++
	3	++	++	++	+++	+++	++

Konsentrasi U3	hari	Alkaloid (dragendrof) Warnajingga	Tannin(feCl ³) Birutua/hijaukehitan	FLavanoid (Mg+amil alcohol) Merah,kuning-jingga	Fenol(Fecl3) Birutua/hijaukehitan	Terpenoid (asglacial+ H2so4)	Saponin (Hcl 2N) Terbentuk busa
96%	1	+++	+++	+++	+++	+++	+
	2	+	++	+	+	+++	+
	3	++	+++	++	+++	+++	+
80 %	1	+++	+++	+++	+++	+++	+
	2	++	++	+	++	+++	+
	3	+++	++	+++	++	+++	+
65 %	1	+++	+++	++	+++	+++	+++
	2	++	++	++	+++	+++	++
	3	+++	+++	++	+++	+++	+++
50 %	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	2	++	++	+	++	+++	+
	3	+++	++	+	+++	+++	+

Keterangan : +++ warna yang sangat kuat, ++ warna kuat, + warna sedang

Lampiran 1g : Hasil Pengamatan Serata Skrining Fitokimia Secara Kualitatif Pada Ekstrak Umbi Uwi Metode Uji Tabung

Komponen zat aktif	Konsentrasi etanol												Keterangan
	96%			80%			65%			50%			
	1hr	2hr	3hr	1hr	2hr	3hr	1hr	2hr	3hr	1hr	2hr	3hr	
Alkaloid	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	Dragendrof / jingga
Tanin	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	++	FeCl ₃ / Birutua/ hijau kehitaman
Flavanoid	+++	+++	++	++	++	+++	+++	+	++	+++	++	++	HCl asam sulfat /Merah,kuning-jingga
Fenol	+++	++	+++	+++	++	++	+++	++	++	+++	+++	+++	FeCl ₃ / Birutua/ hijau kehitaman
terpenoid	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	+++	terpenoid as glacial+H ₂ So ₄ /merah/ungu
Saponin	+	++	++	+	+	+	++	++	++	+	+++	++	HcL 2N / Terbentuk busa

Keterangan : +++ warna yang sangat kuat, ++ warna kuat, + warna sedang

Lampiran 1h : Hasil Nilai Rf Identifikasi Komponen Flavanoid Dlm Ekstrak Etanol Umbi Uwi Pada Plat KLT

		FLavanoid						Keterangan
		UV 256		UV 365				
Konsentrasi ekstrak	Hari	U3	Rf	U2	Rf	U3	Rf	
96 %	1	5,3	0,96			5,3	0,96	
	2	5,3	0,96	5,3	0,96	5,3	0,96	
	3			5,3	0,96	-	-	
80 %	1			-	-	-	-	
	2			-	-	-	-	Noda baku (kuarsetin) 5,3 Rf 0,96
	3			-	-	-	-	
65 %	1			5,3	0,96	-	-	
	2			-	-	-	-	
	3			-	-	-	-	
50 %	1			-	-	-	-	
	2			-	-	-	-	
	3			-	-	-	-	
				-	-	-	-	
				-	-	-	-	
				-	-	-	-	

Lampiran 1i : Hasil Nilai Rf Identifikasi Komponen Tanin Dlm Ekstrak Etanol Umbi Uwi Pada Plat KLT

		Tanin				Keterangan
Konsentrasi ekstrak	Hari	U2	Rf	U3	RF	
96 %	1			3,9	0,71	
	2			3,9	0,71	Baku U2 tannin standard (4,9 Rf 0,89)
	3	4,9	0,89	3,9	0,71	
80 %	1					
	2					
	3			3,9	0,71	
65 %	1			3,9	0,71	Baku U3 tanin standard (3,9 Rf 0,71)
	2			3,9	0,71	
	3			3,9	0,71	
50 %	1			3,9	0,71	
	2		-			
	3		-			

Lampiran 1j : Hasil Nilai Rf Identifikasi Zat Fenol Dalam Ekstrak Umbi Uwi Pada Plat KLT

