

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIMIKROBA EKSTRAK MELINJO (*Gnetum gnemon* L.)

ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF MELINJO EXTRACT (*Gnetum gnemon* L.)

Chandra Dewi¹⁾, Rohula Utami²⁾, Nur Her Riyadi P²⁾

¹⁾ Alumni Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret

²⁾ Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret

ABSTRACT

This research aimed to find out the influence of water solvent extraction temperature (30°C, 45°C, 60°C) on total phenol, antioxidant activity, and antimicrobial activity of parts of melinjo plant (leaf, seed, epicarp). The results showed that the total phenol, antioxidant activity, and antimicrobial activity in seed, leaf, pulp seed of melinjo plant increased along with increasing extraction temperature. Treatment of 60°C extraction temperature resulted the total phenols, antioxidant, and antimicrobial activity in seed, leaf, and epicarp were the highest. Based on the treatments, was known that at 30, 45, and 60°C, the highest on total phenols and antimicrobial activity contained in the seed of melinjo while the leaf of melinjo resulted the highest antioxidant activity.

Keywords: Antimicrobial, Antioxidant activity, Extraction temperature, Melinjo, Total phenols

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu ekstraksi pelarut air (30°C, 45°C, 60°C) terhadap total fenol, aktivitas antioksidan, dan aktivitas antimikroba dari bagian tanaman melinjo (daun, biji, kulit). Hasil penelitian menunjukkan bahwa total fenol, aktivitas antioksidan, dan antimikroba pada biji, daun, dan kulit biji tanaman melinjo semakin meningkat seiring dengan peningkatan suhu ekstraksi. Perlakuan suhu ekstraksi 60°C memberikan hasil total fenol, aktivitas antioksidan, dan antimikroba pada biji, daun, dan kulit biji tanaman melinjo paling tinggi. Dari semua perlakuan, diketahui bahwa pada suhu 30, 45, dan 60°C, total fenol dan aktivitas antimikroba tertinggi terdapat pada biji melinjo sedangkan daun menghasilkan aktivitas antioksidan yang paling tinggi.

Kata kunci: Aktivitas antioksidan, Antimikroba, Melinjo, Pelarut air, Suhu ekstraksi, Total fenol

PENDAHULUAN

Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) merupakan salah satu komoditas lokal yang mempunyai beberapa manfaat. Melinjo banyak dibudidayakan di Indonesia, tetapi pemanfaatannya sangat kurang, hanya terbatas sebagai sayur dan bahan baku pembuatan emping. Menurut Pudjiatmoko (2007), aktivitas antioksidan dari kandungan fenolik pada melinjo setara dengan antioksidan sintetik *Butylated Hydroxytoluene* (BHT).

Menurut Siswoyo (2004), biji melinjo mengandung 9 – 11% protein, 16,4% lemak, 58% pati, dan komponen minor seperti fenolik/flavonoid. Siswoyo¹ (2007) juga telah mempelajari potensi aktivitas antioksidan dan total senyawa fenol dari beberapa jaringan berbeda seperti akar, batang, daun, biji, dan pulp biji pada tanaman melinjo yang diekstrak menggunakan etanol. Berdasarkan hasil penelitiannya, jumlah total fenol bervariasi dari 5,97 sampai 9,91 mg gallic acid equivalent (GAE) g⁻¹ sampel.

Kandungan flavonoid ekstrak melinjo berkisar antara 0,85 – 3,14 mg quercetin equivalent (QE) g⁻¹ sampel. Aktivitas penangkapan radikal bebas tertinggi terdapat pada akar yaitu 37,27 mg vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) g⁻¹ sampel sedangkan yang terendah yaitu pulp biji 32,48 mg VCEAC g⁻¹ sampel. Begitu pula Kato *et al.* (2009) membuktikan manfaat stilbenoid dari biji melinjo kering yang diekstrak dengan pelarut etanol. Peneliti tersebut telah mengisolasi senyawa stilbenoid baru yaitu gnetin L yang menunjukkan adanya aktivitas antioksidan. Selain itu, Siswoyo² (2007) juga menemukan fungsi lain melinjo sebagai antimikroba alami. Oleh karena itu, protein melinjo juga dapat digunakan sebagai pengawet alami makanan. Peptida Gg-AMP yang diisolasi dari biji melinjo mempunyai aktivitas antibakteri terhadap jenis bakteri Gram positif dan Gram negatif.

