

## AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT BUAH ASAM KANDIS (*Garcinia dioica* Blume) TERENKAPSULASI PATI-Carboxymethylcellulose (CMC)

Irene Utami<sup>1\*</sup>, Puji Ardiningsih<sup>1</sup>, Afghani Jayuska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura  
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak  
email: ireneutami95@gmail.com

### ABSTRAK

Buah asam kandis (*Garcinia dioica* Blume) merupakan sumber antioksidan dan antibakteri, namun pemanfaatannya dalam wujud ekstrak memiliki waktu penyimpanan yang relatif pendek dan rentan mengalami kerusakan akibat pengaruh lingkungan. Enkapsulasi merupakan salah satu solusi untuk melindungi dan mengontrol pelepasan bahan aktif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antibakteri buah asam kandis sebelum dan sesudah proses enkapsulasi dengan bahan penyalut pati-CMC (Carboxymethylcellulose). Adapun prosedur enkapsulasi dilakukan pada 20% (b/b) fraksi etil asetat dan pati-CMC dengan perbandingan 1:3 menggunakan metode freeze drying. Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl hydrazil), sedangkan uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumur. Hasilnya diperoleh aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  fraksi dan enkapsulat masing-masing adalah 37,883 dan 359,225 ppm. Berdasarkan uji aktivitas antibakteri diperoleh hasil bahwa fraksi aktif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada rentang konsentrasi 1-6 mg/sumur, sedangkan enkapsulat hanya aktif menghambat bakteri *P.aeruginosa* pada rentang konsentrasi 0,3-1,0 mg/sumur. Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa penggunaan pati-CMC dengan perbandingan 1:3 belum optimal melindungi bahan aktif saat diaplikasikan sebagai sumber antioksidan, namun optimal dalam meningkatkan sifat antibakteri fraksi etil asetat buah asam kandis.

**Kata Kunci:** *G. dioica* Blume, antioksidan, antibakteri, enkapsulasi, freeze drying

### PENDAHULUAN

Genus *Garcinia* merupakan kelompok tumbuhan yang kaya akan senyawa metabolit sekunder, seperti flavonoid, santon, benzofenon dan antrakuinon (Ritthiwigrom *et al.*, 2013). Kelompok senyawa tersebut sangat berperan aktif sebagai senyawa antioksidan, sitotoksik dan antibakteri (Wahyuni *et al.*, 2015). Salah satu tumbuhan tropis Indonesia yang termasuk dalam kelompok genus *Garcinia* adalah asam kandis (*G. dioica* Blume). Fraksi etil asetat buah asam kandis berdasarkan uji fitokimia mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, fenolik dan saponin (Ardiningsih *et al.*, 2012), sehingga buah asam kandis berpotensi sebagai sumber antioksidan dan antibakteri.

Kelebihan dalam wujud ekstrak tersebut juga memiliki kekurangan yaitu waktu penyimpanan yang relatif pendek dan rentan terhadap kerusakan akibat pengaruh lingkungan (Tursiman *et al.*, 2012 dan Ardiningsih *et al.*, 2012). Sehingga diperlukan metode yang tepat untuk mengatasi permasalahan tersebut, salah satunya adalah metode enkapsulasi. Menurut Tensisca *et al.*, (2012) metode enkapsulasi merupakan metode yang dapat melindungi bahan inti yang mengandung senyawa aktif dan dapat mengontrol pelepasan bahan aktif tersebut saat akan digunakan.

Penelitian sebelumnya mengenai enkapsulasi ekstrak buah asam kandis sudah pernah dilakukan, dimana ekstrak etanol buah asam kandis dienkapsulasi menggunakan maltodektrin dan diperoleh hasil bahwa enkapsulat memiliki aktivitas antimikroba dengan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) sebesar 1,5 mg/sumur (Fitriana *et al.*, 2014). Berdasarkan penelitian tersebut, maka pada penelitian ini dilakukan penelitian serupa dengan melakukan proses

enkapsulasi fraksi etil asetat dengan pati-CMC sebagai bahan penyalut. Pemilihan pati dan CMC sebagai filler dilakukan berdasarkan pada penelitian Nugraheni *et al.*, (2015), dimana menurut penelitiannya diperoleh bahwa penambahan pati dengan bahan lain yaitu CMC, memberikan peningkatan parameter fisik seperti efisiensi penyerapan, laju alir, ukuran partikel dan parameter kimiawi dalam mikrokapsul. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan menentukan aktivitas antioksidan dan antibakteri fraksi etil asetat buah asam kandis sebelum dan sesudah dienkapsulasi menggunakan pati-CMC (*carboxymethylcellulose*).