FENOL							
Konsentrasi ekstrak	Hari	U1	U2	Rf	U3	Rf	Keterangan
96 %	1	-			4,2	0,76	
	2	-	4,9	0,89	4,2	0,76	Baku U2
	3	-			4,2	0,76	tanin standard (4,9 Rf 0,89)
80 %	1	-					
	2	-			4,2	0,76	
	3	-			4,2	0,76	
65 %	1	-			4,2	0,76	Baku U3
	2	-			4,2	0,76	tanin standard (3,9 Rf 0,71)
	3	-			4,2	0,76	
50 %	1	-					
	2	-					
	3	-					

Lampiran 1k : Hasil Nilai Rf Identifikasi Komponen Alkaloid Dlm Ekstrak Umbi Etanol Uwi Pada Plat KLT

Alkaloid									
Knstrsi ekstrak	Hari	UV 256			UV 365			Keterangan	
		U1	U2	Rf	U2	Rf	U3	Rf	
96 %	1								Baku U1, U2
	2								
	3	4,3		0,78	4,5	0,81			Quinin (4,3Rf 0,78)
80 %	1				4,5	0,81			Baku U2 (uv 365)
	2	4,3	4,3	0,78					Quinin (4,5 Rf 0,81)
	3	4,3	4,3	0,78	4,5	0,81			
65 %	1				4,5	0,81			Baku U3 (uv 365)
	2	4,3	4,3	0,78			3,5	0,63	Quinin (3,5 Rf 0,63)
	3	4,3	4,3	0,78					
50 %	1						3,5	0,63	Baku U3 (uv 365)
	2								Quinin (3,5 Rf 0,63)
	3		4,3	0,78			3,5	0,63	

Lampiran 11 : Hasil Nilai Rf Identifikasi Komponen Saponin dan Terpenoid
Dlm Ekstrak Etanol Umbi Uwi Pada Plat KLT

Saponin dan terpenoid								Keterangan Baku saponin (UI 0,7, U2 1, U3 1)
Knsntrsi ekstrak	Hari	UI	RF	Setelah pemanasan				
				U2	RF	U3	RF	
96 %	1			1,5	0,27	3,5	0,63	
	2	2,9	0,5 2	1,5	0,27			
	3	2,9	0,5 2	1,5	0,27	2,9	0,52	
80 %	1			1,5	0,27			
	2			4,8	0,87	2,8	0,50	
	3			4,8	0,87	2,8	0,50	
65 %	1							
	2					2,8	0,50	
	3							
50 %	1							(U3 3.5 Rf 0.63, 2,9 Rf 0,52, 2,8 Rf 0,50)
	2			1,5	0,27	2,9	0,52	
	3			1,5	0,27			

Lampiran 2a. Hasil Pengamatan Diameter Zona Hambat Pada
Perlakuan Bakteri *E. coli* Sampel Ekstrak Etanol 96%.

Perlakuan bakteri <i>E. coli</i> sampel ekstrak ethanol 96%	ulangan		Total	rata- rata
	I	II		
konsentrasi 0,01% (p1)	10	8,6	18,6	9,3
konsentrasi 0,02% (p2)	7,2	9,6	16,8	8,4
konsentrasi 0,04% (P3)	8,8	10,9	19,7	9,85
konsentrasi 0,06% (p4)	10,4	11,4	21,8	10,9
konsentrasi 0,08% (p5)	8,3	11,8	20,1	10,05
konsentrasi 0,15% (p6)	11,1	12,6	23,7	11,85
konsentrasi 0,2% (p7)	12,9	13,1	26	13
konsentrasi 0,25% (p8)	13,1	13,6	26,7	13,35
Total	81,8	91,6	173,4	

Lampiran 2b. Sidik Ragam Pengamatan Diameter Zona Hambat Pada Perlakuan Bakteri *E. coli* Sampel Ekstrak Etanol 96%.

SK	DB	JK	KT	F- hitung	ket	F-tabel	
						0,05	0,01
Perlakuan	7	43,84	6,26	3,59	*	3,50	6,18
galat	8	13,96	1,75				
Total	15	57,8					

Keterangan : * : Berpengaruh Nyata

Lampiran 2c. Uji Lanjut pengamatan Diameter Zona Hambat Pada Perlakuan Bakteri *E. coli* Sampel Ekstrak Etanol 96%.