Komponen polifenol yang sekarang ini sedang dikembangkan ialah kandungan

resveratrol dari melinjo. Berdasarkan penelitian Mori (2008), kandungan resveratrol berupa bio-flavonoid yang terkandung pada ginkgo biloba, juga terdapat di melinjo, karena melinjo termasuk tumbuhan berbiji terbuka (*Gymnospermae*), begitu pula dengan tanaman ginkgo biloba yang ada di Jepang. Bahkan hasil dari penelitian tersebut menyebutkan bahwa kandungan resveratrol yang dikandung oleh melinjo lebih tinggi dibandingkan dengan ginkgo biloba. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dalam melinjo setara dengan aktivitas antioksidan vitamin C (Noegraha, 2010). Sedangkan Hisada *et al.* (2005) yang meneliti tiga jenis stilbenoid yang diisolasi dari 50% ekstrak etanol dan metanol, menemukan bahwa melinjo kaya akan komponen polifenol yang disebut resveratrol. Resveratrol melinjo memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan, berperan baik sebagai pengawet makanan, menghambat *off flavor* dan meningkatkan citarasa.

Salah satu faktor yang mempengaruhi total senyawa fenol, aktivitas antioksidan, dan antimikroba adalah proses ekstraksi. Proses ekstraksi juga dipengaruhi oleh jenis pelarut, suhu ekstraksi, dan waktu ekstraksi. Berdasarkan penelitian Ballard *et al.* (2008), ekstraksi dengan pelarut air menunjukkan bahwa total senyawa fenol meningkat dengan adanya kenaikan suhu. Total senyawa fenol dari ekstrak kulit kacang tanah meningkat sekitar 20,2%, mulai dari suhu 30°C (63,1 mg/g) sampai 60°C (79,1 mg/g) dengan waktu ekstraksi 10 menit. Total senyawa fenol tertinggi (81 mg/g) terjadi pada suhu 50,4 °C dan waktu ekstraksi 10,1 menit. Sementara jika dilihat dari hasil *oxygen radical absorbance capacity* (ORAC), kondisi ekstraksi yang optimal terjadi pada suhu 60°C selama 24,9 menit. Berdasarkan penelitian Chew *et al.* (2011), ekstraksi *Centella asiatica* dengan variasi suhu ekstraksi, mulai dari 25 sampai 65°C (25, 35, 45, 55, dan 65°C) menunjukkan bahwa total fenolik meningkat secara linier seiring dengan peningkatan suhu ekstraksi sedangkan kapasitas antioksidan ekstrak *C. asiatica* mulai menurun pada perlakuan suhu ekstraksi di atas 45°C.

Oleh karena itu dalam penelitian ini, melinjo diekstrak menggunakan pelarut air dengan variasi suhu 30, 45, dan 60°C selama 20 menit. Dalam penelitian ini akan dilakukan pengujian untuk mengetahui pengaruh variasi suhu terhadap total senyawa fenol, aktivitas antioksidan ekstrak melinjo (*Gnetum gnemon* L.) serta aktivitas antimikroba terhadap bakteri pembusuk. Bagian melinjo yang akan diekstrak meliputi biji, daun, dan kulit biji. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Selain itu, juga dilakukan pengukuran total senyawa fenol dengan metode Folin-Ciocalteu. Sedangkan bakteri pembusuk yang digunakan untuk pengujian aktivitas antimikroba dalam penelitian ini yaitu *Pseudomonas fluorescens* dan *Pseudomonas putida*. Bakteri tersebut merupakan bakteri pembusuk yang dominan dalam komoditas ikan/daging.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah melinjo yang diperoleh dari Ngasem, Colomadu. Bagian dari tanaman melinjo yang digunakan yaitu daun, biji, dan kulit biji. Sedangkan untuk proses ekstraksi melinjo, pelarut yang digunakan adalah aquades. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis antara lain folin Ciocalteu (MERCK), Na₂CO₃ (MERCK), fenol murni (MERCK), *Diphenyl picrylhydrazyl* (DPPH) (SIGMA), metanol p.a, *Pseudomonas fluorescens* FNCC 0071, *Pseudomonas putida* FNCC 0070, dan *Nutrient Agar* (NA) (OXOID). Kedua jenis bakteri pembusuk diperoleh dari koleksi *Food Nutrition and Culture Collection* (FNCC) PSPG UGM, Yogyakarta.

