

**POTENSI ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL
KAYU SECANG (*Caesalpinia sappan L.*)
TERHADAP *Streptococcus mutans***

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna Memperoleh
Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Dalam Ilmu Kimia



Oleh: Febri Intan Listiana
NIM: 1808036017

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO SEMARANG
2022**

**POTENSI ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL
KAYU SECANG (*Caesalpinia sappan* L.)
TERHADAP *Streptococcus mutans***

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna Memperoleh
Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Dalam Ilmu Kimia

Oleh: Febri Intan Listiana
NIM: 1808036017

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO SEMARANG
2022**

PERNYATAAN KEASLIAN

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Febri Intan Listiana

NIM : 1808036017

Jurusan : Kimia

Menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul:

**Potensi Antimikroba Ekstrak Etanol Kayu Secang
(*Caesalpinia sappan L.*) Terhadap *Streptococcus mutans***

Secara keseluruhan adalah hasil penelitian/karya saya sendiri, kecuali bagian tertentu yang dirujuk sumbernya.

Semarang, 23 September 2022

Pembuat Pernyataan,



Febri Intan Listiana

NIM: 1808036017

PENGESAHAN

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : **Potensi Antimikroba Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) Terhadap *Streptococcus mutans***

Nama : Febri Intan Listiana

NIM : 1808036017

Jurusan : Kimia

Telah diujikan dalam sidang munaqosah oleh Dewan Penguji Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo dan dapat diterima sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana sains dalam bidang Ilmu Kimia.

Semarang, 4 Oktober 2022

DEWAN PENGUJI

Penguji I

Mutista Hafshah, M.Si

NIP: 199401022019032015

Penguji II

Rais Nur Latifah, M.Si

NIP: 199203042019032019

Penguji III

Ana Mardiyah, M.Si

NIP: 198905252019032015

Penguji IV

Ulla Nur Fitriani, S.Pd., M.Sc

NIP: 199807312019032018

Pembimbing I

Mutista Hafshah, M.Si

NIP: 199401022019032015

Pembimbing II

Rais Nur Latifah, M.Si

NIP: 199203042019032019



NOTA DINAS

NOTA DINAS

Semarang, 22-September 2022

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Walisongo

di Semarang

Assalamu'alaikum Wr.Wb

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : Potensi Antimikroba Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia Sapan L.*) Terhadap *Sreptococcus Mutans*

Nama : Febri Intan Listiana

NIM : 1808036017

Jurusan : Kimia

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diajukan dalam Sidang Munaqasyah.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb

Pembimbing I



Mutista Hafshah, M.Si

NIP. 199401022019032015

NOTA DINAS

NOTA DINAS

Semarang, 15 September 2022

Kepada
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo
di Semarang

Assalamu'alaikum Wr.Wb

Dengan ini dibertahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : Potensi Antimikroba Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia Sapan L.*) Terhadap *Sreptococcus Mutans*

Nama : Febri Intan Listiana

NIM : 1808036017

Jurusan : Kimia

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diajukan dalam Sidang Munaqasyah.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb

Pembimbing II



Rais Nur Latifah, M.Si

NIP. 199203042019032019

ABSTRAK

Karies gigi merupakan endapan makanan yang mengeras dan melekat pada permukaan gigi karena bakteri *Streptococcus mutans*. Apabila penumpukan makanan ini dibiarkan maka akan menyebabkan gigi berlubang. Salah satu alternatif sebagai antibiotik adalah menggunakan tanaman herbal yaitu kayu secang. Penelitian ini bertujuan untuk menguji kandungan metabolit sekunder ekstrak kayu secang, aktivitas antibakteri, serta nilai KHM dan KBM ekstrak kayu secang terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Metode penelitian ini yaitu pembuatan ekstrak kayu secang dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, skrining fitokimia ekstrak kayu secang, dan uji zona bening menggunakan metode kertas cakram, serta uji KHM dan KBM menggunakan metode dilusi. Berdasarkan hasil pengujian secara kualitatif menunjukkan ekstrak kayu secang positif mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Hasil yang diperoleh juga menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak kayu secang zona hambat yang dihasilkan semakin luas. Rata-rata zona hambat pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100% yaitu $8,75 \pm 0,354$ mm, $11 \pm 1,414$ mm, $12,75 \pm 0,354$ mm, $16,25 \pm 0,354$ mm, $17,5 \pm 0,000$ mm. Nilai KHM ekstrak etanol kayu secang terhadap *Streptococcus mutans* adalah 12,5%, sedangkan nilai KBM sebesar 25%.

Kata kunci: ekstrak kayu secang, *Streptococcus mutans*, daya hambat antibakteri, KHM dan KBM.

TRANSLITERASI HURUF ARAB – LATIN

A. Konsonan

ع = '	ز = z	ق = q
ب = b	س = s	ك = k
ت = t	ش = sy	ل = l
ث = ts	ص = sh	م = m
ج = j	ض = dl	ن = n
ح = h	ط = th	و = w
خ = kh	ظ = zh	ه = h
د = d	ع = '	ي = y
ذ = dz	غ = gh	
ر = r	ف = f	

B. Vokal

اَ-	A
اِ-	I
اُ-	U

C. Bacaan Diftong

اي	Ay
او	Aw

D. Bacaan Madd:

a> = a panjang

i> = i panjang

u> = u panjang

E. Syaddah (ّ-)

Syaddah dilambangkan dengan konsonan ganda, misalnya الطَّبّ *at-thibb*.

F. Kata Sandang (... ال)

Kata Sandang (... ال) ditulis dengan *al-...* misalnya الصنّاعه = *al-shina'ah*. *al-* ditulis dengan huruf kecil kecuali jika terletak pada permulaan kalimat.

G. Ta' Marbutah (ة)

Setiap *ta' marbutah* ditulis dengan "h" mislanya المعيشه الطبيعيه = *al-ma'isyah al-thabi'iyyah*.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullah Wabarakatuh

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir dengan judul Potensi Antimikroba Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) Terhadap *Streptococcus mutans* di Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang dengan baik. Tidak lupa penulis sampaikan shalawat serta salam kepada baginda Nabi Muhammad SAW, keluarga, sahabat, dengan harapan semoga mendapat syafaatnya kelak di hari kiamat.

Tugas akhir ini merupakan suatu mata kuliah wajib yang harus dilaksanakan, guna untuk memenuhi syarat sarjana pada Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.

Dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terimakasih kepada semua pihak yang telah memberikan kontribusinya berupa ilmu pengetahuan, moral, maupun bentuk materi baik secara langsung maupun tidak langsung selama pelaksanaan penelitian dan penyelesaian laporan tugas akhir ini. Ucapan terimakasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Sodli dan Ibu Badrotun sebagai orang tua serta saudara-saudara penulis yaitu Prisilia Dwi Listania, Septiani Rizka Ramadhani, Arka Satya Rizky Arbihan yang selalu memberi doa dan dukungan.
2. Dr. Ismail, M.Ag., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.
3. Hj. Malikhatul Hidayah, S.T., M.Pd., selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.
4. Mutista Hafshah, M.Si, dan Rais Nur Latifah, M.Si, selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, motivasi, serta arahan kepada penulis hingga akhir.
5. Zidni Azizati, M.Si selaku dosen wali yang selalu memberi pengarahan dan nasehat kepada penulis.
6. Seluruh dosen jurusan Kimia fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang yang telah membekali serta memberikan ilmu pengetahuan dan informasi kepada penyusun dalam menyelesaikan tugas akhir ini.
7. Teman-teman seperjuangan jurusan kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang

Angkatan 2018 yang telah bekerja sama hingga sampai pada titik ini.

8. Semua rekan-rekan dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas segala bantuan dan motivasinya kepada penyusun.

Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan pada penulisan berikutnya. Serta semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan pada umumnya dan Ilmu Kimia pada khususnya, Amin.

Semarang, September 2022

Penulis

Febri Intan Listiana

NIM. 1808036017

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN KEASLIAN.....	ii
PENGESAHAN.....	iii
NOTA DINAS.....	iv
NOTA DINAS.....	v
ABSTRAK.....	vi
TRANSLITERASI.....	vii
HURUF ARAB – LATIN.....	vii
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	9
C. Tujuan Penelitian.....	9
D. Manfaat Penelitian.....	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	11
A. Landasan Teori.....	11
1. Kayu Secang.....	11

2. Ekstraksi.....	15
3. Antibakteri	16
4. Uji Antimikroba.....	21
5. <i>Streptococcus Mutans</i>	24
6. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)	27
B. Kajian Pustaka.....	28
BAB III METODE PENELITIAN	31
A. Tempat dan Waktu Penelitian	31
B. Alat dan Bahan	31
1. Alat.....	31
2. Bahan.....	31
C. Prosedur Kerja	32
1. Ekstraksi Kayu Secang.....	32
2. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kayu Secang	32
a. Pemeriksaan Alkaloid	32
b. Pemeriksaan Tanin	33
c. Pemeriksaan Flavonoid	33
d. Pemeriksaan Saponin	33
3. Pengujian Potensi Antimikroba Ekstrak Etanol Kayu Secang.....	34
a. Sterilisasi Alat.....	34
b. Pembuatan Media Mueller Hinton Agar (MHA)...	34

c. Pembuatan Media Brain Heart Infusion Borth (BHIB).....	35
d. Pembuatan Larutan Mc Farland 0,5	35
e. Pembuatan Larutan NaCl 0,9%	35
f. Pembuatan Stok Kultur Bakteri <i>Streptococcus Mutans</i>	36
g. Pembuatan Suspensi Bakteri <i>Streptococcus Mutans</i>	36
h. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Etanol Kayu Secang.....	37
i. Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Difusi Kertas Cakram (Kirby&Bauer)	39
j. Penentuan Nilai KHM.....	40
k. Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)	42
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	44
A. Hasil Ekstraksi Kayu Secang	45
B. Hasil Skrining Fitokimia	47
C. Hasil Suspensi Bakteri <i>Streptococcus Mutans</i>	54
D. Hasil Uji aktivitas Antibakteri Dengan Metode Kertas Cakram.....	55
E. Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum terhadap Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	61
F. Hasil Uji Konsentrasi Bunuh Minimum terhadap bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	66

BAB V_PENUTUP	71
A. Kesimpulan.....	71
B. Saran	72
DAFTAR PUSTAKA.....	73
LAMPIRAN	87

DAFTAR TABEL

Tabel 4. 1 Hasil skrining fitokimia.....	47
Tabel 4. 2 Kategori Diameter Zona Hambat	57
Tabel 4. 3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kayu Secang Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	57
Tabel 4. 4 Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)....	64
Tabel 4. 5 Hasil Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)	68
Tabel 4. 6 Nilai KHM dan KBM Beberapa Bahan Alam Terhadap Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	69

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Tanaman Kayu Secang (<i>Caesalpinia sappan L.I</i>)	12
Gambar 2. 2 Kayu Secang Kering.....	13
Gambar 2. 3 Zona bening yang terbentuk.....	24
Gambar 2. 4 <i>Streptococcus Mutans</i>	25
Gambar 4. 1 Ekstrak kental kayu secang	47
Gambar 4. 2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Kayu Secang (a) Alkaloid; (b) Tanin; (c) Flavonoid; dan (d) Saponin	48
Gambar 4. 3 Reaksi Uji Wagner (Marliana et al., 2005).....	50
Gambar 4. 4 Reaksi antara senyawa flavonoid dengan Mg-HCl	51
Gambar 4. 5 Reaksi pembentukkan kompleks Fe tanin	53
Gambar 4. 6 Gambar Umum Saponin	54
Gambar 4. 7 Hasil Uji Zona Bening Menggunakan Kertas Cakram.....	58
Gambar 4. 8 Larutan Uji KHM (a) Sebelum inkubasi, (b) Setelah Inkubasi.....	64
Gambar 4. 9 Hasil Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (a) Konsentrasi 100%; (b) Konsentrasi 50%; (c) Konsentrasi 25%; (d) Konsentrasi 12,5%; (e) Konsentrasi 6,25%	68

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Proses Ekstraksi	87
Lampiran 2 Skrining Fitokimia Ekstrak Kayu Secang.....	88
Lampiran 3 Sterilisasi Alat Dan Pembuatan Media.....	90
Lampiran 4 Stok Kultur Dan Suspensi Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	90
Lampiran 5 Uji Zona Bening Menggunakan Kertas Cakram...	91
Lampiran 6 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	93
Lampiran 7. Uji konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)	95

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati seperti spesies tumbuhan yang digunakan sebagai bahan obat tradisional. Untuk menjaga kesehatan masyarakat memanfaatkannya untuk merawat dan mengobati penyakit. Penggunaan bahan alami yang berasal dari tumbuhan untuk mengobati penyakit sudah dikenal masyarakat sejak zaman dahulu. Penggunaan berbagai tanaman obat diturunkan dari generasi ke generasi, dan dari segi ekonomi lebih murah dan aman dibandingkan obat sintesik (Suraini & Enlita, 2015). Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai bahan obat tradisional adalah pohon secang. Bagian dari tanaman secang (*Caesalpinia sappan L*) yang sering digunakan sebagai bahan obat tradisional adalah serpihan kayu atau serutan.

Tumbuhan tersebut dapat digunakan sebagai sumber obat karena mengandung metabolit sekunder (Katno & Pramono, 2001). Dalam kayu secang mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, fenilpropana, serta terpenoid (Sudarsono et al., 2002). Kayu secang adalah tanaman

yang mengandung asam galat, brazillin (zat merah secang) dan tanin (Kartasapoetra, 2004). Brazillin memiliki aktivitas anti inflamasi, antioksidan, antibakteri, antivirus, dan farmakologis lainnya. Senyawa brazillin yaitu senyawa utama serta ciri karakteristik kayu secang dan dapat memberikan warna merah kecoklatan (Batubara et al., 2010).

Kayu secang memiliki beragam manfaat, diantaranya: sebagai zat warna untuk bahan tenun, tinta, kue, serta minuman, karena kayu secang akan berwarna merah terang saat direbus. Kayu secang juga dapat digunakan sebagai obat berbagai penyakit. Beberapa penyakit yang dapat diobati seperti diare, disentri, TBC, luka dalam, sifilis, darah kotor, malaria, tetanus, tumor, dan radang (Suraini & Enlita, 2015).

Karies gigi merupakan penyakit pada jaringan keras gigi yaitu email, dentin dan sementum yang disebabkan oleh aktivasi mikroorganisme yang terdapat pada karbohidrat yang difermentasi. Menurut pemeriksaan Kesehatan Rumah Tangga (SKRT, 2007), tingginya kasus karies di Indonesia yakni menyentuh angka 73%, hal ini termasuk lebih tinggi dibanding negara berkembang lainnya. Data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2012), memberikan hasil

bahwa di Indonesia kelaziman karies hingga 60 – 80% dari populasi, serta berada di posisi ke-6 penyakit yang paling sering diderita. Prevalensi masyarakat yang bermasalah gigi dan mulut di Indonesia menurut Riskesdas tahun 2018 sebesar 57,6% dengan indeks DMF-T Nasional sebesar 7,1% (Depkes R, 2018)

Mikroorganisme yang menyebabkan karies gigi adalah kokus gram positif, merupakan jenis yang paling banyak dijumpai seperti *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanuis*, *Streptococcus mitis*, dan *Streptococcus salivarius*. Bakteri *Streptococcus mutans* merupakan bakteri dominan yang berperan dalam proses terbentuknya karies gigi. Bakteri ini merupakan bakteri yang bersifat kariogenik karena mampu menempel pada permukaan gigi. Bakteri ini juga menyebabkan plak, yang dapat menyebabkan karang gigi dan karies pada gigi (gigi berlubang) jika plak tetap ada pada gigi.

