

**AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK BUAH PARIJOTO (*Medinilla speciosa*) HASIL ULTRASONICATOR-
ASSISTED EXTRACTION (UAE) DENGAN VARIASI PELARUT**

SKRIPSI

Oleh

SURYA HILMY RAMADHAN



**PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026**

AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK BUAH PARIJOTO (*Medinilla speciosa*) HASIL *ULTRASONICATOR-ASSISTED EXTRACTION* (UAE)
DENGAN VARIASI PELARUT

Oleh

SURYA HILMY RAMADHAN
NIM : 23020122130103

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Teknologi Pangan pada Program Studi S-1 Teknologi Pangan
Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Surya Hilmy Ramadhan
N I M : 23020122131013
Program Studi : S-I Teknologi Pangan

dengan ini menyatakan sebagai berikut :

1. Skripsi yang berjudul: **Aktivitas Antimikroba Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa*) Hasil *Ultrasonicator Assisted Extraction* (UAE) dengan Variasi Pelarut** dan penelitian yang terkait dengan skripsi ini merupakan karya penulis sendiri.
2. Setiap ide atau kutipan dari karya orang lain berupa publikasi atau bentuk lainnya dalam skripsi ini, telah diakui sesuai dengan standar prosedur disiplin ilmu.
3. Penulis juga mengakui bahwa skripsi ini dapat dihasilkan berkat bimbingan dan dukungan penuh dari Pembimbing yaitu : **Prof. Ir. Anang M. Legowo, M.Sc., Ph.D.** dan **Ratih Paramastuti, S.Gz., M.Si.**

Apabila di kemudian hari dalam skripsi ini ditemukan hal-hal yang menunjukkan kecurangan akademik maka penulis bersedia gelar sarjana yang telah penulis dapatkan ditarik sesuai dengan ketentuan dari Program Studi S-I Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.

Semarang, Maret 2026


Surya Hilmy Kamadhan

Mengetahui:

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota





Prof. Ir. Anang M. Legowo, M.Sc., Ph.D.

Ratih Paramastuti, S.Gz., M.Si.

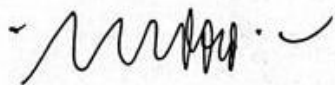
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK
BUAH PARIJOTO (*Medinilla speciosa*) HASIL
ULTRASONICATOR ASSISTED EXTRACTION
(UAE) DENGAN VARIASI PELARUT

Nama Mahasiswa : SURYA HILMY RAMADHAN
Nomor Induk Mahasiswa : 23020122130103
Program Studi/Departemen : S-1 TEKNOLOGI PANGAN / PERTANIAN
Fakultas : PETERNAKAN DAN PERTANIAN

Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji
dan dinyatakan lulus pada tanggal **02 JUN 2026**

Pembimbing Utama



Prof. Ir. Anang M. Legowo, M.Sc., Ph.D.

Pembimbing Anggota



Ratih Paramastuti, S.Gz., M.Si.

Ketua Program Studi



Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D.

Ketua Panitia Ujian Akhir Program



Swastika Dewi, S.T.P., M.Sc.



Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D.

Ketua Departemen



Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D.

RINGKASAN

SURYA HILMY RAMADHAN. 23020122130103. 2026. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa*) Hasil *Ultrasonicator-Assisted Extraction* (UAE) dengan Variasi Pelarut. (Pembimbing: **ANANG MOHAMAD LEGOWO** dan **RATIH PARAMASTUTI**).

Keamanan pangan menjadi isu penting terkait kontaminasi mikroorganisme patogen penyebab *foodborne disease*. Penggunaan pengawet sintetis dalam industri pangan menimbulkan kekhawatiran terhadap dampak kesehatan sehingga diperlukan alternatif pengawet alami dari bahan nabati. Buah parijoto (*Medinilla speciosa*) diketahui mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid yang berpotensi memiliki aktivitas antimikroba. Salah satu metode ekstraksi yang dapat meningkatkan efisiensi pelepasan senyawa bioaktif dari bahan tanaman adalah *Ultrasonicator-Assisted Extraction* (UAE).

Penelitian ini dilaksanakan selama lima bulan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Kimia Pangan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antimikroba ekstrak buah parijoto yang diperoleh menggunakan metode UAE dengan pelarut metanol, etanol, dan n-heksana. Parameter yang diamati meliputi rendemen ekstrak, aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, serta penentuan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC). Pengujian difusi cakram dilakukan dengan tiga kali ulangan, sedangkan pengujian MIC dan MBC dilakukan dengan dua kali ulangan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pelarut etanol menghasilkan rendemen ekstrak tertinggi. Ekstrak metanol dan etanol menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, sedangkan ekstrak n-heksana tidak menunjukkan aktivitas antibakteri pada konsentrasi yang diuji. Nilai MIC ekstrak metanol terhadap kedua bakteri uji adalah 1 mg/mL, sedangkan ekstrak etanol menunjukkan nilai MIC 4 mg/mL terhadap *Escherichia coli* dan 1 mg/mL terhadap *Staphylococcus aureus*. Pengujian MBC menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan etanol memiliki aktivitas bakterisidal dengan nilai rasio MBC/MIC ≤ 4 . Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, ekstrak buah parijoto yang diperoleh menggunakan pelarut polar melalui metode UAE berpotensi sebagai sumber senyawa antibakteri alami terhadap bakteri patogen.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat, rahmat, dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian berjudul “Aktivitas Antimikroba Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa*) Hasil *Ultrasonicator-Assisted Extraction* (UAE) dengan Variasi Pelarut” dengan baik. Penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan tentu tidak terlepas dari doa, dukungan, dan motivasi dari berbagai pihak yang terlibat. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak berikut.

1. Kedua orang tua penulis yaitu Awan Yusri Bintara dan Ismi Rahayu Ningsih, kakak kandung penulis yaitu Bintang Alif Falaqis, dan adik kandung penulis yaitu Wulan Nabila Adriani yang telah memberikan dukungan secara moral maupun material dari awal masuk perguruan tinggi dan selalu serta memberikan motivasi kepada penulis.
2. Prof. Ir. Anang M. Legowo, M.Sc., Ph.D. selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Ratih Paramastuti, S.Gz., M.Si. selaku dosen pembimbing anggota yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, masukan, kesempatan dan apresiasi yang besar selama melaksanakan proyek penelitian hingga sidang ujian akhir.
3. Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menempuh pendidikan di Program Studi S-1 Teknologi Pangan.
4. Ir. Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D. selaku Ketua Departemen Pertanian Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, yang telah memberikan kesempatan, bantuan, dan kerja sama untuk melakukan penelitian.
5. Ir. Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D. selaku Ketua Program Studi S-1 Teknologi Pangan Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, yang telah memberikan pengarahan dan motivasi dalam menempuh pendidikan hingga melakukan ujian akhir.
6. Dr. Sri Mulyani, S.Pt., M.P. selaku Dosen Wali yang telah memberikan

pengarahan, kesempatan, dan bimbingan penulis dari awal semester hingga ujian akhir.

7. Dosen penguji ujian akhir, Yoga Pratama, S.TP., M.Sc., PhD. dan Masagus Haidir Tamimi, S.TP., M.Sc. serta dosen panitia ujian akhir Nurul Hasniah, S.TP., M.Sc. yang telah memberikan apresiasi, saran, pertanyaan, dan masukan dalam skripsi ini agar menjadi lebih baik.
8. Semua dosen, tenaga kependidikan, dan staf administrasi Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang atas kesempatan, ilmu, dan pengalaman serta bantuan dalam menyelesaikan urusan administrasi yang dibutuhkan selama belajar di Teknologi Pangan Universitas Diponegoro.
9. Semua pimpinan dan staf Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan, Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian yang telah memberikan bantuan dan kesempatan dalam melaksanakan penelitian.
10. Rekan penelitian penulis saudari Dina Agape Romauli Hutapea dan Zefanya Avrilia Tiara Gusani atas segala kerja sama yang telah membantu proses penelitian skripsi.
11. Teman-teman akrab penulis saudara Atar Rahmani Abda, David Rayvdanri Simanjorang, Faizal Dwi Prabowo, Jonathan Krisnajaya, Marvel Yodhanta Prabowo, Muhammad Daffa Satria, dan Rangga Eka Pratama selaku rekan seperjuangan Teknologi Pangan yang telah menemani berjuang bersama sejak semester 1 sehingga pengerjaan skripsi ini selesai.
12. Teman-teman penulis dari Kelompok Studi Lab's Milk angkatan 2022, 2023, dan 2024 yang telah membantu penulis selama keberlangsungan penyusunan skripsi.
13. Rekan-rekan asisten Laboratorium Teknologi Pangan angkatan 2022 dan 2023 yang telah menjadi tempat saling bertukar ide selama proses penelitian berlangsung.

