

DAFTAR PUSTAKA

- Amran, A., Zakaria, Z., Othman, F. 2010. *Effect of Andrers*. Jurnal Hasil Penelitian Industri, 27(1). Hal 56-61.
- Amarowicz, R., Naczki, M. 2000. *Antioxidants Activity of Crude Tannins of Canola and Repressed Hulss*. JAOCS, 77: 957-961.
- Brown, A. 2000. *Understanding Food: Principles and Preparation*. Wadsworth Thomson Learning, USA. Hal: 675 – 677.
- Cahyani,aisy rifa. 2019. *Sintesis n- palmitoiletanolamida dan kinerjanya sebagai antioksidan dengan metode penyapuan radikal dpph*. Institut Pertanian Bogor.
- Dewi S R, Ulya N, dan Argo D B. 2018. *Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Pleurotus ostreatus*. Jurnal Rona Teknik Pertanian. Universitas brawijaya.
- Fardiaz, S. 1992. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Perhipa. PAU: Pangan dan Giji IPB. Bogor.
- Fifendy, M., Biomed, M. 2017. *Mikrobiologi Edisi Pertama*. Kencana, Depok.
- Ganiswara, S.G., Setiabudy, R., Suyatna, D.F., 2005. *Farmakologi dan terapi*. Edisi IV, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Alih bahasa Padmawinata. Kosasih ITB Bandung. Hal 1-107.
- Hermawan, J. 2007. *Aktivitas Antibakteri ekstrak etanol kunyit (Curcuma longa L.) terhadap Echerichia coli ATCC 1129 dan Staphylococcus aureus Atcc 6538 Secara in Vitro*. Fakultas Biologi, Muhammadiyah surakarta. Hal 1-17.
- Hutajulu, T., Hartanto, E, S. 2014 *Ekstraksi dan identifikasi oleoresin asam gelugur (Garcinia atriviridis)*. Jurnal Pangan dan Agroindustri, 5(1). Hal 49-60.
- Irianti, tanti T., Sugianto, Nuranto, S., & Kuswandi, M. (2017). *Antioksidan* (Issue October). Universitas Gadjah Mada.
- Jawetz, E., Melnick, J., Aldenberg, E. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC. Hal 357-359.
- Mackeen, M., Mukram, M. 1998. *Bioassay-Guided isolation and identification of bioactive compounds from garcinia atroviridis*. Master Thesis. Fakulty of Food Science and Biotechnology. University of Putra Malaysia, Malaysia.
- Markham, K.R., 1988. *Cara mengidentifikasi flavonoid*. ITB, Bandung.
- Molyneux, P. 2004. *The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH)for estimating antioxidant activity*. Songklanakarin Journal Science of Technology 26(2): 211-219.

- Nugraha A C, Prasetya A T, dan Mursiti S. 2017. *Isolasi, Identifikasi, Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid sebagai Antibakteri dari Daun Mangga. Indonesian Journal Of Chemical Science*. Universitas Negeri Semarang
- Pangestuti, I E, Sumardianto, dan Amalia U. 2017. *Skrining Senyawa fitokimia rumput Laut Sargassum sp. Dan Aktivitasnya Sebagai Antibakteri Terhadap Staphylococcus aureus dan Eschericia coli*. Jurnal Perikanan Vol 12 no 2. Universitas Diponegoro. Semarang
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M. 2001. *Antioxidant in Food; practical Applications*. Wood Publishing Limited, Cambrodge, England. 1-23.
- Cahyani,aisy rifa. (2019). *Sintesis n- palmitoiletanolamida dan kinerjanya sebagai antioksidan dengan metode penyapuan radikal dpph*. Institut Pertanian Bogor.
- Irianti, tanti T., Sugianto, Nuranto, S., & Kuswandi, M. (2017). *Antioksidan* (Issue October). Universitas Gadjah Mada.
- Prayoga, E. (2013). *Perbandingan Eefek EEkstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L .) Dengan Metode Difusi Disk Dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus*. Universitas ISalam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Putri, meganada hiaraya, Sukini, & Yodong. (2017). *Mikrobiologi*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Rheini, 2000. *Skrining Fitokimia dan Isolasi Senya Triterpenoida/Steroida dari Ekstrak n-Heksana Daun Asam Gelugur*. Skripsi. Jurnal Farmasi FMIPA USU. Medan.
- Rachmadhani, 2015. *Pemanfaatan susu sapi dalam pembuatan keju traditional dengan penambahan ekstrak jeruk manis (C. Sinensis Osbeck) dan jambu biji (psidium Guajava)*. Skripsi. Univesitas Muhammadiyah Surakarta.
- Robinson, T. 1991. *Kandungan organik tumbuhan tingkat tinggi*. ITB. Bandung.
- Rijayanti, R P. 2014. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (Mangifera foetida L) Terhadap bakteri Staphylococcus aureus Secara invitro*. Naskah Publikasi. Fakultas Kedokteran. Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Sadeli, R A, 2016. *Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) Ekstrak Bromelain Buah Nanas (Ananas comosus(L.) Merr.)*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.
- Saefudin, Marusin S, Chairul. 2013. *Aktivitas Antioksidan Pada Enam Jenis Tumbuhan Sterculiaceae*. Jurnal Penelitian Hasil Hutan. Vol. 31 No 2. Puslit Biologi Lipi. Jakarta Selatan
- Sukmaratri, Agnes Astri, 2014. *Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksana, Kloroform dan Etanol Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L.)*