Perlakuan bakteri <i>E. coli</i> sampel ekstrak ethanol 96% (p)	rata-rata	NP. Tukey $\alpha 0,05$
konsentrasi 0,01% (p1)	9,30 b	
konsentrasi 0,02% (p2)	8,40 b	
konsentrasi 0,04% (P3)	9,85 ab	
konsentrasi 0,06% (p4)	10,90 ab	3,57
konsentrasi 0,08% (p5)	10,05ab	
konsentrasi 0,15% (p6)	11,85 ab	
konsentrasi 0,2% (p7)	13,00 a	
konsentrasi 0,25% (p8)	13,35 a	

Keterangan: Angka yang Diikuti Dengan Huruf yang Sama (a,b,c,d,e) Tidak Berbeda Nyata Pada Uji Lanjut Tukey Taraf Kepercayaan a 0.05

Lampiran 3a. Hasil Pengamatan Diameter Zona Hambat Pada Perlakuan Bakteri *E. coli* Sampel Ekstrak Konsentrasi Getah 1%

Perlakuan bakteri <i>E. coli</i> sampel ekstrak getah 0.01%	ulangan			Total	Rata-rata
	U1	U2	U3		
konsetrasi 96% (k1)	11,4	11,9	12	35,3	11,8
konsentrasi 80% (k2)	9,2	10,8	11,1	31,1	10,4
konsentrasi 65% (k3)	8,6	10,1	11,1	29,8	9,9
konsentrasi 50% (k5)	84	10,6	11,2	30,2	10,1
Total	37,60	43,40	45,40	126,40	

Lampiran 3b. Sidik Ragam Pengamatan Diameter Zona Hambat Pada Perlakuan Bakteri *E. coli* Sampel Ekstrak Getah 1%

SK	DB	JK	KT	F- hitung	ket	F-tabel	
						0,05	0,01
Perlakuan	3	6,38	2,13	1,73	tn	4,07	7,59
galat	8	9,81	1,23				
Total	11	16,2					

Keterangan : tn : Berpengaruh Tidak Nyata

Lampiran 4a. Hasil Pengamatan Diameter Zona Hambat Pada Perlakuan Bakteri *S. aureus*. Sampel Ekstrak Etanol 96%.

Perlakuan bakteri <i>S. aureus</i> sampel ekstrak ethano 96%	ulangan		Total	rata- rata
	I	II		
konsentrasi 0,01% (p1)	7,2	10,05	17,25	8,63
konsentrasi 0,02% (p2)	8,7	11,8	20,5	10,25
konsentrasi 0,04% (P3)	10,2	12,05	22,25	11,13
konsentrasi 0,06% (p4)	11,05	10,3	21,35	10,68
konsentrasi 0,08% (p5)	7,4	14,4	21,8	10,90
konsentrasi 0,15% (p6)	17,2	20,4	37,6	18,80
konsentrasi 0,2% (p7)	20,5	21,3	41,8	20,90
konsentrasi 0,25% (p8)	20,5	23,05	43,55	21,78
Total	102,75	123,35	226,1	

Lampiran 4b. Sidik Ragam Pengamatan Diameter Zona Hambat Pada Perlakuan Bakteri *S. aureus* Sampel Ekstrak Umbi 96%

SK	DB	JK	KT	F- hitung	ket	F-tabel	
						0.05	0.01
Perlakuan	7	40569	57,96	10,53	**	3,50	6,18
galat	8	44,05	5,51				
Total	15	449.7					

Keterangan : ** : Berpengaruh sangat nyata

Lampiran 4c. Uji Lanjut pengamatan Diameter Zona Hambat Pada Perlakuan Bakteri *S. aureus* Sampel Ekstrak Etanol 96%.

