



**POTENSI EKSTRAK DAUN MELINJO (*Gnetum gnemon* L.)
TERENKAPSULASI SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN
ANTIBAKTERI *Escherichia coli* DAN *Bacillus Subtilis***

SKRIPSI

oleh

**Nimas Ayu Anggraeni
NIM 131710101088**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**



**POTENSI EKSTRAK DAUN MELINJO (*Gnetum gnemon* L.)
TERENKAPSULASI SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI
Escherichia coli DAN *Bacillus Subtilis***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Teknologi Hasil Pertanian (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

oleh

**Nimas Ayu Anggraeni
NIM 131710101088**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan sebagai rasa terima kasih yang tidak terkira kepada:

1. **ALLAH SWT.** Yang telah melimpahkan rahmat dan barokah Nya kepada penulis dalam kelancaran studi dan pengerjaan skripsi.
2. **Ayahanda Sujono dan Ibunda Hetti Suswanti.** Terima kasih atas do'a restu, kasih sayang dan kegigihannya dalam menyekolahkan anandamu ini hingga ke perguruan tinggi. Meskipun terpisah jarak ananda selalu menyayangi dan akan selalu berjuang membahagiakan ayah dan mama.
3. **Kakekku tersayang W. Soekamto** yang selalu mendukung dan merawat ananda sejak kecil, terimakasih telah menjadi orang tua kedua bagi ananda yang selalu berjuang membahagiakan dan merawat ananda hingga ananda dapat menyelesaikan studi di perguruan tinggi.
4. **Satriyo Puguh Wibisono** terimakasih selalu membantu dan mendukung ananda, hingga ananda bisa menyelesaikan studi dan skripsi ini. Keluarga besarku dari mama dan ayah Terima kasih atas do'a, semangat dan kasih sayang yang selalu diberikan.
5. Para guruku di TK Melati, SDN Paleran 06, SMPN 2 Umbulsari dan SMAN Rambipuji serta dosenku di Universitas Jember khususnya di FTP.
6. DPU dan DPA, **Dr. Ir. Sony Suwasono M.App.Sc.** dan **Dr. Triana Lindriati, S.T., M.P.** Terima kasih atas bimbingan dan masukan yang diberikan dalam penyusunan naskah skripsi ini. Ilmu ini adalah ibadah dan pasti memberikan banyak manfaat.
7. Sahabat-sahabat yang selalu memberikan semangat dan kasih sayang, **Hema Paramashinta, Niken Riris D. S., Risma Suryadinata P., Jajiroh (Zizi), DyahAyu P., Eka Wulandari.** Sahabat satu kelompok KKN, Nurbidayah, Nailatul Rohmah, Mickha, Dimas Aryo, Malik Iskandar, Dara Kharisma, Dian Kresa dan Al Riskon yang selalu memberikan semangat dan motivasi. Teman-teman **THP C** dan semua teman FTP UJ angkatan 2013.
8. Mbak Neny, Pak Mistar, Mbak Ketut dan Pak Tasor selaku teknisi laboratorium yang dengan senang hati melayani dan membimbing saya pada saat melakukan penelitian.
9. Almamaterku Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember, tempat dimana aku banyak menimba ilmu.

MOTTO

“Sesungguhnya Allah tidak merubah keadaan suatu kaum sehingga mereka merubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri”

(QS. ArRa'd 13:11)

“Sesungguhnya Allah mencintai orang yang berilmu lagi tawaadhu’ (rendah hati) dan Dia membenci orang yang berilmu lagi sombong.”

(Al-Adabus Syar'iyah 2/50)

“Orang-orang yang sukses telah belajar membuat diri mereka melakukan hal yang harus dikerjakan ketika hal itu memang harus dikerjakan, entah mereka menyukainya atau tidak.”

(Aldus Huxley)

“Tidak ada kata “tidak bisa” jika kita belum mencoba untuk melakukannya”

(Nimas Ayu Anggraeni)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nimas Ayu Anggraeni

NIM : 131710101088

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul : “Potensi Ekstrak Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Terenkapsulasi Sebagai Antioksidan dan Antibakteri *Escherichia Coli* dan *Bacillus Subtilis*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 14 Agustus
2018

Yang Menyatakan,

Nimas Ayu Anggraeni
NIM 131710101088

SKRIPSI

**POTENSI EKSTRAK DAUN MELINJO (*Gnetum gnemon* L.)
TERENKAPSULASI SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN
ANTIBAKTERI *Escherichia coli* DAN *Bacillus Subtilis***

Oleh

**Nimas Ayu Anggraeni
NIM 131710101088**

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Dr.Ir. Sony Suwasono M.App.Sc.

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. TrianaLindriati, S.T., M.P.

PENGESAHAN


Skripsi berjudul “Potensi Ekstrak Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Terenkapsulasi Sebagai Antioksidan dan Antibakteri *Escherichia Coli* dan *Bacillus Subtilis*” karya Nimas Ayu Anggraeni NIM 131710101088 telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember pada :

hari, tanggal : Jum’at, 06 Juli 2018


tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota



Dr. Ir. Sony Suwasono, MAppSc.
NIP. 196411091989021002

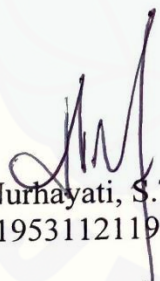


Dr. Triana Lindriati, S.T., M.P.
NIP. 19680814 1998032001


Tim Penguji

Ketua

Anggota



Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si.
NIP.195311211979032002



Ahmad Nafi', S.TP., M.P.
NIP. 197505301999031002

Mengesahkan
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember



Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng.
NIP 196809231994031009

RINGKASAN

Potensi Ekstrak Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Terenkapsulasi Sebagai Antioksidan dan Antibakteri *Escherichia Coli* dan *Bacillus Subtilis*; Nimas Ayu Anggraeni, 98 halaman; 2018; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

Keracunan makanan dapat terjadi karena konsumsi makanan yang terkontaminasi oleh mikroorganisme seperti *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. Salah satu upaya yang dilakukan untuk mengurangi efek negatif yang disebabkan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* tersebut adalah dengan penggunaan antibiotik pada daun melinjo. Melinjo (*Gnetum gnemon* L) kaya akan komponen polifenol yang disebut *resveratrol*. Resveratrol pada melinjo memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan. Untuk meningkatkan pemanfaatannya serta perlindungan terhadap komponen aktif perlu dilakukan teknik pengawetan salah satunya yaitu dengan cara enkapsulasi menggunakan bahan penyalut seperti maltodekstrin. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui konsentrasi maltodekstrin terbaik pada proses enkapsulasi ekstrak daun melinjo dan mengetahui daya antibakteri pada *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*.

Penelitian ini dilakukan dalam tiga tahapan meliputi pembuatan ekstrak pekat daun melinjo, enkapsulasi ekstrak daun melinjo dan pengujian daya hambat bakteri. Ekstraksi polifenol ekstrak daun melinjo dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 75%. Efektifitas penghambatan mikroba ditentukan dengan menggunakan perhitungan KHM dan IC_{50} . Rancangan yang digunakan pada percobaan ini yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan perlakuan penambahan maltodekstrin. Perlakuan konsentrasi penambahan maltodekstrin (5%, 10% dan 15%). Perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Data yang telah diperoleh kemudian dianalisis menggunakan metode statistik *Analysis of Variance test* (ANOVA). Apabila terdapat perbedaan, dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui tingkat perbedaan antar perlakuan pada taraf uji $\alpha \leq 5\%$.

Peningkatan konsentrasi maltodekstrin pada proses enkapsulasi ekstrak daun melinjo menyebabkan penurunan efisiensi kapsulasi, total polifenol dan aktifitas antioksidan. Serbuk enkapsulasi ekstrak daun melinjo memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* yang merupakan bakteri gram negatif dari pada bakteri *Bacillus subtilis* yang merupakan bakteri gram positif dengan nilai IC_{50} bakteri gram positif lebih besar dari pada bakteri gram negatif. Nilai IC_{50} *Eschericia coli* pada perlakuan M5%, M10% dan M15% secara berturut-turut yaitu 1,13 mg/ml; 1,69 mg/ml dan 1,87 mg/ml sedangkan pada nilai IC_{50} *Bacillus subtilis* pada perlakuan M5%, M10% dan M15 % secara berturut-turut yaitu 1,44 mg/ml; 2,65 mg/ml dan 2,8 mg/ml.

SUMMARY

Antioxidant And Antibacterial Activities Of Encapsulated Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Leaf Extract Against *Escherichia Coli* And *Bacillus Subtilis*; Nimas Ayu Anggraeni, 131710101088; 2018; 98 pages; Department of Agricultural Product Technology, Faculty of Agricultural Technology, University of Jember.

Food poisoning can occur due to consumption of food that is contaminated by microorganisms such as *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. One possible solution to reduce the negative effects caused by bacteria *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* is the use antibiotic from melinjo leaves. Melinjo (*Gnetum gnemon* L) is rich in polyphenol components called resveratrol. Resveratrol in melinjo has antibacterial and antioxidant activity. Therefore preservation technique to improve the utilization and protection of active components are by encapsulation using coat material such as maltodextrin. This study was conducted to determine the best concentration of maltodextrin on the encapsulation process of melinjo leaf extract and analyze its antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*.

This research was conducted with three stages, there were preparation of melinjo leaf extract, encapsulation process of melinjo leaf extract and bacterial inhibition test. Extraction melinjo leaf of polifenol extract based on the maceration using ethanol 75%. The effectiveness of microbial inhibition was determined using KHM and IC₅₀ measures. The design used in this experiment was Completely Randomized Design (CRD) using maltodextrin addition as the treatment. The concentration of maltodextrin addition treatment was 5%, 10% and 15%. The treatment was repeated three times. The data were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA). The difference result value was proceed with Duncan's Multiple Range Test (DMRT) test to determine the level of difference between treatments at level test $\alpha \leq 5\%$.

The maltodextrin concentration in the proced of melinjo leaf extract encapsulation led to decreased the efficiency of encapsulation, total polyphenol and antioxidant activity. The encapsulation powder of melinjo leaf extract was potential to inhibit the growth of *Escherichia coli* bacteria which know as gram negative bacteria than *Bacillus subtilis* bacteria which know as gram positive bacteria because the IC₅₀ value of gram positive bacteria was bigger than gram negative bacteria. The IC₅₀ value of *Escherichia coli* at maltodekstrin treatment of 5%, 10% and 15% respectively were 1.13 mg/ml; 1.69 mg/ml and 1.87 mg/ml while on *Bacillus subtilis* respectively were 1.44 mg/ml; 2.65 mg/ml and 2.8 mg/ml.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul: “Analisis Sifat Antibakteri Ekstrak Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Terenkapsulasi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* dan *Bacillus Subtilis*”. Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW, karena dengan perjuangan beliau, kita berada dalam tuntunan risalah suci. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari kendala-kendala yang ada, namun berkat dukungan dan arahan dari berbagai pihak, akhirnya skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik, oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng. selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
2. Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc., selaku Dosen Pembimbing Utama, Dr. Triana Lindriati, S.T., M.P., selaku Dosen Pembimbing Anggota, Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si., selaku dosen ketua penguji dan Ahmad Nafi', S.TP., M.P., selaku dosen penguji anggota yang telah memberikan waktu, pikiran dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
3. Ayah, Mama dan Kakek yang telah memberikan kasih sayang, do'a restu dan dukungan moral spiritual;
4. Semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Penulis berharap, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat dan wawasan.

Jember, 14 Agustus 2018

Penulis

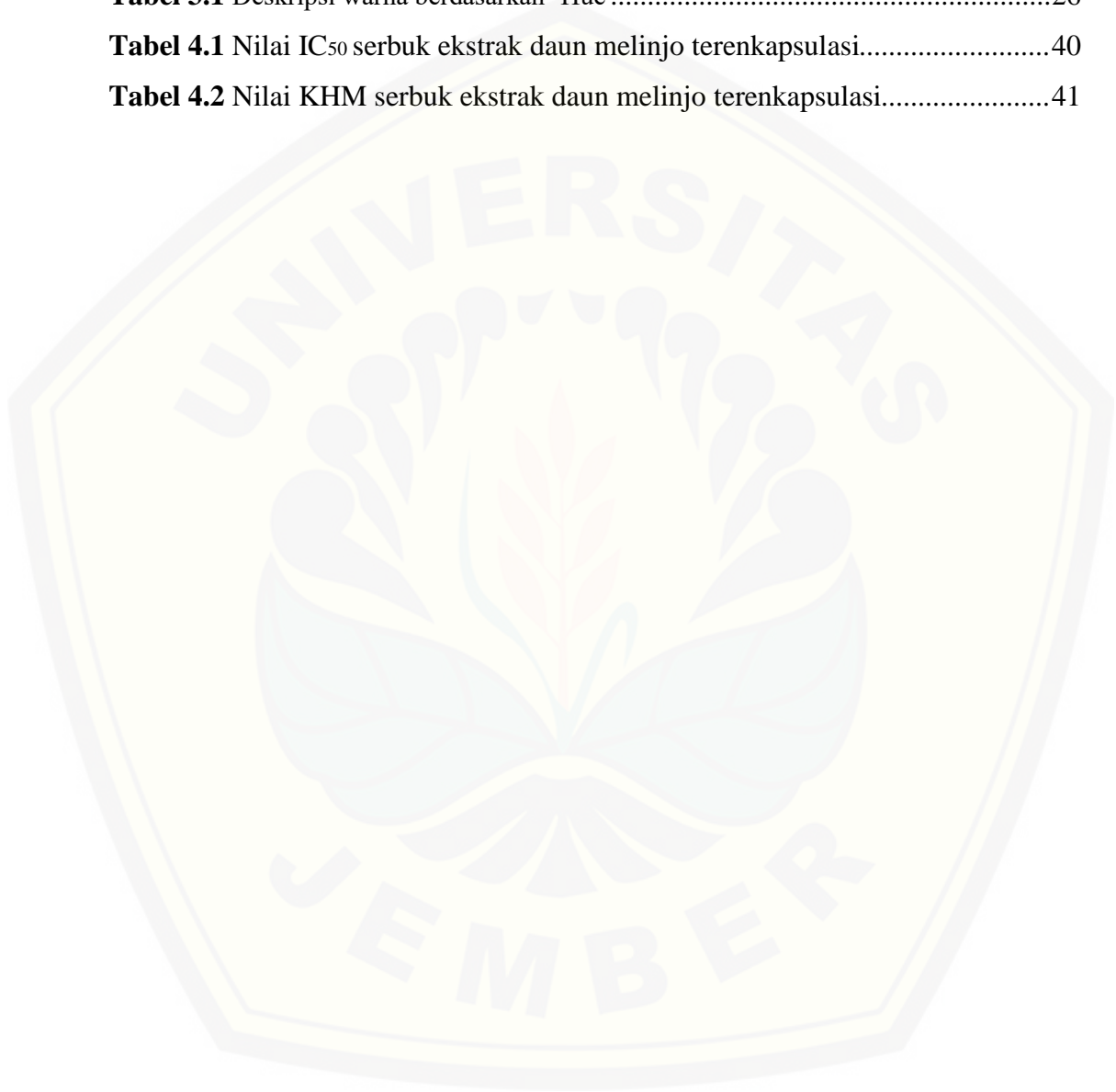
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	x
PRAKATA	xii
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Daun Melinjo.....	4
2.2 Antibakteri.....	7
2.3 <i>Escherichia coli</i> dan <i>Bacillus subtilis</i>	10
2.4 Ekstraksi	11
2.5 Enkapsulasi.....	13
2.6 Polifenol	17
2.7 Antioksidan.....	20
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	22
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	21

3.2 Alat dan Bahan Penelitian	21
3.2.1 Alat Penelitian.....	21
3.2.2 Bahan Penelitian	21
3.3 Rancangan Percobaan	22
3.4 Tahapan Penelitian	22
3.5 Prosedur Pengamatan	24
3.4.1 Rendemen	24
3.4.2 Warna.....	24
3.4.3 Total Polifenol	25
3.4.4 Aktifitas Antioksidan.....	25
3.4.5 Uji Efisiensi Enkapsulasi	27
3.4.5 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan IC ₅₀	27
3.6 Analisa Data	29
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	30
4.1 Rendemen Ekstrak Polifenol Terenkapsulasi	30
4.2 Efisiensi Enkapsulasi	31
4.3 Warna.....	32
4.4 Total Polifenol	34
4.5 Aktivitas Antioksidan	35
4.6 Aktivitas Antibakteri.....	37
BAB 5. PENUTUP.....	47
5.1 Kesimpulan.....	47
5.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA.....	48
LAMPIRAN.....	54

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Kandungan Kimia Daun Melinjo Per 100 gr Bahan	5
Tabel 3.1 Deskripsi warna berdasarkan °Hue	26
Tabel 4.1 Nilai IC ₅₀ serbuk ekstrak daun melinjo terenkapsulasi.....	40
Tabel 4.2 Nilai KHM serbuk ekstrak daun melinjo terenkapsulasi.....	41



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Daun Melinjo	4
Gambar 2.2 Struktur Kimia Resveratrol.....	5
Gambar 3.1 Tahapan Penelitian Enkapsulasi Ekstrak Daun Melinjo.....	25
Gambar 4.1 Rendemen Serbuk Ekstrak Daun Melinjo Terenkapsulasi	30
Gambar 4.2 Efisiensi Enkapsulasi Ekstrak Daun Melinjo	31
Gambar 4.3 Nilai Kecerahan Warna (<i>Lightness</i>) Ekstrak Daun Melinjo Terenkapsulasi	32
Gambar 4.4 Nilai Derajat <i>Hue</i> Ekstrak Daun Melinjo Terenkapsulasi	33
Gambar 4.5 Nilai Total Polifenol Ekstrak Daun Melinjo Terenkapsulasi	35
Gambar 4.6 Nilai Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Melinjo Terenkapsulasi	36
Gambar 4.7 Daya Hambat Ekstrak Daun Melinjo Terenkapsulasi Terhadap <i>Bacillus</i> <i>Subtilis</i>	38
Gambar 4.8 Daya Hambat Ekstrak Daun Melinjo Terenkapsulasi Terhadap <i>Bacillus</i> <i>Subtilis</i>	39
Gambar 4.9 Kurva Hubungan Penghambatan Ekstrak Daun Melinjo Terhadap <i>Bacillus Subtilis</i> Menggunakan Kurva Logaritmik	42
Gambar 4.10 Kurva Hubungan Penghambatan Ekstrak Daun Melinjo Terhadap <i>Escherichia Coli</i> Menggunakan Kurva Logaritmik.....	43
Gambar 4.11 Kurva Hubungan Penghambatan Ekstrak Daun Melinjo terhadap <i>Bacillus Subtilis</i> Menggunakan Kurva Probit.....	44
Gambar 4.12 Kurva Hubungan Penghambatan Ekstrak Daun Melinjo Terhadap <i>Escherichia Coli</i> Menggunakan Kurva Probit.....	45

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Perhitungan.....	54
A. Perhitungan Rendemen Enkapsulasi.....	54
B. Perhitungan Warna.....	55
C. Perhitungan Total Polifenol.....	57
D. Perhitungan Efisiensi Enkapsulasi.....	59
E. Perhitungan Aktivitas Antioksidan.....	61
F. Perhitungan Konsentrasi Hambat Minimum <i>Eschericia coli</i>	62
F.1 Jumlah Koloni <i>Eschericia coli</i>	62
F.2 Perhitungan KHM <i>Eschericia Coli</i>	64
G. Perhitungan Konsentrasi Hambat Minimum <i>Bacillus subtilis</i>	76
G.1 Perhitungan KHM <i>Bacillus subtilis</i>	78
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian.....	91

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Seiring dengan semakin berkembangnya jaman, pola konsumsi masyarakat juga menjadi terpengaruh. Pola konsumsi masyarakat yang cenderung memilih makanan yang bersifat cepat saji tanpa mempertimbangkan kebersihan dan kandungan gizinya dapat menyebabkan timbulnya berbagai penyakit diantaranya yaitu keracunan makanan. Keracunan makanan dapat terjadi karena konsumsi makanan yang terkontaminasi oleh mikroorganisme sehingga sistem kekebalan tubuh menurun. Mikroorganisme yang dapat menyebabkan keracunan makanan diantaranya adalah *Eschericia coli* dan *Bacillus subtilis*. *Eschericia coli* merupakan jenis bakteri gram negatif yang biasanya ditemukan pada saluran pencernaan hewan dan manusia. Sedangkan *Bacillus subtilis* merupakan bakteri yang tergolong bakteri Gram positif, dapat membentuk endospora yang berbentuk oval di bagian sentral sel.