Penulis menyadari bahwa di dalam proses penyusunan Skripsi ini memiliki kekurangan baik teknis penulisan maupun materi sehingga penulis mengharapkan kritik, saran dan masukan yang bersifat membangun untuk perbaikan kedepannya.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak baik bagi penulis, bagi perusahaan ataupun bagi para pembaca umumnya.

Semarang, Mei 2024

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR ILUSTRASI	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xii
 BAB I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan dan Manfaat	4
 BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Buah Parijoto (<i>Medinilla speciosa</i>)	6
2.2. Senyawa Bioaktif Antimikroba	8
2.3. Pelarut Ekstraksi	11
2.4. Rendemen Ekstrak	12
2.5. <i>Ultrasonicator-Assisted Extraction</i> (UAE)	14
2.6. Pengujian Aktivitas Antimikroba	16
2.7. Bakteri Patogen	19
 BAB III. MATERI DAN METODE	
3.1. Materi Penelitian	23
3.2. Metode Penelitian	24
 BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Rendemen Ekstrak Buah Parijoto	35

4.2. Penentuan Zona Hambat Metode Difusi Cakram	38
4.3. Penentuan <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC) Metode Makrodilusi	51
4.4. Penentuan <i>Minimum Bactericidal Concentration</i> (MBC) Metode Subkultur	54
BAB V. SIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Simpulan	59
5.2. Saran	59
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN	73
RIWAYAT HIDUP	82

DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1.	Rendemen Ekstrak Parijoto (<i>Medinilla speciosa</i>) Menggunakan Jenis Pelarut yang Berbeda	36
2.	Diameter Zona Hambat Ekstrak Buah Parijoto (<i>Medinilla speciosa</i>) terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i>	39
3.	Diameter Zona Hambat Ekstrak Buah Parijoto (<i>Medinilla speciosa</i>) terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	46
4.	Nilai <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC) Ekstrak Buah Parijoto (<i>Medinilla speciosa</i>) terhadap Bakteri Uji ...	49
5.	Nilai <i>Minimum Bactericidal Concentration</i> (MBC) Ekstrak Buah Parijoto (<i>Medinilla speciosa</i>) terhadap Bakteri Uji	52
6.	Rasio MIC, MBC, dan Efek Antibakteri Ekstrak Buah Parijoto (<i>Medinilla speciosa</i>) terhadap Bakteri Uji	55

DAFTAR ILUSTRASI

Nomor		Halaman
1.	Mekanisme <i>Ultrasonicator-Assisted Extraction</i> menggunakan <i>ultrasonic bath</i>	15
2.	Prinsip metode difusi cakram dalam pengujian aktivitas antimikroba	17
3.	Perbedaan struktur dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif	20
4.	Alur Penelitian	26
5.	Proses ekstraksi buah parijoto menggunakan metode <i>Ultrasonicator-Assisted Extraction</i> (UAE)	28
6.	Zona hambat ekstrak buah parijoto (<i>Medinilla speciosa</i>) terhadap <i>Escherichia coli</i> metode difusi cakram	44
7.	Zona hambat ekstrak buah parijoto (<i>Medinilla speciosa</i>) <i>Staphylococcus aureus</i> pada metode difusi cakram	48

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Perhitungan Rendemen Ekstrak Buah Parijoto	66
2. Hasil Analisis Statistik ANOVA Difusi Cakram	67
3. Dokumentasi Pengujian MIC Metode Makrodilusi	74

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit akibat mikroba patogen yang ditularkan melalui pangan (*foodborne disease*) masih menjadi masalah kesehatan global yang serius. Secara global, konsumsi pangan yang terkontaminasi masih menyebabkan beban kesehatan yang besar. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan sekitar 600 juta orang terdampak setiap tahunnya, dengan angka kematian mencapai kurang lebih 420.000 kasus (Qi *et al.*, 2022). Data tersebut menunjukkan bahwa keamanan pangan merupakan isu krusial yang memerlukan perhatian serius, khususnya di negara berkembang yang masih memiliki keterbatasan dalam sistem pengawasan dan infrastruktur keamanan pangan.

Bahan pangan segar, terutama komoditas hortikultura seperti buah dan sayuran, memiliki kerentanan tinggi terhadap kontaminasi mikroorganisme patogen (Alegbeleye *et al.*, 2018). Produk pangan segar rentan terkontaminasi oleh beberapa bakteri patogen, termasuk *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, dan *Listeria monocytogenes* (Lee dan Yoon, 2021). Keberadaan bakteri tersebut tidak hanya mempercepat kerusakan pangan, tetapi juga dapat menimbulkan gangguan kesehatan pada manusia, mulai dari diare hingga keracunan makanan (Nunes *et al.*, 2023).

Pengendalian mikroorganisme dalam industri pangan umumnya dilakukan menggunakan bahan antimikroba sintetis. Meskipun efektif, penggunaan bahan

kimia sintetis menimbulkan kekhawatiran terkait dampak kesehatan dan pencemaran lingkungan dalam jangka panjang. Oleh karena itu, tren penelitian saat ini menunjukkan peningkatan pemanfaatan bahan nabati sebagai sumber antimikroba alami. Hal ini didukung oleh adanya senyawa bioaktif seperti flavonoid, tanin, alkaloid, dan fenolik yang berperan dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen (Othman *et al.*, 2019).

Buah parijoto (*Medinilla speciosa*) merupakan salah satu sumber alami yang berpotensi sebagai agen antimikroba, terutama karena merupakan tanaman endemik Indonesia yang banyak ditemukan di wilayah pegunungan seperti Muria, Merapi, dan Kinabalu. Hasil analisis fitokimia menunjukkan bahwa buah ini mengandung beragam metabolit sekunder, di antaranya flavonoid, antosianin, tanin, saponin, alkaloid, serta senyawa fenolik (Maulida, 2024). Kandungan senyawa tersebut berkontribusi terhadap berbagai aktivitas biologis, termasuk sebagai antioksidan dan antimikroba (Mildana *et al.*, 2021). Selain itu, beberapa penelitian melaporkan bahwa ekstrak etanol buah parijoto memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen, seperti *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Nafi'ah *et al.*, 2024).

Meskipun demikian, aktivitas antimikroba ekstrak parijoto yang dilaporkan dalam berbagai penelitian menunjukkan hasil yang bervariasi. Perbedaan tersebut diduga dipengaruhi oleh metode ekstraksi serta jenis pelarut yang digunakan (Kaczorová *et al.*, 2021). Polaritas pelarut berperan penting dalam menentukan jenis senyawa bioaktif yang terekstraksi. Pelarut polar seperti metanol dan etanol umumnya efektif mengekstraksi senyawa fenolik dan flavonoid, sedangkan pelarut

nonpolar seperti heksana lebih banyak mengekstraksi senyawa nonpolar seperti terpenoid dan lipid (Yulianti *et al.*, 2023). Oleh karena itu, variasi pelarut ekstraksi perlu dikaji untuk mengetahui pengaruhnya terhadap aktivitas antimikroba ekstrak parijoto.

Inovasi pada teknologi ekstraksi telah mendorong peningkatan efektivitas dalam isolasi senyawa bioaktif dari bahan alami. Metode *Ultrasonicator-Assisted Extraction* (UAE) menjadi salah satu pendekatan yang umum digunakan, dengan memanfaatkan gelombang ultrasonik untuk menghasilkan kavitasi. Fenomena ini mampu menghancurkan dinding sel tanaman, sehingga senyawa bioaktif lebih mudah terlarut dan rendemen ekstrak yang dihasilkan menjadi lebih tinggi (Um *et al.*, 2018).

Penilaian terhadap aktivitas antimikroba ekstrak dapat dilakukan melalui beberapa pendekatan uji. Metode difusi cakram sering dimanfaatkan sebagai pengujian awal untuk mengevaluasi kemampuan penghambatan terhadap mikroorganisme (Salam *et al.*, 2023). Selanjutnya, untuk memperoleh karakterisasi yang lebih mendalam, dilakukan penentuan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC). MIC merepresentasikan konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba, sementara MBC menunjukkan konsentrasi minimum yang efektif dalam membunuh mikroorganisme (Kowalska-Krochmal dan Dudek-Wicher, 2021).