Perlakuan bakteri <i>S. aureus</i> sampel ekstrak ethano 96%	rata-rata	NP. Tukey $\alpha 0.05$
konsentrasi 0,01% (p1)	8,63 b	
konsentrasi 0,02% (p2)	10,25 b	
konsentrasi 0,04% (P3)	11,13 b	
konsentrasi 0,06% (p4)	10,68 b	6,34
konsentrasi 0,08% (p5)	10,90 b	
konsentrasi 0,15% (p6)	18,80 a	
konsentrasi 0,2% (p7)	20,90 a	
konsentrasi 0,25% (p8)	21,78 a	

Keterangan: Angka yang Diikuti dengan Huruf yang Sama (a,b) Tidak Berbeda Nyata Pada Uji lanjut Tukey Taraf Kepercayaan $\alpha 0.05$

Lampiran 5a. Hasil Pengamatan Diameter Zona Hambat Pada Perlakuan Bakteri *S.aureus* Sampel Ekstrak Umbi 1%

Perlakuan bakteri <i>S. aureus</i> sampel ekstrak getah 0.01%	ulangan			Total	Rata-rata
	U1	U2	U3		
konsetrasi 96% (k1)	9	9,6	10,2	28,8	9,6
konsentrasi 80% (k2)	9,9	11,4	11,8	33,1	11,0
konsentrasi 65% (k3)	9,5	11,2	11,8	32,5	10,8
konsentrasi 50% (k5)	10,5	11,4	12,4	34,3	11,4
Total	38,90	43,60	46,20	128,70	

Lampiran 5b. Sidik Ragam Pengamatan Diameter Zona Hambat Pada Perlakuan Bakteri *S. aureus* Sampel Ekstrak Umbi 1%

SK	DB	JK	KT	F-hitung	ket	F-tabel	
						0,05	0,01
Perlakuan	3	5,62	1,87	2,03	tn	4,07	7,59
galat	8	7,38	0,92				
Total	11	13,0					

Keterangan : tn : Berpengaruh Tidak Nyata

Lampiran 6a. Hasil Pengamatan Diameter Zona Hambat Pada Perlakuan Kapang *R. oligosporus* Sampel Ekstrak Etanol 96%.

Perlakuan kapang <i>R. Oligosporus</i> sampel ekstrak ethanol 96%	ulangan		Total	rata- rata
	I	II		
konsentrasi 0,01% (p1)	9,6	9,6	19,2	9,6
konsentrasi 0,02% (p2)	10,4	10,9	21,3	10,65
konsentrasi 0,04% (P3)	11,3	11,4	22,7	11,35
konsentrasi 0,06% (p4)	12,3	11,9	24,2	12,1
konsentrasi 0,08% (p5)	11,1	15,6	26,7	13,35
konsentrasi 0,15% (p6)	13,6	17,4	31	15,5
konsentrasi 0,2% (p7)	17	17,8	34,8	17,4
konsentrasi 0,25% (p8)	17,9	18,4	36,3	18,15
Total	103,2	113	216,2	

Lampiran 6b. Sidik Ragam Pengamatan Diameter Zona Hambat Pada Perlakuan Kapang *R. oligosporus* Sampel Ekstrak Etanol 96%.

SK	DB	JK	KT	F- hitung	ket	F-tabel	
						0,05	0,01
Perlakuan	7	141,54	20,22	8,99	**	3,50	6,18
galat	8	18,00	2,25				
Total	15	159,5					

Keterangan : ** : Berpengaruh Sangat Nyata

Lampiran 6c. Uji lanjut pengamatan diameter zona hambat pada Perlakuan kapang *R. oligosporus* sampel ekstrak ethanol 96%.