Alat yang digunakan dalam proses ekstraksi melinjo antara lain alat sentrifugasi (sentrifus), hotplate, termometer, stirer, dan blender. Sedangkan alat-alat yang digunakan untuk analisis antara lain spektrofotometer UV-Vis mini-1240 (Shimadzu), vortex, autoklaf, laminar, dan inkubator (WTC Binder).

Ekstraksi Melinjo

Bagian dari tanaman melinjo yang digunakan antara lain melinjo yang sudah tua (kulit berwarna merah) dan daun melinjo yang masih muda. Setiap bagian melinjo yang digunakan dicuci sampai bersih. Pada sampel biji melinjo terlebih dahulu dikupas sebelum dihancurkan. Pengupasan tersebut dimaksudkan untuk memisahkan bagian kulit dan biji melinjo. Pengecilan ukuran dilakukan menggunakan blender dan mortar dimaksudkan supaya partikel-partikel sampel lebih homogen.

Proses ekstraksi dilakukan dengan cara pemanasan yaitu merendam sampel disertai pengadukan menggunakan stirer dengan kecepatan 150 rpm yang diletakkan di atas hotplate. Proses ekstraksi dilakukan dengan perbandingan bahan dan pelarut 1 : 20 (b/v) dan 3 variasi suhu ekstraksi yaitu 30, 45, dan 60°C. Setelah mencapai ketiga variasi suhu tersebut kemudian suhu dipertahankan selama 20 menit. Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi melinjo ini adalah aquades. Metode ekstraksi ini merupakan metode ekstraksi berdasarkan penelitian Ballard *et al.* (2008).

Setelah dilakukan pemanasan, campuran pelarut dan sampel didinginkan terlebih dahulu sampai suhu ruang. Penyaringan digunakan untuk memisahkan antara ampas (endapan) dan filtrat. Proses penyaringan pada ekstrak melinjo dilakukan dengan menggunakan kain saring. Proses penyaringan dilakukan sekali, hal ini bertujuan supaya tidak terlalu banyak ampas yang terikut saat dilakukan sentrifugasi. Ekstrak melinjo yang diperoleh dari hasil penyaringan, kemudian disentrifugasi pada 5000 rpm selama 30 menit. Tahap sentrifugasi ini menurut penelitian Ballard *et al.* (2008).

Pengujian Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan

Sampel ekstrak melinjo dilakukan pengujian total fenol menggunakan metode Folin-Ciocalteu (Senter *et al.*, 1989) dan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (Subagio and Morita, 2001).

Pengujian aktivitas antimikroba

Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan terhadap dua jenis bakteri pembusuk yaitu *Pseudomonas fluorescens* FNCC 0071 dan *Pseudomonas putida* FNCC 0070 sebanyak 10⁶ CFU. Metode yang digunakan untuk pengujian aktivitas antimikroba adalah metode *well diffusion* dengan diameter sumur 5 mm.. Ekstrak dari daun, biji, dan kulit melinjo dimasukkan ke dalam masing-masing sumur tersebut sebanyak 50 µL. Setelah itu cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi, akan muncul zona penghambatan. Kemudian dilakukan pengukuran diameter zona penghambatan (Kim and Rajagopal, 2001; Allaf *et al.*, 2009). Diameter zona penghambatan dihitung sebesar diameter zona bening yang terbentuk (termasuk diameter sumuran).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Fenol Ekstrak Melinjo

Tabel 1. Total Fenol Ekstrak Melinjo (mg/ml)

Suhu Ekstraksi	Sampel		
	Biji	Daun	Kulit
Suhu 30°C	0,318 ^a _B	0,187 ^a _A	0,173 ^a _A
Suhu 45°C	0,355 ^b _B	0,230 ^b _A	0,226 ^b _A
Suhu 60°C	0,389 ^c _B	0,272 ^c _A	0,271 ^c _A