Ada tiga faktor yang berperan penting dalam menimbulkan terjadinya karies pada gigi, yaitu faktor *host*, agen, substrat. Faktor agen adalah gigi itu sendiri, faktor ini terdiri dari bentuk gigi seperti ukuran gigi, struktur email, faktor kimia serta kristalografis. Faktor agen (mikroorganisme yang berperan sebagai agen) yakni terdapat bakteri pada plak gigi dimana plak gigi

menjadi faktor utama penyebab penyakit karies. Faktor substrat (diet) bisa memberi pengaruh terbentuknya plak sebab membantu perkembangbiakan mikroorganisme yang terdapat pada permukaan enamel (Fatmawati, 2015).

Salah satu contoh yang sering dijumpai dalam masyarakat dalam permasalahan gigi yaitu gigi berlubang. Gigi berlubang merupakan penyakit dalam jaringan keras gigi akibat adanya pengikisan lapisan terluar gigi (enamel) akibat seringnya konsumsi makanan manis, kebersihan mulut yang buruk, dan penumpukan bakteri di rongga mulut.

Pentingnya menjaga kebersihan mulut dan gigi diatur dalam Al-Quran dan Hadis, salah satunya terdapat pada penggalan Q.S Al-Maidah:45

وَكَتَبْنَا عَلَيْهِمْ فِيهَا أَنَّ النَّفْسَ بِالنَّفْسِ وَالْعَيْنَ بِالْعَيْنِ وَالْأَنْفَ
بِالْأَنْفِ وَالْأُذُنَ بِالْأُذُنِ وَالسِّنَّ بِالسِّنِّ وَالْجُرُوحَ قِصَاصٌ فَمَنْ
تَصَدَّقَ بِهِ فَهُوَ كَفَّارَةٌ لَهُ وَمَنْ لَمْ يَحْكَمْ بِمَا أَنْزَلَ اللَّهُ فَأُولَئِكَ هُمُ
الظَّالِمُونَ

“Dan Kami telah tetapkan terhadap mereka di dalamnya (At Taurat) bahwasanya jiwa (dibalas) dengan jiwa, mata dengan mata, hidung dengan hidung, telinga dengan telinga, gigi dengan gigi, dan luka luka (pun) ada qishaashnya. Barangsiapa yang melepaskan (hak qishaash)nya, maka melepaskan hak itu (menjadi)

penebus dosa baginya. Barangsiapa tidak memutuskan perkara menurut apa yang diturunkan Allah, maka mereka itu adalah orang-orang yang zalim.”(QS Al-Maidah:45)

kutipan ayat di atas menjelaskan bahwasannya Allah SWT amat mencintai hambanya yang setiap waktu selalu menjaga kebersihan, baik kebersihan lingkungan maupun kebersihan diri sendiri.

Adapun hadits yang menerangkan tentang pentingnya kebersihan mulut dan gigi, salah satunya adalah HR Bukhari No.887 dan Muslim No.452

عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ - رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ - : أَنَّ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ - ، قَالَ : ((لَوْلَا أَنْ أَشُقَّ عَلَى أُمَّتِي - أَوْ عَلَى النَّاسِ - لِأَمْرَتُهُمْ بِالسُّوَالِكِ مَعَ كُلِّ صَلَاةٍ)) متفقٌ عَلَيْهِ

yang diriwayatkan oleh Abu Hurairah r.a:
“Bahwasanya Rasulullah bersabda, andaikan aku tidak memberatkan pada umatku (atau pada orang-orang) pasti aku perintahkan (wajibkan) atas mereka bersiwak (gosok gigi) tiap akan sembahyang” (Mutafaqun ‘Alaih).

Hadits di atas menjelaskan bahwa Rasulullah SAW menekankan bahwasannya setiap muslim haruslah senantiasa menjaga kebersihan lantaran kebersihan adalah sebagian dari pada iman. Hal ini dapat menahan terbentuknya plak dan terjadinya karies karena sebagian

besar kuman di dalam mulut akan mati ketika area mulut dibersihkan.

Salah satu cara mencegah suatu mikroba adalah menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang terlalu sering akan menimbulkan efek samping maka diperlukan alternatif terapi lain yang dapat mengurangi akumulasi karies gigi. Salah satu alternatifnya adalah menggunakan tanaman herbal yang diharapkan banyak ditemukan obat baru yang mampu mengatasi penyakit tanpa menimbulkan efek samping serta murah. Salah satu tanaman obat dan komponen alami adalah tanaman kayu secang.

Peneliti Cahyaningtyas et al., (2019) menunjukkan ekstrak kayu secang memiliki sifat antibakteri yang dibuktikan dengan konsentrasi ekstrak kayu secang paling efektif dalam menghambat tumbuhnya bakteri *S.aureus* isolat Laboratorium maupun pus pasien rumah sakit yaitu pada 25%, sedangkan ekstrak tersebut mampu membunuh tumbuh bakteri *S.aureus* isolat laboratorium pada konsentrasi 3% dan isolat pus pasien rumah sakit pada konsentrasi 4%.

Suraini & Enlita, (2015) juga menyimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol kayu secang maka semakin sedikit koloni jamur yang tumbuh. Ekstrak

etanol kayu secang mampu membunuh jamur *Candida albicans* pada konsentrasi 80%. Sedangkan untuk ekstrak air kayu secang tidak dapat ditentukan pada konsentrasi berapa jamur tersebut dapat terbunuh.

Berdasarkan kandungan metabolit sekunder yang dimiliki oleh kayu secang dan data-data riset terdahulu mengenai kemampuan kayu secang dalam menghambat pertumbuhan bakteri, maka kayu secang merupakan bahan alam yang potensial untuk dikaji dan diteliti lebih lanjut. Salah satunya yaitu dengan melakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kayu secang terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode *paper disk* (kertas cakram). Metode *paper disk* merupakan metode yang umum digunakan untuk menguji aktivitas antimikroba antibiotik terhadap mikroorganisme patogen penyebab penyakit (Ariyani et al., 2018). Metode ini dipilih karena umum digunakan, mudah diterapkan, tidak memerlukan alat khusus dan relatif murah (Cahyani, 2020). Kelebihan dari metode kertas cakram adalah dapat diuji lebih cepat pada penyiapan cakram (Nurhayati et al., 2020). Observasi metode kertas cakram ini berupa zona bening atau zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram yang

memperlihatkan adanya penghambatan tumbuhnya bakteri (Cahyani, 2020).

Pengujian potensi aktivitas antibakteri juga dapat dilakukan dengan menentukan nilai KHM dan KBM. KHM yaitu konsentrasi antimikroba terendah yang masih dapat menghambat pertumbuhan mikroba (Haqi, 2018). Nilai KHM pada uji aktivitas antibakteri ditentukan berdasarkan kekeruhan dan kejernihan yang terlihat setelah 18-24 jam diinkubasi pada suhu 37°C. KHM ditentukan dengan adanya konsentrasi terkecil larutan uji antibakteri yang tampak lebih jernih, dimana hal tersebut menunjukkan tidak ada pertumbuhan bakteri. KBM yaitu konsentrasi terendah antimikroba yang mampu membunuh mikroorganisme dan ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media agar (Haqi, 2018).

Larutan hasil uji KHM diukur kembali dengan mengambil satu ose ke dalam media padat tanpa penambahan apapun untuk menentukan nilai KBM. Nilai KBM dapat diketahui ketika tidak adanya pertumbuhan bakteri setelah inkubasi 18-24 jam pada suhu 37°C (Agustin, 2019). Jadi, penentuan nilai KHM dan KBM ini penting untuk dilakukan karena dapat mengetahui seberapa besar kayu secang berpotensi untuk

menghambat dan/atau membunuh bakteri *Streptococcus mutans*. Data yang diperoleh nantinya diharapkan ditemukan obat baru yang mampu mengatasi penyakit yang disebabkan bakteri *Streptococcus mutans* tanpa menimbulkan efek samping serta murah

B. Rumusan Masalah

1. Apa saja kandungan metabolit sekunder ekstrak kayu secang yang dianalisis secara fitokimia?
2. Berapa diameter zona hambat ekstrak kayu secang terhadap bakteri *Streptococcus mutans* yang diuji dengan metode kertas cakram?
3. Berapa nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak etanol kayu secang terhadap bakteri terhadap *Streptococcus mutans*?

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder ekstrak kayu secang yang dianalisis secara fitokimia.
2. Untuk mengetahui diameter zona hambat ekstrak kayu secang terhadap bakteri *Streptococcus mutans* yang diuji dengan metode kertas cakram.

3. Untuk mengetahui nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak etanol kayu secang terhadap bakteri terhadap *Streptococcus mutans*.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini berharap bisa berkontribusi pada peningkatan potensi bahan alam untuk infeksi yang ditimbulkan oleh bakteri. Riset ini juga membagikan data ilmiah perihal komponen kimia dalam ekstrak etanol kayu secang. Komponen kimia tersebut berpotensi memiliki aktivitas biologis seperti menghambat pertumbuhan bakteri.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Kayu Secang

a. Klasifikasi Kayu Secang

Secang (*Caesalpinia Sappan L.*) merupakan salah satu tanaman asli Indonesia yang biasa digunakan oleh masyarakat sebagai zat pewarna alami dan obat tradisional. bagian tanaman yang biasa digunakan adalah bagian kayunya. Pigmen dari kayu secang, berpotensi sebagai pewarna alami. Klasifikasi tanaman secang sebagai berikut:

Divisi : *Spermatophyta*
Sub divisi : *Angiospermae*
Kelas : *Dicotyledone*
Sub kelas : *Aympetalae*
Bangsa : *Rosales*
Family : *Leguminoceae*
Marga : *Caesalpinia*
Jenis : *Caesalpinia sappan L*

(Puspitasari, 2012)



Gambar 2. 1 Tanaman Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*)

(Widhasari, 2019)

b. Morfologi Kayu Secang

Secang yaitu tumbuhan berupa semak dengan tinggi pohon sekitar 5-10 m, tumbuhan ini juga berduri, daun majemuk panjangnya sekitar 25-40 cm, dan bunga majemuk berwarna kuning yaitu sekitar 10-40 cm. Secang biasanya ditanam sebagai pembatas taman dan pagar. Secang dapat hidup di daerah hingga 1000 m di atas permukaan laut (Widhasari, 2019).

Sejak zaman dahulu, kayu secang telah dikenal sebagai tanaman rempah dan sangat diminati oleh masyarakat. Kayu secang mengandung brazilin, minyak atsiri, resorsinol, asam galat, dan juga mengandung tanin. Kayu secang kering berwarna

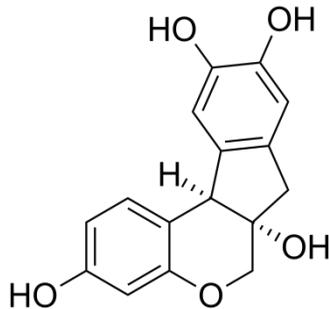
merah muda, sedangkan bagian kayu di dekat akar akan lebih merah. Kayu secang kering terlihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 2. 2 Kayu Secang Kering
(Widhasari, 2019)

c. Kandungan Kimia Kayu Secang

Kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) mengandung berbagai macam komponen kimia, dari hasil fitokimia yang dilakukan oleh beberapa peneliti sebelumnya, kayu secang mengandung senyawa antara lain brazillin, saponin, resin, tanin, asam galat, isofenilen difenol, d-alfa-phellandrene; dan minyak atsiri. Selain itu daun secang juga mengandung 0,16%-0,20% minyak atsiri dan polifenol (Puspitasari, 2012; Widhasari, 2019). Senyawa brazilin merupakan senyawa yang memberikan warna merah pada kayu secang dengan struktur $C_6H_{14}O_5$.



Gambar2. 3 Struktur Brazillin

(Zulenda et al., 2018)

d. Khasiat Kayu Secang

Umumnya tanaman secang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat untuk pewarna alami, diolah menjadi minuman, kue, dan bermanfaat sebagai obat berbagai macam penyakit seperti, obat TBC, radang, dan pembersih darah. Hal ini karena adanya kandungan kimia yang cukup tinggi berupa brazillin, minyak atsiri, resorsin, rennin, asam galat, flavonoid, dan juga mengandung tannin (Hariana, 2013; Widhasari, 2019).

Adanya senyawa fitokimia yang terkandung dalam tanaman secang dapat memberikan keuntungan bagi masyarakat untuk memanfaatkan secara optimal. Seperti penelitian yang telah dilakukan sebelumnya bahwa kayu

secang memiliki beberapa aktivitas farmakologi yaitu sebagai anti-inflamasi, anti-koagulan, antimikroba, dan antikonvulsan. Hal ini diperkuat oleh Widigdyo, (2017) bahwa keberadaan zat anti-inflamasi dan antivirus pada kayu secang dapat mempercepat proses penyembuhan luka (Irianti, 2013; Widhasari, 2019; Widigdyo, 2017).

2. Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya. Metode ekstraksi terbagi menjadi beberapa macam antara lain; maserasi, perkolasi, sokletasi, refluks, destilasi.

a. Maserasi

Maserasi yaitu metode yang prosesnya sederhana. Proses ekstraksi dengan merendam sampel pada temperatur ruangan menggunakan pelarut organik. Prosedur ini mampu menghindari kerusakan senyawa yang bersifat mudah rusak. Namun juga memiliki kekurangan yaitu memakan waktu yang lama.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah metode ekstraksi dimana sampel bubuk dibasahi secara perlahan pada perkulator. Penambahan pelarut dilakukan dari

atas ke bawah melalui bubuk dan dibiarkan mengalir. Metode ini pelarut akan terus menerus mengalir sampel, namun metode ini akan memakan banyak pelarut.

c. Sokletasi

Prosedur ini dilakukan dengan menempatkan bubuk sampel pada kertas saring pada labu di bawah kondensor. Keuntungan metode ini yaitu proses ekstraksi kontinu dan cepat, akan tetapi kelemahannya adalah senyawa yang tidak tahan panas akan terjadi penguraian.

d. Refluks

Metode refluks merupakan metode memasukkan sampel bersama-sama dengan pelarut ke dalam labu yang terhubung ke kondensor.

e. Destilasi

Metode destilasi sama dengan metode refluks, namun biasanya metode ini dipakai untuk mengekstrak minyak atsiri. Kelemahan metode ini yaitu memiliki sifat termolabil dan terdegradasi.

3. Antibakteri

Unsur yang mempunyai sifat membinasakan mikroorganisme (toksik), terutama bakteri yang bisa

membahayakan manusia sehingga menyebabkan infeksi disebut zat antibakteri. Zat antibakteri yang dipakai sebelumnya ditetapkan harus memiliki sifat membunuh selektif, yakni zat tersebut berbahaya untuk bakteri maupun parasit namun tidak bersifat bahaya bagi induk. Toksisitas selektif memiliki sifat relatif, yakni suatu unsur diterima oleh gigi yang bisa membunuh bakteri (Suwandi, 2012)

Berlandaskan toksisitas selektif antibakteri memiliki tabiat yang dibagi ke dalam dua jenis, yakni bakteriostatik atau membatasi perkembangan bakteri dan bakterisid (menewaskan bakteri). Dosis minimum yang dibutuhkan agar dapat membatasi perkembangan bakteri diketahui sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM), sementara itu dosis minimum yang dibutuhkan agar dapat membunuh bakteri disebut dengan konsentrasi bunuh minimum (KBM). Variabel yang memberi pengaruh aktivitas antibakteri antara lain ialah pH lingkungan, komponen peremajaan bakteri, kestabilan zat aktif, banyaknya inokulum, pengaruh waktu inkubasi serta aktivitas proses metabolisme bakteri (Suwandi, 2012).

a. Mekanisme Kerja Antibiotik

1) Antibiotik yang mempengaruhi dinding sel

Sel bakteri dikelilingi dengan struktur keras yang dikenal sebagai dinding sel, berfungsi sebagai pelindung membran protoplasma di sekitarnya dari guncangan. Setiap unsur yang dapat menghancurkan membran sel atau mencegah terjadinya sintesis, mengakibatkan sel-sel yang sensitif atas tekanan osmotik menjadi terbentuk. Metode kerja penisilin menyebabkan mengganggu terbentuknya dinding sel terlebih pada tahap terakhir. Penisilin bisa menyebabkan sferoplas terbentuk, dimana bakteri tanpa membran sel, seperti *basitrasin*, *ristosetin*, *penisilin*, *vankomisin*, *sefalosporin*, *sikloserin* (Wahluyo, 2004).