- terhadap Staphylococcus aureu Resiten Amoksilin*. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta
- Verheij, E.W.M., Coronel, R.E. 1997. *Sumber Daya Nabati Asia Tenggara 2: Buah-buahan yang dapat dimakan*. PROSEA-Gramedia. Jakarta. ISBN 979-511-672-2. Hal 382-385.
- Voight, R., 1994. *Buku pelajaran teknologi farmasi edisi kelima*. Penerbit Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Waji M S. 2015. *Formulasi Sediaan Krim Ekstrak Etanol Buah Asam Gleugur (Garcinia atroviridis Griff. Et Anders) Sebagai Antibakteri Terhadap Staphylococcus aureus*. Naskah Publikasi Fakultas Farmasi. Univeritas Muhammadiyah Surakarta.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Uji Fitokimia

a. Flavonoid (Harbone,1987)

- Sebanyak 0,05 gram sampel ditambah 0,1 mg serbuk magnesium
- Tambahkan 0,4 ml amil alkohol (campuran asam klorida 37%dan etanol 95% dengan volume yang sama)
- Tambahkan 4 ml alkohol kemudian campuran dikocok
- Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid

b. Saponin (Harbone, 1987)

Saponin dapat dideteksi dengan uji busa dalam air panas. Busa yang stabil selama 30 menit dan tidak hilang pada penambahan 1 tetes HCl 2N menunjukkan adanya saponin.

c. Steroid (Harbone, 1987)

- Sebanyak 0,05 g dilarutkan dalam 2 ml kloroform
- ditambahkan 10 tetes anhidrat asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat
- Terbentuknya larutan berwarna merah untuk pertama kali kemudian berubah menjadi biru dan hijau menunjukkan adanya steroid/ triterpenoid.

d. Tanin (Harbone, 1987)

- Sebanyak 0,5 gram serbuk sampel dimasukkan kedalam gelas kimia
- Tambahkan 20 ml aquades lalu di didihkan dan disaring
- 0,5 mL filtrat ditambahkan ferriklorida 0,1% dan diamati terjadinya perubahan warna.

e. Terpenoid (Harbone, 1987)

- Sebanyak 2 gram sampel dimasukkan kedalam gelas kimia
- Tambahkan 10 ml etanol didihkan dan disaring
- Ambil 5 ml ekstrak
- Tambahkan 2 ml kloroform dan 3 ml asam sulfat pekat, lalu diamati perubahannya.

Lampiran 2. Uji Antimikrobia (Fardiaz, 1992)

Pembuatan media nutrient agar (NA)

Media NA ditimbang sebanyak 28 gram ditambahkan aquadest sebanyak 1000 ml, diaduk dan dipanaskan pada suhu 70 °C. Setelah media NA larut dalam aquadest lalu dibiarkan hingga dingin dan ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Kemudian media NA dan peralatan lainnya yang akan digunakan disterilkan dengan autoklaf dengan suhu 121 °C selama 15 menit.