Keterangan :

* *Superscript* yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi α 0,05

* *Subscript* yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi α 0,05

Berdasarkan uji total fenol ekstrak melinjo baik biji, daun, maupun kulit, dapat diketahui bahwa total fenol terendah terdapat pada perlakuan suhu ekstraksi 30°C, diikuti perlakuan suhu ekstraksi 45°C, dan total fenol tertinggi pada perlakuan suhu ekstraksi 60°C (**Tabel 1**). Jadi, semakin tinggi suhu ekstraksi maka kadar total fenol ekstrak melinjo yang dihasilkan akan semakin tinggi. Hasil tersebut selaras dengan penelitian Ballard *et al.* (2008), ekstraksi kulit kacang tanah dengan pelarut air menunjukkan bahwa total senyawa fenol meningkat dengan

adanya kenaikan suhu. Total senyawa fenol dari ekstrak kulit kacang tanah meningkat sekitar 20,2%, mulai dari suhu 30°C (63,1 mg/g) sampai 60°C (79,1 mg/g) dengan waktu ekstraksi 10 menit. Begitu pula pada penelitian Chew *et al.* (2011) menunjukkan bahwa komponen fenolik ekstrak *Centella asiatica* mengalami peningkatan secara linier seiring dengan meningkatnya suhu ekstraksi, mencapai nilai maksimal pada suhu 65°C. Al-Farsi and Chang (2007) melaporkan bahwa peningkatan suhu dapat menaikkan ekstraksi fenol dengan meningkatnya koefisien difusi dan kelarutan komponen fenolik dalam pelarut ekstraksi. Menurut Kato and Hosoda (2008), penggunaan suhu lebih tinggi dari 30°C lebih sesuai, oleh karena itu suatu proses perendaman (pencelupan) bahan selama ekstraksi dalam suatu pelarut dapat menggunakan suhu antara 30°C dan 60°C.

Pada **Tabel 1** dapat dilihat pula kandungan total fenol tiap perlakuan suhu ekstraksi yang sama untuk mengetahui bagian melinjo dengan total fenol tertinggi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada perlakuan suhu ekstraksi 30°C, ekstrak biji mempunyai total fenol tertinggi sebesar 0,318 mg/ml, kemudian diikuti daun dengan total fenol sebesar 0,187 mg/ml, dan total fenol terendah terdapat pada kulit melinjo sebesar 0,173 mg/ml. Pada suhu 45°C, total fenol terendah terdapat pada kulit melinjo sebesar 0,226 mg/ml, kemudian diikuti daun melinjo dengan total fenol sebesar 0,230 mg/ml, dan biji melinjo memiliki kandungan total fenol tertinggi sebesar 0,355 mg/ml. Pada suhu 60°C total fenol terendah sampai tertinggi ekstrak melinjo secara berturut-turut yaitu terdapat pada kulit sebesar 0,271 mg/ml, daun sebesar 0,272 mg/ml, dan biji sebesar 0,389 mg/ml. Sedangkan jika dilihat dari hasil uji DMRT pada tingkat signifikansi α 0,05, dapat diketahui bahwa total fenol pada sampel biji menunjukkan beda nyata dengan total fenol daun maupun kulit melinjo pada perlakuan suhu ekstraksi 30, 45 dan 60°C. Jadi, dari data tersebut dapat diketahui bahwa biji dengan perlakuan suhu ekstraksi 60°C mempunyai total fenol yang tertinggi dibandingkan yang lain.

