

Bioaktivitas Ekstrak Etanol Daun Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels.) Sebagai Antioksidan dan Antibakteri *Streptococcus sanguinis*

SKRIPSI



**Cindy Oktavi Cicilia
31190336**

**Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2023**

Bioaktivitas Ekstrak Etanol Daun Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels.) Sebagai Antioksidan dan Antibakteri *Streptococcus sanguinis*

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Pada Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana



**Cindy Oktavi Cicilia
31190336**

**Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2023**

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
SKRIPSI/TESIS/DISERTASI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Kristen Duta Wacana, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Cindy Oktavi Cicilia
NIM : 31190336
Program studi : Biologi
Fakultas : Bioteknologi
Jenis Karya : Skripsi

demikian pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Kristen Duta Wacana **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*None-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

**“Bioaktivitas Ekstrak Etanol Daun Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels.)
Sebagai Antioksidan dan Antibakteri *Streptococcus sanguinis*”**

berserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Universitas Kristen Duta Wacana berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama kami sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Yogyakarta
Pada Tanggal : 26 Juni 2023

Yang menyatakan



(Cindy Oktavi Cicilia)
NIM.31190336

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi dengan judul :

BIOAKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SENGKUBAK (*PYCNARRHENA CAULIFLORA* DIELS.) SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI *STREPTOCOCCUS SANGUINIS*

telah diajukan dan dipertahankan oleh:

**CINDY OKTAVI CICILIA
31190336**

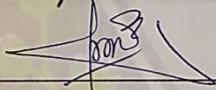
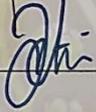
Dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi

Universitas Kristen Duta Wacana

dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Sarjana Sains pada tanggal 19 Juni 2023

Nama Dosen

Tanda Tangan

- | | | |
|------------------------------------------------------------------------------------------|---|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Dr. drg. MM Suryani Hutomo, M.D.Sc.
(Dosen Penguji / Ketua Tim) | : |  |
| 2. Dra. Aniek Prasetyaningsih M.Si.
(Dosen Pembimbing Utama / Penguji) | : |  |
| 3. Catarina Aprilia Ariestanti, S.T.P., M.Sc.
(Dosen Pembimbing Pendamping / Penguji) | : |  |

Yogyakarta, 19 Juni 2023

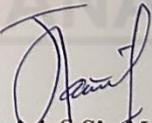
Disahkan Oleh :

Dekan,

Ketua Program Studi,



(Dr. Dhira Satwika, M.Sc.)



(Dwi Adityarmi, S.Si., M.Biotech, M.Sc.)

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : Bioaktivitas Ekstrak Etanol Daun Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels.) Sebagai Antioksidan dan Antibakteri *Streptococcus sanguinis*

Nama Mahasiswa : Cindy Oktavi Cicilia

Nomor Induk Mahasiswa : 31190336

Hari/Tanggal Ujian : Senin, 19 Juni 2023

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



(Dra. Aniek Prasetyaningsih M.Si.)

NIK : 884 E 075

Pembimbing Pendamping,



(Catarina Aprilia Aniestanti, S.T.P., M.Sc.)

NIK : 224 E 590

Ketua Program Studi,



(Dwi Adityarini, S.Si., M.Biotech, M.Sc.)

NIK : 214 E 556

DUTA WACANA

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Cindy Oktavi Cicilia

NIM : 31190336

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

“Bioaktivitas Ekstrak Etanol Daun Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels.) Sebagai Antioksidan dan Antibakteri *Streptococcus sanguinis*”

adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 27 Juni 2023



(Cindy Oktavi Cicilia)

NIM.31190336

DUTA WACANA

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas berkah dan rahmat-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Bioaktivitas Ekstrak Etanol Daun Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels.) Sebagai Antioksidan dan Antibakteri *Streptococcus sanguinis*”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Sains (S.Si.) di Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta.

Selama proses pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini, penulis menyadari telah memperoleh banyak bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Dhira Satwika, M.Sc. selaku Dekan Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana.
2. Ibu Dwi Adityarini, S.Si., M.Biotech, M.Sc. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana.
3. Ibu Dra. Aniek Prasetyaningsih M.Si. selaku dosen pembimbing utama dan penguji yang telah meluangkan waktu dan pikirannya dalam memberikan arahan, bimbingan, saran kepada penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
4. Ibu Catarina Aprilia Ariestanti, S.T.P., M.Sc. selaku dosen pembimbing pendamping dan penguji yang telah meluangkan waktu dan pikirannya dalam memberikan arahan, bimbingan, saran kepada penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
5. Ibu Dr. drg. MM Suryani Hutomo, M.D.Sc. selaku dosen penguji dan pembimbing di laboratorium kedokteran yang telah meluangkan waktu dan pikirannya dalam memberikan arahan, saran dan bimbingan dalam penyelesaian skripsi penulis.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak luput dari berbagai kekurangan. Penulis mengharapkan saran dan kritik demi perbaikan sehingga akhirnya skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi bidang pendidikan dan penerapan penelitian selanjutnya.

Yogyakarta, 7 Juni 2023



(Cindy Oktavi Cicilia)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL SKRIPSI	ii
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH	iii
LEMBAR PERSETUJUAN	iv
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN.....	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
ABSTRAK	xi
ABSTRACT	xii
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	2
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Keragaman dan Potensi Pemanfaatan Tanaman Sengkubak	4
2.2. Bioaktivitas dan Kandungan Metabolit Daun Sengkubak	5
2.3. Mekanisme Metabolit Sekunder Sebagai Antioksidan dan Antibakteri	7
2.4. Gambaran Umum Bakteri <i>Streptococcus sanguinis</i>	9
2.5. Metode Ekstraksi Daun Sengkubak	10
BAB 3. METODOLOGI	
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	11
3.2. Bahan dan Alat Penelitian	11
3.3. Desain Penelitian	11
3.4. Pelaksanaan Tahapan Penelitian	12
BAB 4. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
4.1. Hasil Identifikasi Tanaman	17
4.2. Hasil Ekstraksi	18
4.3. Identifikasi Kandungan Fitokimia	19
4.4. Aktivitas Antioksidan	22
4.5. <i>Minimum Inhibitory Concentration Streptococcus sanguinis</i>	24
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan	27
5.2. Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	32

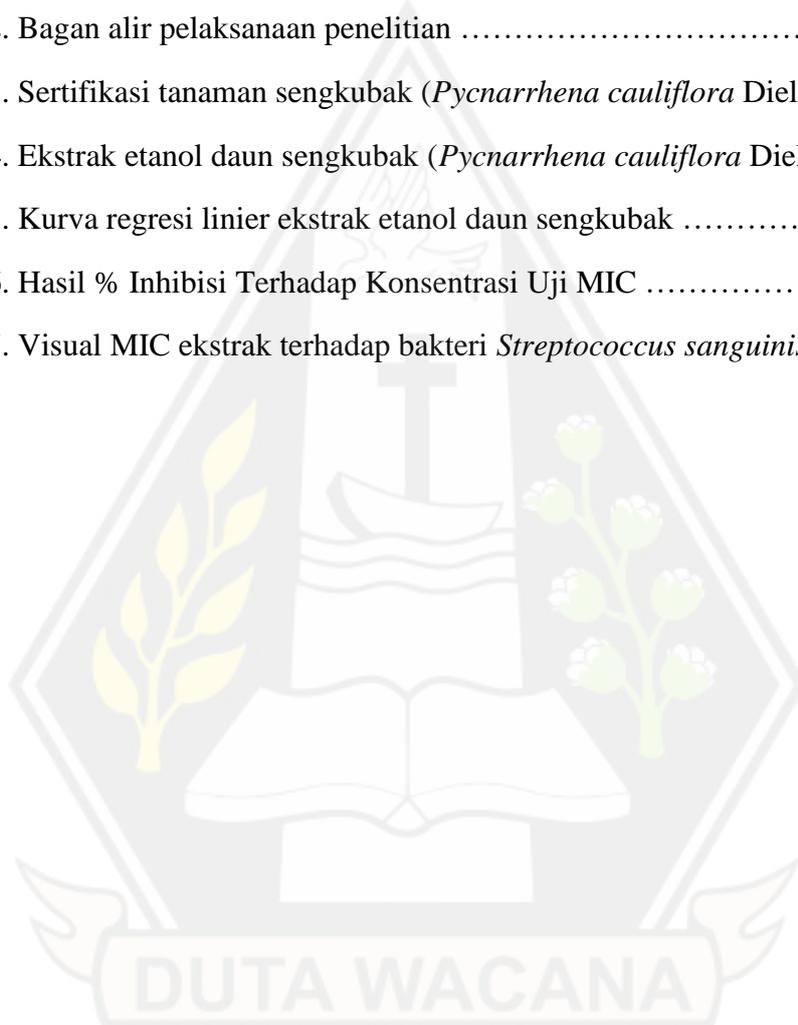
DAFTAR TABEL

Judul Tabel	Halaman Nomor Tabel
2.1 Tabel 1. Pemanfaatan tanaman sengkubak	5
2.2 Tabel 2. Jenis senyawa yang terkandung dalam tanaman sengkubak	6
4.3 Tabel 3. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun sengkubak	20
4.3 Tabel 4. Hasil Uji Kandungan Total Flavonoid	21
4.3 Tabel 5. Hasil Uji Kandungan Total Fenolik	22



DAFTAR GAMBAR

Judul Gambar	Halaman Nomor Gambar
2.3 Gambar 1. Fitur struktural aktivitas antibakteri flavonoid	8
3.3 Gambar 2. Bagan alir pelaksanaan penelitian	12
4.1 Gambar 3. Sertifikasi tanaman sengkubak (<i>Pycnarrhena cauliflora</i> Diels.)	17
4.2 Gambar 4. Ekstrak etanol daun sengkubak (<i>Pycnarrhena cauliflora</i> Diels.)	18
4.4 Gambar 5. Kurva regresi linier ekstrak etanol daun sengkubak	23
4.5 Gambar 6. Hasil % Inhibisi Terhadap Konsentrasi Uji MIC	24
4.5 Gambar 7. Visual MIC ekstrak terhadap bakteri <i>Streptococcus sanguinis</i>	25



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor Judul Lampiran

Lampiran 1. Hasil Identifikasi Tanaman Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels.)