Pembiakan stok kultur bakteri staphylococcus aureus dan bakteri escheria coli

Diambil satu koloni bakteri staphylococcus aureus dan bakteri escheria coli dengan menggunakan jarum ose steril, ditanamkan pada media NA dengan cara menggores dan dinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 jam.

Uji daya hambat bakteri metode difusi

Daya hambat bakteri diuji dengan metode difusi dengan menggunakan blank disk. Kontrol negatif dipakai pelarut DMSO sedangkan kontrol positif menggunakan obat kloramfenicol. Bakteri staphylococcus aureus dan bakteri escheria coli disebar pada media NA dengan merendam cotton bud steril pada suspensi tiap bakteri. Cotton bud yang telah direndam suspensi bakteri diusap pada permukaan media NA secara penuh dan dibiarkan selama 10 menit. ekstrak biji asam gelugur yang telah dicampurkan pada blank disk diletakkan diatas permukaan media NA yang telah disebar bakteri dengan jarak yang sudah ditentukan, diinkubasi pada inkubator selama 24 jam pada suhu 35-37 °C dan

pengujian ini dilakukan 3 kali ulangan. Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona bening yang berada disekeliling blank disk. Rumus perhitungan zona bening yaitu:

Diamater zona hambat (mm) = Diameter zona bening – diameter blank disk

Contoh perhitungan:

Perlakuan A (konsentrasi 0,5%)

Diameter zona hambat (mm) = 11,94 mm – 1 mm

Diameter zona hambat (mm) = 10,94 mm

Lampiran 3. Pengujian Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (Cahyani, 2019)

Aktivitas Antioksidan diuji dengan metode DPPH mengacu pada metode Cahyani (2019). Aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode radikal bebas DPPH. Pengujian antioksidan ini dilakukan dengan beberapa tahap yaitu pembuatan larutan DPPH dengan dilarutkan DPPH 4,7 mg dalam etanol p.a 100 ml sehingga didapatkan konsentrasi 0,12 mM disimpan dalam ruangan gelap selama 20 menit. Pembuatan larutan kontrol dengan menambahkan larutan 1,5 ml etanol p.a pada 1,5 ml larutan DPPH ditabung reaksi, lalu ditentukan absorbansi pada absorbansi maksimum larutan kontrol. Penentuan panjang gelombang maksimum diukur pada rentang 517 nm. Pembuatan larutan stok dengan menimbang 100 mg ekstrak sampel, kemudian dilarutkan hingga 100 ml etanol p.a pada labu ukur sehingga didapatkan konsentrasi larutan stok 1000 ppm. Larutan stok ekstrak dibuat dengan variasi konsentrasi dalam labu ukur. Pembuatan larutan sampel dengan berbagai konsentrasi yaitu sebesar 3,12 µg/ml, 6,25 µg/ml, 12,5 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/ml, dan 100 µg/ml dari larutan stok. Pembuatan larutan dengan konsentrasi diatas dilakukan dengan cara dipipet larutan stok sebanyak 15,6 µl, 31,2 µl, 62,5 µl, 125 µl, 250 µl, dan 500 µl ke dalam labu ukur 5 ml, kemudian ditambahkan larutan DPPH 1 ml dan etanol p.a hingga batas tera kemudian di vortex sampai tercampur dan didiamkan dalam kondisi gelap (atau dihindarkan dari sinar matahari) selama 30 menit pada masingmasing larutan sampel. Pengukuran absorbansi dari sampel dalam penelitian ini dilakukan sebanyak 3 kali ulangan dan dilakukan analisa data (Frindryani, 2016) persentase inhibisi dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

Absorbansi kontrol

Perhitungan IC₅₀ dengan cara memasukkan nilai dari konsentrasi larutan sampel (sumbu x) dan % hambatan terhadap DPPH (sumbu y) ke dalam persamaan garis regresi.