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Melinjo

Tabel 2. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Melinjo (% DPPH/10 μ L)

Suhu Ekstraksi	Sampel		
	Biji	Daun	Kulit
Suhu 30° C	3,36 ^a _B	4,76 ^a _C	2,47 ^a _A
Suhu 45° C	3,77 ^b _B	5,50 ^b _C	3,06 ^b _A
Suhu 60° C	4,26 ^c _B	5,97 ^c _C	3,51 ^c _A

Keterangan :

* *Superscript* yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi α 0,05

* *Subscript* yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi α 0,05

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak melinjo baik biji, daun, maupun kulit terendah terdapat pada perlakuan suhu ekstraksi 30°C, diikuti perlakuan suhu ekstraksi 45°C, dan aktivitas antioksidan tertinggi pada perlakuan suhu ekstraksi 60°C. Sedangkan jika dilihat dari hasil statistik pada tingkat signifikansi α 0,05, aktivitas antioksidan antara perlakuan suhu ekstraksi satu dengan lainnya saling berbeda nyata. Begitu pula pada penelitian Ballard *et al.* (2008), hasil *oxygen radical absorbance capacity* (ORAC) meningkat dengan adanya kenaikan suhu ekstraksi dan kondisi ekstraksi yang optimal terjadi pada suhu 60°C selama 24,9 menit. Peningkatan suhu dapat meningkatkan kelarutan komponen fenolik dalam pelarut ekstraksi. Komponen fenolik tersebut berperan sebagai antioksidan sehingga saat terjadi peningkatan total fenol maka aktivitas antioksidan juga semakin tinggi.

Dari data yang diperoleh tidak terjadi penurunan aktivitas antioksidan pada ekstrak melinjo meskipun antioksidan bersifat rentan terhadap panas. Hal tersebut dikarenakan kandungan flavonoid pada melinjo cukup stabil pada pemanasan sampai suhu 100°C selama lebih dari 30 menit (Harborne, 1996).

Berdasarkan hasil analisis aktivitas antioksidan yang tercantum dalam **Tabel 2** dapat diketahui pada perlakuan suhu ekstraksi 30°C, ekstrak daun mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi sebesar 4,76%, kemudian diikuti biji dengan aktivitas antioksidan sebesar 3,36%, dan aktivitas

antioksidan terendah terdapat pada kulit melinjo sebesar 2,47%. Pada suhu 45°C, aktivitas antioksidan terendah terdapat pada kulit melinjo sebesar 3,06%, kemudian diikuti biji melinjo dengan antioksidan tertinggi sebesar 3,77%, dan daun melinjo memiliki aktivitas antioksidan tertinggi sebesar 5,50%. Pada suhu 60°C aktivitas antioksidan terendah sampai tertinggi ekstrak melinjo secara berturut-turut yaitu terdapat pada kulit sebesar 3,51%, biji sebesar 4,26%, dan daun sebesar 5,97%. Sedangkan jika dilihat dari hasil uji DMRT pada tingkat signifikansi α 0,05, dapat diketahui bahwa aktivitas antioksidan pada sampel biji menunjukkan beda nyata dengan aktivitas antioksidan pada daun maupun kulit melinjo dengan perlakuan suhu ekstraksi 30, 45 dan 60°C. Pada tingkat suhu yang sama, aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada daun melinjo. Hasil analisis aktivitas antioksidan tertinggi pada daun, diikuti biji, dan kulit melinjo pada penelitian ini selaras dengan penelitian Siswoyo¹ (2007) mengenai potensi aktivitas antioksidan dan total senyawa fenol dari beberapa jaringan berbeda seperti akar, batang, daun, biji, dan pulp biji pada tanaman melinjo (*Gnetum gnemon* L.) yang diekstrak menggunakan etanol. Dalam penelitian tersebut, aktivitas penangkapan radikal pada daun sebesar 36,66 mg VCEAC/g lebih tinggi dibandingkan pada biji sebesar 34,08 mg VCEAC/g dan pulp biji 32,48 mg VCEAC/g sampel.

Pada tingkat suhu yang sama, aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada daun melinjo. Hal ini dikarenakan selain flavonoid, daun juga mengandung senyawa saponin yang merupakan senyawa nonfenolik. Menurut Hartono (2009), saponin merupakan golongan senyawa glikosida, dapat berupa saponin steroid maupun saponin triterpenoid. Selain itu, menurut Haryoto (1998), kandungan vitamin C yang terdapat pada daun melinjo lebih tinggi dibandingkan dengan vitamin C pada biji melinjo. Vitamin C yang terdapat pada melinjo dapat berperan sebagai antioksidan. Kandungan vitamin C pada daun melinjo sebesar 182 mg/100 g bahan, sedangkan biji melinjo mengandung vitamin C sebesar 100 mg/100 g bahan.