Lampiran 2. Persiapan Ekstrak Etanol Daun Sengkubak

Lampiran 3. Uji Kandungan Total dan Antioksidan Ekstrak

Lampiran 4. Uji MIC Bakteri *Streptococcus sanguinis*

Lampiran 5. Hasil Analisis Data



ABSTRAK

Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels.) termasuk dalam famili Menispermaceae yang memiliki potensi sebagai antioksidan dan antibakteri berbasis bahan alam. *Streptococcus sanguinis* merupakan salah satu bakteri kolonisasi primer yang menginisiasi pembentukan biofilm atau plak, yang sering terlibat dalam masalah kesehatan gigi dan mulut. Potensi daun sengkubak diharapkan dapat menjadi alternatif pengembangan obat berbasis alam yang dimanfaatkan sebagai agen antioksidan dan antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk melihat bioaktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak daun sengkubak terhadap penghambatan *S. sanguinis*. Daun sengkubak dikeringkan melalui oven pada suhu 40°C. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% (1:10) (b/v) selama 3x24 jam. Kandungan fitokimia ekstrak diidentifikasi secara kualitatif dan kuantitatif melalui analisis kandungan total quersetin dan fenolik. Bioaktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH. Kerentanan *S. sanguinis* terhadap ekstrak diuji menggunakan parameter konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan metode mikrodilusi cair dan dianalisis secara deskriptif dan kuantitatif menggunakan *microplate reader*. Ekstrak etanol daun sengkubak menghasilkan rendemen sebesar 16,3% (b/b). Skrining fitokimia ekstrak daun sengkubak menunjukkan reaksi positif dari senyawa uji alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, steroid, terpenoid, dan tannin. Diketahui kandungan total quersetin 5,22 QE/g sampel dan total fenolik 4,08 mg GAE/g sampel. Bioaktivitas antioksidan dari ekstrak sengkubak memiliki nilai IC₅₀ sebesar 40,136 µg/mL termasuk dalam kategori kuat. Uji antibakteri *S. sanguinis* menunjukkan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) ekstrak etanol daun sengkubak pada konsentrasi 50.000 µg/ml dengan kategori lemah. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun sengkubak memiliki kandungan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan kuat, namun memiliki daya hambat lemah terhadap bakteri *S. sanguinis*.

Kata Kunci : Sengkubak, *Streptococcus sanguinis*, *Minimum Inhibitory Concentration*, Antioksidan, Antibakteri

DUTA WACANA

ABSTRACT

Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels.) belongs to the Menispermaceae family which has potential as an antioxidant and antibacterial based on natural ingredients. *Streptococcus sanguinis* is a primary colonizer bacteria that initiates the formation of biofilm or plaque, often implicated in dental and oral health problems. The potential of sengkubak leaves is expected to be an alternative for natural-based drugs development that used as antioxidant and antibacterial agents. This study attempted to observe antioxidant and antibacterial sengkubak leaves extract against *S. sanguinis* inhibition. Sengkubak leaves are dried in an oven at 40°C. Extraction was carried out using the maceration method with 70% ethanol (1:10) (w/v) for 3x24 hours. The phytochemical content of the extract was identified qualitatively and quantitatively through analysis of the total quercetin and phenolic content. Antioxidant bioactivity was tested using the DPPH method. The susceptibility of *S. sanguinis* to the extract was tested through the minimum inhibitory concentration (MIC) parameter with the liquid microdilution method and analyzed descriptively and quantitatively using a microplate reader. The ethanol extract of sengkubak leaves yielded a yield of 16.3% (w/w). Phytochemical screening of sengkubak extract showed positive results from the tested compounds of alkaloids, flavonoids, phenols, saponins, steroids, terpenoids, and tannins. It is known that the total quercetin content is 5.22 QE/g sample and the total phenolic content is 4.08 mg GAE/g sample. Antioxidant bioactivity of sengkubak extract has IC₅₀ value of 40.136 µg/mL which is included in the strong category. The antibacterial of *S. sanguinis* showed that the *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) value of the ethanol extract of sengkubak leaves was at a concentration of 50.000 µg/ml in the weak category. This present study suggests that 70% ethanol extract of sengkubak leaves contains secondary metabolites which have the potential to be strong antioxidants, but have weak inhibition against *S. sanguinis* bacteria.

Keywords: Sengkubak, *Streptococcus sanguinis*, *Minimum Inhibitory Concentration*, Antioxidant, Antibacterial

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keragaman biodiversitas tumbuhan yang dimiliki Indonesia mencapai jumlah 20.000 spesies dengan keberadaan tanaman endemik sebesar 40%. Terdapat salah satu varietas sumber daya hutan lokal di Kalimantan yakni tanaman *Pycnarrhena cauliflora* Diels. yang memiliki nama lokal sengkubak. Diketahui bahwa tanaman sengkubak dapat hidup di habitat hutan sekunder dan dataran rendah pada ketinggian 80-700 m dpl menurut data *Global Biodiversity Information Facility Secretariat* (2022). Dikarenakan sifat adaptasinya yang cukup bervariasi, jumlah distribusi persebaran dan keragaman spesies *Pycnarrhena* hingga saat ini masih belum diketahui secara signifikan. Pernyataan ini didukung dengan pola persebaran tanaman yang terdapat di wilayah Jawa (*P. macrocarpa*), Papua Nugini (*P. ozantha*), Borneo (*P. borneensis*), Sulawesi (*P. calocarpa*), Timor-Leste (*P. longifolia*), Filipina (*P. manillensis*), dan Himalaya (*P. longiflora*) dari sumber penelitian yang dilakukan oleh Iriani (2021).

Pemanfaatan daun tanaman sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels.) oleh masyarakat lokal di bidang pangan seringkali dijadikan sebagai alternatif bahan penyedap alami masakan. Menurut Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, meskipun masih minim dibudidayakan oleh khalayak luas bagian daun sengkubak masih digunakan sebagai tanaman obat tradisional yang dapat meredakan gejala mual, sakit kepala bahkan demam berkepanjangan. Hal ini dipertegas dalam penelitian Iriani (2021) yang menyatakan bahwa daun sengkubak seringkali dimanfaatkan di bidang kesehatan sebagai obat tradisional yang dapat mengatasi penyakit seperti demam atau sakit kepala dan sebagai pengganti bumbu masak di bidang pangan. Menurut Purba *et al.* (2014) yang mengidentifikasi fitokimia dalam ekstrak metanol daun sengkubak ditemukan keberadaan senyawa alkaloid, tannin, dan polifenol dengan bioaktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 608,81 $\mu\text{g/ml}$ serta berpotensi sebagai antikanker yang dapat dimanfaatkan di bidang kesehatan. Dalam penelitian sebelumnya juga ditemukan bioaktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun

sengkubak dengan penghambatan yang lebih rendah dibandingkan kontrol antibiotik (Sarifati *et al.*, 2020).

Biofilm merupakan lapisan pertumbuhan koloni mikroorganisme seperti bakteri yang dapat melekat pada epitel permukaan gigi dan rongga mulut. Pembentukan biofilm atau plak hingga saat ini telah ditangani melalui kegiatan menyikat gigi, *flossing* atau menggunakan produk komersial seperti obat kumur. Meskipun demikian, metode ini tidak selalu efektif dalam menghambat pembentukan biofilm, sehingga dirasa perlu untuk mulai mengeksplorasi penggunaan bahan alam yang berisiko rendah sebagai agen antibakteri dan antioksidan khususnya terhadap kesehatan gigi dan mulut. Berdasarkan data riset dan berbagai prevalensi kesehatan gigi dan rongga mulut di Indonesia yang masih cukup tinggi, diperlukan perhatian utama pada kandungan makanan yang dikonsumsi dan terhadap orang yang memiliki imunodefisiensi. Hal ini dikarenakan kebiasaan dan pola makan yang tidak terjaga saat kondisi tubuh rentan terhadap serangan infeksi seringkali menjadi penyebab masalah kesehatan mulut dan gigi yang umum disebabkan oleh berbagai mikroorganisme bakteri seperti salah satunya *Streptococcus sanguinis*. Bakteri *S. sanguinis* dikenal sebagai bakteri kolonisasi primer yang menginisiasi pembentukan biofilm oral pada permukaan gigi melalui perlekatan terhadap komponen protein dinding selnya, sehingga akan terjadi replikasi bakteri kolonisasi sekunder lainnya membentuk mikrokoloni yang menyebabkan masalah kesehatan di rongga mulut (Septiani *et al.*, 2022).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka perlu dilakukan upaya dan telaah lebih spesifik terhadap pemanfaatan daun sengkubak yang potensial dijadikan sebagai bahan antibakteri dan antioksidan sekaligus kandidat obat alami yang dapat dimanfaatkan untuk produk obat kumur atau pasta gigi yang sifatnya berkelanjutan di bidang kesehatan rongga mulut.

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Apa saja kandungan fitokimia ekstrak etanol daun sengkubak ?

1.2.2 Apakah ekstrak etanol daun tanaman sengkubak memiliki kemampuan sebagai antioksidan ?

1.2.3 Apakah ekstrak etanol daun sengkubak memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus sanguinis* dari parameter *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Mengetahui kandungan fitokimia ekstrak etanol daun sengkubak.

1.3.2 Mengetahui kemampuan ekstrak etanol daun tanaman sengkubak sebagai antioksidan.

1.3.3 Mengetahui kemampuan ekstrak etanol daun sengkubak dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. sanguinis* dari parameter *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

- Memberikan ilmu pengetahuan secara teoritis maupun praktis melalui penelitian yang dilakukan.
- Mengimplementasikan teori yang telah dipelajari selama perkuliahan melalui pemanfaatan tanaman sebagai bahan antibakteri dan/atau antioksidan di bidang kesehatan.

1.4.2 Bagi Masyarakat

- Memberikan informasi tambahan mengenai pemanfaatan ekstrak tanaman sengkubak sebagai bahan obat yang potensial khususnya di bidang kesehatan.
- Menjadi evaluasi pengembangan obat berbasis alam yang dapat menjadi alternatif gabungan bahan antibakteri dan/atau antioksidan yang minim resiko.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Keragaman dan Potensi Pemanfaatan Tanaman Sengkubak

Indonesia termasuk negara *megabiodiversity* yang meliputi banyak spesies tanaman endemik, tidak terkecuali *Pycnarrhena cauliflora* Diels yang dikenal dengan nama lokal sengkubak. Sengkubak termasuk dalam famili Menispermaceae yang secara taksonomi menurut GBIF Backbone Taxonomy (2022) memiliki klasifikasi sebagai berikut.

Kingdom : Plantae
Division : Tracheophyta
Class : Magnoliopsida
Ordo : Ranunculales
Family : Menispermaceae
Genus : *Pycnarrhena*
Species : *Pycnarrhena cauliflora* Diels.

Karakteristik tanaman sengkubak memiliki daun berbentuk oval runcing, dengan tinggi pohon rata-rata satu meter atau lebih dan hidup pada ketinggian 80-700 m dpl, yang ditemukan pada habitat perbukitan, hutan dan dataran rendah (Kopernik, 2019). Pola atau distribusi persebaran *Pycnarrhena* lainnya dapat ditemukan pada wilayah Jawa (*P. macrocarpa*), Papua Nugini (*P. ozantha*), Borneo (*P. borneensis*), Sulawesi (*P. calocarpa*), Timor-Leste (*P. longifolia*), Filipina (*P. manillensis* Vidal), dan Himalaya (*P. longiflora*). Berdasarkan kategori daftar merah global IUCN terhadap *Pycnarrhena cauliflora* Diels dalam data *Global Biodiversity Information Facility Secretariat* (2022) status keragaman tanaman ini secara spesifik masih belum dievaluasi.