Perhitungan Nilai IC₅₀

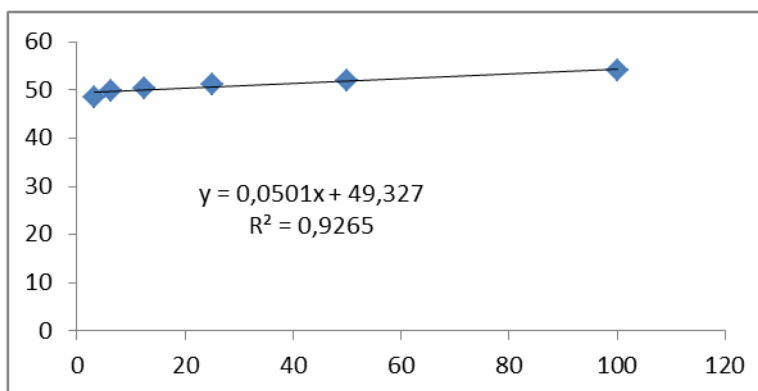
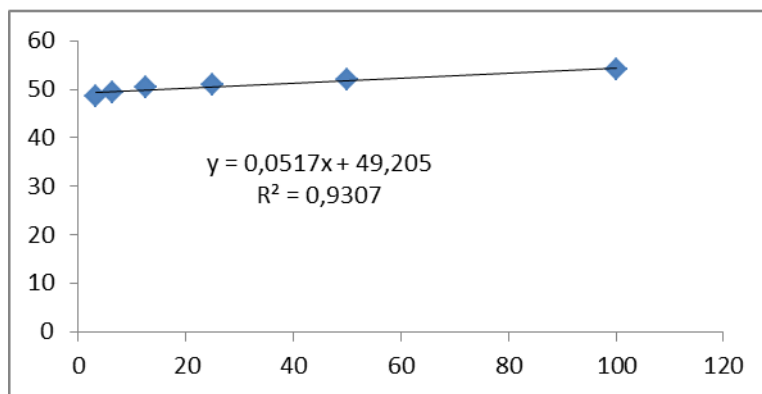
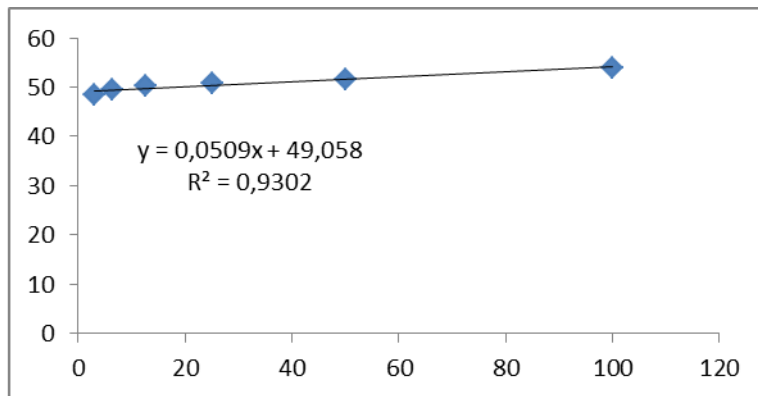
Sampel	U	Konsentrasi (µg/ml)						Inhibisi (%)	Ic 50 (µg/ml)	Rataan	STDEV
		100	50	25	12,5	6,25	3,12				
Ekstrak	1	0,221	0,232	0,236	0,239	0,243	0,248				
	2	Absorbansi 0,220	0,231	0,235	0,238	0,243	0,247				
	3	0,220	0,231	0,235	0,238	0,241	0,247				
100	50	25	12,5	6,25	3,12						
53,9583	51,6667	50,8333	50,2083	49,3750	48,3333	18,5069				15,7724	2,5599
54,1667	51,8750	51,0417	50,4167	49,3750	48,5417	15,3772					
54,1667	51,8750	51,0417	50,4167	49,7917	48,5417	13,4331					

Konsentrasi (µg/ml)	Inhibisi (%)	IC50
100	53,9583	18,5069
50	51,6667	
25	50,8333	
12,5	50,2083	
6,25	49,3750	
3,12	48,3333	

Konsentrasi (µg/ml)	Inhibisi (%)	IC50
100	54,1667	15,3772
50	51,8750	
25	51,0417	
12,5	50,4167	
6,25	49,3750	
3,12	48,5417	

Konsentrasi (µg/ml)	Inhibisi (%)	IC50
100	54,1667	13,4331
50	51,8750	

25	51,0417
12,5	50,4167
6,25	49,7917
3,12	48,5417



Lampiran 4. Perhitungan statistik uji bakteri *Eschericia coli*

Tabel 10. Data primer uji bakteri *Eschericia coli* (mm)