## METODOLOGI PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah corong pisah, jangka sorong, pipet mikro, autoklaf, bunsen, cawan petri, seperangkat alat gelas, seperangkat alat *evaporation*, *laminar air flow* (LAF), spektrofotometer UV-Vis *double beam* tipe *Thermo Spectronic* merk *Genesys* dan seperangkat alat *freeze drying* merk *Labconco*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol (CH<sub>3</sub>OH), n-heksana (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>), etil asetat (CH<sub>3</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>), amoniak (NH<sub>4</sub>OH) (Merck), DPPH (*2,2-diphenyl-1-picryl hydrazil*), asam askorbat (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) (Merck), *starch* (Merck), CMC (*Carboxymethylcellulose*), *tween-80*, media *Nutrient Agar* (NA) (Merck), media *Nutrient Broth* (NB) (Merck), mikroba uji (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*) dan buah asam kandis.

### Prosedur Kerja

#### Ekstraksi

Sebanyak 2 kg serbuk kering buah asam kandis dimaserasi dengan pelarut metanol pada suhu ruang selama 3x24 jam. Maserat yang diperoleh, diuapkan dengan *rotary evaporator*, sehingga diperoleh ekstrak kasar metanol. Ekstrak kasar metanol yang diperoleh kemudian dipartisi menggunakan n-heksana dan etil asetat. Fraksi-fraksi yang diperoleh selanjutnya dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* dan ditentukan persen rendemen masing-masing fraksi. Fraksi etil asetat yang diperoleh selanjutnya dienkapsulasi.

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{massa ekstrak kental}}{\text{massa awal}} \times 100\%$$

#### Enkapsulasi

Enkapsulasi yang dilakukan mengacu pada metode Fitriana *et al.* (2014) dan Nugraheni *et al.* (2015) dengan adanya sedikit modifikasi. Fraksi etil asetat buah asam kandis dienkapsulasi menggunakan formulasi penyalut Pati-CMC (1:3 % w/v) terhadap pelarut dan fraksi yang digunakan sebesar 20% (b/b) terhadap penyalut. Larutan tersebut selanjutnya ditambahkan sebanyak 0,3 ml amoniak (NH<sub>4</sub>OH) dan dihomogenkan. Proses enkapsulasi dilakukan menggunakan *freeze drying* selama 3x24 jam.

#### Uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode *2,2-difenil-1-pikril-hidrazil* (DPPH) yang mengacu pada metode Padmanabhan dan Jangle (2012) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 2 mL larutan asam askorbat (2, 4, 6, 8 dan 10 ppm), larutan fraksi etil asetat (50, 100, 150 dan 200 ppm) dan enkapsulat fraksi etil asetat (100, 500, 750, dan 1000 ppm) dicampurkan dengan 2 mL larutan DPPH 0,002%. Campuran tersebut kemudian disimpan dalam ruangan gelap selama 15 menit pada temperatur ruang dan diamati absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Persen inhibisi sampel ditentukan dengan rumus:

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{A. \text{Kontrol} - A. \text{Sampel}}{A. \text{Kontrol}} \times 100\%$$

#### Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri mengacu penelitian Valgas *et al.* (2007). Sumur dengan diameter 7 mm dibuat menggunakan *punch* pada media NA, kemudian sejumlah inokulum bakteri uji disebar. Selanjutnya, sumur diisi dengan sampel uji dengan variasi konsentrasi fraksi etil asetat (1; 2; 3; 4; 5; 6 mg/sumur), enkapsulat (0,3; 0,4; 0,45; 0,5; 0,6; 0,75; 0,8; 1 mg/sumur) dan

diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat yang diperoleh selanjutnya diukur dan dicatat.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstraksi

Proses maserasi pada penelitian ini diperoleh sebanyak 766,66 gram ekstrak metanol berwarna merah kecoklatan dengan persen rendemen yang diperoleh sebesar 38,33%. Selanjutnya 556,5 gram ekstrak kental metanol dipartisi secara bertahap menggunakan dua pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu n-heksana dan etil asetat. Hasilnya diperoleh massa dan persen rendemen untuk setiap fraksi yang ditunjukkan oleh Tabel 1, dimana persen rendemen diperoleh berdasarkan perbandingan massa fraksi dengan massa ekstrak metanol yang digunakan dalam proses fraksinasi. Fraksi etil asetat yang diperoleh selanjutnya dilanjutkan pada proses enkapsulasi.