2) Antibiotik yang memecah peranan dinding sel

Peranan penting pada sel dipegang oleh dinding sel, yaitu sebagai inhibitor selektif permeabel yang melakukan transpor aktif dan mengontrol struktur seluler. Dinding sel merupakan tempat respirasi dan aktivitas biosintetik tertentu. Dinding sel juga dapat mengubah konsentrasi metabolit serta nutrisi

di dalam sel. Sebagian besar antibiotik diteliti dapat merusak satu atau lebih fungsi ini. Jika fungsi-fungsi ini terganggu, dapat mendatangkan malapetaka pada keberlangsungan sel. Hanya sedikit antibiotik jenis ini yang digunakan secara klinis karena kebanyakan bersifat toksik bagi manusia. Contoh : *Polymyxin, Colistin, Nystatin, Ampisilin B.*

3) Antibiotik yang menghambat sintesis protein

Antibiotik bisa menghalangi terjadinya proses sintesis protein. Beberapa diantara zat yang masuk kedalam golongan antibiotik yakni:

- a) *Aktinomisin*, senyawa golongan antimikroba yang memiliki efek menghalangi atau menghentikan suatu proses biokimia pada mikroba, baik yang gram positif maupun gram negatif.
- b) *Rifampisin*, senyawa kompleks antibiotik golongan *rifampisin*. Cara kerja antibiotik ini dengan cara menghentikan produksi RNA oleh bakteri. Rifampisin dapat mengobati beberapa jenis penyakit yang

berasal dari bakteri patogen, Seperti tuberkulosis. Obat ini lebih efektif diberikan melalui oral ataupun infus.

- c) *Streptomisin*, memiliki sifat membunuh bakteri terhadap sebagian besar mikroorganisme Gram negatif maupun ini ialah dengan cara menghalangi sintesis protein pada bakteri.
- d) *Tetrasiklin*, antibiotik poliketida yang memiliki spektrum luas karena bisa mencegah pertumbuhan hampir semua bakteri gram negatif ataupun gram positif serta termasuk spektrum penisilin, streptomisin, serta kloramfenikol.
- e) *Kloramfenikol*, antibiotik yang memiliki sifat bakteristatik, bereaksi terhadap sejumlah bakteri gram positif serta gram negatif karena memiliki spektrum yang luas. *Kloramfenikol* digunakan untuk mengobati penyakit diare, meningitis yang disebabkan *Haemophilus influenza* serta penyakit yang disebabkan *Salmonella typhosa*.

4. Uji Antimikroba

Uji antimikroba dikerjakan untuk mengukur aktivitas pertumbuhan bakteri pada agen antimikroba. Tujuan dari pengujian ini yaitu untuk mendapatkan sistem pengobatan yang efisien dan efektif. Uji antimikroba bisa dikerjakan untuk metode difusi dan dilusi (Pratiwi, 2008)

a. Difusi

1) *Disk Diffusion (Kirby & Bauer)*

Metode difusi ini dipakai untuk mengetahui aktivitas antibakteri. Pelat yang mengandung agen antimikroba di tempatkan di atas permukaan media agar yang diinokulasi dengan mikroba. Media agar bening menunjukkan adanya penghambatan tumbuhnya mikroba oleh agen antimikroba pada pertumbuhan media agar (Pratiwi, 2008).

2) *Ditch Plate Technique*

Metode *Ditch Plate Technique*, bahan antimikroba ditempatkan pada alur yang dipotong dalam cawan petri, dan mikroorganisme uji digores ke arah alur yang

mengandung bahan antimikroba tersebut (Pratiwi, 2008).

3) *Cup Plate Technique*

Metode difusi ini pengerjaannya seperti difusi cakram dengan membuat sumuran pada media agar yang berisi mikroorganisme lalu menambahkan agen antimikroba untuk diuji pada sumur (Pratiwi, 2008).

b. Dilusi

1) *Metode Dilusi Cair / Broth Dillution Test*

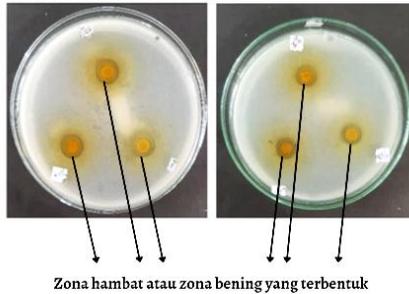
Metode dilusi cair adalah metode pengenceran serangkaian zat antimikroba dalam media cair yang mengandung mikroba uji. Larutan uji dengan berbagai konsentrasi zat antimikroba terendah yang tampak transparan tanpa tumbuhnya mikroorganisme uji disebut KHM (Konsentrasi Hambat Minimum). Larutan yang teridentifikasi sebagai KHM kemudian dibiakkan kembali dalam media cair tanpa ditambahkan mikroorganisme uji dan diinkubasi 1-24 jam. Media cair yang tampak bening setelah inkubasi disebut KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) (Pratiwi, 2008).

2) Metode Dilusi Padat / *sold Dillution Test*

Metode ini mirip dengan metode dilusi cair, dimana konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) diukur dengan membuat pengenceran serangkaian zat uji antimikroba memakai media padat. Manfaat metode dilusi padat adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

Cara efektivitas yang dipakai pada penelitian berikut ini menggunakan metode difusi cakram *Kirby-bauer*. Metode ini dipilih karena umum digunakan, mudah diterapkan, tidak memerlukan alat khusus dan relatif murah (Cahyani, 2020). Prosedur pengujian dimulai dengan kertas cakram diresapi dengan zat uji antibakteri (ekstrak tumbuhan), kemudian tempatkan pada media agar yang diinokulasi bakteri, kemudian diinkubasi di suhu 37°C selama 24 jam (Cahyani, 2020). Observasi metode kertas cakram ini berupa zona bening atau zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram yang memperlihatkan

adanya penghambatan tumbuhnya bakteri (Cahyani, 2020).



Gambar 2. 3 Zona bening yang terbentuk

5. *Streptococcus Mutans*

Streptococcus mutans ialah penyebab utama terjadinya karies gigi. Mikroba ini mempunyai beberapa faktor virulensi yang dapat menjajah rongga mulut dan bahkan mendominasi kerusakan gigi (Audies, 2015). Bakteri ini memiliki sifat virulen dalam patogenesis karies gigi, kemampuan bakteri ini yakni membentuk biofilm selain kemampuan sintesis protein serta karbohidrat. Plak gigi merupakan biofilm yang terdapat dalam rongga mulut, dimana tersusun dari kumpulan glukukan yang digunakan sebagai sumber makanan penting mikroba (Samaranayake, 2002). Tempat yang sering dijumpai terdapat bakteri ini umumnya di mulut, faring, serta usus. *Streptococcus mutans* mempunyai peran utama

dalam pembentukan karies gigi karena kemampuan menempel di email serta menjadi mikroorganisme penghasil asam, sampai dapat mewujudkan lingkungan asam yang memungkinkan terbentuknya karies gigi (Forssten et al., 2010).



Gambar 2. 4 *Streptococcus mutans* (Nasution, 2019)

a. Klasifikasi Bakteri *Streptococcus mutans*

Kingdom : *Bacteria*

Divisi : *Firmicutes*

Class : *Bacilli*

Ordo : *Lactobacillales*

Family : *Streptococcaceae*

Genus : *Streptococcus*

Spesies : *Streptococcus mutans*

b. Morfologi Bakteri *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans mempunyai struktur kapsul yang tersusun dari polisakarida dengan komponen struktural glukosa (*dextran*). Bakteri ini ialah bakteri *coccus* yang memiliki bentuk gram-positif. Bakteri *Streptococcus mutans* umumnya dijumpai di area mulut manusia, serta agen utama penyebab karies gigi. Hasil fermentasi bisa sangat mempengaruhi kesehatan individu secara keseluruhan. *Streptococcus mutans* bisa hidup pada temperatur antara 18-40°C yang juga dikenal sebagai bakteri mesofilik (Thodar, 2012).

Streptococcus mutans juga dikenal mikroba kariogenik sebab keahliannya dalam mengubah gula dan menjadikannya sebagai energi serta menciptakan lingkungan asam, yang bisa mengakibatkan demineralisasi komposisi gigi. Hal ini mengakibatkan enamel gigi menjadi hancur (Zelnicek, 2014). Pada tahun 1960 bakteri ini menjadi terkenal saat ditemukan pada hewan dengan menginokulasi mulut mereka dengan organisme. Klasifikasi dari *Streptococcus mutans* tergolong bakteri *Cocci anaerobs*, dengan struktur rantai atau membentuk pasangan (Samaranayake, 2002). Bakteri ini termasuk dalam kelompok

Streptococcus alpha hemolitikus yakni kelompok dari *Streptococcus viridians* (Audies, 2015).

6. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Konsentrasi hambat minimum merupakan konsentrasi zat antimikroba terkecil yang memiliki kemampuan untuk menghambat tumbuhnya suspensi mikroba. Ada dua cara untuk menentukan konsentrasi hambat minimum, yaitu dengan difusi agar dan dilusi cair. Metode yang paling umum digunakan yaitu metode difusi agar. Metode difusi agar, kertas cakram ditanam pada media agar yang telah ditambahkan suspensi mikroba yang akan diuji, kemudian dikultur pada suhu 37°C selama 24 jam. Konsentrasi antribakteri terendah dalam media yang memperlihatkan zona bening adalah KHM dari antimikroba terhadap mikroba uji (Irianto,2006).

KHM dirancang untuk mencegah mikroorganisme mengembangkan resistensi terhadap senyawa antibiotik tertentu. Peningkatan nilai KHM merupakan tahap awal resistensi mikroba. Resistensi merupakan kesanggupan mikroba menetralkan dan melemahkan efek antibiotik. Hal ini dapat dilakukan dengan beberapa cara, mulai dari menghancurkan antibiotik

dengan enzim yang dihasilkan dengan mengubah reseptor titik tangkap antibiotik. Selain itu, ada kemungkinan antibiotik tidak dapat menembus dinding sel karena perubahan keadaan dinding sel mikroba, atau antibiotik menembus sel mikroba tetapi dengan cepat dikeluarkan dari sel melalui mekanisme transport aktif (Sedyaningsih, 2011).

Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yaitu konsentrasi terendah dari antimikroba yang dapat membunuh suatu mikroba (ditandai dengan tidak tuumbuhnya mikroba pada media agar padat) (Haqi, 2018). Untuk menentukan KBM semua larutan uji yang digunakan saat uji KHM diukur kembali dengan mengambil satu ose ke dalam media padat tanpa penambahan apapun. Nilai KBM dapat diketahui ketika tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C (Agustin, 2019). Konsentrasi terkecil yang tidak menunjukkan pertumbuhan mikroba yaitu yang mampu membunuh mikroba uji maka disebut KBM (Affandi et al., 2009).

B. Kajian Pustaka

Peneliti Suraini & Enlita, (2015) menyimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol kayu

secang maka semakin sedikit koloni jamur yang tumbuh. Ekstrak etanol kayu secang mampu membunuh jamur *Candida albicans* pada konsentrasi 80%. Sedangkan untuk ekstrak air kayu secang tidak dapat ditentukan pada konsentrasi berapa jamur tersebut dapat terbunuh.

Karlina et al., (2016) menjelaskan bahwa ekstrak air kayu secang memiliki potensi sebagai antijamur. Jamur yang dipakai dalam penelitian tersebut yaitu *Aspergillus niger* dan *candida albicans*. Ekstrak air kayu secang ini mampu menghambat masing-masing jamur pada konsentrasi 20% yang disimpulkan sebagai nilai KHM.

Cahyaningtyas et al., (2019) menunjukkan bahwa ekstrak kayu secang memiliki sifat antibakteri. Konsentrasi ekstrak paling efektif dalam menghambat tumbuhnya bakteri *S.aureus* isolat laboratorium maupun pus pasien rumah sakit yaitu pada 25%, sedangkan ekstrak tersebut mampu membunuh tumbuh bakteri *S.aureus* isolat laboratorium pada konsentrasi 3% dan isolat pus pasien rumah sakit pada konsentrasi 4%.

Dharmayanti & Arjita, (2019) juga menyimpulkan bahwa ekstrak air batang kayu secang tidak dapat menghambat bakteri *Escherichia Coli*, karena senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak tersebut

sedikit sehingga tidak cukup menembus dinding sel bakteri, hal ini dibuktikan dengan tidak ada zona hambat yang terbentuk pada media MHA. Faktor lain yang mempengaruhi tidak terbentuknya zona hambat seperti penggunaan akuades saat ekstraksi tidak sesuai, rendahnya tingkat kelarutan menyebabkan kemampuan air dalam melarutkan senyawa metabolit tidak sempurna.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada Laboratorium Kimia. Progam Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan April sampai dengan Agustus 2022.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang dipakai pada penelitian ini adalah blender, *rotary vacuum* evaporator, 1 set alat meserasi, neraca analitik, gelas beaker (*pyrex*), cawan petri (Herma, *pyrex*, Anumbra), tabung reaksi (*Iwaki*), *hot plate*, bunsen, Erlenmeyer (*pyrex*), batang pengaduk, gelas ukur (*pyrex*), aluminium foil, inkubator, kertas saring, autoklaf, jarum ose, Spektrofotometer UV-Vis, LAF (*Laminar Air Flow*), mikropipet, tip, spatula *spreader*.

2. Bahan

Bahan yang dipakai pada pengambilan data ini yaitu kayu secang, aquades, larutan Mc Farland, asam klorida pekat (HCl), asam sulfat pekat (H₂SO₄),

kloroform, FeCl₃, serbuk NaCl, Bakteri *Streptococcus mutans*, media *Nutrient Agar*, media *Mueller Hinton Agar* (MHA), media *Brain Heart Infusion Borth (BHIB)*, etanol 96%

C. Prosedur Kerja

1. Ekstraksi Kayu Secang

Pembuatan ekstrak etanol sampel kayu secang dengan cara maserasi. Serbuk kayu secang dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Ditimbang sebanyak 100 g serbuk kayu secang lalu dimasukkan ke dalam wadah maserat dan ditambahkan 1000 mL etanol 96%. Campuran diaduk selama 6 jam pertama lalu didiamkan selama 2x24 jam. Campuran tersebut disaring dengan kertas saring sehingga didapatkan filtrat. Filtrat dipekatkan dengan menggunakan *Rotary Vacuum Evaporator* pada suhu 50°C sehingga diperoleh ekstrak kental (Wahyuni et al., 2018).

2. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kayu Secang

a. Pemeriksaan Alkaloid

Pemeriksaan kandungan alkaloid dengan mengambil 1 g sampel uji ditambahkan pereaksi *Wagner* 2 – 3 tetes. Apabila terbentuk endapan coklat maka positif mengandung alkaloid.