Meskipun berbagai penelitian telah melaporkan potensi antimikroba buah parijoto, kajian yang secara sistematis mengevaluasi pengaruh variasi pelarut ekstraksi terhadap aktivitas antimikroba ekstrak buah parijoto dengan

menggunakan metode ekstraksi berbasis ultrasonik masih relatif terbatas (Luhurningtyas *et al.*, 2021). Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengkaji potensi ekstrak buah parijoto sebagai sumber senyawa antimikroba alami dengan mempertimbangkan pengaruh polaritas pelarut terhadap aktivitas biologis yang dihasilkan.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antimikroba ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) yang diperoleh melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut dengan polaritas berbeda menggunakan metode *Ultrasonicator-Assisted Extraction* (UAE). Aktivitas antimikroba ekstrak kemudian dianalisis melalui pengujian difusi cakram, *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC), dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) terhadap bakteri patogen uji.

1.2 Tujuan dan Manfaat penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi aktivitas antimikroba ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) yang diperoleh melalui metode *Ultrasonicator-Assisted Extraction* (UAE) menggunakan variasi pelarut metanol, etanol, dan heksana. Karakterisasi dilakukan melalui penentuan rendemen ekstrak, pengujian aktivitas antimikroba dengan metode difusi cakram, serta penetapan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) untuk membandingkan efektivitas masing-masing pelarut dalam mengekstraksi senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antimikroba.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah mengenai hubungan antara jenis pelarut ekstraksi dan aktivitas antimikroba ekstrak buah parijoto, serta menjadi dasar bagi penelitian lanjutan dalam pengembangan bahan pangan fungsional maupun produk farmasi. Selain itu, penelitian ini juga diharapkan memberikan manfaat praktis melalui pemanfaatan buah parijoto sebagai sumber antimikroba alami yang berpotensi digunakan sebagai alternatif pengawet pangan sekaligus mendukung optimalisasi pemanfaatan sumber daya hayati lokal Indonesia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Buah Parijoto (*Medinilla speciosa*)

Parijoto (*Medinilla speciosa*) merupakan salah satu tanaman buah yang termasuk dalam famili Melastomataceae dan banyak ditemukan di wilayah pegunungan Asia Tenggara. Tanaman ini dikenal sebagai tanaman khas Indonesia yang tumbuh secara alami di daerah pegunungan dengan kondisi iklim lembap dan tanah yang subur. Secara taksonomi, tanaman parijoto diklasifikasikan ke dalam Kingdom Plantae, Divisi Magnoliophyta, Kelas Magnoliopsida, Ordo Myrtales, Famili Melastomataceae, Genus *Medinilla*, dan spesies *Medinilla speciosa*. Tanaman ini umumnya tumbuh sebagai semak atau perdu dengan tinggi yang bervariasi serta memiliki daun berwarna hijau tua dengan bentuk lonjong. Buah parijoto memiliki ukuran kecil berbentuk bulat dengan warna merah hingga ungu ketika matang dan tumbuh bergerombol pada tangkai buah.

Tanaman parijoto banyak ditemukan di daerah pegunungan dengan ketinggian tertentu, terutama di kawasan Gunung Muria di Jawa Tengah, Gunung Merapi di Jawa Tengah dan Daerah Istimewa Yogyakarta, serta beberapa wilayah pegunungan lain di Asia Tenggara seperti Kinabalu di Malaysia. Tanaman ini umumnya tumbuh pada lingkungan dengan suhu relatif sejuk dan kelembapan tinggi. Kondisi ekologi tersebut memungkinkan tanaman parijoto berkembang dengan baik pada hutan pegunungan yang memiliki naungan serta tanah yang kaya bahan organik (Frediansyah, 2024).

Secara tradisional, buah parijoto telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan pengobatan herbal. Masyarakat di beberapa daerah menggunakan buah ini untuk mengatasi berbagai gangguan kesehatan seperti diare, meningkatkan stamina, serta menjaga kesehatan ibu hamil (Kunarto *et al.*, 2020). Dalam budaya masyarakat di kawasan Gunung Muria, buah parijoto bahkan dipercaya memiliki manfaat dalam meningkatkan kesehatan reproduksi. Pemanfaatan tradisional tersebut mendorong berbagai penelitian ilmiah untuk mengkaji lebih lanjut potensi biologis yang terkandung dalam buah parijoto.

Analisis fitokimia menunjukkan bahwa buah parijoto kaya akan metabolit sekunder yang memiliki potensi aktivitas biologis. Senyawa bioaktif yang ditemukan di dalamnya antara lain flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, serta berbagai senyawa fenolik dan antosianin (Nita *et al.*, 2023). Senyawa tersebut diketahui memiliki beragam fungsi biologis yang menguntungkan, termasuk sebagai antioksidan, antiinflamasi, antikanker, dan antimikroba. Selain itu, metabolit sekunder juga berperan sebagai mekanisme pertahanan alami tanaman dalam menghadapi serangan mikroorganisme (Fadel *et al.*, 2024).

Hasil berbagai studi mengindikasikan bahwa ekstrak buah parijoto memiliki aktivitas biologis yang signifikan, terutama sebagai antioksidan yang kuat dan sebagai agen penghambat pertumbuhan bakteri patogen. (Pujiastuti Endra dan Islamiyati Ricka, 2021; Vifta dan Luhurningtyas, 2019). Aktivitas tersebut diduga berkaitan dengan keberadaan senyawa fenolik dan flavonoid yang berperan sebagai agen antimikroba alami. Oleh karena itu, buah parijoto memiliki potensi yang besar

untuk dikembangkan sebagai sumber senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan dalam bidang pangan maupun farmasi.

2.2 Senyawa Bioaktif Antimikroba

Senyawa bioaktif antimikroba adalah komponen yang memiliki kemampuan untuk menghambat (bakteriostatik) maupun membunuh (bakterisidal) mikroorganisme, baik patogen maupun mikroba penyebab kerusakan pangan. Pada tanaman, aktivitas antimikroba umumnya dikaitkan dengan keberadaan metabolit sekunder yang berfungsi sebagai bentuk pertahanan alami terhadap serangan mikroorganisme. Golongan senyawa seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid telah diketahui memiliki aktivitas tersebut (Maulida, 2024; Mildana *et al.*, 2021). Senyawa-senyawa tersebut banyak terkandung dalam berbagai tanaman obat, termasuk buah parijoto, dan dilaporkan memiliki mekanisme penghambatan mikroba yang beragam.

2.2.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok metabolit sekunder tumbuhan yang tergabung dalam golongan polifenol dengan struktur cincin aromatik yang mengandung minimal satu gugus hidroksil. Flavonoid banyak ditemukan dalam tumbuhan dan diketahui memiliki aktivitas antimikroba luas sebagai agen bakteriostatik maupun bakterisida. Mekanisme flavonoid sebagai antimikroba adalah multi-target, meliputi disrupti membran sel mikroba melalui interaksi dengan lipid bilayer yang menyebabkan kehilangan integritas sel dan kebocoran

komponen intraseluler, inhibisi sintesis asam nukleat dengan menghambat enzim, serta penghambatan pembentukan biofilm yang meningkatkan sensitivitas bakteri terhadap antimikroba dan memperlemah mekanisme resistensi bakteri (Sharma *et al.*, 2025). Oleh karena itu, keberadaan flavonoid dalam ekstrak tanaman diduga berkontribusi terhadap aktivitas antimikroba yang diamati pada berbagai penelitian ekstrak tumbuhan.

2.2.2 Tanin

Tanin merupakan senyawa polifenolik sekunder pada tumbuhan yang dibagi menjadi hidrolisat dan terkondensasi, dikenal karena memberikan perlindungan alami terhadap patogen melalui berbagai mekanisme antimikroba. Aktivitas antimikroba tanin meliputi gangguan integritas membran sel mikroba, pengikatan dan inhibisi enzim ekstraseluler, penguraian dinding sel, serta pengeluaran ion logam dan nutrisi esensial melalui mekanisme chelasi membuat lingkungan tidak kondusif bagi pertumbuhan mikroba (Huang *et al.*, 2018). Selain itu, tanin juga efektif menghambat pembentukan biofilm bakteri melalui penghambatan quorum sensing dan adhesi sel, yang secara signifikan menurunkan resistensi dan virulensi koloni bakteri (Villanueva *et al.*, 2023).

2.2.3 Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida yang tersusun dari bagian lipofilik (sapogenin) dan gugus gula hidrofilik, sehingga memiliki sifat amfifilik dan perilaku seperti deterjen alami. Mekanisme antimikroba saponin bekerja secara

langsung merusak membran sel mikroba, baik bakteri maupun jamur melalui interaksi dengan lipid atau sterol membran, menciptakan pori atau menyebabkan kebocoran komponen intraseluler sehingga mengganggu kelangsungan hidup sel mikroba (Tatli Cankaya dan Somuncuoglu, 2021). Selain itu, saponin mampu meningkatkan permeabilitas membran bakteri dengan merusak lapisan luar dan memfasilitasi masuknya senyawa antimikroba lain, serta menunjukkan potensi sebagai agen antibiofilm dengan cara menghambat pembentukan dan degradasi sel-sel dalam biofilm.