Bagian daun tanaman sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels.) telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat lokal sebagai bahan penyedap masakan. Selain sebagai alternatif bumbu masakan di bidang pangan, daun sengkubak juga dimanfaatkan sebagai obat tradisional yang dapat mengatasi penyakit seperti demam atau sakit kepala (Iriani, 2021). Penelitian yang dilakukan oleh

Masriani *et al.* (2014) terhadap sengkubak menemukan bahwa sengkubak mengandung berbagai zat aktif seperti fenol dan flavonoid yang berperan sebagai antioksidan, antifungi, antikanker, dan antibakteri. Senyawa alkaloid dari golongan *bisbenzylisoquinoline* yang berperan sebagai anti-tumor diketahui terkandung pula dalam tanaman ini. Pemanfaatan tanaman sengkubak dapat dijabarkan dalam studi literatur penelitian pada Tabel 1.

Tabel 1. Pemanfaatan tanaman sengkubak

No.	Bagian tanaman	Pemanfaatan	Lokasi sampling	Referensi
1.	Daun	Penyedap alami (Pangan)	Pontianak, Kalimantan barat	(Sholikhah et al., 2021)
2.	Akar	Obat kolera (Kesehatan)	Putussibau, Kalimantan barat	(Iriani E. S. et al., 2021)
3.	Daun	Obat sakit kepala (Kesehatan)	Putussibau, Kalimantan barat	(Iriani E. S. et al., 2021)
4.	Daun	Anti kanker, antioksidan, antimikroba (Kesehatan)	Kawasan hutan Kalimantan barat	(Masriani et al., 2014)
5.	Buah	Fungisida (Industri)	Kawasan Kars Bukit Bulan, Jambi	(Puspita & Wulandari, 2020)
6.	Akar	Obat antioksidan & anti kanker, antibakteri (Kesehatan)	Kawasan hutan Kalimantan barat	(Masriani et al., 2014)

2.2 Bioaktivitas dan Kandungan Metabolit Daun Sengkubak

Semua makhluk hidup termasuk tanaman sengkubak tidak terlepas dari aktivitas metabolisme, baik primer maupun sekunder. Metabolit sekunder dapat didefinisikan sebagai senyawa produk metabolisme yang berperan penting bagi kelangsungan hidup tanaman di lingkungan luar yang meliputi tiga kelompok utama yaitu fenol, alkaloid, dan terpen. Senyawa alkaloid salah satunya memiliki mekanisme kerja yang cukup kompleks dalam hal biosintesis karena keberadaan senyawa ini melibatkan lebih dari 20.000 molekul yang berbeda (Shoker, 2020). Masriani *et al.* (2019) juga menyebutkan bahwa sengkubak

mengandung beberapa senyawa seperti alkaloid, steroid, flavonoid, saponin, dan terpenoid yang potensial dalam bidang kesehatan. Hal ini dipertegas oleh Purba *et al.* (2014) yang menemukan kandungan alkaloid dan tannin dalam kategori kuat pada sengkubak dengan pelarut metanol. Berdasarkan penelitian Pamuji (2015) ekstrak etanol daun sengkubak mengandung senyawa alkaloid, fenol, flavonoid, saponin, steroid, terpenoid, dan tannin dengan konsentrasi yang bervariasi. Secara keseluruhan dari penelitian yang telah menguji kandungan fitokimia daun sengkubak secara kualitatif, ditemukan bahwa kandungan fenol lebih mendominasi dibandingkan dengan kelompok senyawa lain yang ada.

Penelitian yang dilakukan oleh Puspita & Wulandari (2020) menguji kandungan bioaktif daun sengkubak melalui teknik maserasi dalam pelarut etanol 96% untuk kemudian dimurnikan dengan *rotary vacuum evaporator*. Diketahui bahwa ekstrak tersebut mengandung 15 jenis bioaktif yang bertindak sebagai antioksidan, antibakteri, sitotoksik, antikanker, bahkan insektisida alami. Beberapa studi komparasi terhadap senyawa metabolit yang terkandung dalam sengkubak beserta metode ekstraksinya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Jenis senyawa yang terkandung dalam tanaman sengkubak

No.	Bagian tanaman	Metode ekstraksi dan Pelarut	Kandungan Metabolit	Referensi
1.	Daun, Batang, Akar	Maserasi (Metanol 80%)	Alkaloid	(Sholikhah et al., 2021)
2.	Daun	Maserasi (Etanol 96%)	Flavonoid, alkaloid, fenol, steroid & tanin	(Pamuji et al., 2015)
3.	Daun	Maserasi (Metanol 80%)	Fenol & flavonoid	(Mohammed et al., 2020)
4.	Daun	Maserasi (Metanol 50%)	Alkaloid, tanin flavonoid & fenol	(Purba et al., 2014)
5.	Daun	Maserasi (Metanol 70%)	Alkaloid	(Kopernik, 2019)

Dari perbandingan konsentrasi dan jenis pelarut yang digunakan yakni etanol dan metanol, ditemukan kandungan metabolit yang bervariasi pada setiap bagian tanaman sengkubak. Menurut Suhendra *et al.* (2019) kedua jenis pelarut

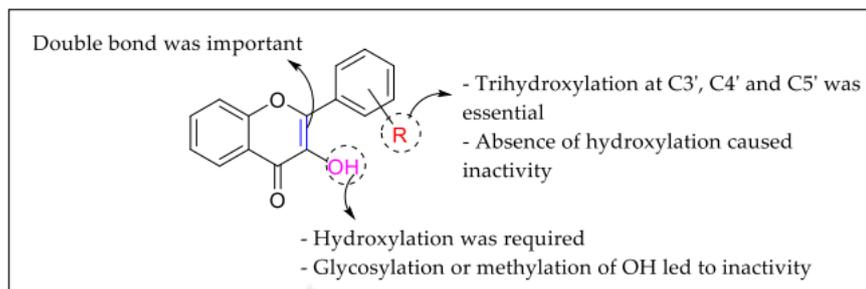
tersebut bersifat semi-polar juga polar sehingga seringkali digunakan dalam mengidentifikasi kandungan metabolit seperti alkaloid, fenol, flavonoid, tannin dan lainnya. Metabolit yang diperoleh dari tahap ekstraksi tersebut dipengaruhi oleh faktor polaritas senyawa dalam ekstrak serta konsentrasi pelarut yang digunakan. Dalam penelitian ini digunakan etanol 70% yang cenderung bersifat polar karena sebagian besar senyawa target berupa fenol memiliki tingkat kepolaran sama sesuai dengan prinsip *like dissolves like*. Studi oleh Mohammed *et al.* (2020) menunjukkan bahwa kandungan fenol memiliki banyak aktivitas biologis termasuk antikanker, antihipertensi, antidiabetes, anti inflamasi dan antimikroba. Senyawa alkaloid yang memiliki berbagai aktivitas biologis seperti antijamur, antiplasmodial bahkan antibakteri bekerja dengan cara merusak peptidoglikan yang mengakibatkan proses pembentukan lapisan dinding sel tidak maksimal, serta mampu menghambat respirasi sel dalam mikroorganisme.

2.3 Mekanisme Metabolit Sekunder Sebagai Antioksidan dan Antibakteri

Peningkatan kasus resistensi obat dalam skala universal menjadi standar pengembangan obat dalam aspek modifikasi struktur ataupun melalui penemuan kandidat bahan obat alami. Beberapa kajian literatur menyebutkan bahwa senyawa bioaktif tannin, flavonoid, fenol, dan alkaloid yang ditemukan pada tanaman obat dapat bekerja dalam penghambatan bakteri melalui mekanisme lisis peptidoglikan pada membran sel bakteri. Pernyataan tersebut didukung dalam penelitian Sarifati *et al.* (2020) yang menemukan kandungan bioaktif dari tanin, flavonoid, fenol, dan alkaloid dalam memberikan efek berlawanan atau antagonis terhadap sel bakteri.

Flavonoid yang merupakan golongan polifenol diketahui memiliki struktur dasar dua *phenyl* yang dihubungkan dengan cincin heterosiklik. Berdasarkan struktur kimianya, kuersetin termasuk dalam golongan flavonol yang telah ditemukan dapat mengurangi pembentukan biofilm dan permeabilitas membran, dimana sifatnya penting untuk mendukung pertumbuhan bakteri (Xie *et al.*, 2014). Dalam penelitian Shamsudin *et al.* (2022) disebutkan bahwa beberapa fitur struktural dari flavonoid berperan penting dalam memberikan efek penghambatan bakteri, termasuk hidroksilasi

C5, C7, C3', dan C4' serta geranilasi atau prenilasi C6 yang ditunjukkan dari fitur struktural flavonoid (Gambar 1).



Gambar 1. Fitur Struktural Aktivitas Antibakteri Flavonoid (Shamsudin *et al.*, 2022)

Penelitian terkait lainnya yang dilakukan oleh Wu *et al.* (2013) menunjukkan bahwa gugus hidroksil pada C3 memberikan aktivitas antibakteri dari struktur flavonoid yang krusial. Selain itu ditemukan bahwa jumlah dan posisi gugus hidroksil (-OH) dalam kandungan flavonoid ditemukan penting dalam mengerahkan efek antibakteri yang optimal, hal ini berlaku pada golongan senyawa *quercetin*. Mekanisme *quercetin* sebagai antibakteri bertindak melalui merusak membran sel, inaktivasi enzim dan denaturasi protein yang memicu turunnya permeabilitas membran sel bakteri. Senyawa fenol tannin sebagai antibakteri diketahui mampu mengganggu transpor protein bakteri sekaligus menginaktifkan enzim seperti adhesin. Alkaloid disebutkan dapat merusak lapisan peptidoglikan yang mengakibatkan pembentukan dinding sel bakteri tidak maksimal serta menghambat proses respirasi sel dari interaksinya dengan nukleat bakteri (Sarifati *et al.*, 2020). Menurut Kemala *et al.* (2018) mekanisme aksi kelompok senyawa fenol seperti flavonoid, tannin, dan terpenoid lebih cenderung merusak struktur membran atau protein sehingga terjadi lisis sel dan terganggunya aktivitas bakteri. Saponin memiliki sifat basa menyerupai sabun yang cenderung melekat pada permukaan dinding sel bakteri sehingga akan terjadi peningkatan tegangan membran yang berujung lisis sel, dimana setiap senyawa memiliki peran sebagai antibakteri dan antioksidan melalui mekanisme penetralan radikal.

Secara umum mekanisme kerja dari senyawa antioksidan dalam meredam radikal bebas ialah dengan menangkal dan menghilangkan stres oksidatif dari penurunan komponen enzim *reactive oxygen species* (ROS), dan melalui pengikatan logam. ROS merupakan enzim yang dihasilkan dari mekanisme

pertahanan sel (*defensive*) dari reduksi parsial oksigen meliputi anion superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan radikal hidroksil ($HO\bullet$) yang secara spontan diproduksi saat terjadi peningkatan stress lingkungan. Regulasi pembentukan ROS dapat terjadi melalui proses enzimatik dan non-enzimatik yang dimediasi oleh antioksidan dengan massa molekul rendah seperti flavonoid, asam askorbat dan lain sebagainya dengan cara menargetkan radikal hidroksil (Mansoor *et al.*, 2022). Hal ini ditegaskan dalam penelitian Qi *et al.* (2022) yang menunjukkan bahwa kandungan fenol seperti *quercetin* tidak hanya dapat menghambat peroksidasi lipid dan meningkatkan pertahanan antioksidan tetapi juga meredam ROS dan sitotoksitas. Dari beberapa mekanisme sebelumnya, dapat disimpulkan bahwa daun tanaman sengkubak yang memiliki kandungan bioaktif tersebut potensial dijadikan sebagai alternatif bahan antibakteri dan antioksidan (Arnanda & Nuwarda, 2019; Liu & Guo, 2015).