Keracunan makanan yang disebabkan oleh *Eschericia coli* dan *Bacillus subtilis* merupakan salah satu masalah kesehatan yang paling banyak dijumpai di negara berkembang termasuk Indonesia. Menurut World Health Organization atau WHO (2015), pada beberapa negara berkembang di Asia, Afrika dan Mediterania telah terjadi 600 juta kasus keracunan makanan dengan jumlah kematian sebesar 420.000 jiwa. Salah satu upaya yang dilakukan untuk mengurangi efek negatif yang disebabkan bakteri *Eschericia coli* dan *Bacillus subtilis* tersebut adalah dengan penggunaan antibiotik sintetis. Namun, penggunaan antibiotik sintetis yang berlebihan dapat mengakibatkan dampak degeneratif pada tubuh (Syamsuni, 2006). Efek samping inilah yang menyebabkan dibutuhkannya antibiotik alami. Antibiotik alami dapat diperoleh dari kandungan komponen bioaktif pada bahan hasil pertanian.

Melinjo asli Indonesia kaya akan komponen polifenol yang disebut resveratrol Hisada *et al.*, (2005). Resveratrol pada melinjo memiliki aktivitas

antibakteri dan antioksidan. Melinjo juga memiliki kandungan kimia terutama terdapat pada biji dan daunnya yaitu saponin, flavonoida dan tanin yang memiliki sifat antimikroba Sintia dan Murhananto (2004). Pada penelitian Zahro *et al.*, (2016), dijelaskan bahwa daun melinjo terbukti memiliki fungsi sebagai antibakteri *Eschericia coli*, selain itu kandungan polifenol pada ekstrak daun melinjo muda lebih tinggi daripada daun tua yakni daun muda sebesar 30,94 mg GAE/ml dan daun tua sebesar 22,57 mg GAE/ml.

Untuk meningkatkan pemanfaatannya serta perlindungan terhadap komponen aktif maka perlu dilakukan teknik pengawetan yang biasa dilakukan yaitu pengawetan secara kimia dalam bentuk ekstrak. Namun, sediaan dalam bentuk ekstrak memiliki kelemahan diantaranya adalah waktu simpan yang pendek dan rentan terhadap kerusakan. Salah satu upaya untuk mencegahnya yaitu dengan cara enkapsulasi. Metode enkapsulasi dapat meningkatkan bioaktivitas antimikroba dan aktivitas antioksidan (Gortzi *et al.*, 2007 dan Sanchez *et al.*, 2010). Enkapsulasi bertujuan melindungi senyawa aktif dari degradasi yang dapat membentuk senyawa beracun dan memperpanjang umur simpan dari pengaruh lingkungan (Anal and Singh, 2007). Pada proses enkapsulasi biasanya dibutuhkan bahan yang akan berfungsi sebagai enkapsulan. Bahan yang biasanya digunakan sebagai enkapsulan antara lain adalah berbagai jenis polisakarida dan protein seperti pati, alginat, gum arab, gelatin, karagenan, albumin dan kasein.

Bahan enkapsulan yang ideal adalah polimer yang dapat membentuk formasi lapisan yang baik, biodegradable, memiliki viskositas yang rendah pada konsentrasi tinggi dan memiliki harga yang ekonomis (Barros *et al.*, 2006). Maltodekstrin merupakan salah satu bahan enkapsulan yang banyak digunakan, selain harganya yang ekonomis, maltodekstrin memiliki viskositas yang rendah dalam rasio yang banyak, kelarutan yang baik dalam air dan tidak memiliki rasa (Supriyadi dan Rujita, 2013). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui konsentrasi maltodekstrin terbaik pada proses enkapsulasi ekstrak daun melinjo dan mengetahui aktivitas antioksidan dan daya antibakteri terutama pada *Eschericia coli* dan *Bacillus subtilis*.

1.2 Perumusan Masalah

Daun melinjo memiliki kandungan polifenol yang dapat bersifat sebagai antibakteri, namun pada penggunaannya daun melinjo masih belum dimanfaatkan secara maksimal. Untuk meningkatkan pemanfaatannya serta perlindungan terhadap komponen aktif yaitu resveratrol, perlu diolah menjadi ekstrak daun melinjo yang dienkapsulasi. Proses enkapsulasi membutuhkan bahan yang berfungsi sebagai enkapsulan, seperti maltodekstrin. Namun belum diketahui lebih lanjut jumlah penambahan maltodekstrin yang efektif untuk enkapsulasi ekstrak daun melinjo terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* dan *Bacillus subtilis*.

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui karakteristik serbuk ekstrak daun melinjo terenkapsulasi.
2. Mengetahui aktivitas antioksidan serbuk ekstrak daun melinjo terenkapsulasi.
3. Mengetahui daya hambat ekstrak daun melinjo terenkapsulasi terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Bacillus subtilis*.

1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat diantaranya yaitu :

1. Memanfaatkan daun mudamelinjo sebagai sumber antibakteri alami.
2. Meningkatkan nilai ekonomi daun melinjo.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Melinjo

Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) adalah tanaman dari keluarga Gnetaceae. Tanaman keras ini berasal dari Asia Tenggara dan Pasifik. Bagi sebagian masyarakat di Asia Tenggara, melinjo dikenal sebagai buah sekaligus sayuran. Biji melinjo merupakan bahan baku emping, sedangkan kulit buah, bunga, dan daunnya digunakan sebagai sayur (Lingga, 2010). Masdiana (2007) menyebutkan klasifikasi tanaman melinjo sebagai berikut:

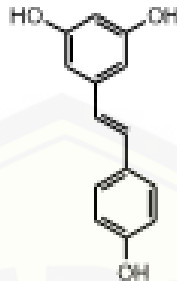
Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Gymnospermae
Kelas	: Gnetopsida
Ordo	: Gnetales
Famili	: Gnetaceae
Genus	: Gnetum
Spesies	:Gnetum gnemon L.



Gambar 2.1 Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) (Dokumentasi Penulis)

Melinjo asli Indonesia kaya akan komponen polifenol yang disebut resveratrol. Resveratrol pada melinjo memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan (Hisada *et al.*, 2005). Menurut Hammerschmidt (1999), resveratrol merupakan pitoaleksin yang paling lama dan intensif diteliti dalam hubungannya

dengan mekanisme ketahanan suatu tanaman terhadap serangan patogen jamur. Struktur kimia resveratrol dapat dilihat pada gambar 2.2



Gambar 2.2. Struktur Kimia Resveratrol (Sumber: Kim *et al.*, 2002)

Daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) mengandung tanin, selain tanin daun melinjo juga mengandung saponin, flavonoida (Sintiadan Murhananto, 2004). Menurut Lestari dkk (2012) kandungan senyawa tanin pada daun melinjo adalah 4,55%. Tanin merupakan senyawa metabolit sekunder dari golongan polifenol yang memiliki kemampuan proteksi yakni sebagai penghambat aktivitas makan (*antifeedant*), antioksidan serta antibakteri sehingga berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai pestisida nabati (Turkmen *et al.*, 2007; Misnawi & Wahyudi, 2008). Tanin yang terdapat dalam daun melinjo dapat dijadikan sebagai pengawet alami untuk industri pengolahan makanan. Daun melinjo memberikan efek yang baik sebagai pengawet makanan, dari inhibitor rasa dan peningkat rasa (Santoso, 2008). Komposisi kimia daun melinjo per 100 g bahan dapat dilihat pada Tabel 2.1

Tabel 2.1 Kandungan kimia daun melinjo per 100 g bahan

Kandungan Unsur Gizi	Jumlah
Kalori (kal)	104
Protein(g)	5,0
Lemak (g)	1,3
Karbohidrat (g)	21,3
Air (g)	70,8
Vitamin C (mg)	182
Kalsium (mg)	219
Fosfor (mg)	82
Besi (mg)	4,2

Sumber: Persatuan Ahli Gizi Indonesia (2009).

Daun melinjo muda memiliki kandungan polifenol lebih tinggi dibandingkan dengan daun melinjo tua. Berdasarkan hasil penelitian Zahro (2016), diketahui bahwa kandungan total polifenol pada daun muda sebesar 30,94 mg GAE/ml dan daun tua sebesar 22,57 mg GAE/ml. Menurut Saffan dan El-Mousallamy (2008), semakin muda daun kadar total fenol semakin besar, hal ini terkait dengan fungsi fenol bagi tanaman sebagai pertahanan melawan herbivora, patogen, insekta, bakteri, jamur dan virus. Kahkonen *et al.*, (2001) menyatakan bahwa perbedaan tingkat kematangan buah berpengaruh pada profil fenolik, biasanya senyawa fenolik terkonsentrasi pada buah yang masih muda dari pada buah yang tua. Hal ini mungkin juga terjadi pada bagian tanaman lain seperti pada daun.

Menurut Sintia dan Murhananto (2004), daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) mengandung tanin, saponin, dan flavonoida. Mekanisme senyawa fenol sebagai zat antibakteri adalah dengan cara merusak dan menembus dinding sel, serta mengendapkan protein sel mikroba. Komponen fenol juga dapat mendenaturasi protein seperti enzim. Denaturasi protein merupakan suatu keadaan dimana protein mengalami perubahan atau perusakan struktur sekunder, tersier dan kuaternernya. Perusakan struktur karena adanya pemutusan ikatan hidrogen yang menopang struktur sekunder dan tersier suatu protein sehingga menyebabkan sisi hidrofobik dari gugus samping polipeptida akan terbuka. Hal tersebut menyebabkan kelarutan protein semakin turun dan akhirnya mengendap. Senyawa fenolik bermolekul besar mampu menginaktifkan enzim esensial di dalam sel mikroba meskipun pada konsentrasi yang sangat rendah. Senyawa fenol mampu memutuskan ikatan peptidoglikan saat menerobos dinding sel. Ikatan peptidoglikan ini secara mekanis memberi kekuatan pada sel bakteri. Dalam upaya mencapai sasaran, senyawa antimikroba dapat menembus lipopolisakarida dari dinding sel tersebut. Setelah menerobos dinding sel, senyawa fenol akan menyebabkan kebocoran isi sel dengan cara merusak ikatan hidrofobik komponen membran sel (seperti protein dan fosfolipida) serta larutnya komponen-komponen yang berikatan secara hidrofobik yang berakibat meningkatnya permeabilitas membran. Terjadinya kerusakan pada membran sel mengakibatkan terhambatnya

aktivitas dan biosintesis enzim-enzim spesifik yang diperlukan dalam reaksi metabolisme (Dewi, 2012).

Tanin yang terkandung dalam biji dan daun melinjo dapat berfungsi sebagai antibakteri. Menurut Cowan (1999), mekanisme tanin berperan sebagai antibakteri adalah dengan cara merusak dinding sel. Mekanisme kerusakan dinding sel dapat disebabkan oleh adanya akumulasi komponen lipofilik yang terdapat pada dinding sel atau membran sel, sehingga menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel.

Saponin memiliki molekul yang dapat menarik air atau hidrofilik dan molekul yang dapat melarutkan lemak atau lipofilik sehingga menurunkan tegangan permukaan sel yang akhirnya menyebabkan kehancuran suatu mikroba. Saponin dapat meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga dapat mengubah struktur dan fungsi membran menyebabkan denaturasi protein membran sehingga membran sel akan rusak dan lisis (Siswandoro dan Soekarjo, 1995).

Volk dan Wheeler (1993) menjelaskan bahwa senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel, keadaan ini dapat menyebabkan kematian bakteri. Pada perusakan membran sitoplasma, ion H^+ dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian.

2.2 Antibakteri

Antibakteri merupakan zat atau senyawa yang digunakan untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau

menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Brooks *et al.*, 2005).

Antibakteri yang ideal harus memiliki sifat toksisitas selektif, artinya bahwa suatu obat berbahaya terhadap parasit tetapi tidak membahayakan tuan rumah (hopses). Bahan atau senyawa kimia yang mematikan bakteri disebut bakterisidal, sedangkan bahan atau senyawa kimia yang menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakteriostatik. Bahan antimikroba dapat bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah, namun bersifat bakterisidal pada konsentrasi tinggi (Volk dan wheeler, 1993). Cara kerja senyawa yang memiliki efek bakterisidal atau bakteriostatik pada organisme yang rentan adalah dengan merusak dinding sel, mengubah molekul protein atau asam nukleat, menghambat kerja enzim, sintesis asam nukleat dan protein (Jawetz, 1960).

Berdasarkan daya menghambat atau membunuhnya, antibakteri dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu berspektrum sempit (*narrow spectrum*) dan berspektrum luas (*broad spectrum*). Antibakteri yang berspektrum sempit yaitu antibakteri yang hanya dapat bekerja terhadap bakteri tertentu saja, misalnya hanya terhadap bakteri gram positif saja atau gram negatif saja. Antibakteri yang berspektrum luas dapat bekerja baik pada bakteri gram negatif maupun bakteri gram positif (Talaro, 2008 *dalam* Tristiyanto, 2009). Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dapat dibagi menjadi empat cara, yaitu:

a. Penghambatan terhadap sintesis dinding sel.

Bakteri mempunyai lapisan luar yang kaku yaitu dinding sel yang mengelilingi secara lengkap sitoplasma membran sel. Dinding sel berisi polimer mucopolisakarida kompleks (peptidoglikan) yang secara kimia berisi polisakarida dan campuran rantai polipeptida yang tinggi, polisakarida ini berisi gula amino *N-acetylglucosamine* dan asam *acetylmuramic* (hanya ditemui pada bakteri) (Jawetz *et al.*, 2005).

Dinding ini mempertahankan bentuk mikroorganisme dan pelindung sel bakteri dari perbedaan tekanan osmotik di dalam dan di luar sel yang tinggi. Dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan dan komponen yang lain. Sel yang aktif secara kontinyu mensintesis peptidoglikan yang baru dan menempatkannya pada posisi yang tepat pada amplop sel. Antibakteri bereaksi dengan satu atau banyak enzim yang dibutuhkan pada proses sintesis, sehingga menyebabkan pembentukan dinding sel yang lemah dan menyebabkan pemecahan osmotik (Talaro, 2008 *dalam* Tristiyanto, 2009).

b. Penghambatan terhadap fungsi membran sel.

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh membran sitoplasma, yang berperan sebagai barrier permeabilitas selektif, memiliki fungsi transport aktif, dan kemudian mengontrol komposisi internal sel. Jika fungsi integritas dari membran sitoplasma dirusak akan menyebabkan keluarnya makro molekul dan ion dari sel, kemudian sel rusak atau terjadi kematian (Jawetz *et al.*, 2005).

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh membran sitoplasma yang berperan sebagai barrier permeabilitas selektif dan mengontrol komposisi internal sel. Antibakteri (polymyxins) berikatan dengan membran fosfolipid yang menyebabkan pemecahan protein dan basa nitrogen sehingga membrane bakteri pecah yang menyebabkan kematian bakteri (Talaro, 2008 *dalam* Tristiyanto, 2009).

c. Penghambatan terhadap sintesis protein (penghambatan translasi dan transkripsi material genetik).

DNA, RNA dan protein memegang peranan sangat penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel (Pelczar *et al.*, 1986). Kebanyakan obat menghambat translasi atau sintesis protein, bereaksi dengan ribosom mRNA. Mekanisme kerjanya antara lain dengan menghalangi terikatnya RNA pada tempat spesifik ribosom, selama pemanjangan rantai peptida (Pelczar *et al.*, 1986). Ribosom eukariotik berbeda dalam ukuran dan struktur dari prokariotik, sehingga menyebabkan aksi yang selektif terhadap bakteri. Bakteri mempunyai 70S ribosom, sedangkan sel

mamalia mempunyai 80S ribosom. Sub unit masing-masing tipe ribosom, komposisi kimia dan spesifikasi fungsinya berbeda. Perbedaan tersebut dapat untuk menerangkan mengapa antibakteri dapat menghambat sintesis protein dalam ribosom bakteri tanpa berpengaruh pada ribosom mamalia (Talaro, 2008; Jawetz *et al.*, 2005 dalam Tristiyanto, 2009).

d. Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat.

Pembentukan DNA dan RNA bakteri merupakan perjalanan yang panjang dan membutuhkan enzim di beberapa proses. Pembentukan DNA dan RNA sangat penting dan berefek dalam metabolisme protein. Antibakteri menginterferensi sintesis asam nukleat dengan menghambat sintesis nukleotida, menghambat replikasi, atau menghentikan transkripsi. Obat berikatan sangat kuat pada enzim *DNA Dependent RNA Polymerase* bakteri, sehingga menghambat sintesis RNA bakteri. Resistensi pada obat-obat ini terjadi akibat perubahan pada RNA *polymerase* akibat mutasi kromosom yang sangat sering terjadi (Jawetz *et al.*, 2005).