Perlakuan kapang <i>R. oligosporus</i> sampel ekstrak ethanol 96%	rata-rata	NP. Tukey <i>a</i> 0.05
konsentrasi 0,01% (p1)	9,60 d	
konsentrasi 0,02% (p2)	10,65 d	
konsentrasi 0,04% (P3)	11,35 d	
konsentrasi 0,06% (p4)	12,10 cd	
konsentrasi 0,08% (p5)	13,35 bcd	4.05
konsentrasi 0,15% (p6)	15,50 abc	
konsentrasi 0,2% (p7)	17,40 ab	
konsentrasi 0,25% (p8)	18,15 a	

Keterangan: Angka yang Diikuti Dengan Huruf yang Sama (a,b,c,d) Tidak Berbeda Nyata Pada Uji Lanjut Tukey Taraf Kepercayaan a 0.05

Lampiran 7a. Hasil pengamatan Zona Hambat Pada Perlakuan Kapang *R. oligosporus* Sampel Ekstrak Umbi 1%

Perlakuan kapang <i>R. oligosporus</i> sampel ekstrak getah 0.01%	ulangan			Total	Rata- rata
	U1	U2	U3		
konsetrasi 96% (k1)	9,3	9,9	10,2	29,4	9,8
konsentrasi 80% (k2)	7,9	10,1	10,5	28,5	9,5
konsentrasi 65% (k3)	9,1	10,2	10,8	30,1	10,0
konsentrasi 50% (k5)	9,6	11,4	11,8	32,8	10,9
Total	35,90	41,60	43,30	120,80	

Lampiran 7b. Sidik Ragam Pengamatan Diameter Zona Hambat Pada Perlakuan Kapang *R. oligosporus* Sampel Ekstrak Umbi 1%

SK	DB	JK	KT	F- hitung	ket	F-tabel	
						0.05	0.01
Perlakuan	3	3,43	1,14	1,07	tn	4,07	7,59
galat	8	8,57	1,07				
Total	11	12,0					

Keterangan : tn : Berpengaruh Tidak nyata

Lampiran 8a. Hasil Pengamatan Diameter Zona Hambat Pada Perlakuan Khamir *S. cereviceae* Sampel Ekstrak Etanol 96%.

Perlakuan bakteri <i>S.cereviceae</i> sampel ekstrak ethanol 96%	ulangan		Total	rata- rata
	I	II		
konsetrasi 0,01% (p1)	19,6	17,2	36,8	18,4
konsetrasi 0,02% (p2)	20,3	22,3	42,6	21,3
konsetrasi 0,04% (P3)	22,6	23,1	45,7	22,85
konsetrasi 0,06% (p4)	23,05	24,2	47,25	23,625
konsetrasi 0,08% (p5)	23,1	22	45,1	22,55
konsetrasi 0,15% (p6)	25,5	22,4	47,9	23,95
konsetrasi 0,2% (p7)	24,6	22,8	47,4	23,7
konsetrasi 0,25% (p8)	28	26,5	54,5	27,25
Total	186,75	180,5	367,25	

Lampiran 8b. Sidik Ragam Pengamatan Diameter Zona Hambat Pada Perlakuan Khamir *S. cereviceae* Sampel Ekstrak Etanol 96%.

SK	DB	JK	KT	F- hitung	ket	F-tabel	
						0,05	0,01
Perlakuan	7	88,21	12,60	7,29	**	3,50	6,18
galat	8	13,82	1,73				
Total	15	102,0					

Keterangan : ** : Berpengaruh Sangat Nyata

Lampiran 8c. Uji Lanjut Pengamatan Diameter Zona Hambat Pada Perlakuan Khamir *S. cereviceae* Sampel Ekstrak Etanol 96%.

Perlakuan bakteri <i>S. cereviceae</i> sampel ekstrak ethanol 96%	rata-rata	NP. Tukey <i>a</i> 0.05
konsentrasi 0,01% (p1)	18,40 c	3,55
konsentrasi 0,02% (p2)	21,30 bc	
konsentrasi 0,04% (P3)	22,85 b	
konsentrasi 0,06% (p4)	23,63 b	
konsentrasi 0,08% (p5)	22,55 b	
konsentrasi 0,15% (p6)	23,95 ab	
konsentrasi 0,2% (p7)	23,70 b	
konsentrasi 0,25% (p8)	27,25 a	

Keterangan: Angka yang Diikuti Dengan Huruf yang Sama (a,b,c) Tidak Berbeda Nyata Pada Uji Lanjut Tukey Taraf Kepercayaan a 0.05