2.4 Gambaran Umum Bakteri *Streptococcus sanguinis*

Streptococcus sanguinis merupakan bakteri kolonisasi primer dalam pembentukan biofilm oral yang dikategorikan dalam golongan gram positif, hidup secara anaerob fakultatif dan bersifat non-motil. Hal ini ditunjukkan dalam beberapa penelitian sebelumnya yang menguji keberadaan bakteri di plak gigi manusia, dimana hasilnya memperlihatkan bahwa jenis *S. sanguinis* memiliki peranan yang kuat terhadap pembentukan plak dan perkembangan karies melalui lisis epitel permukaan gigi (Hutomo *et al.*, 2021; Putri *et al.*, 2016).

Bakteri *S. sanguinis* termasuk spesies awal yang ditemukan diantara koloni bakteri primer pada permukaan gigi. Jenis bakteri ini dapat menempel pada epitel rongga mulut dan permukaan gigi melalui komponen protein dinding selnya, adhesin yang kemudian mengawali pembentukan biofilm rongga mulut yang biasa disebut plak gigi. Bakteri *S. sanguinis* akan menempel pada permukaan hidroksiapatit yang merupakan komponen utama email gigi. Mekanisme perlekatan ini terjadi melalui interaksi dengan glikoprotein saliva dalam rongga mulut dan akan memfasilitasi berbagai bakteri gram positif lainnya ke bakteri gram negatif seperti *Fusobacterium nucleatum*, *Veillonella*, dan *Porphyromonas gingivalis*.

Prevalensi masalah gigi dan rongga mulut oleh infeksi bakteri seringkali disebabkan oleh faktor kebersihan mulut yang didukung oleh tingkat imunitas tubuh seseorang. Penurunan sistem imunitas mengakibatkan tubuh menjadi lebih rentan terhadap paparan asing yang dalam kasus ini akan memicu masalah kesehatan gigi dan rongga mulut dari invasi bakteri seperti *S. sanguinis*. Pada umumnya pembentukan biofilm di rongga mulut diatasi melalui upaya preventif seperti menyikat gigi, *flossing* atau menggunakan obat kumur. Meskipun demikian, metode ini tidak selalu efektif dalam menghambat pembentukan biofilm, sehingga diperlukan alternatif zat antibakteri atau anti-plak dan antioksidan yang dapat mengendalikan pertumbuhan bakteri khususnya terhadap koloni *S. sanguinis* di rongga mulut (Hutomo *et al.*, 2018).

2.5 Metode Ekstraksi Daun Sengkubak

Sampel daun sengkubak yang digunakan dalam uji aktivitas bakteri terlebih dahulu dibuat dalam bentuk ekstrak. Metode ekstraksi yang digunakan adalah teknik maserasi atau perendaman karena dinilai lebih efisien, sederhana dan tidak memerlukan energi panas yang sifatnya berpotensi merusak bahan alam. Penelitian Pamuji (2015) melakukan ekstraksi maserasi daun sengkubak menggunakan pelarut etanol dan menemukan kandungan senyawa alkaloid, fenol, flavonoid, tannin, dan steroid dalam konsentrasi yang bervariasi. Dalam aspek waktu pengerjaan, teknik ini cukup memakan waktu karena melalui proses perendaman di suhu ruang agar dihasilkan rendemen ekstrak yang lebih banyak (Susanty & Bachmid, 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Hutomo *et al.* (2018) juga menggunakan metode maserasi dari sampel daun kering sebagai larutan stok yang kemudian diencerkan dengan media kultur.

BAB III

METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

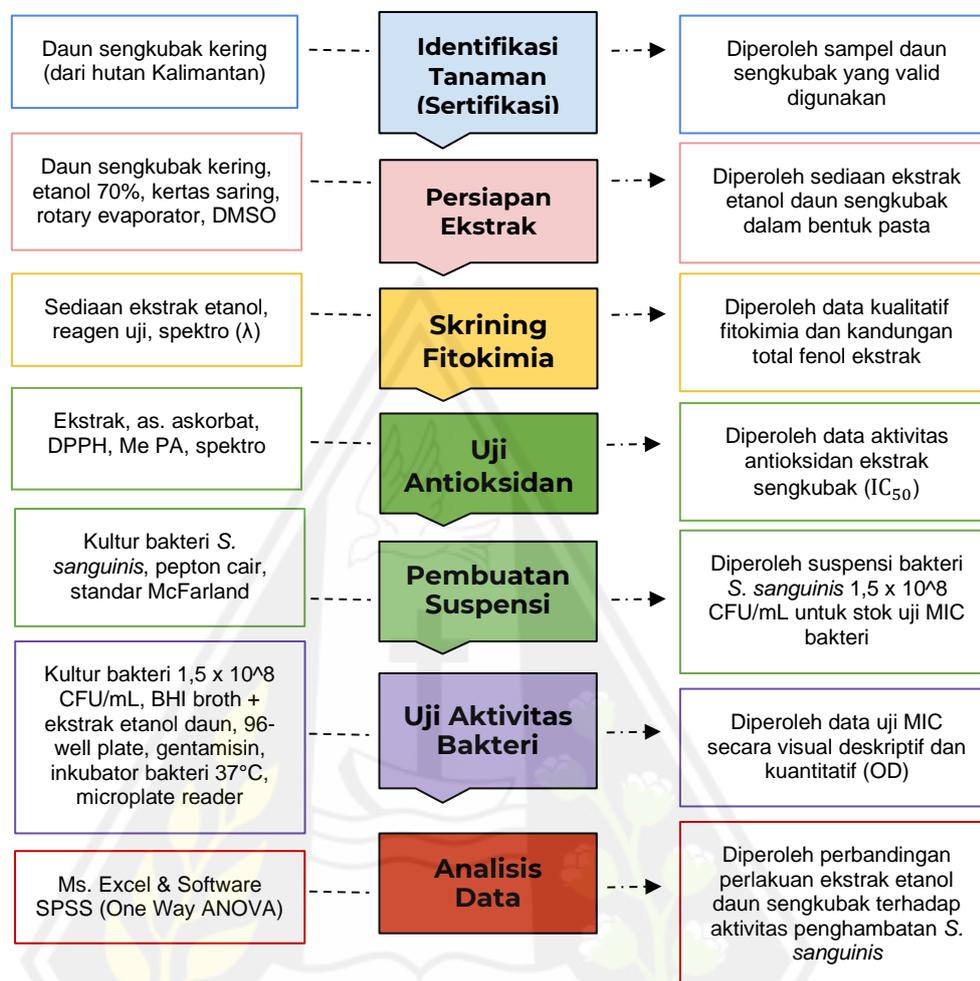
Waktu penelitian dilaksanakan pada Maret – Mei 2023 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Laboratorium Bioteknologi Dasar dan Industri Fakultas Bioteknologi UKDW dari tahap identifikasi sampel, uji fitokimia dan kandungan total fenol, aktivitas antioksidan, perlakuan antibakteri, hingga analisa data secara statistik yang diperoleh dari pelaksanaan penelitian.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels.) kering yang diambil dari wilayah pedalaman hutan Kalimantan, pelarut etanol 70%, suspensi kultur bakteri *Streptococcus sanguinis* $1,5 \times 10^8$ CFU/mL, antibiotik (*gentamisin*), media BHI (*Brain-Heart Infusion*) broth, dan reagen uji kualitatif. Alat yang digunakan diantaranya kultur plate 96-well, kertas saring, inkubator bakteri, *rotary evaporator*, spektrofotometer, dan *microplate reader* dengan bantuan analisa *software SPSS*.

3.3 Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan pendekatan kuantitatif melalui metode eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap 3x ulangan. Identifikasi metabolit sekunder tanaman dilakukan secara kualitatif, sedangkan uji kandungan total flavonoid dan fenolik, aktivitas antioksidan serta antibakteri dari parameter *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dilakukan secara kuantitatif. Bioaktivitas antioksidan diamati melalui parameter IC_{50} dan persentase inhibisi, sedangkan kerentanan bakteri uji terhadap perlakuan variasi konsentrasi ekstrak etanol daun sengkubak (100.000 - 390,625 $\mu\text{g/ml}$) dengan kontrol positif (*gentamisin*) diamati dari nilai MIC. Metode pelaksanaan penelitian secara keseluruhan dapat diamati pada bagan alir berikut (Gambar 1).



Gambar 2. Bagan Alir Pelaksanaan Penelitian

3.4 Pelaksanaan Tahapan Penelitian

Adapun pelaksanaan penelitian yang dilakukan meliputi beberapa tahap utama diantaranya sebagai berikut.

1) Tahap Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman sengkubak yang diperoleh dari hutan pedalaman wilayah Kalimantan Barat dibawa dalam keadaan kering (herbarium) dan tidak terkena sinar matahari langsung ke Laboratorium Fakultas Biologi UGM untuk dilakukan proses determinasi sehingga diperoleh hasil sertifikasi tanaman yang valid digunakan sebagai rekomendasi sampel penelitian.

2) Tahap Persiapan Ekstrak

Daun sengkubak dikeringkan melalui proses *air-dry* selama \pm 1 minggu dan oven pada suhu 40°C sebelum dihaluskan. Sediaan sampel daun kering ditimbang sebanyak 100 g untuk dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi selama 3x24 jam menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 1000 ml (1:10) (b/v). Hasil maserasi disaring dengan kertas saring terlebih dahulu dan diuapkan pelarutnya menggunakan *Rotary Evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak etanol daun sengkubak dengan perhitungan rendemen $\{(\text{jumlah berat ekstrak pasta (g)} / \text{jumlah berat kering (g)}) \times 100\}$. Penyimpanan ekstrak dalam bentuk pasta disimpan pada suhu 4°C sampai digunakan. Ekstrak daun tersebut dibuat dalam seri konsentrasi 100.000 $\mu\text{g/ml}$ dengan cara dilarutkan dalam DMSO 1% sebagai stok untuk uji kerentanan bakteri. Larutan stok ekstrak disaring terlebih dahulu sebelum diencerkan dengan BHI *broth* dalam media kultur bakteri (Hutomo *et al.*, 2021; Purba *et al.*, 2014; Sholikhah *et al.*, 2021; Soelama *et al.*, 2015).

3) Tahap Skrining Fitokimia

Metabolit sekunder yang terkandung pada sengkubak diidentifikasi melalui uji fitokimia secara kualitatif dan kuantitatif melalui uji komponen total fenolik dan flavonoid ekstrak etanol daun sengkubak sebagai berikut.

a) Alkaloid

Ekstrak sebanyak 0,05 gram ditambahkan HCl 2N 1 mL dan akuades 9 mL kemudian dipanaskan selama 2 menit. Setelahnya disaring dan dibagi menjadi 3 tabung untuk ditambahkan reagen Mayer, Dragendorff, dan Wagner. Terbentuknya endapan kuning terhadap reagen Mayer, endapan jingga terhadap reagen Dragendorff, dan endapan coklat terhadap reagen Wagner mengindikasikan adanya kandungan alkaloid dalam sampel uji (Syafitri *et al.*, 2014).

b) Flavonoid

Sebanyak 0,05 gram ekstrak ditambahkan etanol 96% 2 mL, pita magnesium dan HCl 2N 1 mL untuk kemudian digojok. Apabila

terjadi perubahan warna menjadi merah, kuning, atau jingga pada sampel menunjukkan adanya kandungan flavonoid (Syafitri *et al.*, 2014).