Perekasi *Wagner* dapat dibuat dengan 2 g KI dan 1 g I₂ dilarutkan dalam air sampai 50 mL (Masriani & Budi, 2017).

b. Pemeriksaan Tanin

Sampel uji sebanyak 1 g dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian direaksikan dengan larutan FeCl₃ 1% 2-3 tetes. Bila larutan mengalami perubahan menjadi biru kehitaman atau hijau kehitaman maka positif terdapat senyawa tanin (Agustina et al., 2016).

c. Pemeriksaan Flavonoid

Pemeriksaan ini dapat dilakukan dengan cara mengambil 1 g sampel uji selanjutnya ditambahkan serbuk magnesium, 3 tetes asam klorida pekat. Jika terbentuk warna orange hingga merah ungu, maka mengandung flavonoid (Masriani & Budi, 2017).

d. Pemeriksaan Saponin

Tambahkan 1 g sampel uji dengan 10 mL air suling dan kocok kuat-kuat selama 10 detik sampai berbusa. Tabung ditempatkan tegak selama 10 menit. Jika masih berbusa maka positif mengandung saponin. Untuk memastikan buih yang terbentuk berasal dari saponin tambahkan 3

tetes larutan HCl 2N, amati ketahanan buih, jika buih stabil maka terkonfirmasi adanya saponin (Mutammima, 2017).

3. Pengujian Potensi Antimikroba Ekstrak Etanol Kayu Secang

a. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan disterilkan dengan mencuci menggunakan sabun terlebih dahulu. Setelah dicuci dikeringkan di udara terbuka. Alat dibungkus menggunakan kertas saat kering. Mulut tabung reaksi serta labu Erlenmeyer disumbat menggunakan kapas. Sterilkan semua alat dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sterilkan jarum ose dengan memanaskannya pada Bunsen (N. Nurhayati, 2011).

b. Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Media MHA 3,4 g dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, lalu ditambahkan 100 mL akuades ke dalam Erlenmeyer berisi media MHA, kemudian dihomogenkan menggunakan pemanas sampai benar-benar homogen. Sebelum digunakan, media MHA disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. (L. R. Fatmawati, 2019).

c. Pembuatan Media *Brain Heart Infusion Borth* (BHIB)

Prosedur pembuatan media cair BHIB yaitu dengan dicampurkannya 3 g bubuk BHIB dan 100 mL aquades ke dalam Erlenmeyer, diaduk hingga tercampur merata serta di sterilkan dalam *autoklaf* dengan temperatur 121°C selama 15 menit (Lolongan et al., 2016).

d. Pembuatan Larutan Mc Farland 0,5

Pembuatan larutan McFarland 0,5. Larutan BaCl₂ 1% dipipet sebanyak 0,05 mL dituangkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya larutan H₂SO₄ 1% dipipet juga sebanyak 9,95 mL. Campur kedua larutan ke dalam tabung reaksi serta aduk sampai tercampur sempurna. Larutan Mc Farland di simpan di dalam kulkas (Rosmania & Yanti, 2020).

e. Pembuatan Larutan NaCl 0,9%

Buat larutan NaCl 0,9% dengan menimbang 2.25 g NaCl kemudian larutkan dengan 250 mL akuades dalam gelas beaker. Campuran larutan diaduk sampai homogen (Ayu, 2012).

f. Pembuatan Stok Kultur Bakteri *Streptococcus Mutans*

Media MHA dituangkan ke dalam 3 tabung rekasi kemudian dimiringkan dan dibiarkan memadat. Selanjutnya, koloni bakteri dikeluarkan dari biakan murni yang tersedia, dilakukan secara aseptik dengan jarum ose dan digoreskan pada media agar. Stok kultur bakteri Diinkubasi pada suhu 29°C selama 1x24 jam. (Syahrani et al., 2021).

g. Pembuatan Suspensi Bakteri *Streptococcus Mutans*

Sebanyak satu ose stok kultur bakteri *Streptococcus mutans* diambil dari media miring, kemudian disuspensikan dalam larutan media BHIB. Suspensi bakteri dihomogenkan lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hal ini bertujuan supaya bakteri dapat bergenerasi kembali. Keekeruhan suspensi disesuaikan dengan standart McFarland 0,5. Jika suspensi bakteri kelihatan lebih keruh maka ditambahkan larutan NaCl 0,9% sedikit demi sedikit kedalam suspensi bakteri sampai kekeruhannya sesuai dengan

kekeruhan standart MCFarland 0,5 (Aviany & Pujiyanto, 2020).

h. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Etanol Kayu Secang

1) Pembuatan larutan uji untuk aktivitas antibakteri dengan metode kertas cakram

Ekstrak etanol kayu secang diencerkan menggunakan akuades steril. Untuk mendapat larutan ekstrak 100% dibuat 10 g ekstrak etanol kental dilarutkan dengan 10 mL akuades steril. Kemudian dari larutan ekstrak 100% dilakukan pengenceran untuk mendapat konsentrasi 80%, 60%, 40%, 20%. Untuk menghasilkan konsentrasi 80% dengan mengambil 8 mL dari konsentrasi 100% lalu ditambahkan akuades steril hingga tanda batas labu ukur 10 mL. Konsetrasi 60% dibuat dengan mengambil 7,5 mL dari konsentrasi 80% lalu ditambahkan akuades steril hingga tanda batas labu ukur 10 mL. Untuk konsentrasi 40% dengan mengambil 6,6 mL dari konsentrasi 60% lalu menambahkan akuades steril hingga tanda batas labu ukur 10 mL. Sedangkan untuk membuat konsentrasi

20% dengan mengambil 5 mL dari konsentrasi 40% lalu ditambahkan akuades steril hingga tanda batas labu ukur 10 mL.

- 2) Pembuatan larutan uji untuk penentuan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM)
 - a) Tabung 1 konsentrasi 100% (b/v): 4 gr ekstrak etanol kental
 - b) Tabung 2 Konsentrasi 50% (b/v): 2 ml ekstrak etanol dari tabung 1 ditambahkan larutan BHIB sebanyak 2 ml.
 - c) Tabung 3 Konsentrasi 25% (b/v): 2 ml ekstrak etanol dari tabung 2, ditambahkan larutan BHIB sebanyak 2 ml.
 - d) Tabung 4 Konsentrasi 12,5% (b/v): 2 ml ekstrak etanol dari tabung 3, ditambahkan larutan BHIB sebanyak 2 ml.
 - e) Tabung 5 Konsentrasi 6,25% (b/v): 2 ml ekstrak etanol dari tabung 4, ditambahkan larutan BHIB sebanyak 2 ml.
 - f) Tabung 6 Konsentrasi 3,12% (b/v): 2 ml ekstrak etanol dari tabung 5, ditambahkan larutan BHIB sebanyak 2 ml.

- g) Tabung 7 Konsentrasi 1,56% (b/v): 2 ml ekstrak etanol dari tabung 6, ditambahkan larutan BHIB sebanyak 2 ml.
 - h) Tabung 8 Konsentrasi 0,78% (b/v): 2 ml ekstrak etanol dari tabung 7, ditambahkan larutan BHIB sebanyak 2 ml.
 - i) Tabung 9 Konsentrasi 0,39% (b/v): 2 ml ekstrak etanol dari tabung 8, ditambahkan larutan BHIB sebanyak 2 ml.
 - j) Tabung 10 Konsentrasi 0,19% (b/v): 2 ml ekstrak etanol dari tabung 9, ditambahkan larutan BHIB sebanyak 2 ml.
- i. Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Difusi Kertas Cakram (*Kirby&Bauer*)

Penentuan aktivitas antibakteri dikerjakan memakai kertas cakram. Konsentrasi yang digunakan yaitu 100%, 80%, 60%, 40%, 20%, kontrol negatif menggunakan akuades steril dan kontrol positif menggunakan kloramfenikol. Media agar MHA dituangkan ke dalam cawan petri, media dibiarkan hingga menjadi padat. Bakteri uji disebar pada media yang telah memadat dengan merendam *Cotton bud* steril pada suspensi bakteri. *Cotton bud*

yang telah dibasahi dengan suspensi bakteri, diusap pada permukaan media agar dan dibiarkan mengering. Kertas cakram kemudian ditempatkan di atas permukaan media agar lalu ditetesi 10 μ L ekstrak. Setelah itu, tutup cawan dan diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam (Olivia, 2018). Aktivitas antibakteri diamati dengan terbentuknya daerah bening disekitar kertas cakram. Diameter zona hambat diukur dengan jangka sorong dan diukur dua kali pada sisi horizontal dan vertikal, lalu dijumlahkan dan dirata-rata (Hartono et al., 2012).

j. Penentuan Nilai KHM

Dua belas tabung rekasi steril disiapkan untuk setiap bakteri uji. Masing-masing ditandai dengan label 1-12, kemudian lanjutkan ke tahap sebagai berikut:

- 1) Tabung 1-10 merupakan larutan konsentrasi uji yang telah disiapkan.
- 2) Pada tabung no. 11 yaitu kontrol positif, yakni berisi suspensi bakteri *Streptococcus mutans* yang kekeruhannya sudah setara dengan kekeruhan McFarland 0,5. Tabung no. 12

merupakan kontrol negatif yaitu berisi ekstrak etanol kayu secang.

- 3) 1 mL suspensi bakteri ditambahkan ke dalam masing-masing tabung konsentrasi uji.
- 4) Masing-masing tabung diukur nilai absorbansi sebelum inkubasi menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- 5) Setelah diinkubasi, dilakukan pengamatan kekeruhan secara visual untuk menentukan nilai KHM. Dilanjutkan pengamatan menggunakan spektrofotometri Uv-Vis. Masing-masing tabung diukur lagi nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer Uv-Vis sebagai nilai absorpsi akhir.

Pengamatan:

Metode pengamatan pada penelitian ini yaitu pengujian kekeruhan secara visual dan menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk menentukan kekeruhan melalui nilai absorbansi karena lebih akurat. Apabila nilai absorbansi akhir (setelah inkubasi) setiap tabung mengalami kenaikan nilai dari absorbansi awal (sebelum inkubasi), dapat

disimpulkan bahwa pertumbuhan bakteri masih terjadi. Sebaliknya, jika nilai absorbansi akhir tidak berubah dari nilai absorbansi awal, atau jika nilai absorbansi akhir lebih kecil dari nilai absorbansi awal, pertumbuhan bakteri terhambat. Nilai KHM ditentukan dari konsentrasi ekstrak terendah dalam tabung perlakuan yang mulai menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* (Wiharningtias et al., 2016).

k. Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Berdasarkan nilai KHM yang didapatkan pada uji sebelumnya, maka dilakukan uji KBM. Konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah 6,26%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%. Konsentrasi tersebut dipilih mengacu pada nilai KHM yaitu 12,5%, maka dipilih konsentrasi di bawahnya sebagai pembanding, dan konsentrasi di atasnya yang akan diuji. Penentuan nilai KBM dilakukan dengan mengambil 100 μ L larutan uji lalu dituangkan ke media MHA yang telah dipersiapkan dalam cawan petri kemudian diratakan menggunakan *spreader* steril. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kriteria

yang dipakai yakni ada tidaknya pertumbuhan bakteri pada media agar tersebut yang diamati dengan ada atau tidaknya bintik putih pada media agar (Rollando et al., 2019).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk melihat aktivitas antibakteri ekstrak etanol kayu secang terhadap bakteri *Streptococcus mutans* beserta nilai konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh minimumnya. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah biakan bakteri *Streptococcus mutans* yang dibiakan di Laboratorium Klinik Permata Semarang.

Riset ini menggunakan kayu secang sebagai bahan dalam pembuatan ekstrak. Kayu tersebut dibersihkan dengan air dan diserut lalu dikeringkan terkena sinar matahari langsung. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi.

Hasil ekstrak digunakan untuk uji zona hambat menggunakan kertas cakram dan uji KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum). Konsentrasi yang dipakai dalam uji zona hambat adalah 100%, 80%, 60%, 40%, 20%. Sedangkan konsentrasi yang digunakan untuk uji KHM diantaranya 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,19%. Kontrol negatif yang digunakan yaitu akuades steril dan kontrol positifnya yaitu kloramfenikol. Kloramfenikol adalah antibiotik yang digunakan untuk mengobati berbagai infeksi

bakteri serius, terutama jika infeksi tidak membaik dengan obat lain. Kloramfenikol bekerja dengan membunuh bakteri atau memperlambat pertumbuhannya. Obat ini efektif dalam mengobati infeksi yang disebabkan oleh *Salmonella typhi*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *C. psitacci*. Berbagai spesies bakteri *Neisseria*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, dan *Rickettsia* (Sitorus, 2020).

A. Hasil Ekstraksi Kayu Secang

Kayu secang digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini. Sebelum diolah kayu secang dicuci menggunakan air. Tujuan pembersihan adalah untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada permukaan kayu. Selesai dibersihkan kayu dijemur di bawah sinar matahari sampai benar-benar kering. Kayu secang kemudian diserut menjadi bagian yang kecil-kecil. Proses penyerutan dilakukan dengan tujuan meningkatkan luas permukaan sampel, sehingga memudahkan ekstraksi pada difusi antara pelarut dan sampel (Agustin, 2019). Serutan kayu yang dihasilkan kemudian dibiarkan kering pada suhu ruang selama 3 hari hingga berwarna merah kecoklatan.

Sampel kering kayu secang kemudian diambil sebanyak 100 g dan diekstraksi dengan cara maserasi 3 x 24 jam dengan pelarut etanol 96%. Metode maserasi

digunakan karena sangat sederhana dan mudah dalam pelaksanaannya. Metode maserasi juga dapat menghindari terjadinya kerusakan pada senyawa yang terkandung, terutama senyawa yang tidak tahan terhadap panas (Mukhriani, 2014).

Proses maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam serta sesekali diaduk. Pengadukan untuk melarutkan pelarut dan sampel dengan sempurna serta melarutkan senyawa yang terkandung. Hasil ekstraksi yang diperoleh dikumpulkan dalam wadah dan diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dan kecepatan putaran 65 rpm. Evaporasi dilakukan untuk menguapkan pelarut pada suhu rendah agar tidak merusak metabolit sekunder yang dihasilkan. Ekstrak yang diperoleh setelah penguapan berupa larutan kental, kemudian ditimbang untuk mengetahui berapa rendemen yang diperoleh.

Ekstrak etanol kayu secang yang didapatkan berupa ekstrak kental, berwarna merah kecoklatan dan memiliki aroma khas kayu secang (Gambar 4.1). Hasil yang diperoleh sesuai dengan Riduana et al., (2021) melakukan penelitian tentang organoleptik ekstrak daun buah-buahan dan kayu secang, dan menemukan bahwa ekstrak etanol kayu secang memiliki bentuk yang kental,

bau yang khas, dan warna merah kecoklatan. Ekstrak kental tersebut kemudian ditimbang dan menghasilkan massa sebesar 10,47 g, memberikan rendemen 10,47% dari ekstrak kental etanol kayu secang.