2.2.4 Alkaloid

Alkaloid merupakan metabolit sekunder tumbuhan yang mengandung atom nitrogen dalam struktur heterosiklik dan telah lama dikenal memiliki potensi sebagai agen antimikroba. Mekanisme utama aktivitas antimikroba alkaloid adalah melalui gangguan integritas membran sel dan interferensi terhadap materi genetik mikroba (Yan *et al.*, 2021). Interaksi alkaloid dengan lipid membran menyebabkan perubahan permeabilitas, kebocoran komponen intraseluler, hingga lisis sel. Selain itu, beberapa alkaloid mampu berikatan dengan DNA atau menghambat enzim replikasi penting seperti DNA gyrase dan topoisomerase, sehingga menghambat proses replikasi dan transkripsi (Liu *et al.*, 2024). Kombinasi kerusakan membran dan penghambatan fungsi DNA inilah yang menjadi dasar efek bakterisidal maupun bakteristatik alkaloid terhadap berbagai mikroorganisme patogen.

2.3 Pelarut Ekstraksi

Pelarut merupakan komponen penting dalam proses ekstraksi senyawa bioaktif karena berperan dalam melarutkan metabolit sekunder sesuai dengan tingkat kepolarannya. Perbedaan tingkat kepolaran pelarut tersebut memungkinkan diperolehnya profil senyawa bioaktif yang berbeda dari ekstrak buah parijoto. Dengan demikian, variasi jenis pelarut perlu diterapkan dalam penelitian ini guna mengevaluasi pengaruhnya terhadap aktivitas antimikroba ekstrak yang diperoleh. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi buah parijoto meliputi metanol, etanol, dan n-heksana.

2.3.1 Metanol

Metanol adalah pelarut polar protik yang sering digunakan pada proses ekstraksi senyawa bioaktif karena mampu melarutkan senyawa fenolik, flavonoid, dan antosianin yang mempunyai aktivitas antioksidan maupun antimikroba. Selain itu, metanol memiliki kemampuan penetrasi yang baik ke dalam matriks sampel sehingga menghasilkan rendemen ekstrak lebih tinggi dibandingkan beberapa pelarut lain (Lee *et al.*, 2024). Namun, sifat toksik metanol menjadi salah satu keterbatasan sehingga ekstrak yang diperoleh harus diproses lebih lanjut untuk memastikan tidak ada residu yang tertinggal pada produk akhir.

2.3.2 Etanol

Etanol merupakan pelarut polar yang relatif aman dan ramah lingkungan, sehingga sering dipilih dalam penelitian pangan dan farmasi. Etanol mampu

melarutkan banyak senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, dan polifenol yang diketahui mempunyai potensi antimikroba. Keunggulan etanol dibandingkan metanol adalah tingkat toksisitasnya yang rendah sehingga ekstrak lebih aman diaplikasikan pada bidang pangan maupun obat tradisional. Efektivitas etanol sebagai pelarut bioaktif telah banyak dilaporkan, membuat etanol menjadi pelarut yang umum digunakan dalam proses ekstraksi bahan alam (Abdelmaksoud *et al.*, 2025).

2.3.3 n-Heksana

n-Heksana merupakan pelarut non-polar yang digunakan untuk mengekstrak senyawa lipofilik seperti minyak esensial, lipid, dan pigmen non-polar yang memiliki efektivitas tinggi. Pada ekstraksi tanaman, n-heksana sering dipakai untuk memisahkan komponen non-polar dari fraksi polar sehingga dapat menghasilkan ekstrak yang lebih spesifik. Senyawa non-polar yang terekstrak dengan n-heksana juga diketahui memiliki bioaktivitas tertentu, meskipun umumnya aktivitasnya lebih lemah dibandingkan ekstrak polar (Kumar *et al.*, 2023).

2.4 Rendemen Ekstrak

Rendemen ekstrak merupakan persentase jumlah ekstrak yang diperoleh dari suatu bahan setelah melalui proses ekstraksi. Nilai rendemen ditentukan dari perbandingan antara jumlah ekstrak yang dihasilkan dengan berat bahan baku yang digunakan pada proses ekstraksi. Rendemen ekstrak sering digunakan untuk mengevaluasi efisiensi proses ekstraksi serta kemampuan pelarut dalam melarutkan

senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam bahan tanaman. Semakin besar nilai rendemen yang dihasilkan, maka semakin banyak komponen yang berhasil ditarik dari bahan selama proses ekstraksi (Mona *et al.*, 2022).

Berbagai faktor dapat memengaruhi rendemen ekstrak, termasuk jenis pelarut, teknik ekstraksi yang digunakan, perbandingan pelarut dengan bahan, ukuran partikel bahan, lama ekstraksi, dan suhu selama proses berlangsung. Perbedaan metode atau kondisi ekstraksi dapat menghasilkan nilai rendemen yang berbeda karena kemampuan pelarut dalam melarutkan senyawa bioaktif pada bahan juga berbeda (Kunarto *et al.*, 2024).

Selain metode ekstraksi, jenis pelarut juga berperan penting dalam menentukan nilai rendemen ekstrak. Pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda akan mengekstraksi jenis senyawa metabolit sekunder yang berbeda pula (Mona *et al.*, 2022). Hasil berbagai studi menunjukkan bahwa penggunaan pelarut polar, misalnya etanol atau metanol, umumnya memberikan rendemen ekstrak yang lebih besar dibandingkan pelarut non-polar seperti n-heksana. Kondisi ini berkaitan dengan kemampuan pelarut polar dalam mengekstraksi senyawa fenolik dan flavonoid yang memiliki sifat kepolaran serupa (Borges *et al.*, 2020).

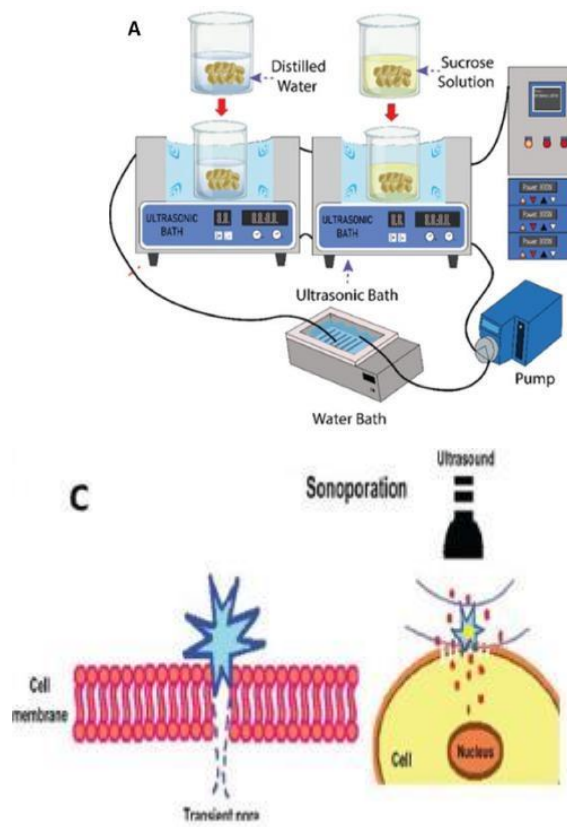
Meskipun demikian, nilai rendemen yang tinggi tidak selalu menunjukkan aktivitas biologis yang lebih kuat. Hal ini disebabkan karena rendemen menggambarkan jumlah total ekstrak yang diperoleh, sedangkan aktivitas biologis suatu ekstrak sangat dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya (Borges *et al.*, 2020). Oleh karena itu, analisis rendemen

perlu dikombinasikan dengan pengujian aktivitas biologis, seperti aktivitas antibakteri, untuk mengetahui potensi sebenarnya dari ekstrak yang dihasilkan.

2.5 *Ultrasonicator-Assisted Extraction (UAE)*

Ultrasonicator-Assisted Extraction (UAE) merupakan metode ekstraksi yang memanfaatkan gelombang ultrasonik untuk membantu proses pelepasan senyawa bioaktif dari bahan tanaman melalui fenomena kavitasi akustik. Gelombang ultrasonik yang digunakan dalam proses ekstraksi umumnya berada pada rentang frekuensi sekitar 20–100 kHz dan menghasilkan siklus kompresi serta ekspansi dalam medium cair. Siklus tersebut menyebabkan terbentuknya gelembung kavitasi yang kemudian mengalami pertumbuhan hingga mencapai ukuran tertentu sebelum akhirnya pecah atau mengalami implosi secara tiba-tiba (Kunarto *et al.*, 2024). Proses implosi gelembung kavitasi menghasilkan tekanan tinggi yang mampu merusak dinding sel tanaman sehingga senyawa bioaktif lebih mudah dilepaskan ke dalam pelarut.