Penentuan kandungan total flavonoid menggunakan metode spektrofotometri dengan standar quersetin. Larutan stok dibuat dalam konsentrasi 100 ppm dari campuran 1 mg ekstrak dan 10 mL etanol 70%. Diambil 1 mL larutan untuk ditambahkan AlCl_3 2% 1 mL dan asam asetat 5% 8 mL dengan total campuran 10 mL untuk tiga kali pengulangan. Kemudian divortex, diinkubasi selama 30 menit dan dibaca pada λ 415 nm. Kurva kalibrasi standar dibuat dalam seri konsentrasi 5, 10, 15, 25, 35, dan 45 $\mu\text{g/mL}$ dengan cara yang sama (Sari *et al.*, 2021).

c) Fenolik

Sampel sebanyak 0,05 gram ditambahkan etanol 70% 2 mL dan 3 tetes larutan FeCl_3 10%. Larutan digojok dan apabila terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman, menunjukkan sampel mengandung fenolik (Syafitri *et al.*, 2014).

Kandungan total fenolik diuji menggunakan metode dalam penelitian Suoth & Kaempe (2013) yang dimodifikasi dengan standar asam galat. Larutan stok dibuat dalam konsentrasi 1 % dari campuran 0,1 mg ekstrak dan 10 mL akuades. Diambil 0,6 mL larutan dan ditambahkan reagen Folin-Ciocalteu 0,4 mL yang sudah diencerkan, lalu divortex dan diinkubasi selama 4 - 8 menit. Kemudian ditambahkan larutan Na_2CO_3 20% 4 mL dan akuades 5 mL dengan total campuran 10 mL untuk tiga kali pengulangan. Campuran tersebut diinkubasi selama 2 jam dalam ruang gelap dan dibaca pada λ 662,85 nm. Blanko yang digunakan berupa akuades dan kurva kalibrasi standar dibuat dalam seri konsentrasi 0,1 - 1 $\mu\text{g/mL}$ dengan cara yang sama (Suoth *et al.*, 2013).

d) Steroid / Terpenoid

Dilartukan ekstrak sebanyak 0,05 gram dalam kloroform, untuk ditambahkan asam asetat anhidrat 0,05 mL dan larutan H_2SO_4 pekat 2 mL. Pembentukan warna ungu - coklat menunjukkan hasil

terpenoid dan warna hijau - biru menunjukkan hasil steroid (Syafitri *et al.*, 2014).

e) Saponin

Keberadaan saponin dapat diketahui melalui uji buih yang apabila sampel masih stabil selama 10 menit dan belum hilang setelah ditambahkan setetes larutan HCl 2N, menunjukkan adanya kandungan saponin (Syafitri *et al.*, 2014).

f) Tannin

Sebanyak 0,05 gram sampel ditambahkan dengan etanol 96% 2 mL dan 3 tetes larutan FeCl₃ 10%. Adanya perubahan warna menjadi biru - hitam - hijau menunjukkan hasil tannin pada sampel (Syafitri *et al.*, 2014).

4) Tahap Uji Antioksidan

Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) melalui perangkat spektrofotometer. Larutan stok dibuat dalam konsentrasi 100 ppm dari campuran 1 mg ekstrak per 5 mL metanol PA. Diambil 2 mL larutan dan ditambahkan larutan DPPH 50 ppm 3 mL, kemudian divortex dan diinkubasi gelap selama 30 menit. Dibuat tiga replikasi atau pengulangan setiap seri konsentrasi 5, 25, 50, 75, dan 100 µg/mL. Hasil tersebut dibaca pada λ 517 nm menggunakan blanko metanol yang kemudian dibandingkan dengan kurva standar asam askorbat dengan cara yang sama untuk dihitung dari persentase (%) inhibisi dengan rumus $\{(OD \text{ kontrol} - OD \text{ sampel}) / (OD \text{ kontrol}) \times 100\}$. Hasil akhir penghitungan ditunjukkan dalam nilai IC₅₀ yang akan dikelompokkan dalam kategori aktivitas antioksidan lemah, sedang, atau kuat (Paraswati, 2015).

5) Tahap Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan stok suspensi bakteri dari koloni *Streptococcus sanguinis* ATCC 10556 diawali dengan proses sentrifugasi pada 3000 rpm selama 15 menit untuk diperoleh bagian *pellet* yang akan dicampur dengan media pepton cair. Untuk diperoleh tingkat kekeruhan yang sama dengan standar larutan McFarland 0.5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL), campuran tersebut ditambahkan perlahan ke media pepton hingga menunjukkan perbandingan garis yang

sama atau tidak melengkung dengan menggunakan kertas garis. Suspensi bakteri dapat digunakan sebagai inokulum dalam waktu paling lama 15 menit (Hutomo *et al.*, 2018; Nurhayati *et al.*, 2020).

6) Tahap Uji Aktivitas Bakteri

Kerentanan bakteri *Streptococcus sanguinis* terhadap ekstrak etanol daun sengkubak terlebih dahulu ditentukan dengan uji MIC atau konsentrasi hambat minimum (KHM) menggunakan metode mikrodilusi cair. Kultur bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/ml sebanyak 10 μ l diinokulasi ke dalam 90 μ l BHI *broth* yang sudah mengandung ekstrak etanol daun sengkubak dengan konsentrasi mulai dari 100.000 hingga 390,625 μ g/ml dalam 96-well plate dengan 3 kali pengulangan. Gentamisin digunakan sebagai standar antibakteri pada konsentrasi 5 μ g/ml. Kultur plate diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk diamati ada tidaknya kekeruhan secara visual dan diukur nilai absorbansi bakteri (OD) pada λ 595 nm menggunakan *microplate reader* (Hutomo *et al.*, 2021). Hasil absorbansi sampel dengan kontrol yang diperoleh dilakukan perhitungan persentase (%) inhibisi dengan rumus $\{(OD \text{ kontrol} - OD \text{ sampel}) / (OD \text{ kontrol}) \times 100\}$. Hasil akhir penghitungan ditunjukkan dalam nilai MIC yang akan dikelompokkan dalam kategori aktivitas antibakteri lemah, sedang, atau kuat (Zakki, 2017).

7) Tahap Analisis Data

Hasil data penelitian berupa pengamatan secara deskriptif dan perbandingan nilai kerentanan bakteri dari uji MIC terhadap perlakuan konsentrasi ekstrak etanol daun sengkubak dalam media melalui metode mikrodilusi cair yang secara kuantitatif digambarkan melalui nilai OD (*Optical Density*) dari hasil ELISA *reader* yang kemudian dianalisis secara statistik menggunakan ANOVA One Way pada tingkat signifikansi 0,05 dengan uji lanjut Tukey HSD (*Honestly Significant Difference*).

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Identifikasi Tanaman

Uji determinasi merupakan salah satu tahapan awal dalam menentukan nama atau spesies tanaman yang akan digunakan secara spesifik. Tanaman sengkubak diambil dari hutan Kapuas Hulu Putussibau, Kalimantan Barat dalam keadaan gelap untuk meminimalisir paparan sinar UV langsung yang berpotensi merusak sampel penelitian untuk kemudian dilakukan uji determinasi di Laboratorium Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Adapun sertifikasi tanaman sengkubak yang diidentifikasi dapat dilihat pada Gambar 3.


UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS BIOLOGI
LABORATORIUM SISTEMATIKA TUMBUHAN
Jalan Teknika Selatan Sekip Utara Yogyakarta 55281 Telpun (0274) 6492262/6492272; Fax: (0274)580839

SURAT KETERANGAN
Nomor : 0285/S.Tb./III/2023

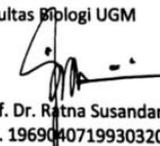
Nama : Cindy Oktavi Cicilia
NM : 31190336
Asal instansi : Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana

telah melakukan identifikasi tumbuhan dengan hasil sebagai berikut,

Kerajaan : Plantae
Devisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Menispermales (Ranunculales)
Famili : Menispermaceae
Genus : *Pycnarrhena*
Spesies : *Pycnarrhena cauliflora* (Miers) Diels
Sinonim : *Antitaxis cauliflora* Miers
Nama lokal : Sangkubak

identifikasi tersebut dibantu oleh Prof. Dr. Purnomo, M.S.
Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dapat dipergunakan seperlunya.

DUTA WACANA

<p>Mengetahui, an. Dekan Wakil Dekan Bidang Penelitian, Pengabdian Kepada Masyarakat, Kerja Sama dan Alumni</p> <p> Dr. Eko Agus Suryono, M.App.Sc. NIP. 197112181997021001</p>	<p style="text-align: right;">Yogyakarta, 9 Maret 2023 Kepala Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi UGM</p> <p style="text-align: right;"> Prof. Dr. Ratna Susandarini, M.Sc. NIP. 196904071993032002</p>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Gambar 3. Sertifikasi Tanaman Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels.)

(Sumber: Dokumen pribadi)

Berdasarkan hasil determinasi yang dilakukan, diketahui bahwa tanaman sengkubak memiliki taksonomi atau klasifikasi sebagai berikut.

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Ranunculales
Famili : Menispermaceae
Genus : *Pycnarrhena*
Spesies : *Pycnarrhena cauliflora* (Miers) Diels.
Nama lokal : Sangkubak

Hasil determinasi tanaman yang diperoleh dari Laboratorium Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah benar daun tanaman sengkubak dengan keterangan nomor surat: 0285/S.Tb./III/2023 (Lampiran 1). Hal ini sesuai dengan klasifikasi tanaman menurut GBIF Backbone Taxonomy (2022) dengan sengkubak yang termasuk famili Menispermaceae.

4.2 Hasil Ekstraksi

Daun tanaman sengkubak yang diambil dalam bentuk simplisia dari wilayah hutan Kapuas Hulu Putussibau, Kalimantan Barat dilakukan proses ekstraksi melalui metode maserasi. Hasil akhirnya diperoleh ekstrak etanol daun sengkubak dalam bentuk cairan kental atau pasta seperti Gambar 4.



Gambar 4. Ekstrak Etanol Daun Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels.)

(Sumber: Dokumen pribadi)

Karakteristik ekstrak etanol daun sengkubak yang diperoleh terlihat berwarna hijau kecokelatan dengan lapisan minyak di permukaan serta berbau manis khas

sengkubak. Secara keseluruhan dari proses ekstraksi tanaman dihasilkan total rendemen sebanyak 16,3% (b/b) dengan perhitungan yang dapat dilihat pada lampiran 2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode maserasi yang dilakukan tepat dan efektif karena senyawa dapat terlarut dengan baik dengan etanol 70% yang ditunjukkan dari perolehan jumlah rendemen yang tinggi. Sebagai perbandingan penelitian yang dilakukan oleh Purba *et al.* (2014) menghasilkan rendemen ekstrak metanol 50% sengkubak sebesar 2,6% dari ekstraksi maserasi, serta diperoleh rendemen 9,17% dari hasil maserasi etanol 96% daun sengkubak yang diambil dari wilayah Sanggau, Kalimantan dalam penelitian Pamuji (2015).