Aktivitas Antimikroba Ekstrak Melinjo

Tabel 3. Zona Penghambatan Aktivitas Antimikroba Ekstrak Melinjo (mm)

Suhu Ekstraksi	Sampel		
	Biji	Daun	Kulit
Suhu 30° C	7,23 ^a _C	5,87 ^a _B	5,45 ^a _A
Suhu 45° C	8,02 ^b _C	6,40 ^b _B	6,02 ^b _A
Suhu 60° C	8,80 ^c _B	6,75 ^c _A	6,35 ^c _A

Keterangan :

* *Superscript* yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi α 0,05

* *Subscript* yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi α 0,05

Berdasarkan hasil analisis antimikroba ekstrak melinjo baik biji, daun, maupun kulit, dapat diketahui bahwa diameter hambat terendah terdapat pada perlakuan suhu ekstraksi 30°C, diikuti perlakuan suhu ekstraksi 45°C, dan diameter hambat tertinggi pada perlakuan suhu ekstraksi 60°C. Jadi, semakin tinggi suhu ekstraksi maka aktivitas antimikroba ekstrak melinjo yang dihasilkan akan semakin tinggi. Hasil tersebut selaras dengan penelitian Arora *et al.* (2007), mengenai pengujian aktivitas antibakteri dari berbagai tanaman obat asal India. Dalam penelitiannya, metode ekstraksi dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri pada ekstrak tanaman; ekstrak dengan perlakuan air panas (hot water) menghasilkan zona penghambatan yang lebih maksimal dibandingkan ekstraksi dengan perlakuan suhu ruang atau air mendidih. Berdasarkan penelitian tersebut, ekstrak biji melinjo mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* 2 MTCC 741 dan *Staphylococcus aureus* MTCC 96 dengan diameter hambat sebesar 10 mm.

Berdasarkan **Tabel 3** dapat diketahui pada perlakuan suhu ekstraksi 30°C, ekstrak biji mempunyai zona penghambatan tertinggi sebesar 7,23 mm, kemudian diikuti daun dengan zona penghambatan sebesar 5,87 mm, dan zona penghambatan terendah terdapat pada kulit melinjo sebesar 5,45 mm. Pada suhu 45°C, zona penghambatan terendah terdapat pada kulit melinjo sebesar 6,02 mm, kemudian diikuti daun melinjo dengan zona penghambatan sebesar 6,40 mm, biji melinjo memiliki zona

penghambatan tertinggi sebesar 8,02 mm. Pada suhu 60°C zona penghambatan terendah sampai tertinggi ekstrak melinjo secara berturut-turut yaitu terdapat pada kulit sebesar 6,35 mm, daun sebesar 6,75 mm, dan biji sebesar 8,80 mm. Sedangkan jika dilihat dari hasil uji DMRT pada tingkat signifikansi α 0,05, dapat diketahui bahwa diameter hambat pada sampel biji menunjukkan beda nyata dengan diameter hambat sampel daun maupun kulit melinjo pada perlakuan suhu ekstraksi 30 dan 45°C. Pada perlakuan suhu 60°C, zona penghambatan pada kulit dan daun melinjo tidak beda nyata sedangkan zona penghambatan biji melinjo berbeda nyata dengan kulit maupun daun melinjo.