Pada penelitian ini, proses ekstraksi dilakukan menggunakan *ultrasonic bath*, yaitu sistem ultrasonik yang mentransmisikan gelombang ultrasonik melalui medium cair menuju wadah sampel seperti gelas beker yang berisi bahan dan pelarut. Gelombang ultrasonik dihasilkan oleh transduser yang terletak pada bagian bawah alat, kemudian merambat melalui air dan menghasilkan kavitasi dalam pelarut ekstraksi. Fenomena ini meningkatkan permeabilitas dinding sel tanaman serta mempercepat perpindahan massa antara matriks bahan dan pelarut sehingga senyawa bioaktif lebih mudah terekstraksi (Kunarto *et al.*, 2020).



Ilustrasi 1. Mekanisme *Ultrasonicator-Assisted Extraction* menggunakan *bath ultrasonicator* (Boateng, 2024)

Mekanisme kerja ekstraksi menggunakan metode *Ultrasonicator-Assisted Extraction* ditunjukkan pada Ilustrasi 1. Gelombang ultrasonik yang merambat dalam medium cair menghasilkan gelembung kavitasi yang kemudian pecah dan menyebabkan kerusakan struktur dinding sel tanaman. Kerusakan tersebut memungkinkan pelarut menembus jaringan sel lalu melarutkan metabolit sekunder di dalam bahan tanaman.

Ekstraksi menggunakan metode UAE memiliki beberapa kelebihan jika dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional, antara lain meningkatkan efisiensi ekstraksi, mempercepat proses pelepasan senyawa aktif, serta mengurangi penggunaan pelarut dan waktu ekstraksi (Gómez-López *et al.*, 2021). Selain itu,

metode ini juga mampu meningkatkan permeabilitas dinding sel tanaman sehingga proses perpindahan massa antara pelarut dan matriks bahan menjadi lebih efektif. Efektivitas proses ekstraksi dengan UAE dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti frekuensi ultrasonik, waktu ekstraksi, suhu proses, serta jenis pelarut yang digunakan. Kombinasi faktor-faktor tersebut menentukan efisiensi pelepasan senyawa bioaktif dari jaringan tanaman. Oleh karena itu, metode UAE banyak digunakan dalam penelitian ekstraksi senyawa bioaktif dari berbagai bahan alam karena mampu meningkatkan rendemen ekstrak serta mempertahankan stabilitas senyawa aktif yang sensitif terhadap panas.

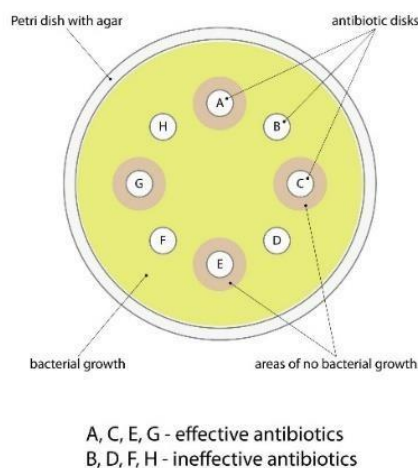
2.6 Pengujian Aktivitas Antimikroba

Pengujian aktivitas antimikroba merupakan metode yang digunakan untuk mengevaluasi kemampuan suatu senyawa atau ekstrak dalam menghambat maupun membunuh pertumbuhan mikroorganisme. Pengujian ini penting dalam penelitian bahan alam untuk menilai potensi ekstrak tanaman sebagai kandidat agen antimikroba alami. Evaluasi aktivitas antimikroba dapat dilakukan melalui beberapa metode pengujian, baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Pada penelitian ini, pengujian aktivitas antimikroba dilakukan menggunakan metode difusi cakram, penentuan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC), serta *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC).

2.6.1 Difusi Cakram

Metode difusi cakram (*disk diffusion*) merupakan salah satu metode yang umum digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antimikroba suatu senyawa atau ekstrak terhadap bakteri uji. Metode ini bersifat kualitatif dan sering digunakan sebagai tahap awal dalam skrining aktivitas antimikroba dari bahan alam. Prinsip dasar metode ini adalah difusi senyawa antimikroba dari cakram kertas ke dalam media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji (Octaviani *et al.*, 2019).

Testing antimicrobial susceptibility



Ilustrasi 2. Prinsip metode difusi cakram dalam pengujian aktivitas antimikroba (Balouiri *et al.*, 2016)

Metode ini dilakukan dengan cakram kertas steril yang telah diberi larutan ekstrak atau senyawa antimikroba diletakkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi bakteri secara merata. Selama proses inkubasi, senyawa aktif akan berdifusi dari cakram ke dalam media agar di sekitarnya. Apabila senyawa tersebut memiliki aktivitas antimikroba, maka pertumbuhan bakteri akan terhambat

sehingga terbentuk zona bening di sekitar cakram yang disebut sebagai zona hambat (Nurhayati *et al.*, 2020).

Prinsip metode difusi cakram ditunjukkan pada Ilustrasi 2. dimana cakram yang mengandung senyawa antimikroba ditempatkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi bakteri. Senyawa aktif kemudian berdifusi secara radial ke dalam media sehingga membentuk zona hambat di sekitar cakram. Diameter zona hambat yang terbentuk digunakan sebagai indikator kemampuan senyawa atau ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Besarnya zona hambat yang dihasilkan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain konsentrasi senyawa antimikroba, kemampuan difusi senyawa dalam media agar, kemampuan *efflux pump* bakteri patogen, jenis bakteri patogen, serta kondisi inkubasi. Oleh karena itu, metode difusi cakram sering digunakan sebagai metode skrining awal sebelum dilakukan pengujian kuantitatif seperti penentuan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) (Hossain *et al.*, 2024).

2.6.2 *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) Metode Makrodilusi

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) adalah konsentrasi terendah suatu senyawa atau ekstrak yang masih mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Penentuan MIC dilakukan menggunakan metode mikrodilusi dalam mikrotiter plate yang berisi media cair, inokulum bakteri, dan larutan ekstrak dengan seri konsentrasi tertentu (Yan *et al.*, 2021). Hasil pengamatan berupa adanya kekeruhan atau pertumbuhan mikroba setelah inkubasi digunakan untuk

menentukan nilai MIC. Metode ini bersifat kuantitatif sehingga memberikan informasi lebih spesifik mengenai potensi antimikroba dibandingkan metode difusi.

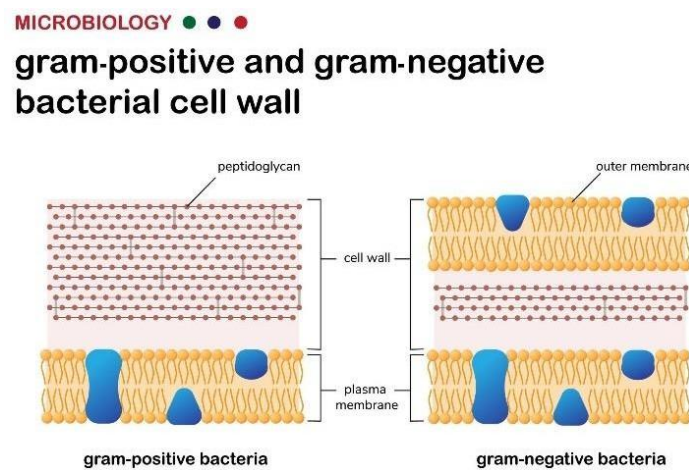
2.6.3 *Minimum Bactericidal Concentration (MBC) Metode Subkultur*

Minimum Bactericidal Concentration (MBC) adalah konsentrasi terendah ekstrak atau senyawa yang mampu membunuh bakteri uji secara keseluruhan. Uji MBC dilakukan setelah uji MIC, yaitu dengan menumbuhkan kembali cairan dari vial yang menunjukkan nilai MIC, lalu saat ditumbuhkan pada media padat tidak menunjukkan pertumbuhan. Konsentrasi terendah yang tidak menumbuhkan koloni setelah inkubasi ditetapkan sebagai nilai MBC. Pengujian MBC penting untuk membedakan apakah suatu senyawa bersifat bakteriostatik (menghambat) atau bakterisidal (membunuh), sehingga memberikan informasi yang lebih lengkap tentang mekanisme aktivitas antimikroba (Marvla *et al.*, 2024).