2.3 *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*

Keracunan makanan dapat disebabkan oleh kontaminasi bakteri pada makanan. Bakteri penyebab keracunan makanan diantaranya adalah *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri yang memiliki bentuk batang dengan tebal 0,5 μ m, panjang antara 1,0-3,0 μ m bervariasi dari bentuk koloid hingga berbentuk seperti filament yang panjang, tidak membentuk spora, motil dan filament peritrich, beberapa galur tidak memiliki flagella dan merupakan gram negatif. *Escherichia coli* bersifat aerob atau anaerob fakultatif. *Escherichia coli* dapat tumbuh secara optimum pada suhu 37°C, namun juga dapat tumbuh pada suhu 15°C-45°C, tumbuh baik pada pH 7,0 tetapi juga dapat tumbuh pada pH yang lebih tinggi (Fardiaz, 1989). *Escherichia coli* tersebar luas di alam dan pada umumnya banyak ditemukan dalam sel pencernaan manusia dan hewan. *Escherichia coli* tersebar di seluruh dunia dan ditularkan melalui air atau makanan yang terkontaminasi oleh feses.

Bacillus subtilis merupakan bakteri gram positif yang dapat tumbuh optimal pada suhu 28-38°C dan pH 7,4. *Bacillus subtilis* merupakan bakteri yang dapat membentuk endospora yang berbentuk oval di bagian sentral sel. Pada umumnya terdapat pada mulut, hidung, tenggorokan, pori-pori, permukaan kulit, kelenjar keringat dan saluran usus. Infeksi *Bacillus subtilis* dapat berupa jerawat, bisul dan luka. *Bacillus subtilis* dapat menyebabkan infeksi saluran usus dan menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan keracunan makanan (Jawetz *et al.*, 2005). *Bacillus subtilis* juga dapat menyebabkan kerusakan pada makanan kaleng dan memproduksi enterotoksin yang nantinya apabila dikonsumsi akan menyebabkan gastroenteritis (Pratiwi, 2008).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah teknik pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi zat terlarut diantara dua pelarut yang saling bercampur. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam zat terlarut (Mukhriani, 2014). Pada umumnya zat terlarut yang diekstrak bersifat tidak larut atau larut sedikit dalam suatu pelarut tetapi mudah larut dengan pelarut lain. Metode ekstraksi yang tepat ditemukan oleh tekstur kandungan air bahan-bahan yang akan diekstrak dan senyawa-senyawa yang akan diisolasi (Harborne, 1996). Menurut Agoes (2007), ekstraksi dapat menggunakan pelarut tunggal dan pelarut campuran. Pelarut campuran yang biasa digunakan yaitu campuran air dan etanol, campuran air dan metanol, campuran air dan eter.

Proses pemisahan senyawa dalam simplisia, menggunakan pelarut tertentu sesuai dengan sifat senyawa yang akan dipisahkan. Pemisahan pelarut berdasarkan kaidah '*like dissolved like*' artinya suatu senyawa polar akan larut dalam pelarut polar. Aplikasi ekstraksi telah dilakukan pada beberapa penelitian daun melinjo untuk memperoleh senyawa aktif. Menurut Zahro (2016), polifenol daun melinjo paling efektif diekstrak dengan menggunakan etanol konsentrasi 75% dengan maserasi suhu 60°C. Ekstraksi dapat dilakukan dengan bermacam-macam metode, tergantung dari tujuan ekstraksi, jenis pelarut yang digunakan dan

senyawa yang diinginkan. Beberapa metode ekstraksi menurut Sembiring (2009) dan Tiwari (2011) seperti:

2.4.1 Maserasi

Metode ekstraksi yang paling sederhana adalah maserasi (Noerono *dalam* Pratiwi, 2009). Maserasi adalah perendaman bahan alam yang dikeringkan (simplisia) dalam suatu pelarut. Pelarut 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 ini dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah banyak, serta terhindar dari perubahan kimia senyawa-senyawa tertentu karena pemanasan (Rusdi *dalam* Pratiwi, 2009).

2.4.2 Perlokasi

Perkolasi adalah 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. Pelarut dialirkan dari atas ke bawah melalui bahan yang akan diekstrak, pelarut akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Kekuatan yang berperan pada perkolasi antara lain: gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosa, adesi, daya kapiler dan daya geseran (friksi).

2.4.3 Soxhlet

Sokletasi 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.

2.4.4 Refluks

Metode ini digunakan apabila dalam sintesis tersebut menggunakan pelarut yang volatil. 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. 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.

2.5 Enkapsulasi

Enkapsulasi merupakan teknik penjeratan bahan inti dalam bahan pengkapsul tertentu (Risch, 1995). Enkapsulasi membantu memisahkan material inti dengan lingkungannya hingga material tersebut terlepas ke lingkungan. Material inti yang dilindungi disebut core dan struktur yang dibentuk oleh bahan pelindung yang menyelimuti inti disebut sebagai dinding, membran, atau kapsul (Kailasapathy, 2002). Teknik enkapsulasi ini banyak diaplikasikan dalam industri pangan, farmasi, bioteknologi, dan industri kimia. Enkapsulasi bertujuan untuk melindungi bahan aktif yang sensitif terhadap kerusakan karena oksidasi, kehilangan nutrisi, melindungi flavour, aroma, pigmen, dan meningkatkan kelarutan. Untuk bahan yang larut dalam air, metode enkapsulasi berpotensi besar untuk mengubah cairan yang kurang stabil menjadi bubuk yang lebih mudah penanganannya dan mudah tercampur dalam sistem pangan kering (Versich, 2000).

Berdasarkan ukuran bahan aktif, enkapsulasi terbagi atas makroenkapsulasi dengan ukuran berkisar lebih dari 5000 µm, mikroenkapsulasi dengan ukuran berkisar 0,2 – 5000 µm, dan nanoenkapsulasi yang berukuran lebih kecil dari 0,2 µm (Risch, 1995). Bahan inti adalah bahan yang dienkapsulasi atau bahan yang dibungkus, bahan inti dapat berupa zat padat, cair, atau gas sedangkan bahan yang digunakan sebagai pelapis disebut dengan kulit, penyalut atau enkapsulan. Bahan yang umum digunakan untuk enkapsulasi adalah berbagai jenis polisakarida dan protein seperti pati, alginat, gum arab, gelatin, karagenan, albumin dan kasein.

Enkapsulan berbasis pati yang sering digunakan adalah maltodekstrin. Enkapsulasi bertujuan untuk melindungi senyawa aktif dari degradasi yang dapat membentuk senyawa beracun dan memperpanjang umur simpan dari pengaruh lingkungan (Anal and Singh, 2007). Selain itu menurut Gortzi *et al.*, (2007) dan Sanchez *et al.*, (2010), metode enkapsulasi juga dapat meningkatkan bioaktivitas antimikroba dan aktivitas antioksidan.

Salah satu metode enkapsulasi adalah *spray drying*. Menurut Rizqiati (2006), *spray drying* merupakan salah satu metode enkapsulasi yang sering dilakukan dalam industri pangan yang memiliki laju tinggi dan biaya operasional yang rendah. Metode ini digunakan untuk menghasilkan bahan pangan yang kering, stabil, dan volume kecil. Menurut Filkova dan Mujumdar (1995 *dalam* Rizqiati, 2008), proses *spray drying* mengubah cairan emulsi atau pembentuk fase *disperse* menjadi produk kering. Proses selanjutnya adalah pengubahan cairan menjadi bagian-bagian kecil dengan menggunakan roda berputar dan menyemburkan butiran yang langsung kontak dengan udara panas. Waktu kontak udara panas dengan *droplet* berlangsung sangat singkat sehingga sedikit sekali kemungkinan terjadi degradasi karena panas.

Prinsip kerja *spray drying* adalah memperluas permukaan cairan yang akan dikeringkan dengan cara pembentukan *droplet* yang selanjutnya dikontakkan dengan udara pengering yang panas. Udara panas akan memberikan energi untuk penguapan dan menyerap uap air yang keluar dari bahan (Maharani, 2012). Maharani (2012) menyatakan bahwa kecepatan penguapan dapat dipengaruhi oleh suhu inlet, suhu outlet, total padatan bahan dan suhu bahan. Semakin tinggi suhu inlet, maka jumlah panas yang dibutuhkan untuk menguapkan bahan akan semakin sedikit sehingga kecepatan penguapan meningkat. Kecepatan penguapan juga akan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya total padatan dan suhu awal bahan. Menurut Spicer (1974), kecepatan penguapan berpengaruh terhadap keadaan suhu produk akhir dimana bila kecepatan penguapan semakin cepat maka produk yang dihasilkan akan semakin rendah suhunya. Pengeringan dilakukan dengan cara mengatur suhu inlet 140-180⁰C, suhu outlet 80-120⁰C dan kecepatan pompa 40 rpm.

2.5.1 Maltodekstrin

Pada proses enkapsulasi diperlukan bahan yang berfungsi sebagai enkapsulan atau sebagai penyalut. Bahan yang sering digunakan sebagai enkapsulan atau penyalut adalah maltodekstrin. Maltodekstrin merupakan produk hidrolisis pati yang mengandung unit α -D-glukosa yang sebagian besar terikat melalui ikatan 1,4 glikosidik dengan DE (*Dextrose Equivalent*) kurang dari 20. Maltodekstrin merupakan campuran dari glukosa, maltosa, oligosakarida dan dekstrin. Maltodekstrin dengan DE yang rendah bersifat non-higroskopis, sedangkan maltodekstrin dengan DE tinggi cenderung menyerap air. Maltodekstrin merupakan larutan terkonsentrasi dari sakarida yang diperoleh dari hidrolisa pati dengan penambahan asam atau enzim (Lubis, 2011).

Maltodekstrin dapat digunakan sebagai penyalut karena kemampuannya dalam membentuk emulsi yang baik dan viskositasnya yang rendah (Supriyadi dan Rujita, 2013). Selain itu maltodekstrin mudah ditemukan, mudah dalam penanganan proses, dapat mengalami dispersi yang cepat, memiliki kelarutan tinggi, mampu membentuk matriks dengan kemungkinan pencoklatan rendah, mampu menghambat kristalisasi, memiliki daya ikat kuat, dan stabil pada emulsi minyak dalam air. Kemampuan maltodekstrin untuk menghambat reaksi oksidasi menyebabkan kapsul yang dihasilkan memiliki masa simpan lebih panjang dibanding kapsul yang menggunakan gum arab (Supriyadi dan Rujita, 2013).

2.5.2 Gum arab

Gum arab dapat mempertahankan *flavor* dari makanan yang dikeringkan dengan metode *spray drying* karena gum ini dapat membentuk lapisan yang dapat melindungi dari oksidasi, absorpsi dan evaporasi (Bertolini *et al.*, 2001). Karena sifat viskositasnya yang rendah dan tidak adanya rasa dan warna, maka gum arab dapat ditambahkan dalam jumlah tertentu tanpa mengganggu sifat organoleptik produk pangan dimana gum arab ditambahkan (Mosilhey, 2003). Menurut Abdelgader *et al.*, (2011) dan Sarkar *et al.*, (2012), gum arab dapat diaplikasikan sebagai *binding agent* bahan pangan maupun bahan obat. Selain itu gum arab bersifat sebagai emulsifier sehingga bahan yang telah diproses dengan penambahan gum arab akan mudah dilarutkan dalam air maupun minyak.

2.5.3 Alginat

Alginat merupakan polimer yang membentuk koloid hidrofilik yang diekstraksi dengan garam alkali dari bermacam – macam jenis alga laut coklat (*Phaeophyceae*). Rumus molekul natrium alginat adalah $(C_6H_7O_6Na)_n$ (Istiyani, 2008). Alginat memiliki kemampuan matriks gel disekitar sel bakteri, tidak memiliki efek racun bagi tubuh, murah, mudah digunakan, mudah larut dalam pencernaan dan melepaskan sel (Mortazivian *et al.*, 2007).

Larutan alginat akan bereaksi dengan kation-kation divalen dan trivalen untuk membentuk gel. Gel akan terbentuk pada suhu kamar dan gel tersebut akan mencair bila dipanaskan. Gel-gel ini dapat diaplikasikan pada bermacam-macam industri, khususnya kalsium (Ca) yang digunakan sebagai ion divalen. Larutan asam alginat dapat membentuk gel yang bersifat lebih lunak daripada gel kalsium alginat. Gel dari asam alginat dapat mencair dalam mulut sehingga dapat diaplikasikan dalam industri makanan. Faktor-faktor yang mempengaruhi sifat-sifat larutan alginat adalah suhu, konsentrasi, dan ukuran polimer (Mc Nelly dan Pettit, 1973 dalam Syafarini, 2009). Keunggulan alginat sebagai enkapsulan probiotik terletak pada kemampuannya memproteksi sel dalam kondisi asam.

2.5.4 Karagenan

Karagenan merupakan bahan enkapsulan yang dapat digunakan untuk melindungi bakteri probiotik secara efektif dari tekanan kondisi lingkungan sehingga dapat digunakan sebagai media imobilisasi sel (Ding dan Shah, 2009). Karagenan memiliki gel dengan kemampuan pemerangkapan sel yang baik, namun penambahan sel harus dilakukan pada suhu 40-45°C karena pada suhu ruang gel karagenan akan mengeras. Penambahan ion monovalen seperti potassium dalam bentuk KCl dapat menstabilkan butiran gel yang terbentuk (Krasaekoopt *et al.*, 2003).

2.5.5 Kasein

Kasein adalah zat yang digunakan sebagai stabilisator emulsi air susu. Kasein merupakan proteida fosfor yang dijumpai dalam endapan koloida air susu. Sedangkan dalam enkapsulasi coacervation, kasein berfungsi sebagai penstabil kapsul yang terbentuk oleh ikatan antara muatan negatif alginat dengan muatan

positif dari kalsium (dari larutan CaCl_2) agar terbentuk kapsul yang kompak. Kasein sangat stabil pada suhu tinggi. Pemanasan pada suhu 100°C selama 24 jam atau pemanasan suhu 140°C selama 20 menit tidak menyebabkan terjadinya koagulasi (Fox dan Mc Sweeney, 1998).

2.6 Polifenol

Secara kimiawi senyawa polifenol dapat di definisikan oleh adanya satu cincin aromatik yang membawa satu (fenol) atau lebih (polifenol) substitusi hidroksil, termasuk derivat fungsionalnya. Polifenol adalah kelompok zat kimia yang ditemukan pada tumbuhan. Zat ini memiliki tanda khas yakni memiliki banyak gugus fenol dalam molekulnya.

Polifenol memiliki spektrum luas dengan sifat kelarutan pada suatu pelarut yang berbeda-beda. Hal ini disebabkan oleh gugus hidroksil pada senyawa tersebut yang dimiliki berbeda jumlah dan posisinya. Turunan polifenol sebagai antioksidan dapat menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Polifenol merupakan komponen yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan dalam buah dan sayuran (Hattenschwiler dan Vitousek, 2000).

Polifenol sering terdapat dalam bentuk glikosida polar dan mudah larut dalam pelarut polar (Hosttetman *et al.*, 1986). Polifenol memiliki spektrum luas dengan sifat kelarutan pada suatu pelarut yang berbeda-beda. Hal ini disebabkan oleh gugus hidroksil pada senyawa tersebut yang dimiliki berbeda jumlah dan posisinya. Degradasi polifenol dapat dihindari dengan penggunaan sampel yang kering atau beku, hal ini dikarenakan sampel yang memiliki kelembaban atau kadar air dapat membantu aktivasi enzim (Tsao, 2010). Polifenol terbukti memiliki aktivitas antimikroba terhadap sebagian besar bakteri patogen dan spesies jamur.

2.6.1 Tanin

Tanin adalah senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada beberapa tanaman, tanin merupakan senyawa kimia yang tergolong dalam senyawa

polifenol (Deaville *et al.*, 2010 dalam Sujarnoko, 2012). Tanin mampu mengikat dan melindungi protein dari degradasi enzim mikroba maupun enzim protease pada tanaman (Oliveira *et al.*, 2009 dalam Sujarnoko, 2012), sehingga tanin sangat bermanfaat dalam menjaga kualitas silase.

Tanin pada tanaman diklasifikasikan sebagai tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis merupakan jenis tanin yang mempunyai struktur poliester yang mudah dihidrolisis oleh asam atau enzim dan sebagai hasil hidrolisisnya adalah suatu asam polifenolat dan gula sederhana. Golongan tanin ini dapat dihidrolisis dengan asam, mineral panas dan enzim-enzim saluran pencernaan.

Menurut Cowan (1999), mekanisme tanin berperan sebagai antibakteri adalah dengan cara merusak dinding sel. Mekanisme kerusakan dinding sel dapat disebabkan oleh adanya akumulasi komponen lipofilik yang terdapat pada dinding sel atau membran sel, sehingga menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel.

2.6.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol (Sjahid, 2008). Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatiktiga karbon (Robinson, 1995). Menurut Bylka dan Pilewski (2004), flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga dapat ditemukan pada setiap ekstrak tumbuhan. Flavonoid dibagi menjadi 7 tipe yaitu flavon, flavonol, flavanon, khalkon, xanton, isoflavon dan biflavon.

Tumbuhan yang mengandung flavonoid banyak dipakai dalam pengobatan tradisional. Hal tersebut disebabkan flavonoid mempunyai berbagai macam aktivitas terhadap macam-macam organisme (Robinson, 1995). Penelitian farmakologi terhadap senyawa flavonoid menunjukkan bahwa beberapa senyawa golongan flavonoid memperlihatkan aktivitas seperti antifungi, diuretik, antihistamin, antihipertensi, insektisida, bakterisida, antivirus dan menghambat kerja enzim (Geissman, 1962).

2.6.3 Saponin

Saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang lama pada waktu ekstraksi atau ekstrak tanaman yang pekat. Saponin mempunyai bagian utama berupa turunan triterpen dengan sedikit steroid. Residu gula dihubungkan oleh satu gugus -OH biasanya C₃-OH dari aglikon (*monodesmoside saponin*) dan jarang dengan dua gugus OH atau satu gugus OH dan gugus karboksil (*bis-desmoside saponin*) (Wagner, 1984 dalam Tristiyanto, 2009). Saponin mempunyai efek antibakteri dan antijamur. Efek antijamur dan antibakteri terganggu dengan adanya gugus monosakarida dan turunannya (Cheeke, 2000 dalam Tristiyanto, 2009).

Mekanisme saponin sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas membran sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Rachmawati, 2013).