Kandungan kimia yang terdapat pada biji dan daun melinjo yaitu saponin, flavonoid, dan tanin sedangkan kulit melinjo mengandung saponin dan flavonoid. Flavonoid, saponin, dan tanin yang terkandung pada melinjo tersebut dapat berfungsi sebagai antibakteri. Menurut Markham (1988) flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Mekanisme senyawa fenol sebagai zat antibakteri adalah dengan cara merusak dan menembus dinding sel, serta mengendapkan protein sel mikroba. Komponen fenol juga dapat mendenaturasi protein seperti enzim. Denaturasi protein merupakan suatu keadaan dimana protein mengalami perubahan atau perusakan struktur sekunder, tersier dan kuaternernya. Perusakan struktur karena adanya pemutusan ikatan hidrogen yang menopang struktur sekunder dan tersier suatu protein sehingga menyebabkan sisi hidrofobik dari gugus samping polipeptida akan terbuka. Hal tersebut menyebabkan kelarutan protein semakin turun dan akhirnya mengendap. Senyawa fenolik bermolekul besar mampu menginaktifkan enzim esensial di dalam sel mikroba meskipun pada konsentrasi yang sangat rendah. Senyawa fenol mampu memutuskan ikatan peptidoglikan saat menerobos dinding sel. Ikatan peptidoglikan ini secara mekanis memberi kekuatan pada sel bakteri. Kedua jenis bakteri uji merupakan bakteri Gram negatif dengan dinding sel terdapat peptidoglikan yang sedikit sekali dan berada diantara selaput luar dan selaput dalam

dinding sel. Dinding sel bakteri Gram negatif mengandung fosfolipid, lipopolisakarida, dan lipoprotein. Dalam upaya mencapai sasaran, senyawa antimikroba dapat menembus lipopolisakarida dari dinding sel tersebut. Setelah menerobos dinding sel, senyawa fenol akan menyebabkan kebocoran isi sel dengan cara merusak ikatan hidrofobik komponen membran sel (seperti protein dan fosfolipida) serta larutnya komponen-komponen yang berikatan secara hidrofobik yang berakibat meningkatnya permeabilitas membran. Terjadinya kerusakan pada membran sel mengakibatkan terhambatnya aktivitas dan biosintesis enzim-enzim spesifik yang diperlukan dalam reaksi metabolisme (Yulianti, 2009).

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

Menurut Siswoyo² (2007) peptida Gg-AMP yang diisolasi dari biji melinjo diindikasikan mempunyai potensi aktif menghambat beberapa jenis bakteri gram positif dan negatif. Begitu pula Kato *et.al* (2009) membuktikan manfaat stilbenoid dari biji melinjo kering yang diekstrak dengan pelarut etanol. Peneliti tersebut telah mengisolasi stilbenoid baru yaitu gnetin L. dan lima stilbenoid yang telah diketahui, meliputi gnetin C, gnomonosides A, C, D, dan resveratrol yang menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dan antibakteri. Berdasarkan hasil analisis dapat diketahui bahwa pada tiap perlakuan suhu ekstraksi, biji memiliki zona penghambatan tertinggi dibanding yang lain.

KESIMPULAN

1. Pengaruh suhu ekstraksi pelarut air terhadap total fenol, aktivitas antioksidan, dan antimikroba pada biji, daun, dan kulit biji tanaman melinjo yaitu semakin tinggi