Gambar 4. 1 Ekstrak kental kayu secang

B. Hasil Skrining Fitokimia

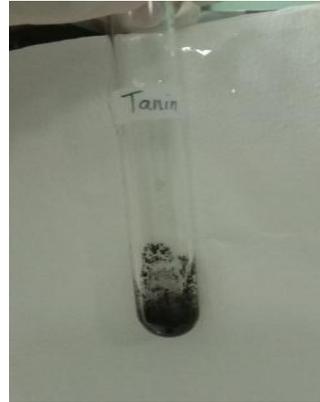
Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung. Pemeriksaan senyawa metabolit sekunder diantaranya pemeriksaan golongan senyawa alkaloid, tanin, flavonoid, saponin. Hasil skrining fitokimia terdapat pada Tabel 4.1

Tabel 4. 1 Hasil skrining fitokimia

Kandungan Senyawa Kimia	Hasil Uji	Warna Yang Terbentuk
Alkaloid	+	Endapan coklat
Flavonoid	+	Merah-unggu
Tanin	+	Hijau kehitaman
Saponin	+	Terdapat busa tetap



(a)



(b)



(c)



(d)

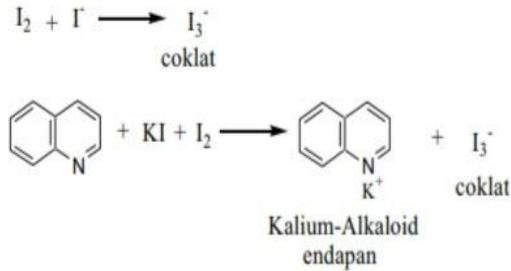
Gambar 4. 2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Kayu Secang
(a) Alkaloid; (b) Tanin; (c) Flavonoid; dan (d) Saponin

1) Alkaloid

Alkaloid adalah metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa ini

menghambat enzim esterase bersama dengan DNA dan RNA polymerase, menghambat respirasi sel dan memiliki peran dalam interkalasi DNA (Aniszewski, 2007). Menurut Wulandari (2012), senyawa alkaloid bekerja dengan menghambat biosintesis asam nukleat jamur, mencegah pertumbuhan bakteri dan pada akhirnya membunuhnya.

Identifikasi metabolit sekunder berupa alkaloid dilakukan dengan menambahkan pereaksi Wagner. Berdasarkan hasil skrining fitokimia menunjukkan hasil positif pada ekstrak kayu secang dengan ditandai adanya endapan coklat (Gambar 4.2 (a)). Hasil ini sejalan dengan penelitian Prahasti & Hidajati, (2019). Pembuatan pereaksi Wagner, iodin bereaksi dengan ion I^- dari kalium iodida menghasilkan ion I_3^- berwarna coklat. Dalam uji Wagner, ion K^+ membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen dalam alkaloid untuk membentuk kompleks kalium alkaloid yang diendapkan. Gambar 4.3 menunjukkan reaksi yang terjadi pada uji Wagner.



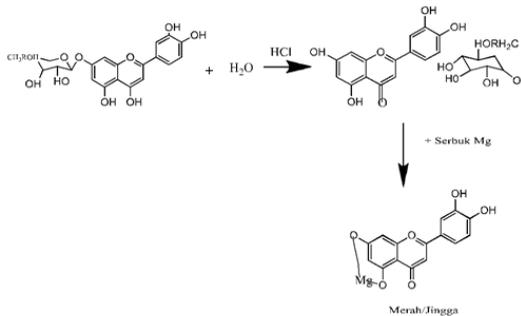
Gambar 4. 3 Reaksi Uji Wagner (Illing et al., 2017)

2) Flavonoid

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan menambahkan serbuk Mg dan asam klorida pekat pada sampel. Hasil uji flavonoid pada ekstrak etanol kayu secang yaitu positif, ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi merah-ungu (Gambar 4.2 (c)). Penambahan Mg dan HCL terjadi reaksi eksoterm yang ditunjukkan dengan buih gas yang muncul saat energi yang dilepas ke permukaan tabung (Mutammima, 2017). Hasil pengujian flavonoid ini didukung oleh penelitian Prahasti & Hidajati, (2019) dan Setiawan et al., (2018)

Flavonoid yaitu senyawa alam terbesar yang dikenal sebagai antioksidan, dan karena mengandung gugus fenol, sehingga memiliki sifat

antibakteri. Flavonoid yang mengandung gugus fenolik dapat mengkoagulasi protein dan menurunkan tegangan permukaan sel mikroba (Waluyo, 2007). Fenol merupakan senyawa bakteriostatik yang mendenaturasi protein. Denaturasi protein dinding sel bakteri membuatnya rapuh dan mudah ditembus oleh agen antibakteri (Septiadi et al., 2013).



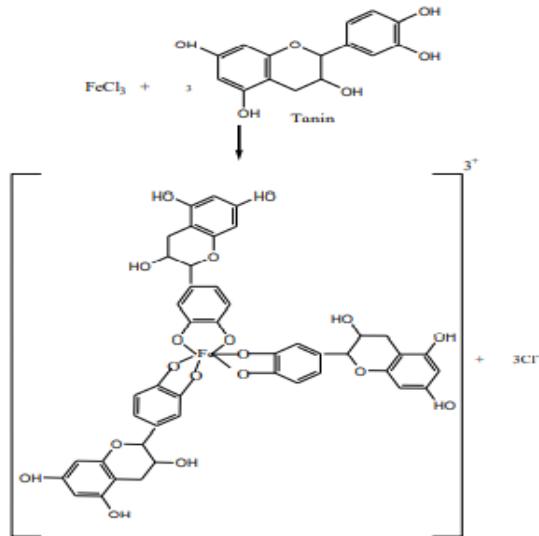
Gambar 4. 4 Reaksi antara senyawa flavonoid dengan Mg-HCl (Sulasmi et al., 2018)

3) Tanin

Metabolit sekunder tanin memiliki aktivitas antibakteri dan dapat mengkerutkan dinding sel bakteri, sehingga menghambat permeabilitas dinding sel bakteri, sehingga tidak mampu melakukan aktivitas metabolisme sel (Chismirina

et al., 2014). Menurut Angraini et al., (2017) tanin akan bereaksi dengan enzim ketika masuk ke dalam sitoplasma untuk mencegah metabolisme sel, pada akhirnya menghambat pertumbuhan bakteri dan bahkan kematian sel (Sumi et al., 2020).

Identifikasi senyawa tanin dilakukan dengan cara mereaksikan sampel dengan FeCl_3 . Ekstrak etanol kayu secang menunjukkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman (Gambar 4.2 (b)). Hasil ini sejalan dengan penelitian Prahasti & Hidajati, (2019). Perubahan yang terjadi karena adanya pembentukan senyawa kompleks dari tanin yang bereaksi dengan ion Fe^{3+} . Reaksi yang dihasilkan antara tanin dengan FeCl_3 ditunjukkan pada Gambar 4.5 :

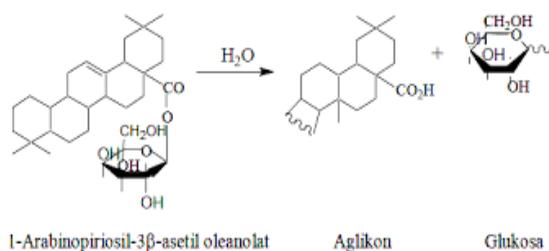


Gambar 4. 5 Reaksi pembentukan kompleks Fe tannin (Sulamsi et al., 2018).

4) Saponin

Saponin adalah metabolit sekunder yang memiliki sifat seperti sabun yang mempunyai gugus hidrofob dan hidrofil yang berperan dalam pembuatan buih ketika dilarutkan dalam air. Glikosida terdiri atas gula disebut gliko dan bukan gula disebut aglikon. glikosida yang menghubungkan dua senyawa ini mudah terurai oleh pengaruh asam, basa, air, enzim dan panas. (Mursyida et al., 2021).

Uji fitokimia senyawa saponin dalam ekstrak etanol kayu secang membuktikan hasil positif. Hal ini dapat dibuktikan dengan munculnya busa ketika ekstrak ditambahkan dengan air dan dikocok dengan kuat (Gambar 4.2 (d)). Hasil pengujian saponin ini sejalan dengan penelitian Widowati, (2011)



Gambar 4. 6 Reaksi Uji Fitokimia Saponin
(Sulasmai et al., 2018)

C. Hasil Suspensi Bakteri *Streptococcus Mutans*

Sebanyak satu jarum ose stok kultur bakteri diambil dari media MHA, kemudian disuspensikan dalam media BHIB hingga memiliki kekeruhan yang sama dengan larutan McFarland 0,5. Komposisi 1 L media BHI-B terdiri dari *brain infusion solids* 12,5 g, *proteose pepton* 10 g, *glucose* 2 g, *sodium chloride* 5 g, dan *disodium phosphate* 2,5 g (Arta et al., 2018). Pemilihan media ini merupakan media cair yang

mengandung karbohidrat dan protein yang digunakan sebagai media penyubur untuk pertumbuhan bakteri (Indrayati & Akma, 2018). Kekeruhan suspensi bakteri dengan larutan McFarland disetarakan menggunakan nilai absorbansi pada spektrofotometer Uv-Vis dengan panjang gelombang 600 nm (Mawea et al., 2019). Nilai absorbansi suspensi bakteri dan larutan McFarland berturut-turut sebesar 0,136 dan 0,137 nm.

D. Hasil Uji aktivitas Antibakteri Dengan Metode

Kertas Cakram

Uji aktivitas antibakteri dimaksudkan untuk mengetahui apakah kayu secang bersifat antibakteri atau tidak. Bakteri yang digunakan adalah bakteri *Streptococcus mutans*. *Streptococcus mutans* ialah penyebab utama kerusakan gigi. Mikroba ini mempunyai beberapa faktor virulensi yang dapat menjajah rongga mulut dan bahkan mendominasi kerusakan gigi (Audies, 2015).

Pengujian ini menggunakan metode kertas cakram dengan media *Mueller Hinton Agar (MHA)*. Media MHA merupakan merupakan media pertumbuhan bakteri secara umum, namun biasanya ditujukan untuk menumbuhkan bakteri patogen. Pemilihan medium MHA sendiri merupakan medium paling baik untuk

pertumbuhan bakteri, MHA dapat memperlihatkan hasil yang dapat diterima untuk uji kerentanan serta menjadi media terbaik pada hasil pertumbuhan dari sebagian besar bakteri patogen *non-fastidious* (MicrobeHolic, 2020). Komposisi media MHA diantaranya *Beef Extract 2g; Acid Hydrolysate of Casein 17,5 g; Starch 1,5g; Agar 17 g* (Utomo et al., 2018). Parameter dari pengujian ini adalah diameter zona bening yang terdapat pada sekitaran kertas cakram yang telah dicelupkan pada larutan uji kemudian diukur memakai jangka sorong. Konsentrasi dari ekstrak etanol kayu secang dibuat dalam beberapa variasi dengan dilarutkannya menggunakan akuades steril. Konsentrasi yang digunakan dalam pengujian antibakteri ini diantaranya 20%, 40%, 60%, 80%, 100%.

Pengujian dilakukan dengan cara menuangkan media MHA pada cawan petri dan diswab 1 mL suspensi bakteri yang telah setara kekeruhannya dengan larutan McFarland. Letakkan kertas cakram pada permukaan media dan ditetesi 10 μ L dari variasi konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%. Pengujian diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C untuk memaksimalkan bakteri tumbuh (Setyaningsih et al., 2012). Setelah diinkubasi, lalu dilakukan pengamatan dengan melihat terbentuknya

zona bening pada sekitaran kertas cakram dan dilakukan pengukuran diameter zona hambat menggunakan jangka sorong secara vertikal, horizontal dan diagonal. Lalu dijumlah dan dirata-rata.

Menurut Sakul et al., (2020) kekuatan zona hambat dapat dikategorikan sebagai berikut:

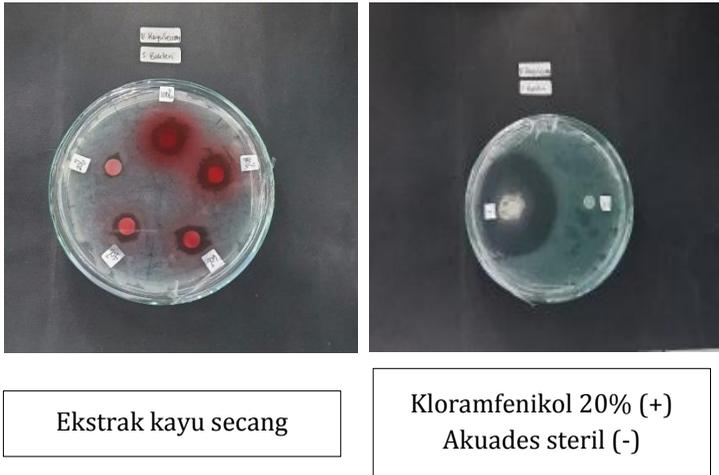
Tabel 4. 2 Kategori Diameter Zona Hambat

Diameter Zona Hambat (mm)	Kategori
<5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
>21 mm	Sangat kuat

Tabel 4. 3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kayu Secang Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*

Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)	Kategori ^(a)
20	8.75 ± 0.354	Sedang
40	11 ± 1.414	Kuat
60	12.75 ± 0.354	Kuat
80	16.25 ± 0,354	Kuat
100	17.5 ± 0.000	Kuat
Kontrol negatif	0 ± 0.000	Lemah
Kontrol positif	50.25 ± 2.475	Sangat kuat

(a)(Sakul et al., 2020)



Gambar 4. 7 Hasil Uji Zona Bening Menggunakan Kertas Cakram

Berdasarkan data yang diperoleh saat penelitian, terlihat bahwa ekstrak kayu secang ternyata memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. Hal ini diketahui dengan adanya zona hambat yang terbentuk disekeliling kertas cakram pada setiap konsentrasi uji (Gambar 4.6). Zona hambat merupakan area bening yang tampak di atas media agar pada cawan petri setelah kertas cakram yang berisi antimikroba diletakkan di atas media agar. Area bening ini menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan

mikroba oleh agen antimikroba pada permukaan agar (Nasution, 2019).

Berdasarkan Tabel 4.2 diketahui zona hambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* yang dihasilkan dari konsentrasi ekstrak kayu secang yang berbeda yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, 100% memiliki nilai diameter yang berbeda, dan memiliki kategori kekuatan antibakteri yang berbeda juga. Berdasarkan data pada Tabel 4.2, zona hambat yang terbentuk meningkat dari konsentrasi terendah ke konsentrasi tertinggi. Zona hambat yang terbentuk dari ekstrak kayu secang termasuk dalam kategori antibakteri dengan daya hambat sedang hingga kuat. Data rata-rata yang diperoleh sesuai dengan hipotesis, semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka zona hambat yang terbentuk semakin besar atau luas. Peningkatan konsentrasi ekstrak mempengaruhi efek antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri (Jawa, 2016). Ini karena konsentrasi yang lebih tinggi mengandung lebih banyak senyawa aktif daripada konsentrasi lebih yang rendah (Jawa, 2016).

Terbentuknya zona bening di sekeliling kertas cakram disebabkan adanya senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak yang berperan

sebagai antimikroba. Senyawa metabolit yang terkandung dalam kayu secang yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, saponin. Senyawa alkaloid adalah senyawa nitrogen heterosiklik yang banyak terkandung pada tanaman dan digunakan sebagai bahan antimikroba karena mampu membunuh bakteri dengan merusak DNA bakteri tersebut (Oktirisma, 2018).

Saponin memiliki efek antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri dan menyebabkan bakteriosis sel. Mekanisme kerja saponin adalah dengan menghambat permeabilitas membran sel bakteri, sehingga terjadi kerusakan pada membran sel dan pada akhirnya ketidakmampuan sel bakteri untuk tumbuh dan berkembang (Armedita et al., 2018).