Perlakuan	BLOK			Total	Rerata
	I	II	III		
A1	15,20	16,30	15,30	46,80	15,60
A2	18,40	18,10	18,60	55,10	18,37
A3	19,40	19,50	19,40	58,30	19,43
A4	20,00	19,80	20,20	60,00	20,00
A5	24,50	24,70	24,70	73,90	24,63
A6	27,60	28,40	27,00	83,00	27,67
Jumlah	125,10	126,80	125,20	377,10	

$$GT = 15,20 + 18,40 + + 27,00 = 377,10$$

$$FK = \sum \frac{(GT)^2}{r \times R} = \frac{(377,10)^2}{6 \times 3} = 7900,25$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= \sum (a^2 + b^2 + c^2 + + s^2) \\ &= \sum (15,20)^2 + (18,40)^2 + + (27,00)^2 - 377,10 \\ &= 293,51 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{\sum JT^2_1 + JT^2_2 + JT^2_3 + \dots + JT^2_6}{3} - FK \\ &= \frac{(46,80)^2 + (55,10)^2 + \dots + (83,00)^2}{3} - 377,10 \\ &= 291,54 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Blok} &= \frac{\sum JB^2_1 + JB^2_2 + JB^2_3}{r \times R} - Fk \\ &= \frac{(125,10)^2 + (126,80)^2 + (125,20)^2}{6} - 377,10 \\ &= 0,30 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Error} &= JK \text{ total} - JK \text{ blok} - JK \text{ perlakuan} \\ &= 293,51 - 0,30 - 291,54 \\ &= 1,66 \end{aligned}$$

Tabel 11. Analisis keragaman uji bakteri *Eschericia coli*

Sumber keragaman	DB	JK	RK	Fhitung	Ftabel	
					5%	1%
Perlakuan (P) (t-1)	5	291,54	58,31	350,55**	3,33	5,64
Blok (r-1)	2	0,30	0,2			
Error (t-1) (r-1)	10	1,66	0,17			
Total (t.r-1)	17	293,51				

$$\begin{aligned}
 SD &= \sqrt{\frac{2.RKE}{r.R}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 \times 0,17}{3 \times 6}} \\
 &= 0,1374
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JBD A(2)} &= \frac{SD \times RP}{\sqrt{2}} \\
 &= \frac{0,1374 \times 3,26}{\sqrt{2}} \\
 &= 0,3176
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JBD A(3)} &= \frac{SD \times RP}{\sqrt{2}} \\
 &= \frac{0,1374 \times 3,39}{\sqrt{2}} \\
 &= 0,3303
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JBD A(4)} &= \frac{SD \times RP}{\sqrt{2}} \\
 &= \frac{0,1374 \times 3,47}{\sqrt{2}} \\
 &= 0,3378
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JBD A(5)} &= \frac{SD \times RP}{\sqrt{2}} \\
 &= \frac{0,1374 \times 3,52}{\sqrt{2}} \\
 &= 0,3430
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JBD A(6)} &= \frac{SD \times RP}{\sqrt{2}} \\
 &= \frac{0,1374 \times 3,55}{\sqrt{2}} \\
 &= 0,3456
 \end{aligned}$$

Urutan Rerata	A	RP 5%	JBD	Perbandingan
A6 = 27,67				
A5 = 24,63	2	3,26	0,3929	$27,67 - 0,3176 = 27,3524$
A4 = 20,00	3	3,39	0,4085	$24,63 - 0,3303 = 24,2997$
A3 = 19,43	4	3,47	0,4182	$20,00 - 0,3378 = 19,6622$
A2 = 18,37	5	3,52	0,4242	$19,43 - 0,3430 = 19,0870$
A1 = 15,60	6	3,55	0,4278	$18,37 - 0,3456 = 18,0244$

Tabel 12. Rerata uji bakteri *Eschericia coli*.