2.7 Antioksidan

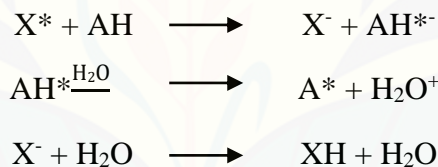
Secara kimia senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*elektron donor*). Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat di hambat. Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Radikal bebas adalah atom, molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri yang mempunyai elektron tidak berpasangan, oleh karena itu bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. Elektron yang tidak berpasangan selalu berusaha untuk mencari pasangan baru, sehingga mudah bereaksi dengan zat lain (protein, lemak maupun DNA) dalam tubuh (Winarti, 2010). Menurut Hartanto (2012), antioksidan berperan penting dalam melindungi sel dari kerusakan dengan kemampuan memblok proses kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas.

Beberapa senyawa metabolit sekunder pada tanaman memiliki aktivitas antioksidan yang berfungsi menangkap radikal bebas sehingga mampu menghambat arterosklerosis, hipertensi, proses oksidasi pada LDL, dan beberapa penyakit kanker tertentu (Akagawa, 2001). Beberapa senyawa metabolit sekunder tersebut diantaranya golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid atau triterpenoid (Gordon, 1994).

Mekanisme antioksidan merangkap radikal bebas digolongkan menjadi dua yaitu mekanisme *Hidrogen Atom Transfer* (HAT) dan *Electron Transfer* (ET) (Okawa *et al.*, 2001). Reaksi HAT pada umumnya terjadi akibat perokdasi lemak yaitu radikal bebas (X^*) dengan antioksidan (AH) seperti pada reaksi dibawah ini:



Reaksi ET terjadi akibat reaksi reduksi oksidasi (redoks) antara radikal (X^*) dengan antioksidan (AH) yang menghasilkan produk stabil (XH) dan air (H_2O). produk inilah yang dapat mempengaruhi warna menjadi memudar. tahapan reaksinya sebagai berikut:



Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintetis (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Beberapa contoh antioksidan sintetis yang diizinkan penggunaannya secara luas diseluruh dunia untuk digunakan dalam makanan adalah *Butylated Hidroxyanisol* (BHA), *Butylated Hidroxytoluene* (BHT), *Tert-Butylated Hidroxyquinon* (TBHQ) dan tokoferol. Antioksidan tersebut merupakan antioksidan yang telah diproduksi secara sintesis untuk tujuan komersial (Buck, 1991). Di bidang industri pangan, antioksidan dapat digunakan untuk mencegah terjadinya proses oksidasi yang dapat menyebabkan kerusakan, seperti ketengikan, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik lainnya (Tamat *et al.*, 2007).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian dan Laboratorium Mikrobiologi Pangan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Mei 2017 hingga Januari 2018.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan untuk pembuatan serbuk daun melinjo yaitu neraca analitik (Ohaus, USA), oven (Labtech LDO-080N, Korea) dan *blender* (Miyako, Indonesia). Alat yang digunakan untuk proses ekstraksi yaitu peralatan gelas, *shaker waterbath* (Mettler D-91126, Jerman), *rotary evaporator* (Butchi, Jerman), *oven vacuum* (Lab-line Instruments), *spray dryer*, spektrofotometer (Thermo Scientific Genesys 10S UV-VIS, China), *magnetic stirrer* (Mettler MS300HS, Jerman), spatula, dan *vortex* (Mettler VM-3000-MD, Jerman). Alat yang digunakan untuk uji antibakteri yaitu inkubator (Heraeus Inst B6200, Jerman), autoklaf (Hirayama HL 36, Jepang), *laminar air flow* (Crumair, Spanyol), *colony counter* (Stuart Scientific), *colour reader* (CR-10 Minolta), penangas (Mettler MS300HS, Jerman), pipet mikro (Biohit 12636255, Jerman), cawan petri, bunsen, penangas listrik, jarum ose, botol semprot, *blue tip*, dan *yellow tip*.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi bahan baku dan bahan kimia. Bahan baku berupa daun melinjo muda yaitu daun melinjo dengan urutan satu dan dua dari pucuk, yang berasal dari lingkungan Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Bahan kimia yang digunakan adalah biakan murni bakteri *Eschericia coli* dan *Bacillus subtilis* dari Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan

Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember, etanol (C_2H_5OH) 75%, DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) 2%, reagen *Follin-ciocalteau*, DPPH (*1,1-diphenyl-1-2-Picrylhidrazil*) aquades steril, Na_2CO_3 , *aluminium foil*, larutan garam fisiologis 0,85%, asam galat, media NA (*Nutrient Agar*), media NB (*Nutrient Broth*), Maltodekstrin DE 12, kertas saring, DPPH, Maltodekstrin, tisu, label dan kapas.

3.3 Rancangan Percobaan

Rancangan yang digunakan pada percobaan ini yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan perlakuan penambahan maltodekstrin. Variasi konsentrasi maltodekstrin yang digunakan dalam proses enkapsulasi dengan taraf sebagai berikut:

P1 = Ekstrak daun melinjo + 5% maltodekstrin

P2 = Ekstrak daun melinjo + 10% maltodekstrin

P3 = Ekstrak daun melinjo + 15% maltodekstrin

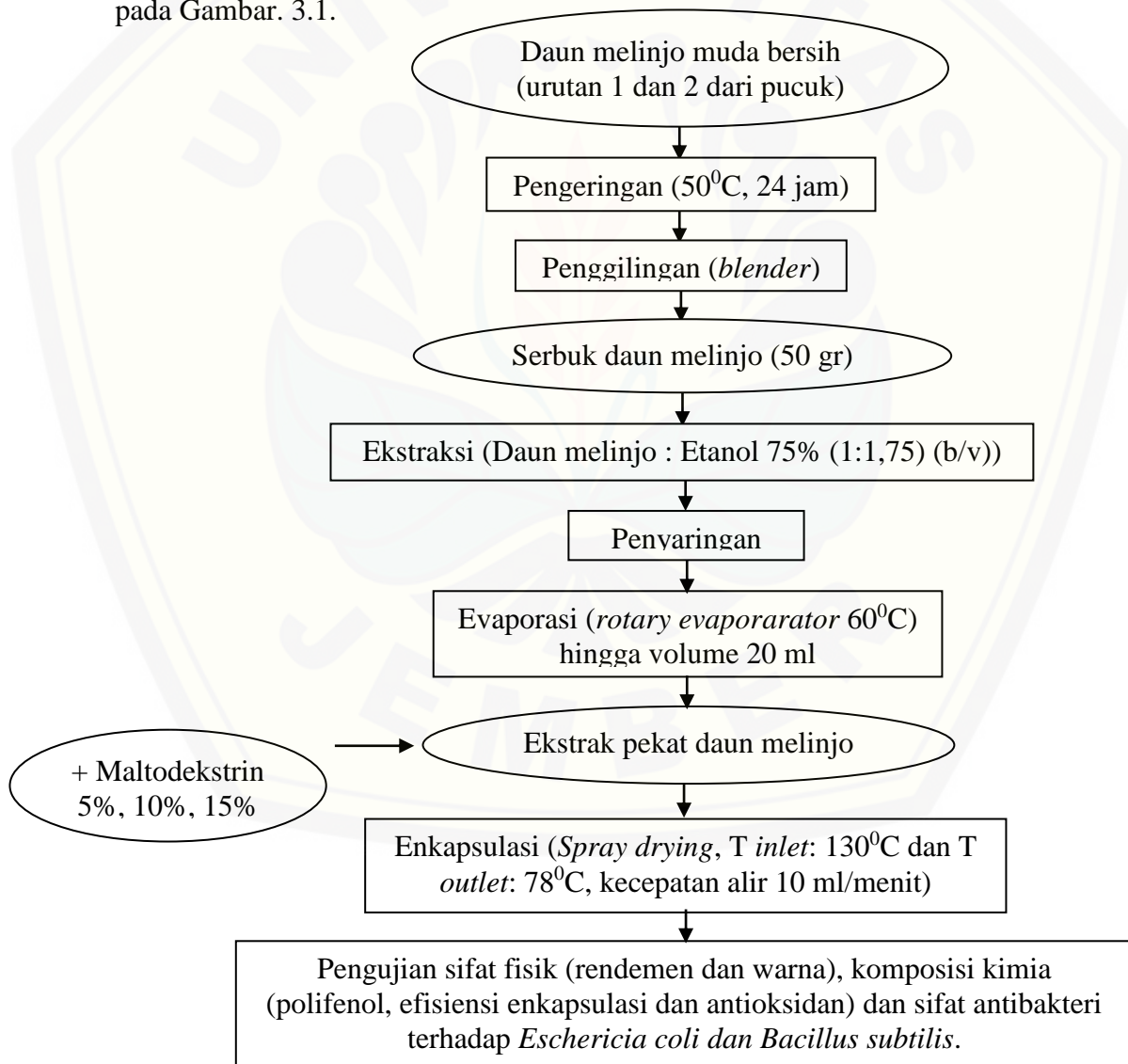
Pengukuran yang dilakukan adalah duplo, yaitu pada setiap sampel akan dilakukan pengukuran sebanyak 2 kali ulangan.

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan Penelitian dilakukan dengan melakukan sortasi daun melinjo kemudian melakukan tahapan ekstraksi polifenol daun melinjo dilakukan dengan melakukan sortasi daun melinjo, daun melinjo yang digunakan adalah daun melinjo muda bersih yang dipetik bagian ujungnya pada urutan satu dan dua. Setelah itu, dilakukan pengeringan dengan menggunakan oven pada suhu $50^{\circ}C$ selama 24 jam. Menurut Moniharapon *et al.*, (2014), suhu oven yang serasi adalah sekitar $50^{\circ}C$ sampai $70^{\circ}C$. Setelah daun melinjo kering, dilakukan proses penggilingan dengan menggunakan *blender*.

Pembuatan ekstrak pekat daun melinjo dilakukan dengan mencampurkan 50 gr serbuk daun melinjo dengan etanol 75% dengan perbandingan 1:1,75 (b/v). Kemudian dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring sehingga didapatkan filtrat dan rafinat. Filtrat kemudian dipekatkan menggunakan *rotary*

evaporator hingga diperoleh konsentrat. Pada proses enkapsulasi dengan mencampurkan ekstrak pekat daun melinjo dengan maltodekstrin dan dilakukan homogenasi hingga tercampur rata. Maltodekstrin yang ditambahkan yaitu 5%, 10% dan 15% dari berat bahan. Setelah itu dilakukan pengeringan dengan menggunakan *spray dryer* hingga didapatkan serbuk ekstrak daun melinjo. Serbuk ekstrak daun melinjo kemudian dilakukan pengujian fisik berupa warna dan rendemen serta pengujian efektifitas enkapsulasi, selain itu juga dilakukan pengujian kimia berupa nilai total polifenol, aktifitas antioksidan dan antibakteri. Diagram alir tahapan penelitian enkapsulasi ekstraksi daun melinjo dapat dilihat pada Gambar. 3.1.



Gambar 3.1 Tahapan Penelitian Enkapsulasi Ekstrak Daun Melinjo.

3.5 Prosedur pengamatan

3.5.1 Rendemen (Khamanga *et al.*, 2009)

Perhitungan rendemen dilakukan setelah pembuatan ekstrak dan setelah enkapsulasi. Rendemen enkapsulasi ekstrak daun melinjo yang dihasilkan dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat mikro kapsul}}{\text{Berat awal sebelum spray drying}} \times 100$$

3.5.2 Warna (Good, 2002 *dalam* Aisyah 2016)

Pengukuran warna dilakukan untuk mengukur warna kapsul ekstrak polifenol daun melinjo, pengukuran warna ini dilakukan dengan menggunakan *colour reader*. Pengukuran warna dibaca pada parameter L*, a*, b* di 3 titik yang berbeda. L* menunjukkan derajat kecerahan dari hitam (0) hingga putih (100). a* mendeskripsikan warna merah hijau dengan nilai a* positif mengindikasikan kemerahan dan a* negatif mengindikasikan kehijauan. Sedangkan b* mendeskripsikan warna kuning biru dengan b* positif mengindikasikan kekuningan sedangkan b* negatif mengindikasikan kebiruan. Sebelum warna kapsul ekstrak polifenol daun melinjo diukur, *colour reader* dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan porselen khusus. Ujung lensa *colour reader* di tempelkan pada permukaan sampel yang akan dianalisis pada 3 titik yang berbeda. Nilai a, b dan L yang didapatkan kemudian dimasukkan dalam rumus konversi. Perhitungan nilai L, a dan b ditujukan untuk mendapatkan °H sehingga sampel dapat dideskripsikan warnanya berdasarkan tabel 3.1.

$$L^* = \frac{\text{Nilai rata-rata L ditiga titik} \times 94,35}{\text{Nilai L porselen standar}}$$

$$a^* = \frac{\text{Nilai rata-rata a ditiga titik} \times 5,75}{\text{Nilai a porselen standar}}$$

$$b^* = \frac{\text{Nilai rata-rata b ditiga titik} \times 6,51}{\text{Nilai b porselen standar}}$$

$$H = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*}$$

Keterangan:

L : kecerahan warna, nilai berkisar antara 0-100 yang menunjukkan warna hitam hingga putih.

a* : nilai berkisar antara -80-(+100), menunjukkan warna hijau hingga merah.

b* : nilai berkisar antara -50-(+70), menunjukkan warna biru hingga kuning.

H : Hue, sudut warna (0° = warna netral, 90° = kuning, 180° = hijau, 270° = biru)

Tabel 3.1 Deskripsi warna berdasarkan $^\circ$ Hue

$^\circ$ Hue [arc tan (b/a)]	Deskripsi warna
18 – 54	<i>Red (R)</i>
54 – 90	<i>Yello Red (YR)</i>
90 – 126	<i>Yellow (Y)</i>
126 – 162	<i>Yellow Green (YG)</i>
162 – 198	<i>Green (G)</i>
198 – 234	<i>Blue Green (BG)</i>
234 – 270	<i>Blue (B)</i>
270 – 306	<i>Blue Purple (BP)</i>
306 – 342	<i>Purple (P)</i>
342 – 18	<i>Red Purple (RP)</i>

Sumber : Hutching, 1999 dalam Aisyah 2016

3.5.3 Total polifenol (Metode *Follin Ciocalteu*) (Singleton, 1999)

Pengukuran total polifenol dilakukan pada sampel ekstrak daun melinjo pekat sebelum proses enkapsulasi dan setelah proses enkapsulasi menggunakan *spray dryer*. Pembuatan kurva standar untuk perhitungan polifenol dibuat dengan cara menggunakan larutan asam galat pada konsentrasi (0; 50; 100; 150; 200; 250; 300; 350; 400) μ l, lalu diambil 0,04 ml dalam 9 tabung reaksi berbeda dan masing-masing ditambahkan 0,8 ml reagen *Folin-Ciocalteu* yang telah diencerkan 10 kali pada masing-masing tabung reaksi. Kemudian divortex dan didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya ditambahkan 0,8 ml larutan Na_2CO_3 7% dan 0,36 ml aquades (total volume 2 ml). Tabung reaksi yang berisi larutan kurva standar tersebut ditutup dengan aluminium foil dan didiamkan ditempat gelap selama 60 menit, kemudian dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 765 nm.

Penentuan total polifenol ekstrak daun melinjo dilakukan dengan cara penimbangan sampel sebanyak 0,02 g yang dimasukkan ke dalam labu takar dan dilarutkan dalam labu takar 10 ml dengan aquades. Sebanyak 0,04 ml sampel

dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,8 ml reagen *Folin-Ciocalteu* yang telah diencerkan 10 kali. Sampel tersebut divortex dan didiamkan selama 5 menit, selanjutnya ditambahkan 0,8 ml Na_2CO_3 dan ditambahkan aquades hingga volume 2 ml kemudian divortex. Sampel dalam tabung reaksi tersebut ditutup dengan menggunakan aluminium foil dan didiamkan selama 120 menit. Setelah diinkubasi selama 120 menit, dilakukan pengukuran nilai absorbansi pada panjang gelombang 765 nm.

Kandungan polifenol sampel dihitung berdasarkan kurva standar polifenol yang diperoleh. Nilai absorbansi (y) dimasukkan pada persamaan kurva standar asam galat. Diperoleh nilai (x), lalu hasil perhitungan dibagi berat sampel yang digunakan untuk analisa.

$$\text{Total polifenol (mg/g)} = \frac{X \times \text{faktor pengenceran}}{\text{berat sampel}} \times 100$$

3.5.4 Aktivitas antioksidan (Bondet, *et al.*, 1997)

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan pada sampel ekstrak daun melinjo pekat sebelum proses enkapsulasi dan setelah proses enkapsulasi menggunakan *spray dryer*. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. DPPH adalah salah satu senyawa radikal bebas yang memiliki nitrogen tidak stabil dengan absorbansi maksimal pada panjang gelombang 517 nm dan berwarna biru gelap. Sebanyak 0,1 g serbuk ekstrak daun melinjo dilarutkan dalam 10 ml etanol pada beaker glass 50 ml. Kemudian ditutup dengan aluminium foil dan di aduk dengan stirrer selama 30 menit. Selanjutnya disentrifuse selama 3 menit dengan kecepatan 5000 rpm. Filtrat yang telah diencerkan diambil 0,5 ml ditambahkan ke tabung reaksi, ditambahkan 0,25 ml DPPH. Kemudian didiamkan 20 menit, setelah didiamkan selama 20 menit, filtrat ditera dengan etanol hingga mencapai volume 2,5 ml. setelah itu diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Blanko dibuat dengan cara mengganti sampel dengan etanol dan dilakukan dengan tahapan yang sama seperti pengukuran sampel.