2.7 Bakteri Patogen

Bakteri patogen merupakan mikroorganisme parasit penyebab penyakit yang mampu menginvasi inang, merusak jaringan, atau menghasilkan toksin/racun. Pemilihan bakteri patogen dalam penelitian aktivitas antimikroba umumnya didasarkan pada relevansinya terhadap keamanan pangan maupun kesehatan manusia. Bakteri patogen yang sering digunakan sebagai mikroorganisme uji adalah bakteri penyebab penyakit yang ditularkan melalui pangan (*foodborne disease*), karena paling mudah ditemukan pada kehidupan sehari-hari dan keberadaannya dapat menimbulkan gangguan kesehatan pada konsumen (Foxcroft

et al., 2024). Pada penelitian ini, bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, yang masing-masing mewakili bakteri Gram positif dan Gram negatif.



Ilustrasi 3. Perbedaan struktur dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif (Bender *et al.*, 2018)

Sensitivitas bakteri terhadap senyawa antimikroba dipengaruhi oleh perbedaan struktur dinding sel antara bakteri Gram positif dan Gram negatif, sebagaimana ditunjukkan pada Ilustrasi 3. Dinding sel bakteri Gram positif tersusun atas lapisan peptidoglikan yang tebal dan tidak memiliki membran luar, sehingga memudahkan senyawa antimikroba untuk masuk. Sebaliknya, bakteri Gram negatif memiliki struktur yang lebih kompleks dengan adanya membran luar yang mengandung lipopolisakarida (Bender *et al.*, 2018), yang berfungsi sebagai penghalang tambahan terhadap masuknya senyawa antimikroba.

Variasi struktur dinding sel antara bakteri Gram negatif dan Gram positif menyebabkan perbedaan tingkat resistensi terhadap agen antimikroba, di mana bakteri Gram negatif umumnya lebih tahan (Hasriyani *et al.*, 2024). Oleh karena

itu, pengujian menggunakan kedua jenis bakteri tersebut diperlukan untuk memberikan evaluasi yang lebih komprehensif terhadap kemampuan suatu senyawa atau ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan karakteristik yang berbeda.

2.7.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus termasuk bakteri Gram positif dengan bentuk kokus yang cenderung berkelompok membentuk susunan seperti buah anggur. *Staphylococcus aureus* dikenal sebagai salah satu patogen penting dalam keamanan pangan karena kemampuannya menghasilkan enterotoksin yang dapat menyebabkan keracunan makanan pada manusia (Ramadan *et al.*, 2023). Kontaminasi bakteri ini pada pangan umumnya terjadi melalui kontak dengan manusia, terutama dari kulit, saluran pernapasan, atau peralatan pengolahan yang tidak higienis.

Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki kemampuan bertahan pada berbagai kondisi lingkungan, termasuk pada konsentrasi garam yang relatif tinggi dan rentang suhu yang luas. Selain itu, *Staphylococcus aureus* mampu menghasilkan berbagai faktor virulensi seperti enzim koagulase, hemolisin, dan enterotoksin yang berperan dalam proses infeksi (Abdulla, 2025). Karena karakteristik tersebut, *Staphylococcus aureus* sering digunakan sebagai bakteri uji dalam penelitian aktivitas antimikroba untuk mengevaluasi kemampuan suatu senyawa dalam menghambat bakteri Gram positif.

2.7.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang yang termasuk dalam famili Enterobacteriaceae. Bakteri ini bersifat fakultatif anaerob dan secara alami hidup di dalam saluran pencernaan manusia maupun hewan berdarah (Septiyasari dan Sofyanita, 2023). Meskipun sebagian besar strain *Escherichia coli* bersifat non-patogen, beberapa strain tertentu diketahui dapat menyebabkan penyakit pada manusia, terutama gangguan pencernaan seperti diare.

Bakteri *Escherichia coli* dalam bidang pangan sering digunakan sebagai indikator kontaminasi fekal pada produk pangan maupun air (Hamida *et al.*, 2022).

Bakteri ini dapat mencemari bahan pangan melalui air, tanah, atau proses penanganan yang tidak higienis. Struktur dinding sel *Escherichia coli* yang terdiri dari lapisan lipopolisakarida pada membran luar membuat bakteri Gram negatif ini relatif lebih resisten terhadap beberapa agen antimikroba dibandingkan bakteri

Gram positif (Syarifuddin *et al.*, 2018). Oleh karena itu, *Escherichia coli* sering digunakan sebagai mikroorganisme uji dalam penelitian aktivitas antimikroba untuk mengevaluasi efektivitas suatu senyawa terhadap bakteri Gram negatif.

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan serta Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus 2025 hingga Januari 2026. Materi dan metode yang digunakan dalam penelitian ini dijelaskan sebagai berikut.

3.1 Materi Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi buah parijoto (*Medinilla speciosa*) yang berasal dari Perkebunan Kaki Gunung Muria, Kudus, Jawa Tengah, metanol, etanol, dan n-heksana. *Nutrient Agar* (NA) dan *Nutrient Broth* (NB) (Himedia, India), NaCl fisiologis steril 0,85, DMSO 10%, akuades, *blank disk*, antibiotik disk Streptomycin, dan Amoxicillin/Clavulanic Acid (OXOID, UK), Ciprofloxacin Lactate 200 mg/100 mL (PT Finusolprima Farma Internasional, Bekasi), natrium hipoklorit (Byclin, Jakarta), isolat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Laboratorium Biologi, Universitas Diponegoro).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan analitik (SHIMADZU, Filipina), *grinder* (Maksindo, Jawa Timur), ultrasonikator batch (KZ-D10, 40 kHz, China), *Rotary vacuum evaporator* (BIOBASE, China), *hot plate* dan *magnetic stirrer* (IKA C-MAG, Jerman), *centrifuge tube* (OneMed, Jawa Timur), autoklaf (Hirayama, Jepang), oven sterilisasi (Memmert, Jerman),

aluminium foil (Klinpak, Bogor), tip mikropipet (DRAGONLAB, Tiongkok), mikropipet (DRAGONLAB, Tiongkok), *plastic wrap* (Super Indo, Jakarta), plastik *high density polyethylene*, cawan petri, tabung reaksi, gelas beker (IWAKI, Jepang), *vortex* (Vortex Mixer, Taiwan), *laminar air flow*, kertas koran, inkubator (Memmert, Jerman), Botol kaca Schott 500 mL (Schott, Germany), dan kertas saring kasar, kertas halus, kertas Whatman (Whatman, UK), cotton swab steril (OneMed, Jawa Timur), botol kaca bening (Botol Bross, Jakarta), dan jangka sorong (Mitutoyo, Japan).

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan terdiri dari rancangan penelitian, penentuan rendemen, pengujian difusi cakram, *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC), dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC), serta analisis data yang telah diperoleh berdasarkan hasil pengujian yang telah dilakukan. Metode penelitian diuraikan secara ringkas sebagai berikut:

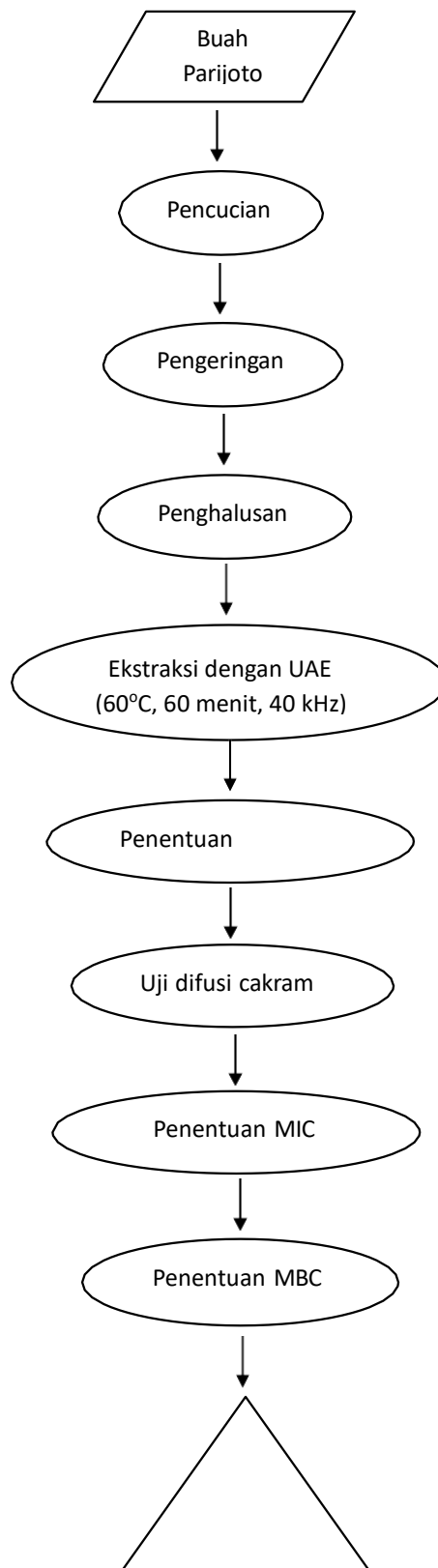
3.2.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan eksperimental dengan satu faktor perlakuan berupa jenis pelarut ekstraksi, yaitu metanol, etanol, dan n-heksana pada proses ekstraksi buah parijoto menggunakan metode *Ultrasonicator-Assisted Extraction* (UAE). Ekstrak yang diperoleh kemudian diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Pengujian aktivitas dilakukan menggunakan metode difusi cakram untuk melihat kemampuan hambat ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri. Selanjutnya dilakukan penentuan nilai MIC untuk mengetahui konsentrasi terendah ekstrak yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri secara visual, serta penentuan nilai MBC untuk mengetahui konsentrasi terendah ekstrak yang mampu membunuh bakteri uji. Pengujian difusi cakram dilakukan dengan tiga kali pengulangan untuk setiap perlakuan. Data diameter zona hambat yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan uji *Analysis of Variance* (ANOVA). Sementara itu, pengujian MIC dan MBC dilakukan dengan dua kali pengulangan dan dianalisis secara deskriptif untuk menentukan konsentrasi minimum ekstrak yang memiliki aktivitas antimikroba.