Lampiran 9a. Hasil Pengamatan Diameter Zona Hambat Pada Perlakuan Khamir *S. cereviceae* Sampel Ekstrak Umbi 1%

Perlakuan khamir <i>S. cereviceae</i> sampel ekstrak getah 1%	ulangan			Total	Rata-rata
	U1	U2	U3		
konsetrasi 96% (k1)	10,5	10,9	11,8	33,2	11,1
konsentrasi 80% (k2)	8,2	9,4	10,1	27,7	9,2
konsentrasi 65% (k3)	9,1	10,1	10,9	30,1	10,0
konsentrasi 50% (k5)	9,1	10,2	11,1	30,4	10,1
Total	36,90	40,60	43,90	121,40	

Lampiran 9b. Hasil Pengamatan Diameter Zona Hambat Pada Perlakuan Khamir *S. cereviceae* Sampel Ekstrak 1%

SK	DB	JK	KT	F-hitung	ket	F-tabel	
						0.05	0.01
Perlakuan	3	5,07	1,69	2,12	tn	4,07	7,59
galat	8	6,37	0,80				
Total	11	11,4					

Lampiran 10. DATA RENDEMEN EKSTRAK

ULANGAN 1													
wkt maserasi (Hr)	Konentrasi (%)	Tanggal	Berat basah awal (g)	Kadar air basah (%)	Kadar air kering (%)	Jmlh larutan (ml)	Filtrat (ml)	Ampas (g)	Brt cawan (g)	Brt cawan +ekstrak (g)	Brt ekstrak (akhir) (gr)	Brt total padatan (gr)	Rendemen (%) (brt ekstrak akhir/brt total pdtan x 100)
1	96	19-20/09/2018	500	78.83	78.83	1000	950	420	223	228	5	78.83	6.342762908
1	80		500	78.83	78.83	1000	1000	510	223	227	4	78.83	5.074210326
1	65		500	78.83	78.83	1000	750	490	200	223	23	78.83	29.17670937
1	50		500	78.83	78.83	1000	700	490	190	206	16	78.83	20.2968413
2	96	15-17/09/2018	500	23.16	30.14	1000	842	410	210	231	21	34.9	60.17191977
2	80		500	23.16	30.14	1000	750	490	224	236	12	34.9	34.38395415
2	65		500	23.16	30.14	1000	700	650	222	226	4	34.9	11.46131805
2	50		500	23.16	30.14	1000	625	652	203	214	11	34.9	31.51862464
3	96	15-18/09/2018	500	27.01	37.004	1000	800	467	133	163	30	49.97	60.03602161
3	80		500	27.01	37.004	1000	790	440	224	234	10	49.97	20.0120072
3	65		500	27.01	37.004	1000	800	451	224	238	14	49.97	28.01681009
3	50		500	27.01	37.004	1000	823	548	137	157	20	49.97	40.02401441

ULANGAN 2

waktu maserasi (Hr)	konentrasi (%)	Tanggal	berat basah awal uwi (gr)	kadar air basah (%)	kadar air kering (%)	jumlah larutan (ml)	filtrat (ml)	ampas (gr)	berat cawan (gr)	berat cawan +ekstrak (gr)	berat ekstrak (akhir) (gr)	berat total padatan (gr)	rendemen (%)
1	96	16-17/10/2018	500	78.83	78.83	1000	810	500	181	190	9	78.83	11.41697323
1	80		500	78.83	78.83	1000	800	580	181	194	13	78.83	16.49118356
1	65		500	78.83	78.83	1000	450	720	186	194	8	78.83	10.14842065
1	50		500	78.83	78.83	1000	550	600	186	192	6	78.83	7.611315489
2	96	09-11/10/2018	500	78.83	78.83	1000	750	520	180	204	24	78.83	30.44526196
2	80		500	78.83	78.83	1000	650	580	180	214	34	78.83	43.13078777
2	65		500	78.83	78.83	1000	800	580	180	208	28	78.83	35.51947228
2	50		500	78.83	78.83	1000	600	580	180	205	25	78.83	31.71381454
3	96	22-25/10/18	500	27.01	37.004	1000	940	419	259	280	21	49.97	42.02521513
3	80		500	27.01	37.004	1000	1000	413	138	175	37	49.97	74.04442666
3	65		500	27.01	37.004	1000	800	513	134	157	23	49.97	46.02761657
3	50		500	27.01	37.004	1000	830	548	137	158	21	49.97	42.02521513