Absorbansi DPPH diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm, setelah diinkubasi dalam ruang tanpa cahaya selama 30

menit. Kemampuan antioksidan diukur sebagai penurunan serapan larutan DPPH akibat adanya penambahan sampel. Nilai serapan larutan DPPH sebelum dan sesudah penambahan ekstrak tersebut dihitung sebagai persen aktivitas antioksidan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \left(1 - \frac{A_{\text{Sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \right) \times 100$$

Keterangan:

A kontrol = Absorbansi tidak mengandung sampel

A sampel = Absorbansi sampel

3.5.5 Uji efisiensi enkapsulasi (Yang *et al.*, 2014 dalam Aisyah, 2016)

Efisiensi enkapsulasi (EE) diperoleh dengan membandingkan total polifenol sebelum proses enkapsulasi dengan total polifenol setelah proses enkapsulasi. Efisiensi enkapsulasi dihitung berdasarkan total Polifenol kapsul (P_k) per total polifenol filtrat (P_f). Efisiensi enkapsulasi dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Efisiensi enkapsulasi (\%)} = \frac{P_k}{P_f} \times 100$$

3.5.6 Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) dan IC_{50} ekstrak polifenol (Rusell and Furr, 1997).

a. Tahap Persiapan Sampel

Pada tahap persiapan sampel semua peralatan dan bahan (kecuali ekstrak daun melinjo) disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm. Selanjutnya yaitu pembuatan larutan uji yaitu pembuatan stok larutan ekstrak polifenol daun muda melinjo dengan cara melarutkan ekstrak polifenol daun muda melinjo dalam 10 ml aquades steril dan di homogenkan menggunakan *vortex*. Kemudian larutan uji dibuat dalam berbagai konsentrasi 0 mg/ml, 2 mg/ml, 4 mg/ml, 8 mg/ml, 16 mg/ml, dan 32 mg/ml. Selanjutnya ditambahkan DMSO masing-masing sebanyak 20 μ l yang berfungsi untuk melarutkan ekstrak polifenol lebih maksimal dan larutan fisiologis berturut-turut 980 μ l, 930 μ l, 880 μ l, 780 μ l, 580 μ l, dan 180 μ l. Pada saat akan dilakukan uji ditambahkan dengan media NA yang masih hangat dengan perbandingan 4:1. Selain itu disiapkan pula bakteri dari agar miring yang telah

disiapkan dan dimasukkan pada media NB 1 ml kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

b. Tahap Pangujian

Penentuan KHM dan IC₅₀ pada bakteri *Eschericia coli* dan *Bacillus subtilis* dilakukan dengan metode dilusi agar dengan hitung koloni. Masing-masing cawan petri yang telah berisi 200µl suspensi mikroba (pengenceran 10⁻⁶), ditambahkan dengan larutan fisiologis 0,85%, kemudian ditambahkan dengan larutan uji dengan beberapa konsentrasi yaitu 2 mg/ml, 4 mg/ml, 8 mg/ml 16 mg/ml dan 32 mg/ml. Campuran suspensi mikroba, larutan fisiologis dan larutan uji yang telah dimasukkan dalam cawan petri kemudian dilakukan penambahan DMSO dan media NA yang masih hangat dengan perbandingan 4:1, diratakan dan dibiarkan memadat kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan jumlah koloni mikroba dilakukan dengan menggunakan *colony counter*.

c. Tahap Pengamatan

Pengamatan dilakukan dengan menghitung koloni yang tumbuh pada cawan petri. KHM ditentukan sebagai konsentrasi paling rendah yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba hingga 80-90%. Sedangkan IC₅₀ merupakan konsentrasi yang dapat memberikan 50% penghambatan dari total koloni yang terdapat pada kontrol negatif.

Hasil perhitungan nilai KHM dan IC₅₀ dilakukan dengan menggunakan tiga kurva yaitu kurva reguler, kurva logaritmik dan kurva probit. Kurva reguler dibuat dengan cara menghitung log jumlah koloni kemudian dirata-rata. Setelah itu dihitung % penghambatan berdasarkan perbandingan antara total jumlah mikroba pada kontrol negatif dengan penambahan jumlah polifenol. Kemudian dibuat kurva berdasarkan % penghambatan dengan konsentrasasi polifenol dalam bentuk kurva polinomial, setelah itu didapatkan persamaan. Persamaan tersebut digunakan untuk menghitung konsentrasi polifenol yang dibutuhkan dalam menghambat pertumbuhan bakteri dalam perhitungan nilai KHM dan IC₅₀. Kurva probit dibuat dengan cara mengonversi % penghambatan dengan tabel probit kemudian dibandingkan dengan log konsentrasi (Log C). Kurva tersebut

BAB 5 PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Peningkatan konsentrasi maltodekstrin pada proses enkapsulasi ekstrak daun melinjo memiliki pengaruh nyata terhadap nilai rendemen, efisiensi enkapsulasi, kecerahan, derajat *Hue*, kandungan polifenol dan aktifitas antioksidan serbuk ekstrak daun melinjo yang dihasilkan. Peningkatan konsentrasi maltodekstrin pada proses enkapsulasi ekstrak daun melinjo menyebabkan penurunan efisiensi enkapsulasi, total polifenol dan aktifitas antioksidan. Serbuk enkapsulasi ekstrak daun melinjo memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* yang merupakan bakteri gram negatif dari pada bakteri *Bacillus subtilis* yang merupakan bakteri gram positif dengan nilai IC_{50} bakteri gram positif lebih besar dari pada bakteri gram negatif. Nilai IC_{50} *Eschericia coli* pada perlakuan M5%, M10% dan M15% secara berturut-turut yaitu 1,13 mg/ml; 1,69 mg/ml dan 1,87 mg/ml sedangkan pada nilai IC_{50} *Bacillus subtilis* pada perlakuan M5%, M10% dan M15 % secara berturut-turut yaitu 1,44 mg/ml; 2,65 mg/ml dan 2,8 mg/ml.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar penelitian lanjutan untuk diaplikasikan sebagai suatu produk maupun pengawet alami pada suatu bahan pangan, sehingga dapat meningkatkan nilai ekonomi daun melinjo. Akan tetapi perlu diperhatikan kembali pada efisiensi enkapsulasi, karena nilai efisiensi enkapsulasi yang dihasilkan masih tergolong kecil yaitu berkisar antara 16,55% hingga 32,26%.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelgader, M.O. and Inaam, A.I. 2011. *Application of Gum Arabic For Coating Of Dried Manggo Slices*. Journal of Nutrition. 10 (5): 457-462.
- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Aisyah, N. 2016. *Mikroenkapsulasi Ekstrak Polifenol Biji Kakao (Theobroma Cacao L) Inferior Sebagai Antioksidan dan Antimikroba [SKRIPSI]*. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Akagawa, M. and K. Suyama. 2001. *Amine Oxidase Like Activity of Flavonoid*. Europe Journal Biochemistry. 268, 1953-1963.
- Anal, A, K. and Singh. 2007. *Recent Advances in Microencapsulation of Probiotics For Industrial Applications And Targeted Delivery*. Journal Trends in Food Science and Technology 18: 240-251.
- Barros, F.A.R.D.; Stringheta, P.C. 2006. *Microencapsulamento de antocianinas – uma alternativa para o aumento de sua aplicabilidade como ingrediente alimenticio*. Biotecnologia ciencia desenvolvimento 36: 18–24.
- Bertolini A.C., A.C. Siani and C. R. F. Grosso. 2001. *Stability Of Monoterpenes Encapsulated In Gum Arabic By Spray Drying*. Journal Agrotechnology Food Chemistry. 49: 780–785.
- Blanchard, P. H. and Katz, F. R. 1995. *Starch Hydrolysates in Food Polysaccharides and Their Application*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Bondet, V., W. Brand-Williams and C., Berset. 1997. *Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH*. Free Radical Method. Lebensmittel-Wis.u.-Technol 30: 609-615.
- Brannen, L.A. and Davidson P.M. 1993. *Antimicrobials in Foods*. New York: Marcel Dekker.
- Brooks, G. F., J. S. Butel and S. A. Morse. 2006. *Medical Microbiology*. New York: Mc Graw Hill.
- Bylka, W., Matlawska, I., and Pilewski. 2004, *Review Article: Natural Flavonoid as Antimicrobial Agent*. JANA, 7 (2).
- Cowan, MM. 1999. *Plant Products as Antimicrobial Agents*. Clinical Microbiology Reviews 12 (4): 564-582.

- Dewi, C., Utami, R., and Riyadi N. H. 2012. *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Melinjo (Gnetum gnemon L.)*. Jurnal Teknologi Hasil Pertanian, 5 (2).
- Djaafar, T., F; Santoso, Umar and Ariestyanta, Anggara. 2017. *Pengaruh Penambahan Maltodekstrin dan Suhu Inlet Spray Dryer terhadap Karakteristik Fisiko-Kimia Bubuk Sari Kerandang (Canavalia virosa)*. Agritech, 37 (3): 334-342
- Fang, Z. X., and Bhandari, B. 2010. *Encapsulation of Polyphenols - A Review*. Trends food science Technology. 21: 510-523.
- Fox PF., and McSweeney PLH. 1998. *Dairy Chemistry and Biochemistry*. London: Thomson Science.
- Geissman, T.A. 1962. *The Chemistry of Flavonoid Compound*. New York: the Mac. Millan Company.
- Gordon M. H. J., Pokorny, N. Yanishlieve, and M. Gordon. 2001. *Antioksidants in Food*. New York: CRC.
- Gortzi, O., Lalas, S., Chinou, I., dan Tsaknis, J. 2007. *Evaluation of The Antimicrobial And Antioxidant Activities Of Origanum Dictamnus Extracts Before And After Encapsulation In Liposomes*. Journal Molecules, (12): 932-945.
- Hammerschmidt, R. 1999. *Induce disease resistance: How do induced plant stop pathogens? Physiol. Molecules Plant Pathol.* 55: 77-84.
- Harborne, J. B. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan* Diterjemahkan oleh: K. Padmawinata dan I. Soediro. Bandung: Penerbit Institut Teknologi Bandung.
- Hartanto, H. 2012. *Identifikasi Potensi Antioksidan Minuman Coklat dari Kakao Landak (Theobroma cacao L.) dengan Berbagai Cara Preparasi: Metode Radikal Bebas 1,1 Diphenyl-2-Picrylhydrazil (DPPH) [SKRIPSI]*. Surabaya: Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
- Hisada. H., Asahara. M., Kato. E and Sakan. F. 2005. *Antibacterial and Antioxidative Constituents of Melinjo Seeds and their Application to Foods*. Japan: Science Links Japan.
- Istiyani, K. 2008, *Mikroenkapsulasi Insulin untuk Sediaan Oral Menggunakan Metode Emulsifikasi dengan Penyalut Natrium Alginat dan Kitosan, [SKRIPSI]*. Depok: Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

- Jawetz, E., J. Melnick, and L. Adelberg, E.A. 2005. *Microbiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Terjemahan Huriati dan Hartanto. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kahkonen, M.P. Hopia, A.I. and Heinonen. 2001. *Berry Phenolics and Their Antioxidant Activity*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 4 (9): 4076-4082.
- Khamanga. S. M., Parfitt, N., Tsitsi Nyamuziwa, Haidula, H., and Walkerl, R. B. 2009. *The Evaluation Of Eudragit Microcapsules Manufactured By Solvent Evaporation Uing USP Apparatus I*. Dissolution Technologies.
- Kim H. J, Eun J.C, Sung H. C., Shin K. C., Heu D. P., and Sang W. C. (2002). *Antioxidative activity of resveratrol and its derivatives isolated from seed of Paeonia lactiflora*. Biochemical science Biotechnology Biochemistry 66: 1990-1993.
- Krasaekoopt, W, B., H. Bhandari and H. Deeth. 2003. *Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt*. Journal International Dairy 13: 3-13.
- Lestari, T., Malaka, R., and Garantjang, S. 2012. *Pengawetan Telur Dengan Perendaman Ekstrak Daun Melinjo (Gnetum gnemon L.)*. Jurnal Sains dan Teknologi, 13 (2): 184-189.
- Lingga, L. 2010. *Cerdas Memilih Sayuran*. Jakarta: PT Agromesia Pustaka.
- Lubis, M., S. 2011. *Penggunaan Maltodekstrin Hasil Hidrolisis Pati Pisang Pada Formulasi Sediaan*. [SKRIPSI]. Medan: Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Misnawi and T. Wahyudi. 2008. *Potential Uses of Cocoa Bean Infested By Conopomorpha Cramerella For Polyphenol Extraction*. ASEAN Food Journal, 15: 27-34.
- Molyneux, P. 2004. *The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl. (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*. Journal of Science and Technology.
- Moniharapon, D.D, dan Moniharapon, M. 2014. *Ekstrak Etanol Daun Melinjo (Gnetum gnemon L.) Sebagai Anti Feedant Terhadap Larva Ulat Grayak (Spodoptera Litura Fab.) Pada Tanaman Sawi (Brassica Sinensis L.)*. Jurnal Budidaya Tanaman. 10 (2): 100-104.
- Mortazavian, A., Razavi, S.H., Ehsani, M.R. and Sohrabvandi, S. 2007. *Principle And Methods of Microencapsulation of Probiotic Microorganism*. Iranian Journal Biotechnology, Vol. 5: 1-18.

- Mosilhey, S.H. 2003. *Influence of Different Capsule Materials on The Physiological Properties Of Microencapsulated Lactobacillus Acidophilus*. Institute of Food Technology, Faculty of Agriculture University of Bonn.
- Mukhriani. 2014. *Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif*. Jurnal Kesehatan. 7 (2): 361-367.
- Novitasari, Dini. 2017. *Potensi Ekstrak Biji Lamtoro (Leucana leucocephala) Kaya Polifenol Terenkapsulasi Sebagai Antioksidan dan Antibakteri*. [SKRIPSI] Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Okawa, M., Kinjo, J., Nohara, T., and Ono, M., 2001. *Modification Method DPPH (2-2-difenil-1-pikrilhidrazil) Radical Scavenging Activity of Flavonoids Obtained From some medicinal plants*. Biologi Pharmaci Bull. 24 (10): 1202-1205.
- Palupi, N. W., Pandu K. J. S., and Yuwanti, S. 2014. *Enkapsulasi Cabai Merah Dengan Teknik Coacervation Menggunakan Alginate yang di Substitusi dengan Tapioka Terfotooksidasi*. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan, Vol. 3 (3): 87-93.
- Pelczar and Chan, 1986, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Persatuan Ahli Gizi Indonesia. 2009. *Tabel Komposisi Pangan Indonesia*. Jakarta: PT. Gramedia.
- Pratiwi, I. 2009. *Uji Antibakteri Ekstrak Kasar Daun Acalypha indica terhadap Bakteri Salmonella choleraesuis dan Salmonella typhimurium*. [SKRIPSI]. Surakarta: Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surakarta.
- Rahmawati, F., Gebi, D., and Hayat, S. 2013. *Kajian Aktivitas Antioksidan Produk Olahan Buah Jambu Biji Merah (Psidium guajava L.)*. Jurnal Sains dan Teknologi.
- Riendestya, Claudia Ayu. 2017. *Potensi Ekstrak Buah Takokak (Solanum torvum) Terenkapsulasi Sebagai Antioksidan dan Antibakteri*. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Risch, S. J. 1995. *Encapsulation: Overview of Uses and Techniques, Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients*. Washington DC: American Chemical Society.
- Rizqiati, H. 2006. *Ketahanan dan Viabilitas Lactobacillus Plantarum yang Dienkapsulasi Dengan Susu Skim dan Gum Arab Setelah Pengeringan dan Penyimpanan*. [Thesis]. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor.

- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi ke-4 Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: Institut Pertanian Bogor press.
- Rusell, A. D. and Furr, J. R. 1977. *Antibacterial Activity of a New Chlororoxyleneol Preparation Containing Ethylenediamine Tetraacetic Acid*. Journal of applied bacteriology 43: 253-260.
- Sa`nchez, A. A., Espinosa, M.E., and Vazquez, E.N.O., Camberos, E.P., Vazquez, R.S., dan Cervantes, E.L. 2012. *Antimicrobial and antioxidant activities of Mexican oregano essential oils (Lippia graveolens H. B. K.) with different composition when microencapsulated in β -cyclodextrin*. Society for Applied Microbiology, (50): 585–590.
- Saffan, S.E.S. and El-Mousallamy, A.M.D. 2008. *Allelopathic effect of Acacia raddiana leaf extract on the phytochemical contents of germinated Lupinus termis Seeds*. Journal of Applied Sciences Research, 4 (3): 270-277.
- Santoso, M. 2008. *Inhibition of Fish Lipid Oxidation by the Extract of Indonesia Edible Plant Seed `Melinjo`*. Kyoto: Japanese Society for Food Science and Technology.
- Sarkar, S., Gupta, S., Variyar, P. S., Sharma, A., and Singhal, R., 2012. *Irradiation Depolymerized Guar Gum as Partial Replacement of Gum Arabic For microencapsulation Of Mint Oil*. Carbohydrate Polymers. 90: 1685–1694.
- Singleton, V. L. and J. A Rossi. 1965. *Colorimetry of Total Phenolic with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagent*. American Journal Enology and Viticulture. 16: 147.
- Sintia, M, SP. and Murhananto, MM. 2004. *Memfaatkan Tanaman Sayur Untuk Mengatasi Aneka Penyakit*. Jakarta: PT Agromedia Pustaka.
- Siswandoro and Soekarjo, B. 1995. *Kimia Nedisial*. Airlangga University Press.
- Sjahid, L. R. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari Daun Dewandaru (Eugenia uniflora L.)*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah.
- Sujarnoko, T. U. P. 2012. *Studi Meta-Analisis Efek Senyawa Metabolit Sekunder Tanin Terhadap Kualitas Silase [SKRIPSI]*. Bogor: Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.
- Supriyadi and Rujita, A., S. 2013. *Karakteristik Mikrokapsul Minyak Atsiri Lengkuas Dengan Maltodekstrin Sebagai Enkapsulan*. [SKRIPSI] Yogyakarta: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada.
- Syafarini, I. 2009. *Karakteristik Produk Tepung Es Krim dengan Penambahan Hidrokolloid Karaginan dan Alginat*. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

- Syamsuni. 2006. *Farmasetika Dasar dan Hitungan Farmasi*. Jakarta: EGC.
- Tamat, S. R., T. Wikanta and L. S. Maulina. 2007. *Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumpun Laut Hijau Ulva Reticulata Forsskal*. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. 5 (1): 31-36.
- Timberlake, C.F and Bridle, P. 1980. *Antocyanins Applied Science Development in Food Color 5-1*. Walford Journal edition 1980. Published LTD New York.
- Tristiyanto. 2009. *Studi Aktivitas Antibakteri dan Identifikasi Golongan Senyawa Ekstrak Aktif Antibakteri Buah Gambas (Luffa Acutangula Roxb.)* [SKRIPSI]. Surakarta: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret.
- Tsao, R. 2010. *Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols*. Journal of Nutrients. 20 (3): 1231-1246.
- Turkmen, N.; Y.S. Velioglu; F. Sari and G. Polat. 2007. *Effect of Extraction Condition on Measured Total Polyphenol Content and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea*. Molecules, 12: 484-496.
- Volk, W. A and Wheeler, M. F. 1993. *Mikrobiologi Dasar Jilid I*. Jakarta: Erlangga.
- Wahyudi, T., T.R. Panggabean and Pujiyanto. 2008. *Panduan Lengkap Kakao Manajemen Agribisnis dari Hulu hingga Hilir*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Winarti, S. 2010. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta.
- World Health Organization (WHO). 2015. *WHO of The Global Burden of Foodborne Diseases*. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/>. (Diakses pada tanggal 24 April 2016)
- Yang, Z., Peng, Z., Li, J., Li, S., Kong, L., Li, P. and Wang, Q. 2014. *Development and Evaluation Of Novel Flavour Microcapsules Containing Vanilla Oil Using Complex Coacervation Approach*. Food Chemistry, 145: 272-277.
- Yuliawaty, T. S. and Susanto, W., H. 2015. *Pengaruh Lama Pengeringan dan Konsentrasi Maltodekstrin Terhadap Karakteristik Fisik Kimia dan Organoleptik Minuman Instan Daun Mengkudu (Morinda Citrifolia L)*. Malang: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya.
- Zahro, N. 2016. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Melinjo (Gnetum gnemon L.) Terhadap Escherichia Coli* [SKRIPSI]. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