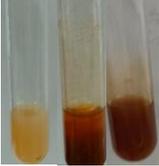
Jumlah perolehan rendemen didukung oleh beberapa faktor seperti lokasi pengambilan tanaman terkait kondisi geografis, jenis dan konsentrasi pelarut yang digunakan terkait sifat kepolarannya terhadap komponen daun sengkubak, suhu dan lama waktu kontak serta perbandingan jumlah sediaan kering sampel terhadap jumlah pelarut yang digunakan. Secara keseluruhan dari perolehan rendemen ekstrak menunjukkan bahwa hasil senyawa ekstraksi yang terdeteksi dalam daun sengkubak lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian sebelumnya, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sampel penelitian yang berpotensi memiliki bioaktivitas antioksidan dan/atau antibakteri.

4.3 Identifikasi Kandungan Fitokimia

4.3.1 Hasil Fitokimia Kualitatif

Cara identifikasi senyawa yang terdapat dalam suatu tanaman ialah dengan melakukan uji kandungan fitokimia. Seperti yang diketahui bahwa kandungan metabolit yang ditemukan di setiap tanaman bervariasi dari segi jenis dan jumlahnya, sehingga dalam penelitian ini dilakukan analisis senyawa daun tanaman sengkubak guna melihat varian metabolit yang memiliki potensi bioaktivitas sebagai antioksidan dan antibakteri terhadap penghambatan *Streptococcus sanguinis*. Adapun hasil uji yang dilakukan terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, tannin, fenol dan terpenoid dapat dilihat pada Tabel 3. Secara keseluruhan hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol daun sengkubak ditemukan keberadaan golongan senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, tannin, fenol dan terpenoid.

Tabel 3. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Sengkubak

Golongan Senyawa	Deskripsi	Hasil	Indikator Visual
Alkaloid	Kuning keruh-Mayer Jingga - Dragendorff Cokelat - Wagner	+	
Flavonoid	Merah bata	+	
Steroid	Cincin biru - hijau	+	
Saponin	Buih konstan	+	
Tannin	Hitam kebiruan	+	
Fenol	Hijau kehitaman	+	
Terpenoid	Cincin cokelat	+	

Keterangan: (+) = Ada
(-) = Tidak Ada

Beberapa penelitian terkait yang menguji keberadaan metabolit secara kualitatif seperti yang dilakukan oleh Pamuji (2015) menyatakan daun sengkubak yang diekstraksi dengan etanol memiliki beragam kandungan senyawa seperti alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, fenol, saponin serta tannin. Masriani *et al.* (2014) yang mengidentifikasi metabolit daun sengkubak juga menyebutkan terdapat kandungan senyawa alkaloid, steroid, terpenoid, dan flavonoid. Berdasarkan hasil penelitian ini ditemukan berbagai senyawa potensial yang dimanfaatkan sebagai antioksidan dan/atau antibakteri seperti alkaloid, flavonoid,

steroid, terpenoid, fenol, saponin serta tannin menunjukkan bahwa hasil rendemen ekstrak dari ekstraksi maserasi dan pelarut etanol 70% yang digunakan efektif sehingga semua senyawa target dapat teridentifikasi. Disebutkan keberadaan senyawa target dalam uji ini dapat memberikan gambaran terhadap kandungan metabolit daun sengkubak yang memiliki peran sebagai antioksidan dan antibakteri terhadap aktivitas penghambatan *S. sanguinis*.

4.3.2 Kandungan Total Fenol

Penentuan komponen total flavonoid (*quercetin*) dan fenolik yang merupakan golongan fenol dari ekstrak etanol daun sengkubak dilakukan sebagai bentuk analisis kuantitatif fitokimia. Menurut beberapa sumber literatur terkait, keberadaan senyawa fenol dipercaya memiliki sifat antibakteri yang mendominasi dalam tumbuhan obat (Pamuji, 2015; Sarifati *et al.*, 2020). Hal ini didukung oleh studi penelitian serupa yang telah menguji kandungan fitokimia daun sengkubak secara kualitatif, dimana diketahui bahwa kandungan fenol lebih mendominasi (+++) dibandingkan dengan kelompok senyawa lain yang ada (Masriani *et al.*, 2014; Mohammad *et al.*, 2020). Quercetin dan fenolik sebagai golongan senyawa fenol diketahui memiliki bioaktivitas sebagai antibakteri dan antioksidan yang kuat, sehingga dalam penelitian ini dilakukan uji kandungan total senyawa tersebut. Diperoleh hasil kandungan total *quercetin* dalam satuan *total flavonoid content* (TFC) seperti yang tertera pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Kandungan Total Flavonoid

Konsentrasi sampel (g/ml)	Rerata Absorbansi	Konsentrasi fenol QE (mg/ml)	TFC* (mg QE/g) ± SD
0,001	0,055	0,00632	6,322
0,001	0,037	0,00483	4,835
0,001	0,033	0,00450	4,504
Rerata Kandungan Total			5,220 ± 0,969

*) *Total Flavonoid Content*

Kandungan total quersetin dinyatakan dalam *Quercetin Equivalent* (QE) dengan persamaan garis $y = 0,0121x - 0,0215$. Perhitungan dari persamaan tersebut akan diperoleh hasil konsentrasi total flavonoid (TFC) sebesar $5,22 \pm 0,969$ mg QE/g sampel. Pengukuran total quersetin ini menggunakan metode spektrofotometri dengan prinsip pembentukan kompleks aluminium. Identifikasi total *quercetin* dalam penelitian ini diuji karena termasuk flavonoid golongan

flavonol yang memiliki aktivitas antioksidan kuat dari penetralan stress oksidatif melalui penurunan komponen enzim ataupun pengikatan molekul radikal sekaligus dapat memberikan efek antibakteri yang optimal dari interaksi gugus hidroksil fenol (Ahmad *et al.*, 2015; Anna & Pырzyska, 2014). Sebagai perbandingan, diperoleh kandungan total flavonoid $7,05 \pm 0,26$ mg QE/g ekstrak kayu kuning (Umayah & Rachmawati, 2005) dan kadar total flavonoid $9,937 \pm 0,009$ mg QE/g ekstrak batang brotowali dengan pelarut n-heksana (Roni *et al.*, 2022) yang keduanya berasal dari famili Menispermaceae. Selain itu diperoleh hasil kandungan total fenolik dalam satuan *total phenolic content* (TPC) seperti yang tertera pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Kandungan Total Fenolik

Konsentrasi sampel (g/ml)	Rerata Absorbansi	Konsentrasi fenolik GAE (mg/ml)	TPC* (mg GAE/g) \pm SD
0,0001	0,130	0,00043	4,350
0,0001	0,089	0,00030	2,968
0,0001	0,147	0,00049	4,923
Rerata Kandungan Total			4,080 \pm 1,005

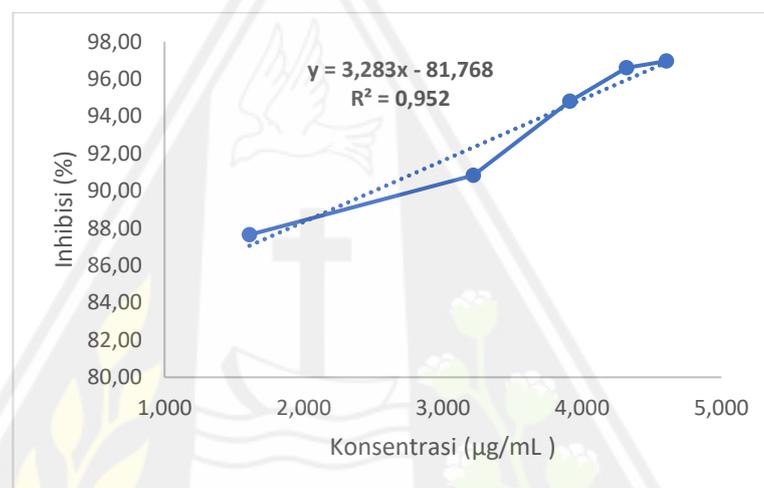
*) *Total Phenolic Content*

Kandungan total fenolik dinyatakan dalam *Gallic Acid Equivalent* (GAE) dengan persamaan garis $y = 0,2968x + 0,0009$. Perhitungan dari persamaan tersebut diperoleh hasil konsentrasi total fenolik (TPC) sebesar $4,08 \pm 1,005$ mg GAE/g sampel. Standar pengukuran untuk total fenolik menggunakan asam galat yang merupakan penyusun senyawa tanin terhidrolisis. Asam galat digunakan sebagai standar penelitian ini karena termasuk golongan fenolik yang sifatnya stabil dan reaktif terhadap reagen Folin-Ciocalteu (Syafitri *et al.*, 2014). Secara keseluruhan senyawa fenolik dan *quercetin* yang merupakan golongan fenol pada daun tanaman sengkubak ini memiliki kemampuan dalam mengurangi pembentukan biofilm dan permeabilitas membran bakteri sekaligus mengurangi kerusakan sel akibat stress oksidatif atau toksisitas sehingga berpotensi dimanfaatkan sebagai bahan antioksidan dan antibakteri yang dalam penelitian ingin diuji terhadap aktivitas penghambatan *S. sanguinis*.

4.4 Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dalam penelitian ini diuji menggunakan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) karena dinilai lebih sederhana dan efisien dengan

bantuan spektrofotometer UV-Vis. Prinsip kerja metode ini yaitu dengan melihat penangkapan radikal DPPH oleh senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan melalui gelombang spektra (λ), sehingga akan diketahui secara kuantitatif penghambatan radikal yang dinyatakan dalam nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) atau konsentrasi dari suatu senyawa uji yang dapat menekan radikal bebas sebesar 50% (Paraswati, 2015). Hasil uji aktivitas antioksidan dalam penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sengkubak memiliki kemampuan dalam meredam radikal sebesar 40,136 $\mu\text{g/mL}$ dalam bentuk nilai IC_{50} dengan aktivitas inhibisi tertinggi pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ (\ln konsentrasi: 4,605 $\mu\text{g/mL}$) sebesar 96,96% (Gambar 5).