Tabel 1. Massa dan Persen Rendemen Hasil Fraksinasi Ekstrak Metanol

Fraksi	Massa (gram)	Persen rendemen (%)
n-heksana	14,63	2,63
Etil Asetat*	73,67	13,24
Metanol	301,84	54,24

Ket.: \*= fraksi yang dilanjutkan pada proses enkapsulasi

### Enkapsulasi

Proses enkapsulasi dilakukan dengan menggunakan fraksi etil asetat sebagai bahan inti, sedangkan pati-CMC sebagai bahan penyalut. Formulasi antara pati dan CMC yang digunakan mengacu pada formulasi optimum yang dihasilkan dari penelitian Nugraheni *et al.*, (2015) yaitu pada formulasi 1:3 pati dan CMC, dimana meningkatnya konsentrasi CMC pada formula tersebut selain sebagai penguat ikatan bahan penyalut, juga mengakibatkan struktur gelnya menjadi lebih kuat.



Gambar 1. Enkapsulat fraksi etil asetat Buah Asam Kandis

Hasilnya diperoleh enkapsulat berwarna coklat kemerahan (Gambar 1) yang sangat ringan menyerupai gabus, larut dalam pelarut air, namun tidak larut dalam pelarut organik dan bersifat higroskopis. Menurut Hariadi (2013), produk yang dihasilkan dari proses *freeze drying* mempunyai sifat sangat higroskopis (mudah menyerap air), sehingga pengemasan enkapsulat harus diperhatikan agar mampu melindungi produk dari kemungkinan menyerap air.

### Aktivitas Antioksidan

Pengukuran penurunan intensitas warna DPPH dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm, yang merupakan panjang gelombang maksimum pada pengukuran DPPH awal. Penurunan warna DPPH terjadi akibat adanya reaksi peredaman gugus radikal oleh bahan aktif, sehingga reaksi radikal dapat dihambat. Hubungan antara

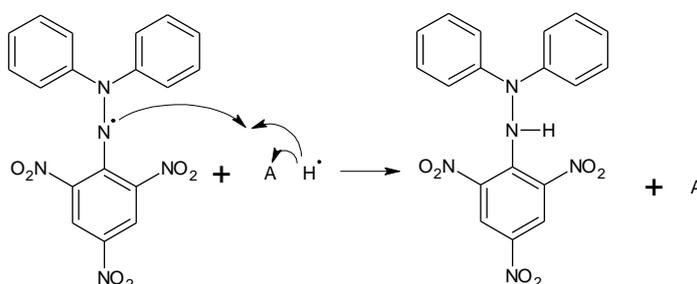
persen inhibisi dan konsentrasi selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai  $IC_{50}$ , dimana hasilnya ditunjukkan oleh Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Perhitungan  $IC_{50}$  Sampel dan Kontrol Positif

Jenis Larutan	Nilai $IC_{50}$ (ppm)
Asam Askorbat	7,792
Fraksi Etil Asetat	37,883
Enkapsulat	359,225

Berdasarkan pada hasil perhitungan  $IC_{50}$ , fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat jika dibandingkan dengan enkapsulat dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 37,883 ppm. Namun aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dan enkapsulat masih lebih lemah dibandingkan asam askorbat yang memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 7,792 ppm. Cahyaningrum (2014) melaporkan ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak etanol yang tersalut hidroksi propil metil selulosa (HPMC), hal tersebut turut dipengaruhi oleh banyaknya senyawa alfa-mangostin pada enkapsulat.