LAMPIRAN PERHITUNGAN

A. Perhitungan Rendemen Enkapsulasi

Sampel	ulangan	berat suspensi (g)	Berat bubuk (g)	rendemen (%)	Rata-rata	STDEV
M5	1	455.27	13.94	3.06	3.04	0.017
	2	457.61	13.87	3.03		
	3	456.78	13.86	3.03		
M10	1	457.46	18.88	4.13	4.13	0.018
	2	456.46	18.93	4.15		
	3	456.64	18.77	4.11		
M15	1	455.13	26.44	5.81	6.04	0.200
	2	456.76	28.13	6.16		
	3	456.76	28.11	6.15		

Keterangan

M5= 5% maltodekstrin dan 85% aquades; M10 = 10% maltodekstrin dan 80% aquades; M15 = 15% maltodekstrin dan 75% aquades

Annova Perhitungan Rendemen Enkapsulasi

TABEL ANALISIS SIDIK RAGAM					F TABEL	
SK	Db	JK	KT	F HITUNG	0.05	
Perlakuan	2	57.461	28.731	2113.34	5.14	BN
Galat	6	0.082	0.014			
Total	8	57.543	28.744			

perlakuan	P1	P2	P3
rata-rata	3.04	4.13	6.04
notasi	a	b	C

B. Perhitungan Warna

Perlakuan	Ulangan	Nilai A						Rata2	Nilai B					Rata2	Nilai L					Rata2	Stdev
		1	2	3	4	5	1		2	3	4	5	1		2	3	4	5			
P1	1	2	2.3	2.2	1.9	1.9	2.06	29.1	29.4	29.8	28	28.6	28.98	61.1	60.2	61.9	60	60.5	60.74	0.13	
	2	1.9	2.1	2	2.2	2.2	2.08	28.8	29.1	29.3	28.8	28.6	28.92	60.7	60.8	60.6	60.8	60.2	60.62		
	3	2.1	2.1	1.9	2	2.1	2.04	28.9	29	29.2	29	28	28.82	60	60.7	60.4	60.8	60.5	60.48		
P2	1	-1.2	-1.3	-1.1	-1.3	-1.1	-1.2	25	25.1	25	24.9	25	25	80	80.2	79.9	80.3	80	80.08	0.03	
	2	-1.2	-1.4	-1.2	-1.1	-1.3	-1.24	25	24.7	25.1	24.4	25.2	24.88	80.2	80	80.1	79.9	80	80.04		
	3	-1.3	-1.2	-1.3	-1.4	-1.2	-1.28	24.6	25.2	24.8	25.4	24.8	24.96	80.3	80.1	80	80	80.1	80.1		
P3	1	-1.6	-1.6	-1.6	-1.7	-1.7	-1.64	23.4	23.6	23.3	23.1	23.1	23.3	80.2	80.6	80.7	80.5	80.8	80.56	0.03	
	2	-1.5	-1.7	-1.6	-1.8	-1.5	-1.62	23.4	23.4	23.5	23.6	23.3	23.44	80.6	80.3	80.8	80.4	80.5	80.52		
	3	-1.6	-1.5	-1.7	-1.7	-1.6	-1.62	23.5	23.4	23.4	23.3	23.5	23.42	80.7	80.4	80.7	80.5	80.6	80.58		

Annova Perhitungan Nilai Kecerahan Serbuk Enkapsulasi

TABEL ANALISIS SIDIK RAGAM					F TABEL	
SK	db	JK	KT	F HITUNG	0.05	
Perlakuan	2	776.52	388.26	92935.24	4.26	BN
Galat	9	0.0376	0.0042			
TOTAL	8	776.56	388.27			

Perlakuan	P1	P2	P3
Rata-rata	60.61	80.07	80.55
Notasi	a	b	C

Nilai Hue Serbuk Enkapsulasi Ekstrak Daun Melinjo

Perlakuan	Ulangan	L	A	B	Hue	Rata	Stdev
P1	1	60.74	2.06	28.98	85.93	85.92	0.03
	2	60.62	2.08	28.92	85.89		
	3	60.48	2.04	28.82	85.95		
P2	1	80.08	-1.2	25	178.48	178.48	0.00
	2	80.04	-1.24	24.88	178.48		
	3	80.1	-1.28	24.96	178.48		
P3	1	80.56	-1.64	23.3	178.50	178.50	0.00
	2	80.52	-1.62	23.44	178.50		
	3	80.58	-1.62	23.42	178.50		

Annova Perhitungan Nilai Derajat Hue Serbuk Encapsulasi

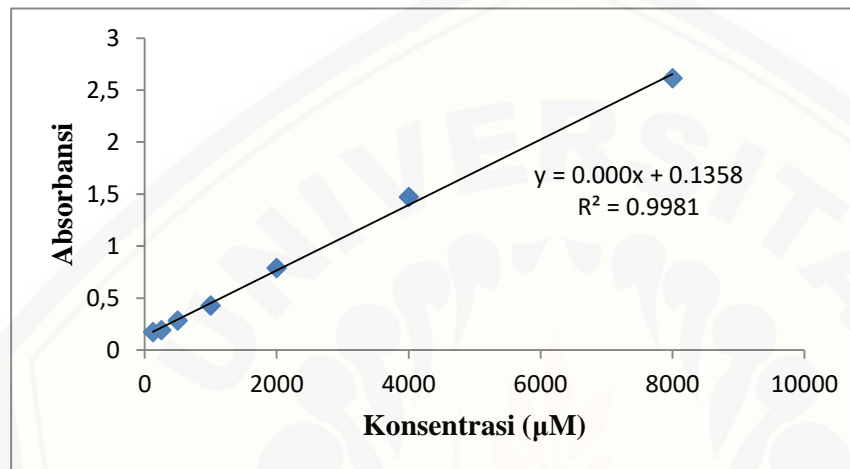
TABEL ANALISIS SIDIK RAGAM					F TABEL	
SK	db	JK	KT	F HITUNG	0.05	
Perlakuan	2	17136.54	8568.27	33975343.86	4.26	BN
Galat	9	0.002270	0.000252			
Total	8	17136.55	8568.27			

Perlakuan	P1	P2	P3
Rata-rata	85.92	178.48	178.50
Notasi	A	b	c

C. Perhitungan Total Polifenol

1. Kurva Standart Asam Galat

Konsentrasi (μM)	Absorbansi
125	0.173
250	0.19
500	0.282
1000	0.428
2000	0.789
4000	1.473
8000	2.615



2. Total Polifenol Serbuk Ekstrak Daun Melinjo

Sampel	Ulangan	Absorbansi	Variabel X	Konstanta	X	Konesentrasi Bubuk (μm)	Konversi	Konsentrasi Akhir (Mg GAE/MI)	Rata	Stdev
M5	1	0.68	0.0003	0.1358	1814	453500	0.17012	77.14942	79.512	5.367
	2	0.74	0.0003	0.1358	2014	503500	0.17012	85.65542		
	3	0.67	0.0003	0.1358	1780.6667	445166.6667	0.17012	75.73175333		
M10	1	0.53	0.0003	0.1358	1314	328500	0.17012	55.88442	52.104	7.808
	2	0.54	0.0003	0.1358	1347.3333	336833.3333	0.17012	57.30208667		
	3	0.44	0.0003	0.1358	1014	253500	0.17012	43.12542		
M15	1	0.36	0.0003	0.1358	747.33333	186833.3333	0.17012	31.78408667	29.894	2.166
	2	0.35	0.0003	0.1358	714	178500	0.17012	30.36642		
	3	0.33	0.0003	0.1358	647.33333	161833.3333	0.17012	27.53108667		

Annova Perhitungan Nilai Total Polifenol Serbuk Enkapsulasi

TABEL ANALISIS SIDIK RAGAM					F TABEL	
SK	db	JK	KT	F HITUNG	0.05	
Perlakuan	3	10227.9	3409.284	108.27752	4.757062663	BN
Galat	6	188.919	31.48653			
Total	9	10416.8	3440.77			

Perlakuan	P1	P2	P3
Rata-rata	79.5122	52.104	29.8939
Notasi	a	b	C

D. Perhitungan Efisiensi Enkapsulasi

Total Polifenol Ekstrak Daun Melinjo

Sampel	Ulangan	Absorbansi	Variabel X	Konstanta	X	Konesentrasi Bubuk (µm)	Konversi	Konsentrasi Akhir (Mg GAE/MI)	Rata	Stdev
Ekstrak	1	0.2397	0.0003	0.1358	346.3333	86583.3333	0.1701	14.7296	14.8808	0.1643
	2	0.2406	0.0003	0.1358	349.3333	87333.3333	0.1701	14.8571		
	3	0.242	0.0003	0.1358	354.0000	88500.0000	0.1701	15.0556		

Total polifenol dalam 50 ml ekstrak daun melinjo

1ml	1.0200 g
	1019.98 Mg
polifenol	3427.17378 Mg

Efisiensi enkapsulasi

Sampel	ulangan	Polifenol (mg GAE/g)	Berat serbuk (g)	Total Polifenol	Polifenol ekstrak (mg GAE/ml)	Efisiensi (%)	Rata-rata (%)	STDEV
p1	1	77.15	13.94	1075.46	3427.17	31.38	32.26	2.18
	2	75.73	13.87	1050.40	3427.17	30.65		
	3	85.65	13.9	1190.60	3427.17	34.74		
p2	1	55.88	18.88	1055.10	3427.17	30.79	28.72	4.26
	2	43.12	18.93	816.36	3427.17	23.82		
	3	57.30	18.87	1081.29	3427.17	31.55		
p3	1	31.78	26.44	840.37	3427.17	24.52	16.55	14.16
	2	30.36	28.13	854.21	3427.17	24.92		
	3	27.53	25.40	699.29	3427.17	20.40		

Annova Perhitungan Efisiensi Enkapsulasi

TABEL ANALISIS SIDIK RAGAM					F TABEL
SK	db	JK	KT	F HITUNG	0.05
Perlakuan	2	1909.85	954.93	12.83	5.14
Galat	6	446.66	74.44		
Total	8	2356.58	1029.37		

Perlakuan	P1	P2	P3
Rata-rata	32.26	28.72	16.55
Notasi	a	b	C

E. Perhitungan Aktivitas Antioksidan

Sampel	Ulangan	Blanko	Absorbansi	% penghambatan	Rata	STDEV
M5	1	2.467	1.473	40.291	40.445	0.295
	2	2.469	1.475	40.259		
	3	2.469	1.462	40.785		
M10	1	2.467	1.602	35.063	34.935	0.419
	2	2.469	1.618	34.467		
	3	2.469	1.598	35.277		
M15	1	2.467	1.675	32.104	30.723	1.433
	2	2.469	1.708	30.822		
	3	2.469	1.747	29.243		

Annova Perhitungan Efisiensi Enkapsulasi

TABEL ANALISIS SIDIK RAGAM					F TABEL	
SK	db	JK	KT	F HITUNG	0.05	
Perlakuan	2	2957.17	1478.59	1914.33	5.14	BN
Galat	6	4.63426	0.77238			
Total	8	2961.81	1479.36			

Perlakuan	P1	P2	P3
Rata-rata	40.4456	34.9359	30.7229
Notasi	A	b	c

F. Perhitungan Konsentrasi Hambat Minimum *Eschericia coli*

1. Jumlah Koloni *Eschericia coli*

Sampel	Ulangan	Konsentrasi Polifenol (mg/ml)	Jumlah Koloni (10^6)	Rata-Rata
Malto 5%	1	0	200	191
		2	35	30,3
		4	8	6.67
		8	3	1.67
		16	2	1.33
		32	0	0,66
	2	0	189	
		2	28	
		4	6	
		8	1	
		16	0	
		32	0	
	3	0	183	
		2	28	
		4	6	
8		1		
16		2		
32		1		
Malto 10%	1	0	200	191
		2	50	45,3
		4	20	19
		8	8	8.33

		16	5	3
		32	2	1.33
	2	0	189	
		2	39	
		4	19	
		8	9	
		16	2	
		32	1	
	3	0	183	
		2	47	
		4	18	
		8	8	
		16	2	
		32	1	
Malto 15%	1	0	200	191
		2	71	52,3
		4	25	21
		8	16	11
		16	6	5
		32	2	2
	2	0	189	
		2	41	
		4	20	
		8	12	
		16	7	
		32	3	

3	0	183
	2	45
	4	18
	8	5
	16	2
	32	1

2. Perhitungan KHM *Eschericia Coli*

Sampel	ulangan	konsentrasi polifenol (mg/ml)	jumlah koloni (CFU/ml)	log Jumlah koloni (CFU/ml)	Rata-rata Jumlah koloni (CFU/ml)	Rata-rata log jumlah koloni (CFU/ml)	SD	% Penghambatan	% pertumbuhan	Log C	Probit	
Malto 5%	1	0	1.00 X10 ⁹	9,00	9.53 X10 ⁸	8,98	0,02	0.0%	100.0%	0	0	
		2	1.75 X10 ⁸	8,24	1.52 X10 ⁸	8,18	0,06	84.1%	15.9%	0.30	5.99	
		4	4.00 X10 ⁷	7,60	3.67 X10 ⁷	7,56	0,07	96.2%	24.2%	0.60	6.75	
		8	1.50 X10 ⁷	7,18	8.33 X10 ⁶	6,86	0,28	99.1%	22.7%	0.90	7.37	
		16	1.00 X10 ⁷	7,00	6.67 X10 ⁶	4,67	4,04	99.3%	80.0%	1.20	7.46	
		32	0	0,00	1.67 X10 ⁶	2,23	3,87	99.8%	0	1.51	7.88	
	2	0	9.45 X10 ⁸	8,98								
		2	1.40 X10 ⁸	8,15								
		4	4.00 X10 ⁷	7,60								
		8	5.00 X10 ⁶	6,70								
		16	0	0,00								
		32	0	0,00								
	3	0	9.15 X10 ⁸	8,96								
		2	1.40 X10 ⁸	8,15								

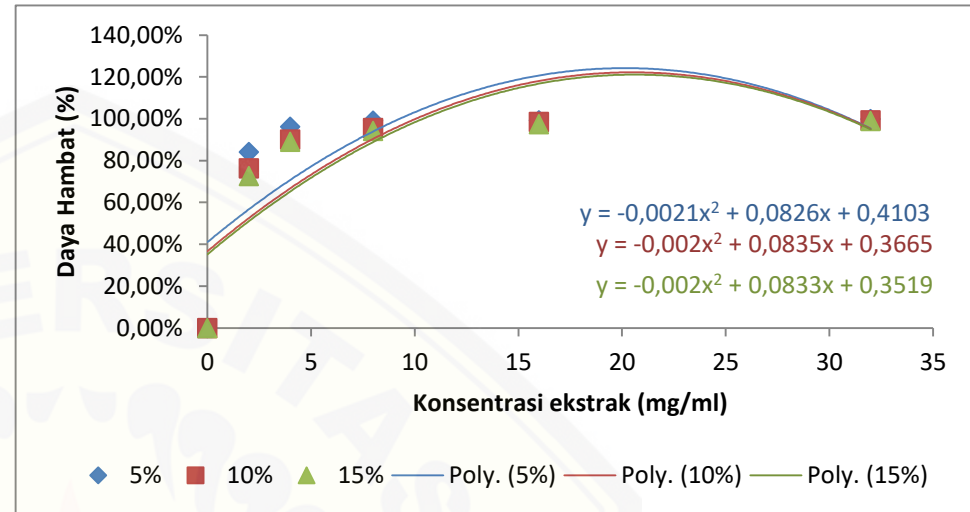
Digital Repository Universitas Jember

		4	3.00×10^7	7,48								
		8	5.00×10^6	6,70								
		16	1.00×10^7	7,00								
		32	5.00×10^6	6,70								
Malto 10%	1	0	1.00×10^9	9,00	9.53×10^8	8,98	0,02	0.0%	100.0%	0	0	
		2	2.50×10^8	8,40	2.27×10^8	8,35	0,06	76.2%	23.8%	0.30	5.71	
		4	1.00×10^8	8,00	9.50×10^7	7,98	0,02	90.0%	10.0%	0.60	6.28	
		8	4.00×10^7	7,60	4.17×10^7	7,62	0,03	95.6%	4.4%	0.90	6.64	
		16	2.50×10^7	7,40	1.50×10^7	7,13	0,23	98.4%	1.6%	1.20	7.05	
		32	1.00×10^7	7,00	6.67×10^6	6,80	0,17	99.3%	0.7%	1.51	7.46	
	2	0	9.45×10^8	8,98								
		2	1.95×10^8	8,29								
		4	9.50×10^7	7,98								
		8	4.50×10^7	7,65								
		16	1.00×10^7	7,00								
		32	5.00×10^6	6,70								
	3	0	9.15×10^8	8,96								
		2	2.35×10^8	8,37								
		4	9.00×10^7	7,95								
		8	4.00×10^7	7,60								
		16	1.00×10^7	7,00								
		32	5.00×10^6	6,70								
Malto 15%	1	0	1.00×10^9	9,00	9.53×10^8	8,98	0,02	0.0%	100.0%	0	0	

Digital Repository Universitas Jember

	2	3.55 X10 ⁸	8,55	2.62 X10 ⁸	8,40	0,13	72.6%	27.4%	0.30	5.58
	4	1.25 X10 ⁸	8,10	1.05 X10 ⁸	8,02	0,07	89.0%	11.0%	0.60	6.23
	8	8.00 X10 ⁷	7,90	5.50 X10 ⁷	7,69	0,26	94.2%	5.8%	0.90	6.55
	16	3.00 X10 ⁷	7,48	2.50 X10 ⁷	7,34	0,30	97.4%	2.6%	1.20	6.88
	32	1.00 X10 ⁷	7,00	1.00 X10 ⁷	6,96	0,24	99.0%	1.0%	1.51	7.33
2	0	9.45 X10 ⁸	8,98							
	2	2.05 X10 ⁸	8,31							
	4	1.00 X10 ⁸	8,00							
	8	6.00 X10 ⁷	7,78							
	16	3.50 X10 ⁷	7,54							
	32	1.50 X10 ⁷	7,18							
3	0	9.15 X10 ⁸	8,96							
	2	2.25 X10 ⁸	8,35							
	4	9.00 X10 ⁷	7,95							
	8	2.50 X10 ⁷	7,40							
	16	1.00 X10 ⁷	7,00							
	32	5.00 X10 ⁶	6,70							