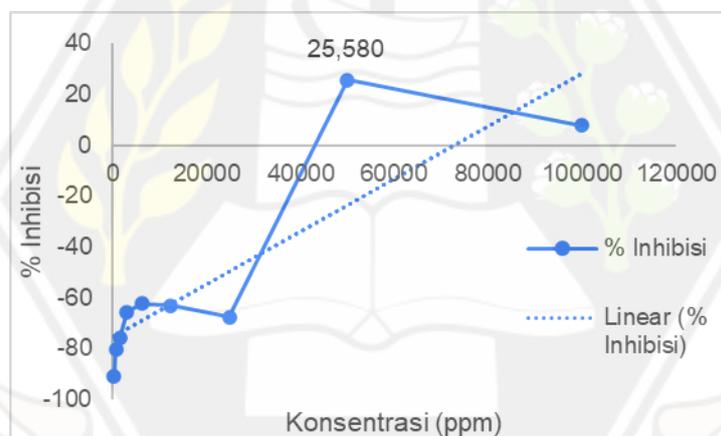
Gambar 5. Kurva Regresi Linier Ekstrak Etanol Daun Sengkubak

Berdasarkan hasil yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sengkubak memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan dengan kategori peredaman radikal yang kuat dari perolehan nilai IC_{50} (< 1000 ppm) yang diuji, dan terlihat dari peningkatan persentase inhibisi sebagai bentuk aktivitas ekstrak sebagai antioksidan yang sebanding dengan tingginya konsentrasi ekstrak etanol daun sengkubak. Disebutkan pula bahwa sebagian besar senyawa fenolik seperti asam fenolik, flavonoid, dan tanin dalam tanaman sengkubak memiliki mekanisme krusial sebagai antioksidan, tepatnya dalam menetralkan radikal bebas melalui produksi enzim *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dihasilkan oleh mekanisme pertahanan sel saat terjadinya peningkatan stress lingkungan. Keberadaan ROS menandakan terjadinya peningkatan aktivitas mediasi oleh senyawa fenol seperti quercetin dan fenolik yang berperan sebagai antioksidan sel dalam menargetkan radikal hidroksil (Mansoor *et al.*, 2022).

Penelitian Purba *et al.* (2014) yang juga menguji aktivitas antioksidan dari tanaman sengkubak menyatakan bahwa ekstrak metanol daun tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat sama seperti yang dilakukan dalam penelitian ini. Secara keseluruhan dapat disimpulkan bahwa terdapat bioaktivitas antioksidan yang kuat dalam tanaman sengkubak dari nilai inhibisi yang ditunjukkan pada penelitian ini, dengan keberadaan senyawa quersetin 0,209 mg QE/g dan fenolik 0,163 mg GAE/g yang diperoleh dari perhitungan kadar total fenol terhadap nilai inhibisi ekstrak.

4.5 Minimum Inhibitory Concentration *Streptococcus sanguinis*

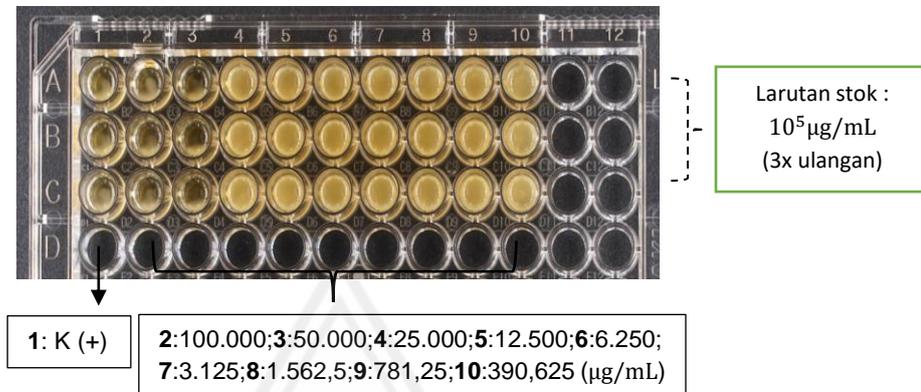
Uji konsentrasi hambat minimum (MIC) dilakukan menggunakan metode mikrodilusi cair dari larutan stok konsentrasi 100.000 µg/ml (ppm) ekstrak etanol daun sengkubak. Pertumbuhan bakteri *S. sanguinis* dalam penelitian ini diamati secara visual melalui kekeruhan ekstrak etanol daun sengkubak terhadap kontrol dan melalui penentuan % inhibisi bakteri dari analisis perbandingan konsentrasi dan absorbansi *microplate* uji yang dapat dilihat pada grafik (Gambar 6).



Gambar 6. Hasil % Inhibisi Terhadap Konsentrasi Uji MIC

Berdasarkan hasil parameter uji konsentrasi hambat minimum (MIC) yang dilakukan terlihat bahwa pada konsentrasi 50.000 µg/mL terdapat aktivitas antibakteri dari perlakuan ekstrak etanol daun sengkubak dengan keberadaan senyawa quersetin 261 mg QE/g dan fenolik 204 mg GAE/g (Lampiran 4). Konsentrasi hambat minimum dalam penelitian ini didefinisikan sebagai konsentrasi terkecil dari perlakuan ekstrak yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. sanguinis* yang dapat diamati secara visual dari perbandingan tingkat kejernihan bakteri uji pada media kultur

konsentrasi MIC (*well 3*) yang sama dengan kejernihan media kontrol (*well 1*) setelah proses inkubasi seperti yang ditunjukkan pada Gambar 7.

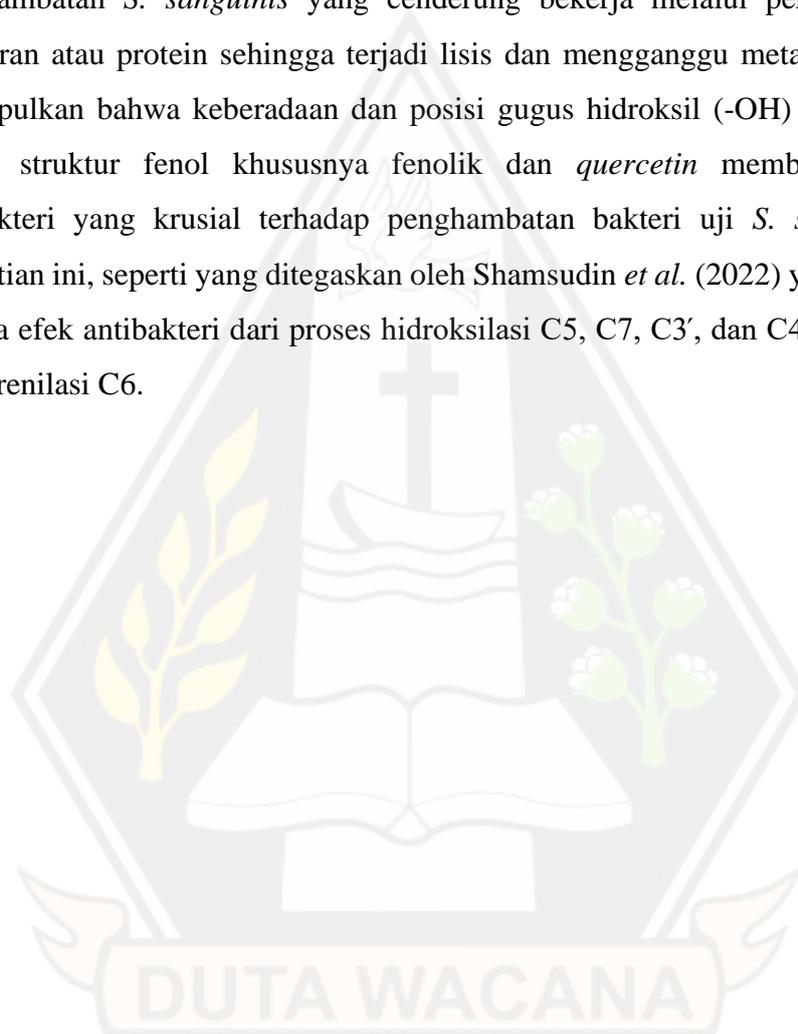


Gambar 7. Visual MIC Ekstrak Terhadap Bakteri *Streptococcus sanguinis*
(Sumber: Dokumen pribadi)

Berdasarkan hasil pembacaan nilai absorbansi bakteri (OD) ditemukan bahwa kemampuan inhibisi ekstrak pada konsentrasi MIC 50.000 µg/mL dari setiap pengulangan uji sebesar 25,58 % (perhitungan pada Lampiran 5). Hasil perlakuan menunjukkan konsentrasi ekstrak 50.000 µg/mL (ppm) sebagai hasil yang paling signifikan sebagai nilai MIC, dimana kepadatan bakteri paling mendekati nol dari perbandingan nilai absorbansi yang mulai terlihat aktivitas penghambatan bakteri melalui tingkat kejernihan media uji. Hal ini didukung dalam penelitian Mardiani (2013) yang menyatakan konsentrasi hambat minimum bakteri ditentukan dari *range* tingkat kejernihan yang terlihat pada media uji MIC.

Secara keseluruhan dalam penelitian ini ditemukan adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak terhadap bakteri uji, walaupun dapat dikatakan sifatnya lemah. Menurut Tsuchiya (1999) dalam Zakki (2017) aktivitas antibakteri dari bahan alam yang kuat memiliki nilai MIC kisaran 0,05 - 0,5 mg/mL, aktivitas sedang antara 0,6 - 1,5 mg/mL, dan lemah apabila ditemukan diatas 1,5 mg/mL. Selain itu dilakukan analisis statistik melalui Uji ANOVA terhadap nilai absorbansi MIC *test* untuk mengetahui signifikansi pengaruh antara variabel konsentrasi ekstrak dengan persentase inhibisi bakteri uji dan diperoleh nilai probabilitas (sig.) sebesar 0,000 ($\leq 0,05$) berdasarkan taraf kepercayaan 95% yang artinya hipotesis penelitian diterima atau menunjukkan adanya pengaruh signifikan dari kelompok perlakuan ekstrak etanol daun sengkubak terhadap aktivitas penghambatan bakteri uji *S. sanguinis* (Lampiran 5).

Beberapa studi literatur menegaskan bahwa tingkat efektivitas dari suatu agen antibakteri termasuk bahan alam ditentukan oleh sifat bakteri uji, konsentrasi serta lamanya waktu kontak atau inkubasi perlakuan. Mekanisme penghambatan bakteri *S. sanguinis* terjadi karena adanya interaksi antar senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun sengkubak seperti flavonoid, terpenoid, tannin dan saponin terhadap sel bakteri. Keberadaan senyawa selain fenol golongan flavonoid (*quercetin*) dan fenolik dalam ekstrak daun sengkubak diketahui turut berperan dalam penghambatan *S. sanguinis* yang cenderung bekerja melalui perusakan struktur membran atau protein sehingga terjadi lisis dan mengganggu metabolisme bakteri. Disimpulkan bahwa keberadaan dan posisi gugus hidroksil (-OH) yang ditemukan dalam struktur fenol khususnya fenolik dan *quercetin* memberikan aktivitas antibakteri yang krusial terhadap penghambatan bakteri uji *S. sanguinis* dalam penelitian ini, seperti yang ditegaskan oleh Shamsudin *et al.* (2022) yang menyatakan adanya efek antibakteri dari proses hidroksilasi C5, C7, C3', dan C4' serta geranilasi atau prenilasi C6.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Berdasarkan uji fitokimia yang dilakukan terdeteksi kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, tannin, fenol dan terpenoid pada ekstrak etanol daun sengkubak dengan kandungan total quersetin sebesar 5,22 mg QE/g sampel dan total fenolik sebesar 4,08 mg GAE/g sampel.
2. Diketahui bahwa ekstrak etanol daun sengkubak memiliki kemampuan sebagai antioksidan dari perolehan nilai IC_{50} sebesar 40,136 $\mu\text{g/mL}$ dan persentase (%) inhibisi sebesar 96,96% yang tergolong kuat untuk meredam radikal bebas dengan keberadaan senyawa quersetin 0,209 mg QE/g dan fenolik 0,016 mg GAE/g.
3. Berdasarkan uji MIC dapat disimpulkan bahwa konsentrasi dari perlakuan ekstrak etanol daun sengkubak yang memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus sanguinis* pada konsentrasi 50.000 $\mu\text{g/mL}$ dengan keberadaan senyawa quersetin 261 mg QE/g dan fenolik 20,4 mg GAE/g.