Fenolik, flavonoid dan alkaloid merupakan ketiga senyawa aktif ini yang mempengaruhi aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh fraksi etil asetat dan enkapsulat (Ardiningsih *et al.*, 2012). Menurut Petrina *et al.* (2017), senyawa yang mengandung gugus OH akan memecah menghasilkan  $O^-$  dan  $H^+$ , dimana gugus hidroksil ini dilepas dan bereaksi dengan radikal bebas DPPH, sehingga dapat meredam radikal bebas DPPH dan membentuk 1,1-difenil-2-dipikrilhidrazin (DPPH-H). Maka dapat disimpulkan bahwa semakin banyak gugus hidroksil yang dimiliki oleh senyawa aktif, semakin besar pula kemampuan senyawa aktif tersebut dalam meredam aktivitas radikal bebas. Berikut reaksi peredaman radikal bebas oleh senyawa antioksidan (Sayuti dan Rina, 2015):



Gambar 2. Reaksi radikal DPPH dengan antioksidan

### Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri pada penelitian ini dilihat berdasarkan pada besarnya zona hambatan yang dihasilkan oleh larutan uji terhadap pertumbuhan bakteri uji, dimana pengamatan dilakukan setelah 24 jam larutan uji dimasukkan dalam sumur. Hasilnya diperoleh zona hambat di sekitar sumur yang ditunjukkan oleh Tabel 3 dan 4.

Tabel 3. Nilai Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) $\pm$ SD Fraksi Etil Asetat Terhadap Bakteri *S.aureus* dan *P. aeruginosa*

Bakteri Uji	Konsentrasi (mg/sumur)					
	1	2	3	4	5	6
<i>S. aureus</i>	9,65 $\pm$ 0,75	9,72 $\pm$ 0,70	10,71 $\pm$ 0,89	12,99 $\pm$ 1,40	14,30 $\pm$ 2,07	18,39 $\pm$ 6,84
<i>P. aeruginosa</i>	12,15 $\pm$ 1,12	12,37 $\pm$ 0,44	11,93 $\pm$ 0,05	13,67 $\pm$ 4,46	14,43 $\pm$ 1,64	14,54 $\pm$ 0,64

Keterangan: nilai zona hambat dalam mm $\pm$ SD, dengan tiga kali pengukuran

Tabel 4. Nilai Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) $\pm$ SD Enkapsulat Terhadap Bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa*

Konsentrasi (mg/sumur)	Zona Hambat (mm) $\pm$ SD	
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
0,3	-	11,55 $\pm$ 1,46
0,4	9,58 $\pm$ 0,24	12,00 $\pm$ 0,90
0,45	-	13,05 $\pm$ 0,88
0,5	-	13,36 $\pm$ 1,71
0,6	-	12,83 $\pm$ 0,37
0,75	-	13,33 $\pm$ 1,32
0,8	-	12,86 $\pm$ 0,21
1	-	12,58 $\pm$ 3,10

Berdasarkan hasil yang diperoleh (Tabel 3 dan 4), dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat dan enkapsulat mampu menghambat pertumbuhan keseluruhan bakteri uji. Fraksi etil asetat mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *P.aeruginosa* pada keseluruhan konsentrasi dengan konsentrasi tertinggi yaitu 6 mg/sumur, dimana diameter zona hambat yang diperoleh sebesar 18,385 mm pada bakteri *S.aureus* dan 14,535 mm pada bakteri *P. aeruginosa*. Hasil yang berbeda ditunjukkan oleh enkapsulat (Tabel 4), dimana enkapsulat mampu menghambat bakteri pada konsentrasi yang lebih kecil dibandingkan dengan fraksi. Enkapsulat mampu menghambat pada konsentrasi tertinggi yang berbeda-beda, yaitu pada bakteri *S.aureus* dihambat pada konsentrasi 0,4 mg/sumur dengan diameter zona hambat sebesar 9,58 mm dan bakteri *P.aeruginosa* pada konsentrasi 0,5 mg/sumur dengan diameter 13,36 mm. Menurut Davis dan Stout (1971), kriteria aktivitas antibakteri dapat digolongkan dalam 4 kelompok yaitu sangat kuat dengan diameter hambatan lebih dari 20-20 mm, kuat dengan diameter 20-10 mm, sedang dengan diameter 10-5 mm dan lemah dengan diameter 5 sampai dengan kurang dari 5 mm. Berdasarkan pernyataan tersebut dapat dipastikan bahwa fraksi etil asetat dan enkapsulat secara keseluruhan memiliki aktivitas antibakteri yang kuat.