Polifenol (mg/ml)	% Penghambatan		
	5%	10%	15%
0	0.00%	0.0%	0.0%
2	84.09%	76.2%	72.6%
4	96.15%	90.0%	89.0%
8	99.13%	95.6%	94.2%
16	99.30%	98.4%	97.4%
32	99.83%	99.3%	99.0%



1. IC₅₀ M5%

$$\begin{aligned}
 y &= -0,002X^2 + 0,082X + 0,410 \\
 50\% &= -0,002X^2 + 0,082X + 0,410 \\
 0,5 &= -0,002X^2 + 0,082X + 0,410
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &X^2 - 41,5X + 52,5 \\
 &\quad (X - 1,13) (X - 39,87) \\
 X &= 1,13 \text{ mg/ml} \\
 X &= 39,87 \text{ mg/ml}
 \end{aligned}$$

3. IC₅₀ M15%

$$\begin{aligned}
 y &= -0,002x^2 + 0,083x + 0,351 \\
 50\% &= -0,002x^2 + 0,083x + 0,351 \\
 0,5 &= -0,002x^2 + 0,083x + 0,351
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &X^2 - 41,5X + 74,5 \\
 &\quad (X - 1,87) (X - 39,63) \\
 X &= 1,87 \text{ mg/ml} \\
 X &= 39,63 \text{ mg/ml}
 \end{aligned}$$

2. IC₅₀ M10%

$$\begin{aligned}
 y &= -0,002x^2 + 0,083x + 0,366 \\
 50\% &= -0,002x^2 + 0,083x + 0,366 \\
 0,5 &= -0,002x^2 + 0,083x + 0,366
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &X^2 - 41,5X + 67 \\
 &\quad (X - 1,69) (X - 39,81) \\
 X &= 1,69 \text{ mg/ml} \\
 X &= 39,81 \text{ mg/ml}
 \end{aligned}$$

1. KHM M5%

$y = -0,002X^2 + 0,082X + 0,410$ $90\% = -0,002X^2 + 0,082X + 0,410$ $0,9 = -0,002X^2 + 0,082X + 0,410$
$X^2 - 41,5X + 52,5$ $(X - 7,27)(X - 33,73)$ $X = 7,27 \text{ mg/ml}$ $X = 33,73 \text{ mg/ml}$

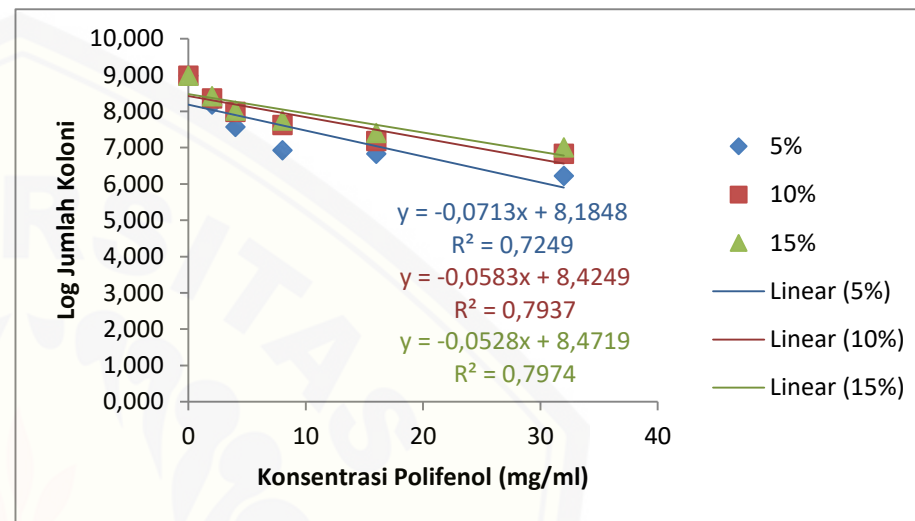
2. KHM M10%

$y = -0.002x^2 + 0.083x + 0.366$ $90\% = -0.002x^2 + 0.083x + 0.366$ $0,9 = -0.002x^2 + 0.083x + 0.366$
$X^2 - 43X + 272,5$ $(X - 7,73)(X - 35,27)$ $X = 7,73 \text{ mg/ml}$ $X = 35,27 \text{ mg/ml}$

3. KHM M15%

$y = -0.002x^2 + 0.083x + 0.351$ $90\% = -0.002x^2 + 0.083x + 0.351$ $0,9 = -0.002x^2 + 0.083x + 0.351$
$X^2 - 41,5X + 274,5$ $(X - 8,26)(X - 33,24)$ $X = 8,26 \text{ mg/ml}$ $X = 33,24 \text{ mg/ml}$

konsentrasi Polifenol (mg/ml)	Log jumlah koloni		
	5%	10%	15%
0	8.979	8.979	8.979
2	8.181	8.355	8.418
4	7.564	7.978	8.021
8	6.921	7.620	7.740
16	6.824	7.176	7.398
32	6.222	6.824	7.000



1. Maltodekstrin 5%

			Kons. Polifenol (mg/ml)
1 log	7	16.67605634	14.08450704
	6	30.76056338	
2 log	7	16.67605634	28.16901408
	5	44.84507042	
3 log	7	16.67605634	28.16901408
	5	44.84507042	

IC 50%		Polifenol (mg/ml)	
$Y1 = 1 \times 10^8$	Log Y1 =	8.000	X1 = 2.59155
$Y2 = 50\% (Y1) = 5 \times 10^7$	Log Y2 =	7.699	X2 = 6.83141
			X% = 4.23986

IC 90%		Polifenol (mg/ml)	
$Y1 = 1 \times 10^8$	Log Y1 =	7.000	X1 = 16.6761
$Y2 = 90\% (Y1) = 9 \times 10^7$	Log Y2 =	6.000	X2 = 30.7606
			X% = 14.0845

2. Maltodekstrin 10%

			Kons. Polifenol (mg/ml)
1 log	7	24.55172414	17.24137931
	6	41.79310345	
2 log	7	24.55172414	34.48275862
	5	59.03448276	
3 log	7	24.55172414	34.48275862
	5	59.03448276	

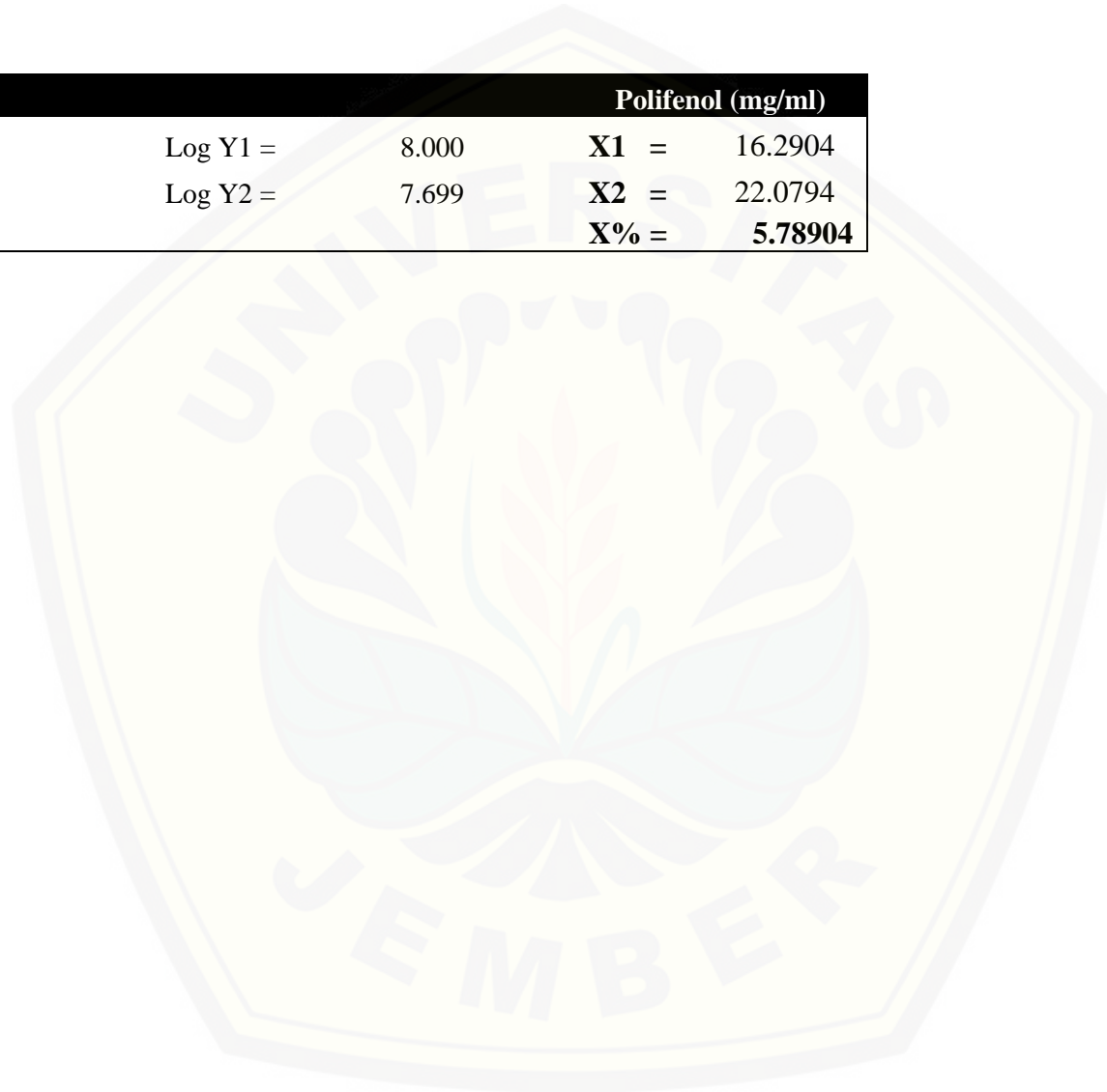
IC 50%		Polifenol (mg/ml)	
$Y1 = 1 \times 10^8$	Log Y1 =	8.000	X1 = 7.31034
$Y2 = 50\% (Y1) = 5 \times 10^7$	Log Y2 =	7.699	X2 = 12.5005
			X% = 5.19017

IC 90%		Polifenol (mg/ml)	
$Y1 = 1 \times 10^8$	Log Y1 =	7.000	X1 = 24.5517
$Y2 = 90\% (Y1) = 9 \times 10^7$	Log Y2 =	6.000	X2 = 41.7931
			X% = 17.2414

3. Maltodekstrin 15%

			Kons. Polifenol (mg/ml)
1 log	7	35.52115385	19.23076923
	6	54.75192308	
2 log	7	35.52115385	38.46153846
	5	73.98269231	
3 log	7	35.52115385	38.46153846
	5	73.98269231	

IC 50%		Polifenol (mg/ml)	
$Y1 = 1 \times 10^8$	Log Y1 =	8.000	X1 = 16.2904
$Y2 = 50\% (Y1) = 5 \times 10^7$	Log Y2 =	7.699	X2 = 22.0794
			X% = 5.78904



Log C	Probit		
	5%	10%	15%
0	0	0	0
0.30	5.99	5.71	5.58
0.60	6.75	6.28	6.23
0.90	7.37	6.64	6.55
1.20	7.46	7.05	6.88
1.51	7.88	7.46	7.33

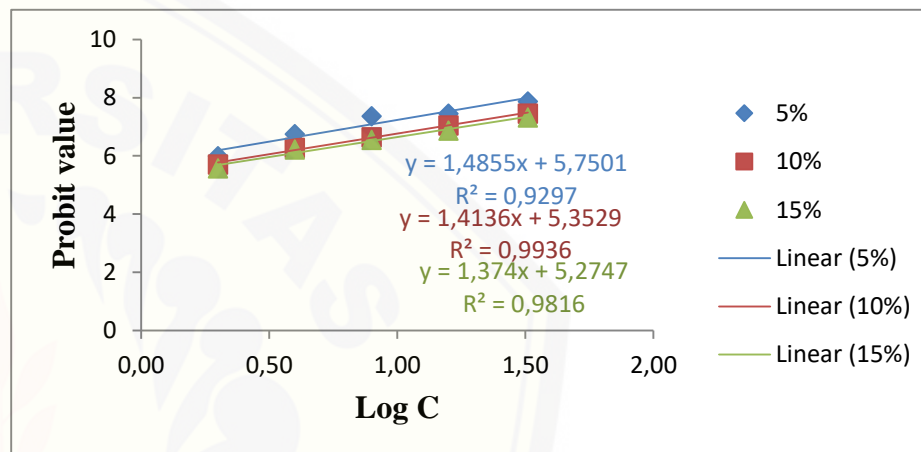


Table 3.2 Transformation of percentages to probits

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
—	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

1. IC₅₀ M5%

$$Y = 1,485x + 5,750$$

$$5 = 1,485x + 5,750$$

$$5 - 5,750 = 1,485x$$

$$0,554 = 1,485 X$$

$$X = \text{Log } C_{50} = 0,554/1,485 = 0,50$$

$$\text{LOG } C_{50} = - 0,5$$

$$\text{IC}_{50} \text{ (mg/ml)} \quad \mathbf{0.316227766}$$

2. IC₅₀ M10%

$$Y = 1,413x + 5,352$$

$$5 = 1,413x + 5,352$$

$$5 - 5,352 = 1,413x$$

$$0,352 = 1,413 X$$

$$X = \text{Log } C_{50} = 0,352/1,413 = - 0,249$$

$$\text{LOG } C_{50} = - 0,249$$

$$\text{IC}_{50} \text{ (mg/ml)} \quad \mathbf{0.563637656}$$

3. IC₅₀ M15%

$$Y = 1,374x + 5,274$$

$$5 = 1,374x + 5,274$$

$$5 - 5,274 = 1,374x$$

$$0,274 = 1,374 X$$

$$X = \text{Log } C_{50} = 0,274/1,374 = 0,199$$

$$\text{LOG } C_{50} = 0,199$$

$$\text{IC}_{50} \text{ (mg/ml)} \quad \mathbf{1.581248039}$$

i. IC₉₀ M5%

$$Y = 1,485x + 5,750$$

$$9 = 1,485x + 5,750$$

$$9 - 5,750 = 1,485x$$

$$3,25 = 1,485 X$$

$$X = \text{Log } C_{90} = 3,25/1,485 = 2,188$$

$$\text{LOG } C_{90} = 2,188$$

$$\text{IC } 90 \text{ (mg/ml)} \quad \mathbf{154.1700453}$$

ii. IC₉₀ M10%

$$Y = 1,413x + 5,352$$

$$9 = 1,413x + 5,352$$

$$9 - 5,352 = 1,413x$$

$$3,648 = 1,413 X$$

$$X = \text{Log } C_{90} = 3,648/1,413 = 2,58$$

$$\text{LOG } C_{90} = 2,58$$

$$\text{IC } 90 \text{ (mg/ml)} \quad \mathbf{380.1893963}$$

3. IC₉₀ M15%

$$Y = 1,374x + 5,274$$

$$9 = 1,374x + 5,274$$

$$9 - 5,274 = 1,374x$$

$$3,726 = 1,374 X$$

$$X = \text{Log } C_{90} = 3,726/1,374 = 2,71$$

$$\text{LOG } C_{90} = 2,71$$

$$\text{IC } 90 \text{ (mg/ml)} \quad \mathbf{512.861384}$$

G. Perhitungan Konsentrasi Hambat Minimum *Bacillus subtilis*

3. Jumlah Koloni *Bacillus Subtilis*

Sampel	Ulangan	Konsentrasi Polifenol (Mg/MI)	Jumlah Koloni/200 μ l	Rata-Rata
Malto 5%	1	0	193	238
		2	43	42
		4	37	27
		8	26	17
		16	8	5.67
		32	2	2
	2	0	285	
		2	41	
		4	21	
		8	12	
		16	4	
		32	1	
	3	0	237	
		2	42	
		4	23	
8		13		
16		5		
32		3		
10%	1	0	301	273
		2	124	118

Digital Repository Universitas Jember

		4	37	38
		8	27	26,3
		16	18	17
		32	6	4.67
	2	0	285	
		2	122	
		4	41	
		8	29	
		16	16	
		32	3	
	3	0	234	
		2	107	
		4	36	
		8	23	
		16	15	
		32	5	
15%	1	0	207	247
		2	106	109
		4	44	39,3
		8	27	27
		16	16	16,7
		32	5	7
	2	0	286	
		2	113	
		4	36	
		8	29	

	16	17
	32	8
3	0	249
	2	107
	4	38
	8	25
	16	17
	32	8

4. Perhitungan KHM *Bacillus subtilis*

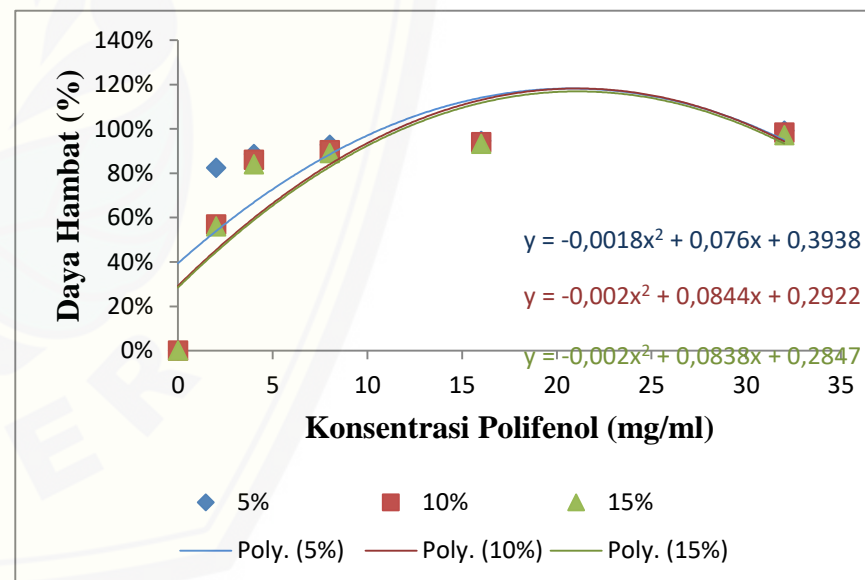
Sampel	ulangan	konsentrasi polifenol (mg/ml)	jumlah koloni (CFU/ml)	log Jumlah koloni (CFU/ml)	Rata-rata Jumlah koloni (CFU/ml)	Rata-rata log jumlah koloni (CFU/ml)	SD	% Penghambatan	% pertumbuhan	Log C	Probit
Malto 5%	1	0	9.65 X10 ⁸	8,98	1.19 X10 ⁹	9,07	0,08	0.0%	100.0%	0	0
			2.15 X10 ⁸	8,33	2.10 X10 ⁸	8,32	0,01	82.4%	17.6%	0.30	5.92
			1.85 X10 ⁸	8,27	1.35 X10 ⁸	8,12	0,13	88.7%	11.3%	0.60	6.18
			1.30 X10 ⁸	8,11	8.50 X10 ⁷	7,90	0,18	92.9%	7.1%	0.90	6.41
			1.50 X10 ⁸	8,18	6.50 X10 ⁷	7,63	0,48	94.5%	5.5%	1.20	6.55