3.2.2 Prosedur Penelitian

Metode penelitian yang digunakan terdiri dari rancangan penelitian, pengujian parameter, serta analisis data yang telah diperoleh berdasarkan hasil pengujian yang telah dilakukan. Metode penelitian diuraikan secara ringkas sebagai berikut:



Ilustrasi 4. Alur Penelitian Aktivitas Antimikroba Buah Parijoto

a. Preparasi Sampel

Preparasi sampel dilakukan mengacu pada Kunarto *et al.* (2020) dengan modifikasi. Buah parijoto (*Medinilla speciosa*) yang digunakan dalam penelitian ini terlebih dahulu disortasi untuk memisahkan buah yang rusak atau tidak layak digunakan. Buah yang telah disortasi kemudian dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada permukaan buah, selanjutnya ditiriskan hingga air sisa pencucian berkurang.

Buah parijoto yang telah bersih kemudian dikeringkan menggunakan *freeze dryer* pada suhu $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ dalam kondisi vakum selama 36 jam hingga diperoleh bahan yang benar-benar kering. Proses pengeringan ini bertujuan untuk mengurangi kadar air pada bahan sehingga dapat mencegah kerusakan senyawa bioaktif serta mempermudah proses penghalusan. Sampel yang telah kering selanjutnya dihaluskan menggunakan grinder hingga diperoleh serbuk dengan ukuran partikel yang lebih kecil. Penghalusan bahan bertujuan untuk memperbesar luas permukaan bahan sehingga dapat meningkatkan efisiensi proses ekstraksi. Serbuk buah parijoto yang telah diperoleh kemudian disimpan dalam wadah tertutup pada kondisi kering hingga digunakan pada proses ekstraksi.

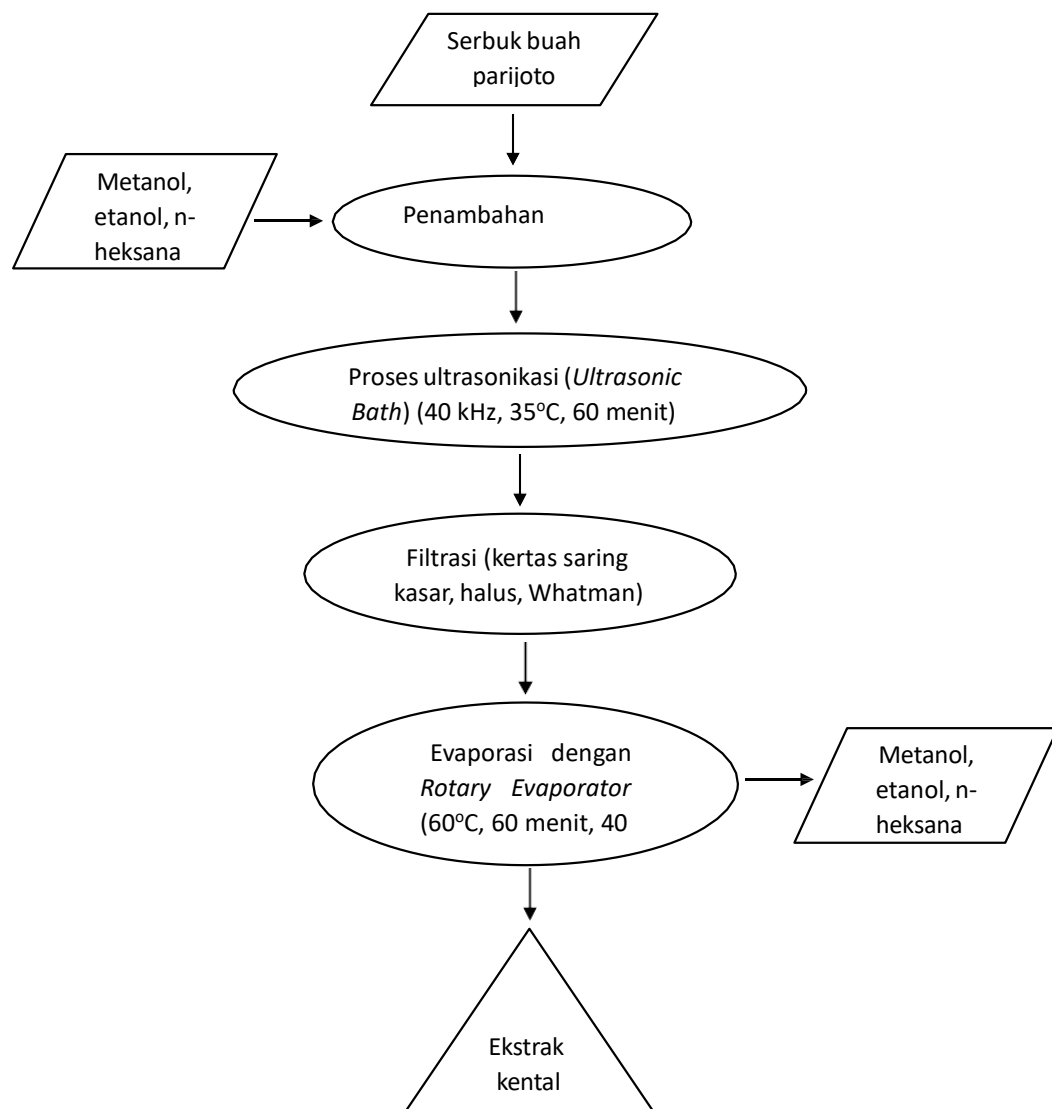
b. Ekstraksi dengan *Ultrasonicator-Assisted Extraction* (UAE)

Proses ekstraksi buah parijoto dilakukan mengacu pada metode yang dilaporkan oleh Kunarto *et al.* (2020) menggunakan teknik *Ultrasonicator-Assisted Extraction* (UAE). Serbuk buah parijoto yang telah diperoleh dari proses preparasi

sampel kemudian diekstraksi menggunakan tiga jenis pelarut dengan tingkat kepolaran berbeda, yaitu metanol, etanol, dan n-heksana.

Ekstraksi dilakukan dengan perbandingan sampel dan pelarut sebesar 1:20 (b/v), rasio ini banyak digunakan dalam ekstraksi bahan tanaman (Zhang *et al.*, 2023). Serbuk buah parijoto dicampurkan dengan masing-masing pelarut kemudian dihomogenkan hingga seluruh sampel terendam oleh pelarut. Campuran tersebut selanjutnya diekstraksi menggunakan *ultrasonic bath* dengan frekuensi 40 kHz pada suhu 35°C selama 60 menit untuk membantu pelepasan senyawa bioaktif dari matriks bahan.

Setelah proses ekstraksi, larutan disaring secara bertingkat menggunakan kertas saring kasar, halus, dan Whatman untuk memisahkan padatan dari filtrat. Filtrat yang dihasilkan kemudian dikonsentrasikan menggunakan rotary vacuum evaporator pada suhu 60°C dalam kondisi vakum selama 1 jam hingga pelarut menguap dan diperoleh ekstrak kental buah parijoto. Ekstrak ini selanjutnya digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri.