Kayu secang juga mengandung senyawa flavonoid yang bersifat antibakteri, di mana flavonoid bekerja dengan merusak membran sitoplasma. Membran sitoplasma bakteri berperan dalam mengatur masuknya komponen makanan dan nutrisi. Ketika membran sitoplasma rusak, metabolit dalam bakteri keluar. Hal ini karena nutrisi tidak dapat masuk ke dalam pembentuk energi dan akhirnya sel bakteri tidak dapat tumbuh, yang dapat menyebabkan kematian sel (Mayasari & Sapitri, 2019).

Metabolit sekunder berupa tanin juga terbukti memiliki efek antibakteri. Mekanisme tanin sebagai antibakteri adalah dapat menonaktifkan sel mikroba pada permukaan sel melalui enzim yang terkait dengan membrane sel dan polipeptida dinding sel. Menurut Akiyama et al., (2001) dan Chung et al., (2006) secara garis besar tanin merusak membran sel bakteri, senyawa astringen tanin mampu menginduksi pembentukan senyawa kompleks terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu ikatan kompleks tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri (Rahman et al., 2017).

E. Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*

Konsentrasi minimum suatu antibiotika yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri disebut konsentrasi hambat minimum (KHM). Uji KHM bertujuan untuk melihat konsentrasi minimum ekstrak etanol kayu secang yang diperlukan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Pengujian dapat dilakukan sesuai dengan hasil dari zona hambat dan prosedur pengujian dilakukan dengan metode dilusi cair menggunakan spektrofotometri Uv-Vis. Pemilihan

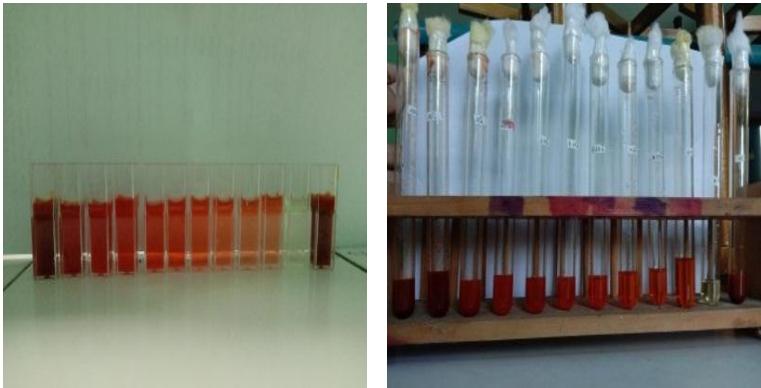
metode ini karena mempermudah dalam mengetahui bakteri masih tumbuh atau tidak dalam suatu konsentrasi ekstrak etanol kayu secang. Parameter yang dipakai yaitu dilihat dari nilai adsorbansi sebelum dan sesudah inkubasi. Metode dilusi memiliki kelebihan yaitu kehomogenan yang besar antara media, bahan uji, suspensi, serta bakteri. Selain itu, bisa menghemat media dan bahan uji karena pemakaian yang lebih sedikit (Mutammima, 2017). Sebelum uji KHM, suspensi bakteri dibuat dengan mengambil satu ose bakteri dari stok kultur lalu disuspensikan ke dalam media BHIB, suspensi diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian suspensi disetarakan kekeruhannya dengan kekeruhan McFarland 0,5 menggunakan spektrofotometer Uv-Vis dengan panjang gelombang 600 nm (Mawea et al., 2019).

Konsentrasi ekstrak etanol kayu secang dalam uji KHM ini yaitu 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,38%; dan 0,19%. Pengujian ini dilakukan dengan mencampurkan larutan konsentrasi ekstrak etanol sebanyak 4 mL dengan suspensi bakteri sebanyak 1 mL, yang menghasilkan larutan berwarna merah pekat (Gambar 4.7 (a)). Setelah itu diinkubasi selama 24 jam menghasilkan larutan yang berwarna

merah (Gambar 4.7 (b)). Nilai KHM diamati secara visual tetapi perbedaan warna sebelum dan sesudah inkubasi tidak terlihat dengan jelas. Kemudian penentuan nilai KHM dilanjutkan dengan menggunakan spektrofotometer Uv-Vis berdasarkan perbandingan nilai absorbansi sebelum dan setelah inkubasi sebagai penentu kekeruhan yang akurat. Apabila nilai absorbansi akhir (setelah inkubasi) setiap tabung mengalami kenaikan dari nilai absorbansi awal (sebelum inkubasi), dapat disimpulkan bahwa pertumbuhan bakteri masih terjadi. Sebaliknya, jika nilai absorbansi akhir tidak berubah dari nilai absorbansi awal, atau jika nilai absorbansi akhir lebih kecil dari nilai absorbansi awal, pertumbuhan bakteri terhambat. (Lolongan et al., 2016).

Pengamatan secara visual sebenarnya sudah cukup untuk menentukan KHM tetapi pada metode ini memiliki kekurangan yaitu kemampuan subjektif mata setiap orang mampu menimbulkan kesalahan (Rambet et al., 2017). Mengingat keterbatasan pengamatan secara visual, pengujian lebih lanjut harus dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis. Metode spektrofotometri UV-Vis memiliki kekurangan dalam selektivitas untuk membedakan sampel dengan partikel-partikel dan

kontaminan yang menyerap cahaya pada panjang gelombang yang sama. Keuntungan dari metode spektrofotometri UV-Vis adalah hasil yang diperoleh lebih kuantitatif sehingga dan hasilnya lebih akurat (Lolongan et al., 2016). Oleh karena itu perlu dilakukan pengujian lebih lanjut dengan cara mengukur nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer Uv-Vis agar lebih kurat.



a

b

Gambar 4. 8 Larutan Uji KHM (a) Sebelum inkubasi, (b) Setelah Inkubasi

Tabel 4. 4 Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Konsentrasi (%)	Sebelum Inkubasi	Setelah Inkubasi	Keterangan
100	3.85 ± 0.044	2.205 ± 0.020	Turun

50	2.789 ± 0.221	1.5045 ± 0.278	Turun
25	2.5175 ± 0.057	$2.198 \pm 0,215$	Turun
12.5	1.6385 ± 0.233	$1.149 \pm 0,091$	Turun
6.25	0.7875 ± 0.077	$0.8505 \pm 0,128$	Naik
3.12	0.3765 ± 0.004	$0.4095 \pm 0,001$	Naik
1.56	0.352 ± 0.011	$0.736 \pm 0,143$	Naik
0.78	0.289 ± 0.081	$0.825 \pm 0,092$	Naik
0.36	$0.274 \pm 0,085$	$0.817 \pm 0,013$	Naik
0.19	$0.2125 \pm 0,006$	$0.648 \pm 0,014$	Naik
Kontrol (-)	$3.995 \pm 0,075$	$2.789 \pm 0,041$	Turun
Kontrol (+)	$0.144 \pm 0,007$	$0.5635 \pm 0,063$	Naik

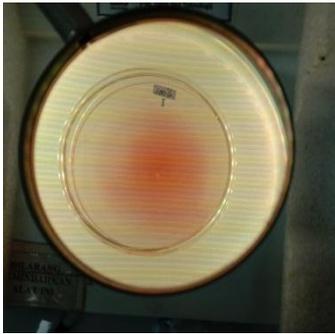
Berdasarkan hasil data Tabel 4.4 menunjukkan bahwa nilai KHM ekstrak etanol kayu secang yaitu 12,5% karena pada konsentrasi tersebut nilai absorbansi setelah inkubasi mengalami penurunan untuk pertama kalinya. Pada konsentrasi 100%-12,5% mengalami penurunan nilai absorbansinya sesudah inkubasi, yang menunjukkan konsentrasi tersebut dapat menghambat tumbuhnya bakteri *Streptococcus mutans*. Sedangkan pada konsentrasi 6,25%-0,19% nilai absorbansi setelah inkubasi mengalami kenaikan. Hal ini menunjukkan bahwa masih ada pertumbuhan bakteri pada konsentrasi tersebut. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang dipakai maka semakin besar aktivitasnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri karena senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam

ekstrak yang tinggi. Hasil ini selaras dengan riset yang dilakukan (Utami, 2021) yang mana semakin pekat konsentrasi ekstrak, semakin aktif senyawa antibakteri yang dikandungnya, dan semakin tinggi pula kapabilitas menghambat pertumbuhan mikroorganismenya. Sedangkan pada pengujian yang dilaksanakan (Rakhmanda, 2008), pada konsentrasi ekstrak yang lebih rendah, kemampuan senyawa aktif pada ekstrak menurun, sehingga kapabilitasnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri berkurang. Dengan adanya nilai KHM ini mampu mengetahui potensial dari suatu ekstrak untuk menghambat suatu mikroba uji sehingga bisa dilakukan tindak lanjut untuk langkah yang dapat diambil. Berdasarkan penelitian ini nilai KHM ekstrak kayu secang terhadap bakteri *Streptococcus mutans* yaitu 12,5%. Hasil tersebut sesuai dengan hasil pengukuran dengan metode spektrofotometri UV-Vis, yang memiliki keakuratan yang lebih tinggi.

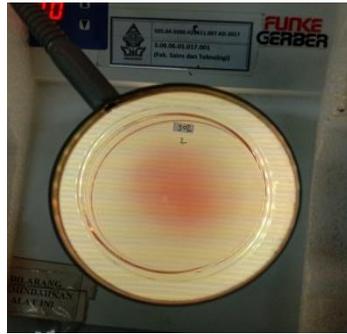
F. Hasil Uji Konsentrasi Bunuh Minimum terhadap bakteri *Streptococcus mutans*

Penentuan nilai KBM dilakukan dengan menguji aktivitas antibakteri menggunakan variasi konsentrasi hasil KHM ke dalam media agar. Metode yang

digunakan adalah *spread plate*, yaitu mengambil sampel yang sudah dilakukan uji KHM sebanyak 100 μ l lalu dituangkan ke dalam media agar dan diratakan menggunakan spatula *spreader* yang sudah disterilisasi sebelumnya, dalam jangka 24 jam pada suhu 37°C *plate* diinkubasi.



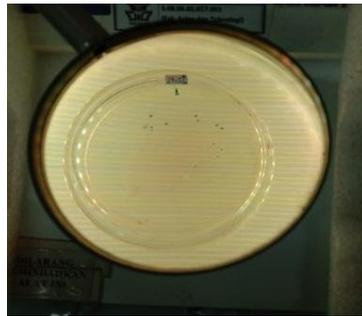
(a)



(b)



(c)



(d)



(e)

Gambar 4. 9 Hasil Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)
 (a) Konsentrasi 100%; (b) Konsentrasi 50%; (c) Konsentrasi 25%; (d) Konsentrasi 12,5%; (e) Konsentrasi 6,25%

Tabel 4. 5 Hasil Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Konsentrasi (%)	Keterangan pertumbuhan koloni	
	Perlakuan I	Perlakuan II
100	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh
50	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh
25	Tidak Tumbuh	Tidak Tumbuh
12,5	Tumbuh	Tumbuh
6,25	Tumbuh	Tumbuh

Berdasarkan pada Tabel 4.5 dapat dilihat bahwa nilai KBM ekstrak etanol kayu secang yaitu 25%. pada konsentrasi 100%-25% media masih bersih yang menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri (Gambar 4.8 (a);(b);(c)). Sedangkan pada konsentrasi

12,5%-6,25% masih terdeteksi adanya pertumbuhan bakteri (Gambar 4.8 (d) dan (e)). Nilai KBM ditentukan untuk mengetahui apakah ekstrak kayu secang berpotensi dalam membunuh suatu mikroba uji. Nilai KBM sebesar 25% maka dapat dikatakan bahwa kayu secang memiliki potensi dalam membunuh bakteri *Streptococcus mutans* karena kayu secang mengandung senyawa metabolit sekunder yang mampu sebagai antibakteri.

Tabel 4. 6 Nilai KHM dan KBM Beberapa Bahan Alam Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*

Sumber Bahan Alam	Nilai KHM (%)	Nilai KBM (%)
Kayu Secang	12,5	25
Bunga Cengkeh ^(a)	25	-
Daun Pacar Air ^(b)	3,125	-
Rumput Laut ^(c)	6,25	-
<i>Garlic</i> ^(d)	50	50

(a) (Suhendar & Fathurrahman, 2019)

(b) (Lolongan et al., 2016)

(c) (Soelama et al., 2015)

(d) (Haryani et al., 2015)

Tabel 4.6 dapat dilihat bahwa nilai KHM kayu secang yang didapatkan lebih tinggi dari nilai KHM daun pacar air dan rumput laut, hal itu dikarenakan di dalam daun pacar air dan rumput laut memiliki kandungan metabolit

sekunder yang lebih aktif dibandingkan pada kayu secang. Nilai KHM kayu secang juga masih lebih baik diantara bunga cengkeh dan *garlic* karena memiliki nilai KHM yang lebih rendah, sehingga dapat disimpulkan bahwa kayu secang memiliki kandungan senyawa antibakteri yang lebih aktif. Nilai KBM kayu secang memiliki nilai yang rendah dibandingkan pada *garlic*, sehingga nilai KBM kayu secang lebih bagus dibandingkan *garlic*.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

1. Ekstrak etanol kayu secang yang diperoleh berwarna merah kecoklatan, berbentuk ekstrak kental, dan bau yang khas secang. Nilai rendemen yang didapatkan sebesar 10,47%. Berdasarkan uji fitokimia sebagai bentuk karakterisasi secara kualitatif ekstrak etanol kayu secang mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid.
2. Ekstrak etanol kayu secang terbukti memiliki aktivitas daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* yang ditandai dengan adanya zona hambat. Zona hambat hasil pengujian pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100% berturut-turut adalah $8,75 \pm 0,354$ mm, $11 \pm 1,414$ mm, $12,75 \pm 0,354$ mm, $16,25 \pm 0,354$ mm, $17,5 \pm 0,000$ mm. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak kayu secang yang digunakan maka daya hambat semakin besar.
3. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada ekstrak kayu secang terhadap bakteri *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 12,5%, sedangkan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) pada ekstrak

kayu secang terhadap bakteri *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 25%.

B. Saran

Setelah dilakukan penelitian tentang Uji Potensi Ekstrak Kayu Secang terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*, maka peneliti menyarankan untuk diadakan penelitian lebih lanjut mengenai:

1. Pengembangan potensi aktivitas antibakteri kayu secang dengan menguji ekstrak kayu secang pada spesies bakteri-bakteri lain penyebab penyakit.
2. Isolasi senyawa aktif kayu secang yang dapat menghambat dan/atau membunuh bakteri *Streptococcus mutans*.
3. Pembuatan sediaan obat kumur dengan bahan aktif kayu secang.