- suhu ekstraksi ternyata semakin besar pula kadar fenol, aktivitas antioksidan, dan aktivitas antimikroba yang dihasilkan.
2. Total fenol, aktivitas antioksidan, dan antimikroba pada biji, daun, dan kulit biji tanaman melinjo paling tinggi terdapat pada perlakuan suhu ekstraksi 60°C.
 3. Pada suhu 30, 45, dan 60°C, total fenol dan aktivitas antimikroba tertinggi terdapat pada biji melinjo sedangkan daun menghasilkan aktivitas antioksidan yang paling tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Allaf, M.A.H., Al-Rawi and A.T. Al-Mola, 2009. *Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Minced Beef Meat Against Some Pathogenic Bacteria*. Iraqi Journal of Veterinary Sciences, Vol. 23: 115-117.
- Al-Farsi, M. A. and Y. L. Chang. 2007. *Optimization of Phenolics and Dietary Fibre Extraction from Date Seeds*. Food Chemistry 108(3): 977-985.
- Arora, D. S. and G. J., Kaur. 2007. *Antibacterial Activity of Some Indian Medicinal Plants*. Journal Nat Med 61:313-317.
- Ballard, T. S., Sean O'Keefe, P. Mallikarjunan and C. Thatcher. 2008. *Optimizing The Extraction Of Phenolic Antioxidants From Peanut Skins Response Surface Methodology*.
- Chew, K. K., Ng, S. Y., Thoo, Y. Y., Khoo, M. Z., W. M., Wan Aida, and C. W. Ho. 2011. *Effect of Ethanol Concentration, Extraction Time and Extraction Temperature on The Recovery of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Centella Asiatica Extracts*. International Food Research Journal 18: 571-578 (2011).
- Cowan, MM. 1999. *Plant Products as Antimicrobial Agents*. Clinical Microbiology Reviews Vol. 12 No. 4:564-582.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Penerbit ITB. Bandung.
- Hartono, T. 2009. <http://www.farmasi.asia/saponin/>. Diakses pada Selasa tanggal 18 Oktober 2011 pukul 11.30 WIB.
- Haryoto. 1998. *Membuat Emping Melinjo*. Kanisius. Yogyakarta.
- Hisada, Hiromi, A. Masahiro, K. Eishin, and S. Fujio. 2005. *Antibacterial and Antioxidative Constituents of Melinjo Seeds and Their Application to Foods*. <http://sciencelinks.jp/j-east/article/>. Diakses pada Minggu tanggal 20 Februari 2011 pukul 19.45 WIB.
- Kato, E. and S. Hosoda. 2008. *Gnetum Extract*. www.freepatentsonline.com/search.html. United States Patent Application 20080274218.
- Kato, Eishin, Y. Tokunaga, and F. Sakan. 2009. *Stilbenoids Isolated from the Seeds of Melinjo (Gnetum gnemon L.) and Their Biological Activity*. Journal of Agricultural and Food Chemistry Vol. 57 No. 6: 2544-2549.
- Kim, Jin-Woo and S.N. Rajagopal, 2001. *Antibacterial Activities of Lactobacillus crispatus ATCC 33820 and Lactobacillus gasserii ATCC 33323*. The Journal of Microbiology, Vol.39 No.2:146-148.
- Markham. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerbit ITB. Bandung.
- Mori, M. 2008. *Relationship between Lifestyle-related Diseases with The Intake of Indonesian Traditional Fruit Melinjo Rich in Phytoestrogens*. Niigata, Japan. The 4th International Niigata Symposium on Diet and Health Integrative Function of Diet in Anti-aging and Cancer Prevention.
- Noegraha, A. 2010. *Teh Melinjo Sebagai Salah Satu Usaha Peningkatan Nilai Tambah Sumberdaya Lokal Berbasis Agribisnis*.

- <http://web.ipb.ac.id/~agrohort/>.
Diakses pada Rabu tanggal 25 Agustus 2010 pukul 14.29 WIB.
- Pudjiatmoko. 2007. *Potensi melinjo di Jepang*. <http://id.wikipedia.org/wiki/>.
Diakses pada Rabu tanggal 26 Oktober 2011 pukul 07.50 WIB.
- Senter , S.D., J. A. Robertson, and F. I.Meredith. 1989. *Phenolic Compound of The Mesocarp of Cresthaven Peaches During Storage and Ripening*. Journal Food Science 54 : 1259-1268.
- Siswoyo, T. A. 2004. *Physicochemical Characteristics of Melinjo (Gnetum gnemon) Starch-Lipid*. <http://triagus.blog.unej.ac.id/research-work/>. Diakses pada tanggal 3 Januari 2011 pukul 22.00 WIB.
- Siswoyo¹, T. A. 2007. *Free Radical Scavenging Activity and Phenolic Content of Melinjo Tree (Gnetum gnemon L.)*. <http://triagus.blog.unej.ac.id/research-work/>. Diakses pada tanggal 3 Januari 2011 pukul 22.10 WIB.
- _____², T.A. 2007. *Potency and Development of Functional Components from Melinjo Seed (Gnetum gnemon) as Nutraceutical Food Supplement*. <http://triagus.blog.unej.ac.id/research-work/>. Diakses pada tanggal 3 Januari 2011 pukul 22.00 WIB.
- Subagio, A and N. Morita. 2001. *No Effect of Esterification with Fatty Acid on Antioxidant Activity of Lutein*. Food Rest.Int. 34:315-320.
- Yulianti, O.N., 2009. Kajian Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba *Ekstrak Biji, Kulit Buah, Batang, dan Daun Tanaman Jarak Pagar (Jatropha curcas L.)*. Skripsi S1 Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.