Perlakuan	Rerata (mm)
A1	15,60 ^f
A2	18,37 ^e
A3	19,43 ^d
A4	20,00 ^c
A5	24,63 ^b
A6	27,67 ^a

Lampiran 5. Perhitungan statistik uji bakteri *Staphylococcus aureus*

Tabel 13. Data primer uji bakteri *Staphylococcus aureus* (mm)

Perlakuan	BLOK			Total	Rerata
	I	II	III		
A1	10,40	11,40	11,30	32,83	10,94
A2	15,04	16,10	17,10	48,24	16,08
A3	18,30	19,00	18,00	55,30	18,43
A4	20,20	20,20	19,50	59,90	19,97
A5	21,40	21,20	21,70	64,30	21,43
A6	26,80	26,90	27,40	81,10	27,03
Jumlah	112,14	114,80	114,73	341,67	

$$GT = 10,40 + 11,40 + \dots + 27,40 = 341,67$$

$$FK = \sum \frac{(GT)^2}{r \times R} = \frac{(341,67)^2}{6 \times 3} = 6485,47$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= \sum (a^2 + b^2 + c^2 + \dots + s^2) \\ &= \sum (10,40)^2 + (11,40)^2 + \dots + (27,40)^2 - 377,10 \\ &= 0,77 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{\sum JT^2_1 + JT^2_2 + JT^2_3 + \dots + JT^2_6}{3} - FK \\ &= \frac{(32,83)^2 + (48,24)^2 + \dots + (81,10)^2}{3} - 377,10 \\ &= 435,44 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Blok} &= \frac{\sum JB^2_1 + JB^2_2 + JB^2_3}{r \times R} - Fk \\ &= \frac{(112,14)^2 + (114,80)^2 + (114,73)^2}{6} - 377,10 \\ &= 0,77 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Error} &= JK \text{ total} - JK \text{ blok} - JK \text{ perlakuan} \\ &= 439,26 - 0,77 - 435,44 \\ &= 3,05 \end{aligned}$$

Tabel 14. Analisis keragaman uji bakteri *Eschericia coli*

Sumber keragaman	DB	JK	RK	Fhitung	Ftabel	
					5%	1%
Perlakuan (P) (t-1)	5	435,44	87,0872	285,1299**	3,33	5,64
Blok (r-1)	2	0,77	0,3830			
Error (t-1) (r-1)	10	3,05	0,3054			
Total (t.r-1)	17	439,26				

$$\begin{aligned}
 SD &= \sqrt{\frac{2.RKE}{r.R}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 \times 0,3054}{3 \times 6}} \\
 &= 0,1842
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JBD A(2) &= \frac{SD \times RP}{\sqrt{2}} \\
 &= \frac{0,1842 \times 3,26}{\sqrt{2}} \\
 &= 0,4258
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JBD A(3) &= \frac{SD \times RP}{\sqrt{2}} \\
 &= \frac{0,1842 \times 3,39}{\sqrt{2}} \\
 &= 0,4426
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JBD A(4) &= \frac{SD \times RP}{\sqrt{2}} \\
 &= \frac{0,1842 \times 3,47}{\sqrt{2}} \\
 &= 0,4533
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JBD A(5) &= \frac{SD \times RP}{\sqrt{2}} \\
 &= \frac{0,1842 \times 3,52}{\sqrt{2}} \\
 &= 0,4598
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JBD A(6) &= \frac{SD \times RP}{\sqrt{2}} \\
 &= \frac{0,1842 \times 3,55}{\sqrt{2}} \\
 &= 0,4637
 \end{aligned}$$

Urutan Rerata	A	RP 5%	JBD	Perbandingan
A6 = 27,03				
A5 = 21,43	2	3,26	0,3929	$27,03 - 0,4258 = 26,6042$
A4 = 19,97	3	3,39	0,4085	$21,43 - 0,4426 = 20,9874$
A3 = 18,43	4	3,47	0,4182	$19,97 - 0,4533 = 19,5167$
A2 = 16,08	5	3,52	0,4242	$18,43 - 0,4598 = 17,9702$
A1 = 10,94	6	3,55	0,4278	$16,08 - 0,4637 = 15,6163$

Tabel 15. Rerata uji bakteri *Eschericia coli*.

Perlakuan	Rerata (mm)
A1	10,94 ^f
A2	16,08 ^e
A3	18,43 ^d
A4	19,96 ^c
A5	21,43 ^b
A6	27,03 ^a