		32	1.00 X10 ⁷	7,00	1.00 X10 ⁷	6,96	0,24	99.2%	0.8%	1.51	7.41
	2	0	1.43 X10 ⁹	9,15							
		2	2.05 X10 ⁸	8,31							
		4	1.05 X10 ⁸	8,02							
		8	6.00 X10 ⁷	7,78							
		16	2.00 X10 ⁷	7,30							
		32	5.00 X10 ⁶	6,70							
	3	0	1.19 X10 ⁹	9,07							
		2	2.10 X10 ⁸	8,32							
		4	1.15 X10 ⁸	8,06							
		8	6.50 X10 ⁷	7,81							
		16	2.50 X10 ⁷	7,40							
		32	1.50 X10 ⁷	7,18							
10%	1	0	1.51 X10 ⁹	9,18	1.37 X10 ⁹	9,13	0,06	0.0%	100.0%	0	0
		2	6.20 X10 ⁸	8,79	5.88 X10 ⁸	8,77	0,04	57.0%	43.0%	0.30	5.18
		4	1.85 X10 ⁸	8,27	1.90 X10 ⁸	8,28	0,03	86.1%	13.9%	0.60	6.08
		8	1.35 X10 ⁸	8,13	1.32 X10 ⁸	8,12	0,05	90.4%	9.6%	0.90	6.28
		16	9.00 X10 ⁷	7,95	8.17 X10 ⁷	7,91	0,04	94.0%	6.0%	1.20	6.55
		32	3.00 X10 ⁷	7,48	2.33 X10 ⁷	7,35	0,16	98.3%	1.7%	1.51	7.05

		2	0	1.43 X10 ⁹	9,15						
			2	6.10 X10 ⁸	8,79						
			4	2.05 X10 ⁸	8,31						
			8	1.45 X10 ⁸	8,16						
			16	8.00 X10 ⁷	7,90						
			32	1.50 X10 ⁷	7,18						
		3	0	1.17 X10 ⁹	9,07						
			2	5.35 X10 ⁸	8,73						
			4	1.80 X10 ⁸	8,26						
			8	1.15 X10 ⁸	8,06						
			16	7.50 X10 ⁷	7,88						
			32	2.50 X10 ⁷	7,40						
15%	1	0	1.04 X10 ⁹	9,01	1.24 X10 ⁹	9,09	0,07	0.0%	100.0%	0	0
		2	5.30 X10 ⁸	8,72	5.43 X10 ⁸	8,73	0,01	56.1%	43.9%	0.30	5.15
		4	2.20 X10 ⁸	8,34	1.97 X10 ⁸	8,29	0,05	84.1%	15.9%	0.60	5.99
		8	1.35 X10 ⁸	8,13	1.35 X10 ⁸	8,13	0,03	89.1%	10.9%	0.90	6.23
		16	8.00 X10 ⁷	7,90	8.33 X10 ⁷	7,92	0,02	93.3%	6.7%	1.20	6.48
		32	2.50 X10 ⁷	7,40	3.50 X10 ⁷	7,53	0,12	97.2%	2.8%	1.51	6.88
		2	0	1.43 X10 ⁹	9,16						
			2	5.65 X10 ⁸	8,75						

	4	1.80 X10 ⁸	8,26
	8	1.45 X10 ⁸	8,16
	16	8.50 X10 ⁷	7,93
	32	4.00 X10 ⁷	7,60
3	0	1.25 X10 ⁹	9,10
	2	5.35 X10 ⁸	8,73
	4	1.90 X10 ⁸	8,28
	8	1.25 X10 ⁸	8,10
	16	8.50 X10 ⁷	7,93
	32	4.00 X10 ⁷	7,60

Polifenol (mg/ml)	% Penghambatan		
	5%	10%	15%
0	0%	0%	0%
2	82.4%	57.0%	56.1%
4	88.7%	86.1%	84.1%
8	92.9%	90.4%	89.1%
16	94.5%	94.0%	93.3%
32	99.2%	98.3%	97.2%



1. IC₅₀ M5%

$y = -0,001X^2 + 0,076X + 0,393$ $50\% = -0,001X^2 + 0,076X + 0,393$ $0,5 = -0,001X^2 + 0,076X + 0,393$
$X^2 - 76X + 107$ $(X - 1,44) (X - 74,56)$ $X = 1,44 \text{ mg/ml}$ $X = 74,56 \text{ mg/ml}$

3. IC₅₀ M15%

$y = -0.002x^2 + 0.083x + 0.284$ $50\% = -0.002x^2 + 0.083x + 0.284$ $0,5 = -0.002x^2 + 0.083x + 0.284$
$X^2 - 41,5X + 108$ $(X - 2,8) (X - 38,7)$ $X = 2,8 \text{ mg/ml}$ $X = 38,7 \text{ mg/ml}$

2. IC₅₀ M10%

$y = -0.002x^2 + 0.084x + 0.292$ $50\% = -0.002x^2 + 0.084x + 0.292$ $0,5 = -0.002x^2 + 0.084x + 0.292$
$X^2 - 42X + 104$ $(X - 2,65) (X - 39,35)$ $X = 2,65 \text{ mg/ml}$ $X = 39,35 \text{ mg/ml}$

a. KHM M5%

$$\begin{aligned}
 y &= -0,001X^2 + 0,076X + 0,393 \\
 90\% &= -0,001X^2 + 0,076X + 0,393 \\
 0,9 &= -0,001X^2 + 0,076X + 0,393
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &X^2 - 76X + 507 \\
 &\quad (X - 7,4) (X - 68,6) \\
 X &= 7,4 \text{ mg/ml} \\
 X &= 68,6 \text{ mg/ml}
 \end{aligned}$$

3. KHM M15

$$\begin{aligned}
 y &= -0.002x^2 + 0.083x + 0.284 \\
 90\% &= -0.002x^2 + 0.083x + 0.284 \\
 0,9 &= -0.002x^2 + 0.083x + 0.284
 \end{aligned}$$

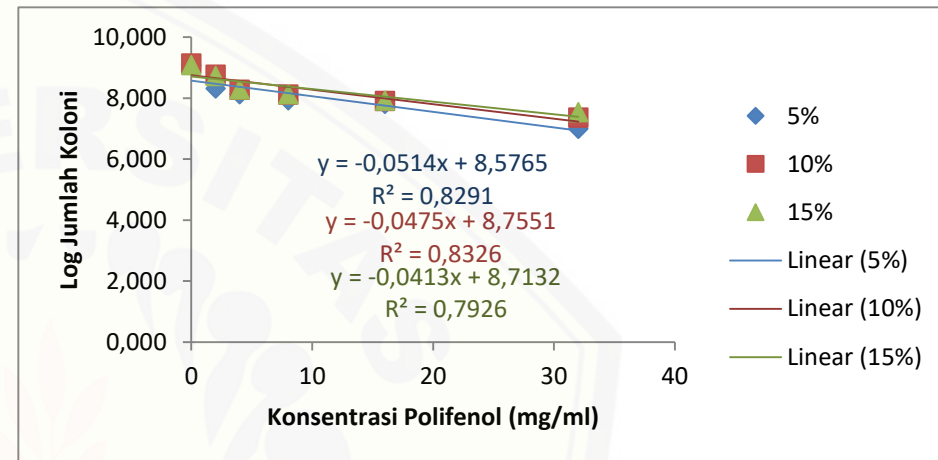
$$\begin{aligned}
 &X^2 - 41,5X + 308 \\
 &\quad (X - 9,7) (X - 31,8) \\
 X &= 9,7 \text{ mg/ml} \\
 X &= 31,8 \text{ mg/ml}
 \end{aligned}$$

b. KHM M10%

$$\begin{aligned}
 y &= -0.002x^2 + 0.084x + 0.292 \\
 90\% &= -0.002x^2 + 0.084x + 0.292 \\
 0,9 &= -0.002x^2 + 0.084x + 0.292
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &X^2 - 42X + 304 \\
 &\quad (X - 9,3) (X - 32,7) \\
 X &= 9,3 \text{ mg/ml} \\
 X &= 32,7 \text{ mg/ml}
 \end{aligned}$$

konsentrasi Polifenol (mg/ml)	Log jumlah koloni		
	5%	10%	15%
0	9.076	9.136	9.092
2	8.322	8.770	8.735
4	8.130	8.279	8.294
8	7.929	8.119	8.130
16	7.813	7.912	7.921
32	7.000	7.368	7.544



1. Maltodekstrin 5%

		Kons. Polifenol (mg/ml)	
1 log	7	30.90	19.61
	6	50.51	
2 log	7	30.90	39.22
	5	70.18	
3 log	7	30.90	39.22
	5	70.12	

IC 50%		Polifenol (mg/ml)	
$Y1 = 1 \times 10^8$	Log Y1 =	8.000	X1 = 11.29
$Y2 = 50\% (Y1) = 5 \times 10^7$	Log Y2 =	7.699	X2 = 17.19
			X% = 5.90

IC 90%		Polifenol (mg/ml)	
$Y1 = 1 \times 10^8$	Log Y1 =	7.000	X1 = 30.90
$Y2 = 90\% (Y1) = 5 \times 10^7$	Log Y2 =	6.000	X2 = 50.51
			X% = 19.61

2. Maltodekstrin 10%

Kons. Polifenol (mg/ml)			
1 log	7	37.34	21.28
	6	58.62	
2 log	7	37.35	42.55
	5	79.89	
3 log	7	37.34	42.55
	5	79.89	

IC 50%		Polifenol (mg/ml)	
$Y1 = 1 \times 10^8$	Log Y1 =	8.000	X1 = 16.06
$Y2 = 50\% (Y1) = 5 \times 10^7$	Log Y2 =	7.699	X2 = 22.47
			X% = 6.40

IC 90%		Polifenol (mg/ml)	
$Y1 = 1 \times 10^8$	Log Y1 =	7.000	X1 = 18.98
$Y2 = 90\% (Y1) = 5 \times 10^7$	Log Y2 =	6.000	X2 = 35.93
			X% = 16.95

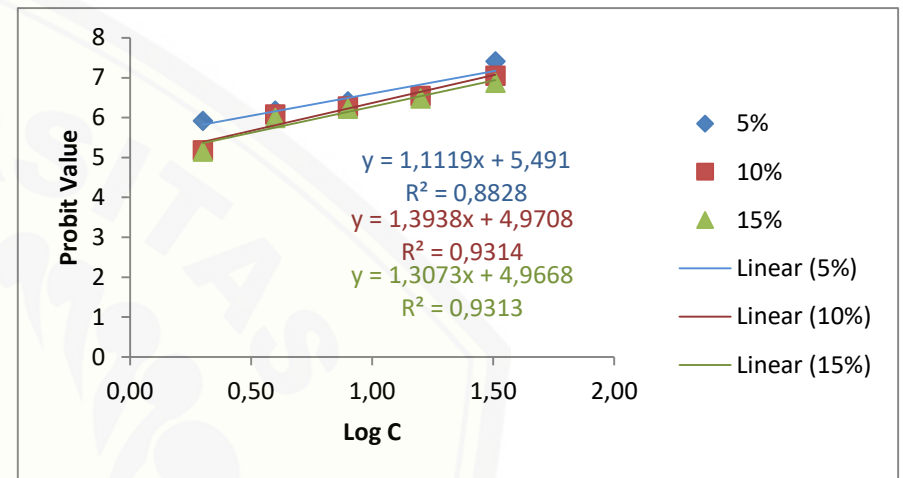
3. Mltodekstrin 15%

Kons. Polifenol (mg/ml)			
1 log	7	41.78	24.39
	6	66.17	
2 log	7	41.78	48.78
	5	90.56	
3 log	7	41.78	48.78
	5	90.56	

IC 50%		Polifenol (mg/ml)	
$Y1 = 1 \times 10^8$	Log Y1 =	8.000	X1 = 17.39
$Y2 = 50\% (Y1) = 5 \times 10^7$	Log Y2 =	7.699	X2 = 24.73
			X% = 7.34

IC 90%		Polifenol (mg/ml)	
$Y1 = 1 \times 10^8$	Log Y1 =	7.000	X1 = 41.78
$Y2 = 90\% (Y1) = 9 \times 10^7$	Log Y2 =	6.000	X2 = 66.17
			X% = 24.39

Log C	Probit		
	5%	10%	15%
0	0	0	0
0.30	5.92	5.18	5.15
0.60	6.18	6.08	5.99
0.90	6.41	6.28	6.23
1.20	6.55	6.55	6.48
1.51	7.41	7.05	6.88



1. IC₅₀ M5%

$$Y = 1,111x + 5,491$$

$$5 = 1,111x + 5,491$$

$$5 - 5,491 = 1,111x$$

$$0,491 = 1,111 X$$

$$X = \text{Log } C_{50} = 0,491/1,111 = -0,4419$$

$$\text{LOG } C_{50} = -0,4419$$

$$\text{IC}_{50} \text{ (mg/ml)} \quad \mathbf{0.36149309}$$

2. IC₅₀ M10%

$$Y = 1.393x + 4.970$$

$$5 = 1.393x + 4.970$$

$$5 - 4.970 = 1.393x$$

$$0,03 = 1.393 X$$

$$X = \text{Log } C_{50} = 0,03/1.393 = 0,0215$$

$$\text{LOG } C_{50} = 0,0215$$

$$\text{IC}_{50} \text{ (mg/ml)} \quad \mathbf{1.050751455}$$

3. IC₅₀ M15%

$$Y = 1.307x + 4.966$$

$$5 = 1.307x + 4.966$$

$$5 - 4.966 = 1.307x$$

$$0,034 = 1.307 X$$

$$X = \text{Log } C_{50} = 0,034/1.307 = 0,0260$$

$$\text{LOG } C_{50} = 0,0260$$

$$\text{IC}_{50} \text{ (mg/ml)} \quad \mathbf{1.061695557}$$

1. IC₉₀ M5%

$$Y = 1,111x + 5,491$$

$$9 = 1,111x + 5,491$$

$$9 - 5,491 = 1,111x$$

$$3,509 = 1,111 X$$

$$X = \text{Log C } 90 = 3,446/1,111 = 3,1584$$

$$\text{Log C } 90 = 3,1584$$

$$\text{IC } 90 \text{ (mg/ml)} \quad \mathbf{1440.124371}$$

2. IC₉₀ M10%

$$Y = 1.393x + 4.970$$

$$9 = 1.393x + 4.970$$

$$9 - 4.970 = 1.393x$$

$$4,03 = 1.393 X$$

$$X = \text{Log C } 90 = 4,03/1.393 = 2,893$$

$$\text{LOG C } 90 = 2,893$$

$$\text{IC } 90 \text{ (mg/ml)} \quad \mathbf{781.6278046}$$

3. IC₉₀ M15%

$$Y = 1.307x + 4.966$$

$$9 = 1.307x + 4.966$$

$$9 - 4.966 = 1.307x$$






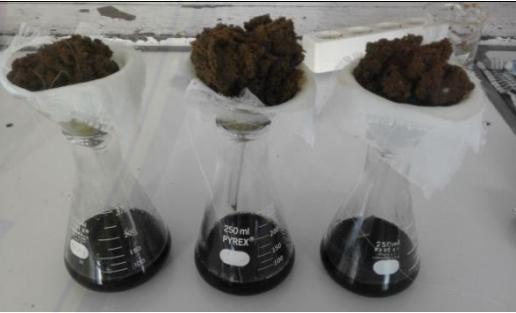
$$4,034 = 1.307 X$$







$$X = \text{Log C } 90 = 4,034/1.307 = 3,0864$$


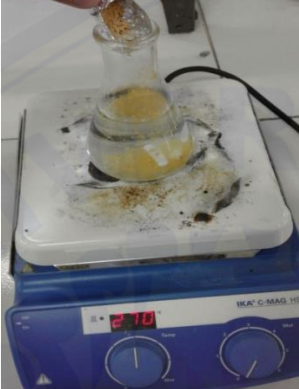


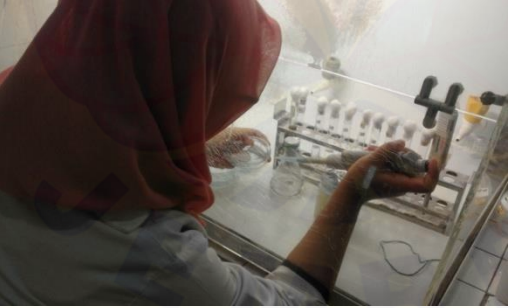

$$\text{LOG C } 0 = 3,0864$$

$$\text{IC } 90 \text{ (mg/ml)} \quad \mathbf{1220.112847}$$

Dokumentasi Penelitian

		
<p>Daun melinjo muda</p>	<p>Perajangan</p>	<p>Pengeringan dengan oven</p>
		
<p>Penghalusan daun melinjo</p>	<p>Ekstraksi dengan <i>shaker waterbath</i></p>	<p>Penyaringan Ekstrak</p>

		
<p>Penguapan pelarut dengan <i>rotary evaporator</i></p>	<p>Proses Homogenasi</p>	<p>Proses enkapsulasi menggunakan <i>spray dryer</i></p>
		
<p>Serbuk enkapsulasi ekstrak polifenol daun melinjo</p>	<p>Pengukuran total polifenol dan antioksidan</p>	<p>Pengukuran absorbansi</p>

		
<p>Penimbangan media</p>	<p>Pembuatan media agar</p>	<p>Inokulasi E-coli pada media NB</p>
		
<p>Persiapan <i>plating</i> pada uji antibakteri</p>	<p>Proses <i>plating</i> pada uji antibakteri</p>	<p>Inkubasi</p>