5.2 Saran

- a. Dilakukan studi lanjut terhadap analisis senyawa kimia atau kandungan total senyawa tanaman sengkubak yang memiliki aktivitas biologis seperti antioksidan dan antibakteri yang secara signifikan mempengaruhi pertumbuhan bakteri jenis *Streptococcus sanguinis*.
- b. Dilakukan penelitian ekstrak daun sengkubak dengan jenis bakteri uji lain yang berasal dari rongga mulut untuk melihat potensi daun sengkubak sebagai kandidat bahan obat alami.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A. R., Juwita, J., & Ratulangi, S. A. D. (2015). Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.SM). *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(1), 1–10. <https://doi.org/10.7454/psr.v2i1.3481>
- Arnanda, Q. P., & Nuwarda, R. F. (2019). Penggunaan Radiofarmaka Teknisium-99M Dari Senyawa Glutation dan Senyawa Flavonoid Sebagai Deteksi Dini Radikal Bebas Pemicu Kanker. *Farmaka Suplemen*, 14(1), 1–15. <https://jurnal.unpad.ac.id/farmaka/article/view/22071>
- Hutomo, S., Putri, D. U., Suryanto, Y. I., & Susilowati, H. (2018). Potential immunomodulatory activity of *Phyllanthus niruri* aqueous extract on macrophage infected with *Streptococcus sanguinis*. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 51(3), 124–128. <https://doi.org/10.20473/j.djmk.v51.i3.p124>
- Hutomo, S., Putri, D. U., Welviyanda, B. C., & Susilowati, H. (2021). Inhibition Effect of Garlic (*Allium sativum*) Extract on *Streptococcus sanguinis* Biofilm Formation Involving Bacterial Motility Mechanism. *Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences and Health Sciences*, 17(2), 169–174.
- Iriani E. S., Tarigan, N., Maris, P., Kardinan, A., & Perkasa, G. (2021). Inovasi Tanaman Rempah dan Obat. In *Warta Balitro* (Vol. 38, Issue 75, pp. 3–5).
- Kemala, D., Hendiani, I., & Satari, M. H. (2018). Uji daya antibakteri ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L) terhadap *Streptococcus sanguinis* ATCC 10556. *Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students*, 2(2), 137. <https://doi.org/10.24198/pjdrs.v3i1.21447>
- Kopernik, E. (2019). Building A Business Case For Conservation: Reintroducing Sengkubak as a local commodity of Sintang. In *Occupational health & safety (Waco, Tex.)* (Vol. 71, Issue 12).
- Liu, Y., & Guo, M. (2015). Studies on transition metal-quercetin complexes using electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Molecules*, 20(5), 8583–8594. <https://doi.org/10.3390/molecules20058583>
- Mansoor, S., Wani, O. A., Lone, J. K., Manhas, S., Kour, N., Alam, P., Ahmad, A., & Ahmad, P. (2022). Reactive Oxygen Species in Plants: From Source to Sink. *Antioxidants*, 11(2), 1–14. <https://doi.org/10.3390/antiox11020225>
- Mardiani, I., Subekti, S., & Cahyoko, Y. (2012). Daya Antibakteri Ekstrak Rumput Laut (*Eucheuma cottonii*) Terhadap Pertumbuhan *Vibrio Harveyi* Dengan Metode Dilusi Secara In Vitro. In *Media Journal Of Aquaculture And Fish Health* (Vol. 1, Issue 2).
- Masriani. (2019). The Cytotoxic Activities of the Extracts of Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora*) As Apoptosis Inducers to Hela Cervical Cancer Cells. *Journal of Chemical Natural Resources*, 1(2), 79–87. <https://doi.org/10.32734/jcnar.v1i2.1256>
- Masriani - *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sengkubak (Pycnarrhena cauliflora (Miers) Diels) Asal Kalimantan Barat.pdf*. (n.d.).
- Masriani, Mustofa, Jumina, Sunarti, & Enawaty, E. (2014). Cytotoxic and pro-apoptotic

activities of crude alkaloid from root of sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* (Miers) Diels) in human breast cancer T47D cell line. *Scholars Academic Journal of Biosciences*, 2(5), 2321–6883. www.saspublisher.com

- Mohammed, N. K., Muhialdin, B. J., Masri, N. S., Sukor, R., Abd-El Aziem, F., & Meor Hussin, A. S. (2020). Chemical compositions, antioxidant and antimicrobial activities of tubu (*Pycnarrhena longifolia*) leaves used as ingredient in traditional functional foods. *Food Research*, 4(3), 823–830. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.4\(3\).285](https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(3).285)
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41. <https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537>
- Pamuji, R. W., Fajriaty, I., & Purwanti, N. U. (2015). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels) Terhadap Tikus Betina Galur Wistar Dengan Metode OECD 425. In *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* (Vol. 53, Issue 9).
- Paraswati, D. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Buah Oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) dan Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) Dengan Metode Dpph (1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl). *J. Akademika Kim.*, 5(1), 91–96.
- Pękal, A., & Pyrzyńska, K. (2014). Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Analytical Methods*, 7, 1776–1782. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9814-x>
- Purba, D. M., Wibowo, M. A., & Ardiningsih, P. (2014). Aktivitas Antioksidan Dan Sitotoksik Ekstrak Metanol Daun Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels.). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 3(2), 7–12.
- Puspita, D., & Wulandari, T. S. (2020). Analisis senyawa bioaktif daun kemangi imbo (*Pycnarrhena cauliflora*) yang digunakan sebagai penyedap alami. *Jurnal Teknologi Pangan Dan Gizi*, 19(1), 35–43.
- Putri, D. K. T., Kriswandini, I. L., & Luthfi, M. (2016). Characterization of Streptococcus sanguis molecular receptors for Streptococcus mutans binding molecules. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 49(4), 213. <https://doi.org/10.20473/j.djmk.v49.i4.p213-216>
- Qi, W., Qi, W., Xiong, D., & Long, M. (2022). Quercetin: Its Antioxidant Mechanism, Antibacterial Properties and Potential Application in Prevention and Control of Toxipathy. *Molecules*, 27(19). <https://doi.org/10.3390/molecules27196545>
- Roni, A., Kurnia, D., & Hafsyah, N. (2022). Penetapan Kadar Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Batang Brotowali (*Tinospora crispa* L.) Dengan Metode CUPRAC. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS): Ilmu Farmasi Dan Kesehatan*, 7(1), 165–173. <https://doi.org/10.36387/jiis.v7i1.856>
- Sangadah, K., & Kartawidjaja, J. (2020). Uji Aktivitas Sediaan Gel Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) sebagai Kandidat Kosmetik Antiacne. In *Orphanet Journal of Rare Diseases* (Vol. 21, Issue 1).
- Sari, D. Y., R, W., & AN, T. (2021). Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Jamur

- Susu Harimau (*Lignosus rhinocerus*). *Jurnal Farmasi Udayana*, 10(1), 23–30. <https://doi.org/10.24843/jfu.2021.v10.i01.p03>
- Sarifati, Y. B., Ismail, S., & Kosala, K. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mekai (*Pycnarrhena cauliflora* Diels.) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(2), 246. <https://doi.org/10.51352/jim.v6i2.369>
- Sarosa, A. H., P, H. T., Santoso, B. I., Nurhadianty, V., & Cahyani, C. (2018). Pengaruh Penambahan Minyak Nilam Sebagai Bahan Aditif Pada Sabun Cair Dalam Upaya Meningkatkan Daya Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Indonesian Journal Of Essential Oil*, 3(1), 1–8. <https://ijeo.ub.ac.id>
- Septiani, D., Sughesti, D., Susanti, D., Polmauly, M. T., & Novitasari, S. (2022). Pentingnya Menjaga Kesehatan Gigi Dan Mulut. *Dedikasi PKM UNPAM*, 3(1), 56–66.
- Shamsudin, N. F., Ahmed, Q. U., Mahmood, S., Shah, S. A. A., Khatib, A., Mukhtar, S., Alsharif, M. A., Parveen, H., & Zakaria, Z. A. (2022). Antibacterial Effects of Flavonoids and Their Structure-Activity Relationship Study: A Comparative Interpretation. *Molecules*, 27(4). <https://doi.org/10.3390/molecules27041149>
- Shoker, R. M. H. (2020). A Review Article: The Importance of the Major groups of Plants Secondary Metabolism Phenols, Alkaloids, and Terpenes. *International Journal For Research in Applied Sciences and Biotechnology*, 7(5), 354–358. <https://doi.org/10.31033/ijrasb.7.5.47>
- Sholikhah, E. N., Maulina Diah, Mustofa, Masriani, Susi Irvati, & Samekto Wibowo. (2021). Antimicrobial activity of *Pycnarrhena cauliflora* (Miers.) Diels. methanol extract. *Indonesian Journal of Pharmacology and Therapy*, 2(2), 61–66. <https://doi.org/10.22146/ijpther.1656>
- Soelama, H. J. J., Kepel, B. J., & Siagian, K. V. (2015). Uji Minimum Inhibitory Concentration (MIC) Ekstrak Rumpun Laut (*Eucheuma cottonii*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Streptococcus mutans*. *E-GIGI*, 3(2). <https://doi.org/10.35790/eg.3.2.2015.9630>
- Suhendra, C. P., Widarta, I. W. R., & Wiadnyani, A. I. S. (2019). Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata cylindrica* (L) Beauv.) Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(1), 27–35.
- Suoth, E., Kaempe, H., & Tampi, A. (2013). Evaluasi Kandungan Total Polifenol dan Isolasi Senyawa Flavonoid Pada Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L.). *Chem. Prog*, 6(2), 86–91.
- Susanty, & Bachmid, F. (2016). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Konversi*, 5(2), 87–92.
- Syafitri, N. E., Bintang, M., & Falah, S. (2014). Kandungan Fitokimia, Total Fenol, dan Total Flavonoid Ekstrak Buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don). *Current Biochemistry*, 1(3), 105.
- Umayah, E., & Rachmawati, E. (2005). Standardisasi Ekstrak Batang Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.). *Prosiding Seminar Nasional Tantangan Terkini*

Perkembangan Obat Dan Aplikasi Klinis, 20–25.

- Wu, T., He, M., Zang, X., Zhou, Y., Qiu, T., Pan, S., & Xu, X. (2013). A structure-activity relationship study of flavonoids as inhibitors of *E. coli* by membrane interaction effect. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1828(11), 2751–2756. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2013.07.029>
- Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X., & Ren, L. (2014). Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. *Current Medicinal Chemistry*, 22(1), 132–149. <https://doi.org/10.2174/0929867321666140916113443>
- Zakki, M. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Cathechin Teh Putih Terhadap. *ODONTO Dental Journal*, 4(2), 108–113.