Perbedaan struktur dinding sel masing-masing bakteri sangat mempengaruhi aktivitas antibakteri pada senyawa aktif. Menurut Jawetz *et al* (2005), bakteri Gram positif memiliki komposisi dinding sel yang lebih sederhana dibandingkan dengan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif pada umumnya tersusun atas struktur peptidoglikan, sedikit lipid dan mengandung polisakarida yang merupakan asam polar yang larut dalam air dan berfungsi sebagai transport ion positif untuk keluar dan masuk. Bakteri Gram negatif lebih banyak mengandung lipid, sedikit peptidoglikan, membran bilayer sel dan bersifat non-polar. Sehingga dapat disimpulkan bahwa bahan aktif akan lebih mudah menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dibandingkan dengan bakteri Gram negatif. Namun berdasarkan pada penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil bahwa enkapsulat lebih aktif menghambat bakteri Gram negatif dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Sehingga dapat disimpulkan bahwa setelah proses enkapsulasi, sifat antibakteri fraksi etil asetat meningkat.

## SIMPULAN

Berdasarkan pada penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat sebelum dienkapsulasi memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 37,883 ppm, sedangkan enkapsulat memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 359,225 ppm. Aktivitas antibakteri fraksi etil asetat sebelum dienkapsulasi aktif menghambat pertumbuhan dua bakteri uji yaitu *S.aureus* dan *P.aeruginosa* pada rentang konsentrasi 1-6 mg/sumur, sedangkan enkapsulat hanya aktif menghambat bakteri *P. aeruginosa* pada rentang konsentrasi 0,3-1,0 mg/sumur.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Ardiningsih, P.; Sumarni; Risa, N. dan Afghani, J., 2012, Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Sub Fraction Asam Kandis (*Garcinia dioica* Blume), *Journal of Pharmaceutical Science*, 2: 172-174.
- Cahyaningrum, L. P., 2014, Perbandingan Stabilitas Antioksidan Antara Ekstrak Etanol 50% Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Dengan Bentuk mikroenkapsulatnya Menggunakan Metode DPPH, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta (Skripsi).
- Davis, W.W. dan T.R. Stout, 1971, Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay, *Journal of Microbiology*, 22: 659-665.
- Fitriana, N.; Puji, A. dan Afghani, J., 2014, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Asam Kandis (*Garcinia dioica* Blume) yang Terenkapsulasi Maltodektrin, *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 3: 52-56.
- Hariadi, P., 2013, Freezer Drying Technology: For Better Quality and Flavor of Dried Products., *Food Review Indonesia*, 8:52-57.
- Jawetz; Melnick dan Adelberg's, 2005, Mikrobiologi kedokteran, Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E.B., Mertaniasih, N.M., Harsono, S., dan Alimsardjono, L. (alih bahasa), Salemba Medika, Jakarta.
- Nugraheni, A.; Nanang, Y. dan Novi, S., 2015, Optimasi Formula Mikroenkapsulasi Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan Penyalut Berbasis Air. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 5: 98-105.
- Padmanabhan, P. dan Jangle, S.N., 2012, Evaluation of DPPH Radical Scavenging Activity and Reducing Power of Four Selected Medicinal Plants and Their Combinations, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 4, 2: 143-146.
- Petrina, R.; Andi, H. A. dan Harlia, 2017, Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Kulit Biji Pinang Sirih (*Areca catechu* L.), *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 6:70-77.
- Ritthiwigrom, T.; Surat, L. dan Stephen, G.P., 2013, Chemical Constituents and Biological Activities of *Garcinia cowa* Roxb., *Journal Science and Technology*, 7: 212-231.
- Sayuti, K. dan Rina, Y., 2015, Antioksidan Alami dan Sintetik, Andalas University Press, Padang.
- Tensiska; Nurhadi, B. dan Isfron, A. F., 2012, Kestabilan Warna Kurkumin Terenkapsulasi dari Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) Dalam Minuman Ringan dan Jelly Pada Berbagai Kondisi Penyimpanan, *Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*, 14: 198-206.
- Tursiman; Puji, A. dan Risa, N., 2012, Total Fenolik Fraksi Etil Asetat dari Buah Asam Kandis (*Garcinis dioica* Blume), *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 1: 45-48.
- Valgas, C.; Souza, S.M.; Smania E.F.A, dan Smania, A., 2007, Screening Methods to Determine Antibacterial Activity of Natural Products, *Journal Microbiol.*, 38:369-380.
- Wahyuni, F. S.; Suci, S. dan Yufri, A., 2011, Cytotoxic Compounds from The Leaves of *Garcinia cowa* Roxb., *Journal Applied Pharmaceutical Science*, 5:6-11.