DAFTAR PUSTAKA

- Affandi, A., Andrini, F., & Lesmana, S. D. (2009). Penentuan Konsentrasi Hambat Minimal dan Konsentrasi Bunuh Minimal Larutan Povidon Iodium 10% Terhadap Staphylococcus Aureus Resisten Metisilin (MRSA) dan Staphylococcus Aureus Sensitif Metisilin (MSSA). *JIK (Jurnal Ilmu Kedokteran)*, 3(1), 14–19.
- Agustin, A. Mitha. (2019). *Uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol buah dan daun Tin (Ficus carica L.) terhadap bakteri patogen Streptococcus pneumoniae*. UIN Sunan Ampel Surabaya.
- Agustina, S., Ruslan, & Wiraningtyas, A. (2016). Skrining Fitokimia Tanaman Obat Di Kabupaten Bima. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal Of Applied Chemistry)*, 4(1), 71–76.
- Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, T., & Iwatsuki, K. (2001). Antibacterial action of several tannins against Staphylococcus aureus. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(4), 487–491.
- Angraini, M., Nazip, K., & Meilinda. (2017). Efektivitas Daya Anti Jamur Daun Salam (Syzygium Polyanthum W) Terhadap Pertumbuhan Jamur Candida Albicans Dan Sumbangannya Pada Pelajaran Biologi Di Sma. *Jurnal*

- Pembelajaran Biologi: Kajian Biologi Dan Pembelajarannya*, 1(2), 139–145.
- Aniszewski, T. (2007). *Alkaloid-secrets of Life Alkaloids Chemistry, Biological Significance Application and Ecological Role* (1st Editio). Elsevier.
- Ariyani, H., Nazemi, M., Hamidah, & Kurniati, M. (2018). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Limau Kuit (*Cytrus hystrix* DC) Terhadap Beberapa Bakteri. *JCPS (Journal of Current Pharmaceutical Sciences)*, 2, 36–141.
- Armedita, D., Asfrizal, V., & Amir, M. (2018). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun, Kulit Batang, dan Getah Angsana (*Pterocarpus Indicus* Willd) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *ODONTO Dental Journa*, 5(1).
- Arta, S., Kawuri, R., & Darmayasa, I. B. G. (2018). Optimasi Periode Kultur *Vibrio cholerae* Ogawa pada Medium BHIB untuk Meningkatkan Daya Simpan Kultur. *Jurnal Metamorfosa*, V(2).
- Audies, A. (2015). *ANNISA, A. (2015). Uji efektivitas antibakteri ekstrak kulit nanas (Ananas comosus. L) terhadap pertumbuhan Streptococcus mutans penyebab karies gigi.* Universitas Andalas padang.
- Aviany, H. B., & Pujiyanto, S. (2020). Analisis Efektivitas Probiotik di Dalam Produk Kecantikan sebagai

- Antibakteri terhadap Bakteri Staphylococcus epidermidis. *Berkala Bioteknologi*, 3(2).
- Ayu, P. E. K. (2012). *Pengaruh Infusa Buah Asam Jawa (Tamarindus indica L.) Terhadap Efek Ulserogenik Asetosal Pada Mencit*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Batubara, I., Mitsunaga, T., & Ohashi, H. (2010). Brazilin from *Caesalpinia sappan* wood as an antiacne agent. *J Wood Sci*, 56, 77–81.
- Cahyani, I. (2020). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica Papaya L.*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Trichophyton rubrum* Secara in Vitro. In *Fakultas Kedokteran Gigi Universitas SumatraUtara*.
- Cahyaningtyas, D. ., Puspawati, N., & Binugraheni, R. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Biomedica*, 12, 205–216.
- Chismirina, S., Rezeki, S., & Rusiwan, Z. (2014). Konsentrasi Hambat dan Bunuh Minimum Ekstrak Buah Jamblang (*Syzygium Cumini*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Cakradonya Dental Journal*, 6(1), 655–660.
- Chung, J. ., Choo, J. ., Lee, M. ., & Hwang, J. . (2006). Anticariogenic activity of macelignan isolated from *Myristica fragrans* (nutmeg) against *Streptococcus*

- mutans. *Phytomedicine*, 13(4), 261–266.
- Dharmayanti, N. M. D., & Arjita, I. P. D. (2019). Uji Daya Hambat Ekstrak Batang Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan L.*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*. *Jurnal Kedokteran*, 4(1).
- Fatmawati, D. W. . (2015). Hubungan Biofilm *Streptococcus mutans* terhadap Resiko Terjadinya Karies Gigi. *STOMATOGNATIC-Jurnal Kedokteran Gigi*, 8, 127–130.
- Fatmawati, L. R. (2019). *Uji efektivitas antibakteri ekstrak kulit nanas (Ananas comosus [L.] Merr.) dan kulit pisang (Musa paradisiaca L.) terhadap pertumbuhan bakteri Escherichia coli*. UIN Sunan Ampel Surabaya.
- Forssten, S. D., Björklund, M., & Ouwehand, A. C. (2010). *Streptococcus mutans*, caries and simulation models. *Nutrients*, 2(3), 290–298.
- Haqi, H. D. (2018). *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Serbuk Biji Kluwih (Artocarpus communis JR & G) terhadap Pertumbuhan Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Hariana, H. A. (2013). *262 tumbuhan obat dan khasiatnya*. Penebar Swadaya Grup.
- Hartono, Muthiadin, C., & Bakri, Z. (2012). Daya Hambat Sinbiotik Ekstrak Inulin dari Bawang Merah (*Allium cepa*

- L.) dengan Bakteri *Lactobacillus acidophilus* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Bionature*, 13(1).
- Haryani, W., Susilarti, & Hidayati, S. (2015). Daya Antibakteri Ekstrak Garlic Terhadap Kaar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimu (KBM) *Streptococcus mutans* pada Media Agar. *Jurnal Teknologi Kesehatan*, 11(1).
- Illing, I., Safitri, W., & Erfiana. (2017). Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. *Jurnal Dinamika*, 8(1).
- Indrayati, S., & Akma, S. F. (2018). Peranan Monosodium Glutamat Sebagai Media Penyubur Alternatif Pengganti Brain-Heart Infusion Broth (BHIB) untuk Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Prosiding Seminar Kesehatan Perintis*, 1(1).
- Irianti. (2013). *Antioksidan*.
Jawa, T. (2016). *Uji Dya Hambat Antibakteri Ekstrak Umbi Bawah Merah (*Allium ascalonicum* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri Pembentukan Karies Gigi *Streptococcus mutans**. Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Karlina, Y., Adirestuti, P., Agustin, D. M., Fadhilah, N. L., Fauziyyah, N., & Malita, D. (2016). Pengujian Potensi Antijamur Ekstrak Air Kayu Secang Terhadap *Aspergillus niger* dan *Candida albicans*. *Chimica et Natura Acta*, 4(2).

- Kartasapoetra, G. (2004). *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat* (Cet.4). Rineka Cipta.
- Katno, & Pramono, S. (2001). *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional*. Fakultas Farmasi, UGM.
- Lolongan, R. A., Waoruntu, O., & Mintjelungan, C. N. (2016). Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Jurnal E-GiGI (EG)*, 4(2).
- Masriani, & Budi, F. S. (2017). Penapisan Fitokimia Ekstrak Metanol Beberapa Tumbuhan Obat Asal Kalimantan Barat. *Seminar Nasional Penerapan Ilmu Pengetahuan Dan Teknologi*, 191–198.
- Mawea, F., Maarisit, W., Datu, O., & Potalangi, N. (2019). Efektivitas Ekstrak Daun Cempedak *Artocarpus integer* Sebagai Antibakteri. *Jurnal Biofarmasetikal Tropis*, 2(1), 115–122.
- Mayasari, U., & Sapitri, A. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Daun Sereh Wangi (*Cymbopogon nardus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. *KLOROFIL*, 3(2), 15–19.
- MicrobeHolic. (2020). *Mueller Hinton Agar (MHA)- Definisi, Komposisi, Cara Pembuatan dan Interpretasi Uji*.

MicrobeHolic.

<https://www.microbeholic.com/2020/12/mueller-hinton-agar-mha-definisi-komposisi-cara-pembuatan-dan-interpretasi-uji.html?m=1>

- Mukhriani. (2014). Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan, VII*(2).
- Mursyida, F., Febriani, H., & Rasyidah. (2021). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *KLOROFIL: Jurnal Ilmu Biologi Dan Terapan, 5*(2), 102–110.
- Mutammima, N. (2017). *Uji aktivitas antijamur, penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) serta KLT-bioautografi ekstrak etanol daun plethekan (Ruellia tuberosa L.) terhadap Candida albicans*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Nasution, A. S. (2019). *Uji Efektivitas Antibakteri ekstrak Daun Tin (Ficus carica Linn.) Terhadap Bakteri Streptococcus mutans pada Plak Gigi scara In vitro*. Universitas Sumatera Utara.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan pengujian aktivitas antibakteri starter yogurt dengan metode difusi sumuran dan metode difusi

- cakram. *Jurnal Teknologi Hasi Peternakan*, 1, 41–46.
- Nurhayati, N. (2011). *Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun ubi jalar putih (Ipomoea batatas L.) cultivar umbi putih terhadap bakteri Staphylococcus aureus dan Pseudomonas aeruginosa*. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Oktirisma, M. (2018). *Potensi Antibakteri Ekstrak Wedelia biflora (L) DC. Terhadap Pertumbuhan Streptococcus mutans*. (STKIP) PGRI Sumatera Barat.
- Olivia, D. (2018). *Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak Daun Surian (Toona sureni Merr.) terhadap Streptococcus mutans dan Candida albicans*. Universitas Sumatera Utara.
- Prahasti, E. A., & Hidajati, N. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) dan Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni Nees ex Bl.*). *Unesa Journal of Chemistry*, 8(2).
- Puspitasari, A. (2012). *Pengaruh Penambahan Ekstrak Secang (Caesalpinia sappan L.) Terhadap Kualitas Dodol Garut*. Universitas Sebelas Maret surakarta.
- Depkes R. (2018). *Laporan Nasional Hasil Kesehatan Dasar (RISKESDAS), Badan enelitian dan Perhubungan Kesehatan Departemen Kesehatan RI*. Jakarta
- Rahman, F. A., Haniastuti, T., & Utami, T. wahyu. (2017). Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak

- etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 3(1), 1–7.
- Rakhmanda, A. P. (2008). *Perbandingan efek antibakteri jus nanas (ananas comosus L. merr) pada berbagai konsentrasi terhadap Streptococcus mutans*. Faculty of Medicine.
- Rambet, L. G., Waworuntu, O., & Gunawan, P. N. (2017). Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Perasan Murni Bawang Putih (*Allium sativum*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Pharmacon*, 6(1).
- Riduana, T. K., Isnindar, & Luliana, S. (2021). Standarisasi Ekstrak Etanol Buas-Buas (*Premna serratifolia* Linn.) dan Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* Linn.). *Media Farmasi*, XVII(1).
- Rollando, R., Prasetyo, Y. S. A., & Sitepu, R. (2019). Uji antimikroba minyak atsiri masoyi (*Massoia aromatica*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 23(2), 52–57.
- Rosmania, & Yanti, F. (2020). Perhitungan jumlah bakteri di Laboratorium Mikrobiologi menggunakan pengembangan metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2).
- Sakul, G., Simbala, H., & Rundengan, G. (2020). Uji Daya Hambat

- Ekstrak Etanol Daun Pangi (*Pangium edule* Reinw. ex Blume) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Pharmakon*, 9(2), 275–283.
- Samaranayake, L. P. (2002). Microbiology of dental caries. *Essential Microbiology for Dentistry*, 217–223.
- Sedyaningsih, E. R. (2011). *Aturan menteri Kesehatan tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. NOMOR:2406/MENKES/PER/XII/2011.
- Septiadi, T., Pringgenies, D., & Radjasa, O. K. (2013). Uji fitokimia dan Aktivitas Antijamur ekstrak teripang keling (*Holoturia atra*) dari Pantai Bandengan Jepara terhadap Jamur *Candida albicans*. *Journal of Marine Research*, 2(2).
- Setiawan, F., Yunita, O., & Kurniawan, A. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 2(2).
- Setyaningsih, I., Desniar, & Urnamasari, E. (2012). Antimikroba Dari *Chaetoceros Gracilis* Yang Dikultivasi Dengan Lama Penyinaran Berbeda. *Jurnal Akuatika*, 3(2).
- Sitorus, D. A. (2020). *Studi Literatur Dari Berbagai Metode Penetapan Kadar Kloramfenikol Generik*. Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan.
- Soelama, H. J. J., Kepel, B. J., & Siagian, K. V. (2015). Uji

- Minimum Inhibitory Concentration (MIC) Ekstrak Rumput Laut (*Eucheuma cottonii*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal E-GiGI (EG)*, 3(2).
- Sudarsono, Gunawan, D., Wahyuono, S., Donatus, I. A., & Purnomo. (2002). *Tumbuhan Obat II: Hasil Penelitian, Sifat-Sifat, dan Penggunaan*. PPOT-UGM.
- Suhendar, U., & Fathurrahman, M. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Fitofarmaka*, 9(1).
- Sulasmi, E. S., Wuriana, Z. F., Sari, M. S., & Suhadi. (2018). Analisis Kualitatif Kandungan Senyawa Aktif (Flavonoid, Alkaloid, Polifenol, Saponin, Terpenoid dan Tanin) pada Ekstrak Metanol Daun dan Rhizoma *Phymatodes scolopendria* (Burm.) Ching di Taman Nasional Baluran. *Prosiding Seminar Nasional VI Hayati*, 6.
- Sumi, P.W, E. R., & Rahmawati. (2020). Aktivitas antifungi Ekstrak Metanol Daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight] Walp.) Terhadap pertumbuhan *Hortaea werneckii* (T1) Secara In Vitro. *Jurnal Protobiont*, 9(3), 193–199.
- Suraini, & Enlita. (2015). Uji Potensial Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L) dalam Menghambat Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *Jurnal Kesehatan*

Perintis, 2.

- Suwandi, T. (2012). *Pengembangan Potensi Antibakteri Kelopak Bunga Hibiscus sabdariffa L.(Rosela) Terhadap Streptococcus sanguinis Penginduksi Gingivitis Menuju Obat Herbal Terstandar= The Antibacterial Potency Development of Hibiscus sabdariffa L. calyx (Rosela) to Streptoc.*
- Syahrani, H. D., Manalu, K., & Tambunan, E. P. S. (2021). Uji Efektivitas Antimikroba Ekstrak Bunga Kecombrang (*Etlingera Elatior*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*. *BEST Journal (Biology Education, Sains and Technology)*, 4(2), 367–373.
- Thodar, K. (2012). *The Cell Envelope: Capsules, Cell Walls And Cell Membranes*.
http://textbookofbacteriology.net/structure_4.html
- Utami, E. R. (2021). AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN PANDAN WANGI (*Pandanus amaryfolius*) TERHADAP *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan: Jurnal Ilmiah Multi Sciences*, 11(01), 61–71.
- Utomo, S. B., Fujiyanti, M., & Warih Puji Lestari, S. M. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa C-4 Metoksifenilkaliks[4] Resorsinarena termodifikasi hexadecyl Trimethylammonium-Bromide Terhadap

- Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia, 3(3).
- Wahluyo, S. (2004). Daya hambat minimal Epigallokatekin gallat dari teh hijau terhadap *Streptococcus mutans*.
Dental Journal, 37, 112–115.
- Wahyuni, Malik, F., Ningsih, A., Zubaydah, W. ode S., & Sahidin. (2018). Antimicrobial activities of ethanol extract of Wualae (*Etingera elatior* (JACK) RM Smith). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 3(1).
- Waluyo, L. (2007). *Mikrobiologi Umum* (Cet. 3). Universitas Muhammadiyah Malang.
- Widhasari, S. R. (2019). *Kelayakan ekstrak kayu secang sebagai pewarna alami kosmetika blush on*.
- Widigdyo, A. (2017). *Widigdyo, A. (2017). Efek Penambahan Ekstrak Kayu Secang (Caesalpinia Sappan L.) Dan Minyak Ikan Lemuru Sebagai Aditif Pakan Terhadap Penampilan Puyuh Petelur*. Universitas Brawijaya Malang.
- Widowati, W. (2011). Uji Fitokimia dan Potensi Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*).
Jurnal Kedokteran Maranatha, 11(1).
- Wiharningtias, I., Waworuntu, O., & Juliatri. (2016). Uji Konsentrasi Hambat Minimum (Khm) Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas Comosus L*) Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Pahmacon*, 5(4).