Ilustrasi 5. Proses ekstraksi buah parijoto menggunakan metode *Ultrasonicator-Assisted Extraction* (UAE).

c. Penentuan Rendemen Ekstrak

Penentuan rendemen ekstrak dilakukan mengacu pada metode yang dilaporkan oleh Kunarto *et al.* (2020) untuk mengetahui persentase ekstrak yang diperoleh dari proses ekstraksi buah parijoto menggunakan metode *Ultrasonicator-Assisted Extraction* (UAE). Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan

antara berat ekstrak kental yang diperoleh setelah proses evaporasi dengan berat awal sampel kering yang digunakan pada proses ekstraksi.

Ekstrak kental yang diperoleh setelah proses pemisahan pelarut menggunakan *rotary vacuum evaporator* kemudian ditimbang menggunakan timbangan analitik untuk mengetahui berat ekstrak yang dihasilkan. Nilai rendemen ekstrak selanjutnya dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak kental (g)}}{\text{Berat ekstrak kering (g)}} \times 100\%$$

d. Pembuatan Media

Pembuatan media *Nutrien Agar* (NA) dilakukan mengacu pada (Mitiku dan Said, 2022) dengan menimbang media NA sebanyak 28 gram dan dimasukkan ke dalam botol Schott. Media dilarutkan menggunakan 1 liter akuades. Media diaduk rata, dan dipanaskan dengan menggunakan *magnetic stirrer* hingga larut sempurna dan mendidih. Kemudian media disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan media *Nutrient Broth* (NB) dilakukan mengacu pada (Mitiku dan Said, 2022) dengan dilakukannya proses penimbangan bubuk media NB sebanyak 8 gram dan dimasukkan ke dalam botol Schott. Media dilarutkan menggunakan 1 liter akuades. Media dihomogenisasi menggunakan *magnetic stirrer* hingga tercampur merata. Kemudian media disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

e. Pembuatan NaCl fisiologis 0,85%

Pembuatan larutan NaCl fisiologis 0,85% dilakukan mengacu pada Chumchalová dan Kubal (2020) dengan dilakukannya proses penimbangan NaCl teknis sebanyak 8,5 g untuk 1 liter akuades dalam gelas beker dan diaduk hingga homogen menggunakan pengaduk kaca lalu dipindahkan ke *centrifuge tube*.

f. Persiapan Suspensi Bakteri

Preparasi suspensi bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dilakukan mengacu pada Paukiran *et al.* (2025) dengan satu ose bakteri diambil dari kultur agar miring dan diinokulasikan ke dalam media NB dalam tabung sentrifus, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Sebanyak 1 mL kultur tersebut selanjutnya dipindahkan ke dalam 9 mL media NB baru dan diinkubasi kembali selama 24 jam untuk memperoleh kultur aktif. Setelah inkubasi, kultur disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm dan suhu 4°C untuk memisahkan endapan sel bakteri dari supernatan. Kemudian endapan sel ditambahkan larutan NaCl 0,85% sebanyak 9 mL lalu disentrifugasi kembali. Pembilasan menggunakan NaCl 0,85% dilakukan sebanyak dua kali untuk menghilangkan sisa media, sehingga diperoleh endapan sel bakteri.

Endapan sel bakteri yang sudah diperoleh, diubah menjadi suspensi bakteri. Suspensi bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dibuat dengan merekonsitulasi endapan sel bakteri yang sudah di preparasi sebelumnya dengan menambahkan larutan NaCl fisiologis 0,85% secara bertahap sambil

dihomogenkan dan diamati secara visual hingga diperoleh suspensi yang keruhannya setara dengan standar McFarland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL).

g. Uji Zona Hambat Metode Difusi Cakram

Prosedur uji difusi cakram dilakukan mengacu pada metode Ngamsurach dan Praipipat (2022) dengan beberapa modifikasi. Larutan stok sampel disiapkan dengan melarutkan 800 mg ekstrak dalam 2 mL DMSO 10% sehingga diperoleh konsentrasi 400 mg/mL. Larutan stok tersebut selanjutnya diencerkan untuk memperoleh konsentrasi kerja 300, 200, dan 100 mg/mL dengan masing-masing mengambil 0,75; 0,50; dan 0,25 mL larutan stok, kemudian ditambahkan DMSO 10% hingga volume akhir 1 mL. Suspensi bakteri diinokulasikan secara merata pada permukaan media *Nutrient Agar* (NA) menggunakan *cotton swab* steril. Kertas cakram steril direndam dalam masing-masing larutan ekstrak pada berbagai konsentrasi selama 10 menit, dikeringkan secara aseptik, kemudian diletakkan di atas permukaan media yang telah diinokulasi. Sebagai kontrol negatif digunakan cakram yang direndam dalam DMSO 10%, sedangkan sebagai kontrol positif digunakan cakram antibiotik Streptomycin dan Amoxicillin/Clavulanic Acid. Setiap cawan petri berisi empat cakram, terdiri atas satu cakram sampel, dua cakram kontrol positif, dan satu cakram kontrol negatif. Seluruh cawan kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18–24 jam, dan diameter zona hambat yang terbentuk diukur secara melintang menggunakan jangka sorong untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak.

h. Penentuan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) Metode Makrodilusi

Prosedur uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dilakukan mengacu pada metode Nesru *et al.* (2025) dengan beberapa modifikasi. Larutan stok ekstrak disiapkan dengan menimbang 320 mg sampel dan melarutkannya dalam 1 mL DMSO 10% sehingga diperoleh konsentrasi 320 mg/mL. Selanjutnya, larutan kerja dengan konsentrasi 32 mg/mL dibuat dengan mengambil 1 mL larutan stok dan menambahkannya ke dalam 9 mL media *Nutrient Broth* (NB) steril. Uji MIC dilakukan menggunakan metode makrodilusi berseri dalam vial/botol kaca bening. Sebanyak 12 vial, masing-masing berisi 5 mL NB steril, disiapkan untuk setiap sampel, serta satu vial berisi 9 mL NB digunakan untuk pengenceran awal larutan stok. Sebanyak 5 mL larutan uji 32 mg/mL dimasukkan ke dalam vial yang berisi 5 mL NB untuk memperoleh konsentrasi 16 mg/mL, kemudian dilakukan pengenceran berseri hingga diperoleh konsentrasi terendah 0,5 mg/mL. Ke dalam setiap vial ditambahkan 50 μ L suspensi bakteri patogen, kemudian bakteri diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18–24 jam. Ciprofloxacin 50 μ g/ml digunakan sebagai kontrol positif, kontrol pelarut berupa DMSO 10% yang diinokulasikan bakteri dalam media NB, dan kontrol negatif berupa media NB yang diinokulasikan bakteri tanpa penambahan ekstrak. Pertumbuhan bakteri diamati secara visual berdasarkan tingkat kekeruhan media dengan membandingkan terhadap kontrol. Vial yang menunjukkan media jernih menandakan terhambatnya pertumbuhan bakteri, sedangkan media yang keruh menunjukkan adanya pertumbuhan. Konsentrasi terendah ekstrak yang masih menghasilkan media jernih ditetapkan sebagai nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC).

i. Penentuan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) Metode Subkultur

Prosedur uji *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) dilakukan mengacu pada metode Nesru *et al.* (2025) dengan beberapa modifikasi. Penentuan nilai MBC dilakukan dengan metode subkultur pada media padat. Cawan petri dibagi menjadi empat area, masing-masing merepresentasikan satu konsentrasi larutan uji. Sebanyak 15 mL media *Nutrient Agar* (NA) steril dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga memadat. Sebanyak 10 μ L suspensi yang berasal dari vial hasil uji MIC yang menunjukkan kejernihan diteteskan pada permukaan media NA pada masing-masing area, kemudian diratakan menggunakan cotton swab steril dengan pola zigzag. Setiap area diberi penandaan sesuai dengan konsentrasi dan kode sampel. Selanjutnya, cawan petri diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18–24 jam. Area media yang tidak menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri dan tampak jernih secara visual ditetapkan sebagai konsentrasi *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC).

3.2.3 Analisis Data

Data hasil pengujian difusi cakram berupa diameter zona hambat dianalisis secara statistik menggunakan uji *Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh jenis pelarut terhadap aktivitas antimikroba ekstrak buah parijoto. Apabila terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), maka dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf signifikansi 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Data hasil pengujian *Minimum Inhibitory*

Concentration (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration (MBC)*

dianalisis secara deskriptif dengan menentukan konsentrasi terendah yang mampu menghambat dan membunuh bakteri uji.