ULANGAN 3

waktu maserasi (Hr)	konentrasi (%)	Tanggal	berat basah awal uwi (gr)	kadar air basah (%)	kadar air kering (%)	jumlah larutan (ml)	filtrat (ml)	ampas (gr)	berat cawan (gr)	berat cawan +ekstrak (gr)	berat ekstrak (akhir) (gr)	berat total padatan (gr)	rendemen (%)
1	96	23/10/2018	500	23.16	30.14	1000	910	480	130	147	17	34.9	48.71060172
1	80		500	23.16	30.14	1000	800	498	130	155	25	34.9	71.63323782
1	65		500	23.16	30.14	1000	850	480	128	138	10	34.9	28.65329513
1	50		500	23.16	30.14	1000	550	680	134	143	9	34.9	25.78796562
2	96	27-29/10/18	500	47.46	90.35	1000	870	465	132	149	17	214.45	7.927255771
2	80		500	47.46	90.35	1000	850	508	133	155	22	214.45	10.25880159
2	65		500	47.46	90.35	1000	800	483	136	141	5	214.45	2.331545815
2	50		500	47.46	90.35	1000	620	564	132	148	16	214.45	7.460946608
3	96	23-26/10/2018	500	27.01	37.004	1000	910	441	134	176	42	49.97	84.05043026
3	80		500	44.62	80.54	1000	980	341	133	161	28	179.6	15.59020045
3	65	29/10 - 01/11 2018	500	44.62	80.54	1000	852	534	201	219	18	179.6	10.02227171
3	50		500	27.01	37.004	1000	830	548	137	158	21	49.97	42.02521513

REKAPAN DATA TOTAL RENDEMEN EKSTRAK

U1	RENDEMEN	U2	RENDEMEN	U3	RENDEMEN	RERATA	TOTAL RENDEMEN
90% 1 hari	6.342762908	90% 1 hari	11.41697323	90% 1 hari	48.71060172	66.47033786	22.15677929
80% 1 hari	5.074210326	80% 1 hari	16.49118356	80% 1 hari	71.63323782	93.19863171	31.06621057
65 % 1hari	29.17670937	65 % 1hari	10.14842065	65 % 1hari	28.65329513	67.97842516	22.65947505
50% 1 hari	20.2968413	50% 1 hari	7.611315489	50% 1 hari	25.78796562	53.69612241	17.89870747
96% 2 hari	60.17191977	96% 2 hari	30.44526196	96% 2 hari	7.927255771	98.5444375	32.84814583
80% 2 hari	34.38395415	80% 2 hari	43.13078777	80% 2 hari	10.25880159	87.77354351	29.25784784
65% 2 hari	11.46131805	65% 2 hari	35.51947228	65% 2 hari	2.331545815	49.31233615	16.43744538
50% 2 hari	31.51862464	50% 2 hari	31.71381454	50% 2 hari	7.460946608	70.69338579	23.56446193
96% 3 hari	60.03602161	96% 3 hari	42.02521513	96% 3 hari	84.05043026	186.111667	62.03722233
80% 3 hari	20.0120072	80% 3 hari	74.04442666	80% 3 hari	15.59020045	109.6466343	36.5488781
65% 3 hari	28.01681009	65% 3 hari	46.02761657	65% 3 hari	10.02227171	84.06669837	28.02223279
50% 3 hari	40.02401441	50% 3 hari	42.02521513	50% 3 hari	9.465478842	91.51470838	30.50490279

Konsentrasi	1	2	3	
96 %	22.15677929	32.84814583	62.03722233	%
80 %	31.06621057	29.25784784	36.5488781	%
65 %	22.65947505	16.43744538	28.02223279	%
50 %	17.89870747	23.56446193	30.50490279	%