- Wulandari, A. (2012). *Uji Daya Efektivitas Antifungi Ekstrak Biji Tanjung (Mimusops elengi Linn.) terhadap Pertumbuhan Candida albicans Secara In Vitro dengan Metode Difusi*. Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional Jakarta.
- Zelnicek, T. (2014). *Streptococcus mutans- Tooth Decay*. *Microbiology in Arezzo*. <http://microbewiki.kenyon.edu>
- Zulenda, Naselia, U. A., Gustian, N., Zaharah, T. A., & Rahmalia, W. (2018). Sintesis Dan Karakterisasi Kompleks Brazilin dari Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* Linn) Serta Aplikasinya dalam Dye Sensitized Solar Cells (DSSC). *Jurnal Kimia Valensi*, 5(1).

LAMPIRAN

Lampiran 1 Proses Ekstraksi

a. Foto Dokumentasi Ekstraksi



b. Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol Kayu Secang

Berat awal sampel serbuk kayu secang = 100 g

Pelarut etanol 96% = 1000 mL

Berat botol kosong = 84,05 g

Berat ekstrak+gelas = 94,58 g

Berat ekstrak = (berat ekstrak+botol) - (berat
botol kosong)
= (94,58 - 84,05) g
= 10,47 g

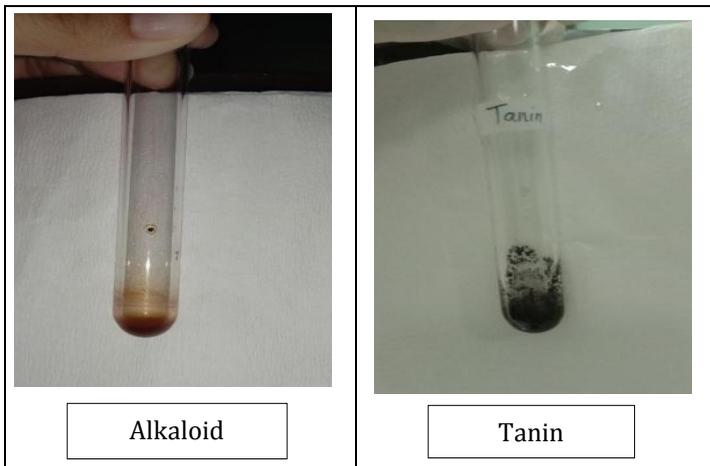
$Rendemen = \frac{\text{berat ekstrak yang didapat}}{\text{berat awal sampel}} \times 100\%$

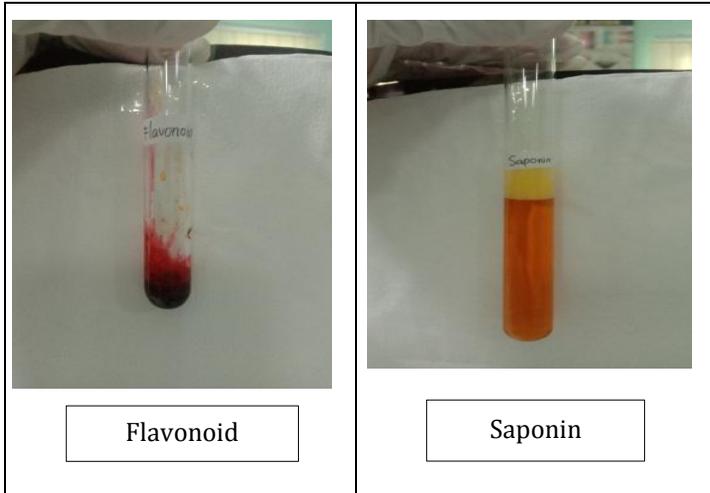
$Rendemen = \frac{10,47 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\%$

$Rendemen = 10,47\%$

Lampiran 2 Skrining Fitokimia Ekstrak Kayu Secang

a. Foto Dokumentasi Hasil Skrining Fitokimia

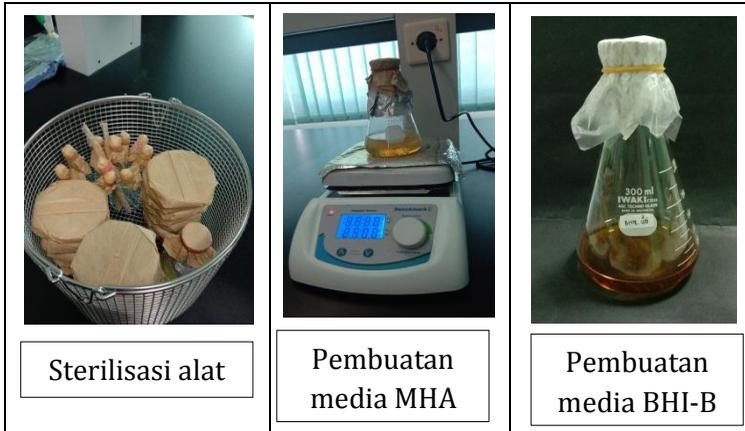




b. Tabel Hasil Uji Skrining Fitokimia

Kandungan Senyawa Kimia	Hasil Uji	Warna Yang Terbentuk
Alkaloid	+	Endapan coklat
Flavonoid	+	Merah-unggu
Tanin	+	Hijau kehitaman
Saponin	+	Terdapat busa tetap

Lampiran 3 Sterilisasi Alat Dan Pembuatan Media



Lampiran 4 Stok Kultur Dan Suspensi Bakteri *Streptococcus mutans*



Lampiran 5 Uji Zona Bening Menggunakan Kertas Cakram

a. Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji

Larutan induk 100%

$$\begin{aligned}\% &= \frac{\text{berat}}{\text{volume}} \times 100\% \\ &= \frac{10 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} \times 100\% \\ &= 100\%\end{aligned}$$

a) 80 %

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 100 \times V_1 &= 80 \times 10 \\ V_1 &= 8 \text{ mL}\end{aligned}$$

b) 60 %

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 100 \times V_1 &= 60 \times 10 \\ V_1 &= 7,5 \text{ mL}\end{aligned}$$

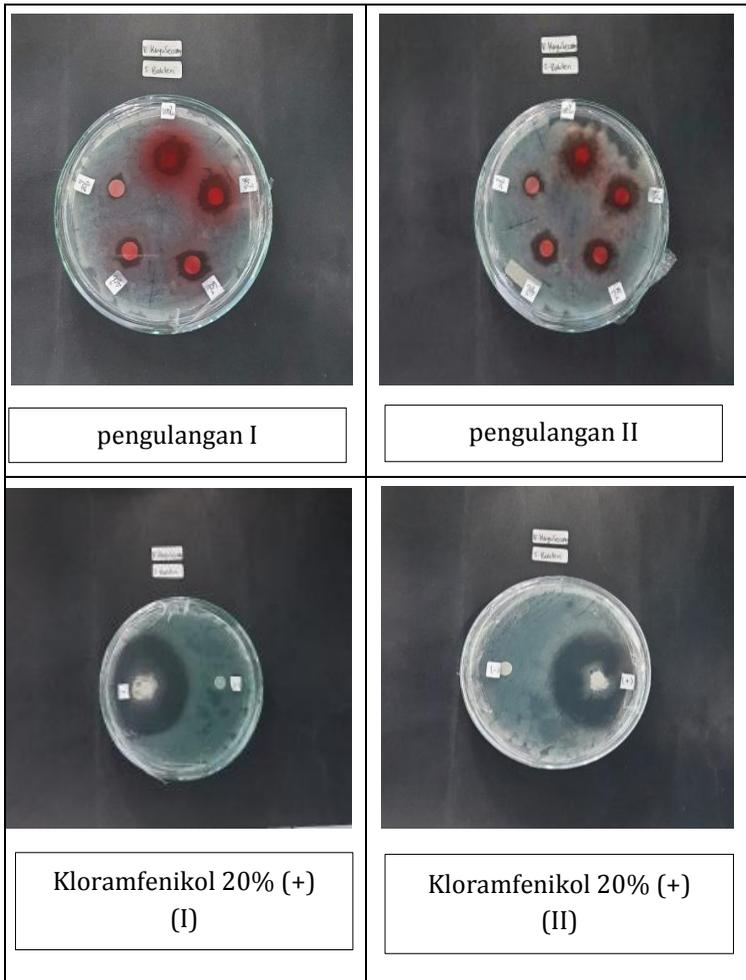
c) 40 %

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 100 \times V_1 &= 40 \times 10 \\ V_1 &= 6,6 \text{ mL}\end{aligned}$$

d) 20 %

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 100 \times V_1 &= 20 \times 10 \\ V_1 &= 5 \text{ mL}\end{aligned}$$

b. Hasil Zona Bening Ekstrak Kayu Secang Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutans* Pada Konsentrasi 20%; 40%; 60%; 80%; 100%.



c. Tabel Hasil Uji Zona Bening

Konsentrasi (%)	Diameter zona hambat (mm)			
	P1	P2	Rata-Rata	std. Deviasi
20	9	8.5	8.75	0.354
40	12	10	11	1.414
60	13	12.5	12.75	0.354
80	16	16.5	16.25	0.354
100	17.5	17.5	17.5	0.000
Kontrol negatif	0	0.0	0	0.000
Kontrol positif	48.5	52	50.25	2.475

Lampiran 6 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

a. Pembuatan Larutan Konsentrasi

Konsentrasi (% v/v)	Ekstrak Kayu Secang (mL)	BHIB (mL)
100	4 mL	
50	2 mL dari 100%	2 mL
25	2 mL dari 50%	2 mL
12,5	2 mL dari 25%	2 mL
6,25	2 mL dari 12,5%	2 mL
3,12	2 mL dari 6,25%	2 mL
1,56	2 mL dari 3,12%	2 mL
0,78	2 mL dari 1,56%	2 mL
0,39	2 mL dari 0,78%	2 mL
0,19	2 mL dari 0.39%	2 mL

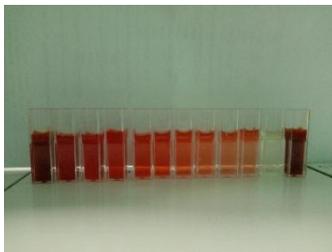
b. Larutan Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Kayu Secang terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*



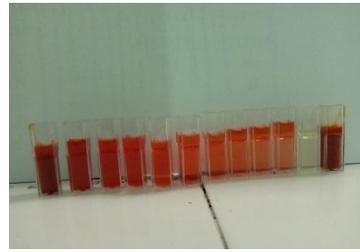
Setelah inkubasi (I)



Setelah inkubasi (II)



Uji KHM pengulangan I



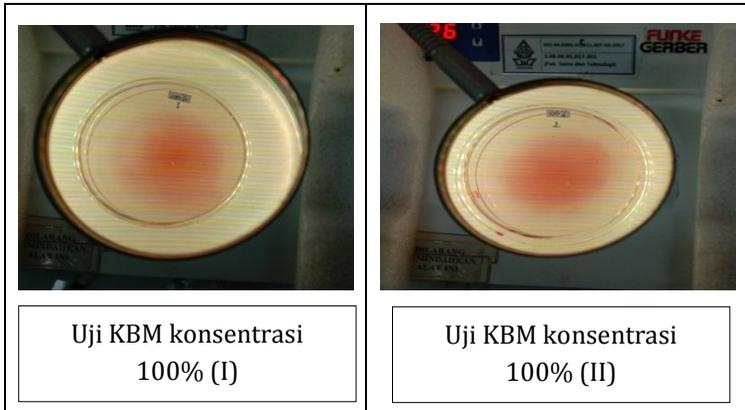
Uji KHM pengulangan II

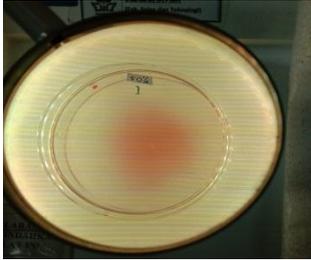
c. Tabel Hasil Uji KHM

Konsentrasi (%)	Perlakuan I				Perlakuan II			
	Sebelum Inkubasi	Sebelum Inkubasi	Rata-Rata	Std. Deviasi	Sesudah Inkubasi	Sesudah Inkubasi	Rata-Rata	Std. Deviasi
100	3.819	3.881	3.850	0.044	2.191	2.219	2.205	0.020
50	2.633	2.945	2.789	0.221	1.701	1.308	1.505	0.278
25	2.477	2.558	2.518	0.057	2.046	2.350	2.198	0.215
12.5	1.474	1.803	1.639	0.233	1.213	1.085	1.149	0.091
6.25	0.733	0.842	0.788	0.077	0.760	0.941	0.851	0.128
3.12	0.379	0.374	0.377	0.004	0.410	0.409	0.410	0.001
1.56	0.344	0.360	0.352	0.011	0.635	0.837	0.736	0.143
0.78	0.232	0.346	0.289	0.081	0.760	0.890	0.825	0.092
0.36	0.214	0.334	0.274	0.085	0.808	0.826	0.817	0.013
0.19	0.208	0.217	0.213	0.006	0.638	0.658	0.648	0.014
Kontrol (-)	4.048	3.942	3.995	0.075	2.760	2.818	2.789	0.041
Kontrol (+)	0.149	0.139	0.144	0.007	0.519	0.608	0.564	0.063

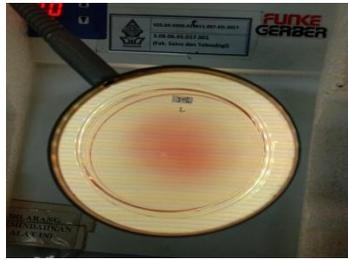
Lampiran 7. Uji konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

a. Foto Dokumentasi Uji KBM





Uji KBM konsentrasi 50%
(I)



Uji KBM konsentrasi 50%
(II)



Uji KBM konsentrasi 25%
(I)



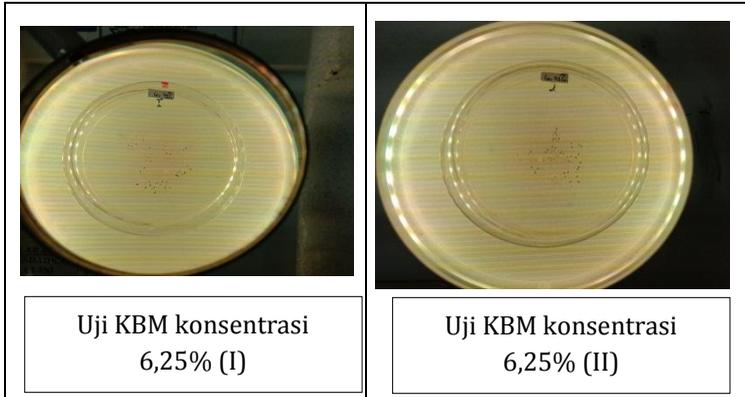
Uji KBM konsentrasi 25%
(II)



Uji KBM konsentrasi
12,5% (I)



Uji KBM konsentrasi
12,5% (II)



b. Tabel Hasil Uji KBM

Konsentrasi (%)	Keterangan pertumbuhan koloni	
	Perlakuan I	Perlakuan II
100	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh
50	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh
25	Tidak Tumbuh	Tidak Tumbuh
12,5	Tumbuh	Tumbuh
6,25	Tumbuh	Tumbuh

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

1. Nama : Febri Intan Listiana
2. TTL : Tegal, 10 Februari 2000
3. Alamat : Kalisalak RT 01/ RW 01, Kec. Margasari, Kab. Tegal
4. No. Telpon : 083842902456
5. E-mail : febryintan.listiana10@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. SDN Negeri kalisalak 02 (2006 -2012)
2. SMP Negeri 1 Margasari (2012 – 2015)
3. SMA Negeri 1 Balapulang (2015 – 2018)