

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BUAH ASAM KANDIS (*Garcinia diocia* Blume) YANG TERENKAPSULASI MALTODEKSTRIN

Nurma Fitriana^{1*}, Afghani Jayuska¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi,

*email: nurma_fitriana45@yahoo.com

ABSTRAK

Buah asam kandis (*Garcinia diocia* Blume) memiliki aktivitas antioksidan dan antimikroba yang berpotensi sebagai pengawet alami ikan segar. Penggunaan ekstrak buah tersebut memiliki kelemahan cepat rusak dan waktu simpan yang pendek, sehingga diperlukan enkapsulasi untuk mencegah kerusakan dan memperpanjang masa simpan. Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak dan enkapsulat etanol buah asam kandis, dengan menggunakan metode difusi sumur. Ekstrak etanol dan enkapsulatnya dapat menghambat 10 bakteri uji. Nilai KHM ekstrak etanol sebesar 0,5mg/sumur untuk semua bakteri uji (*Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophilla*, *Salmonella* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Vibrio cholerae*), sedangkan enkapsulatnya memiliki nilai KHM 1,5mg/sumur untuk 6 bakteri uji (*A. hydrophila*, *E. coli*, *S. Aureus*, *K. pneumoniae*, *Salmonella* sp., *C. Freundii*) dan 2,5 mg/sumur untuk 4 bakteri uji (*B. subtilis*, *B. cereus*, *V. cholerae*, *P. aeruginosa*). Ekstrak etanol pada konsentrasi 1,5 mg/sumur bersifat bakterisida terhadap bakteri *S. Aureus* dan bersifat bakteristatik terhadap 9 bakteri uji lainnya, sedangkan enkapsulatnya bersifat bakteristatik terhadap semua bakteri uji. Ekstrak etanol dan enkapsulatnya memiliki aktivitas antibakteri.

Kata Kunci : Buah asam kandis (*Garcinia diocia* Blume), enkapsulasi, antibakteri.

PENDAHULUAN

Asam kandis (*G. diocia* Blume), termasuk ke dalam tanaman genus *Garcinia* yang tersebar di daerah tropis Asia. Buahnya digunakan secara luas sebagai penyedap masakan oleh masyarakat Melayu. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap genus *Garcinia*, diketahui bahwa senyawa aktif terbesar adalah golongan santon (Yu *et al.*, 2010).

Buah asam kandis (*G. diocia* Blume) berdasarkan penelitian sebelumnya diketahui mengandung metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antimikroba dan antioksidan (Ardiningsih *et al.*, 2012 dan Tursiman dkk., 2012). Fraksi etil asetatnya pada konsentrasi 3.000 µg/ml dan konsentrasi 1.600 µg/ml yang dikombinasi dengan garam dapur 15%, mampu mengawetkan ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) utuh segar hingga 18 jam selama penyimpanan suhu ruang (25-28°C) dan 15 hari selama penyimpanan suhu dingin (5-10°C). Pengujian fitokimia fraksi tersebut mengandung metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, fenolik dan saponin (Rudiansyah, 2012). Ardiningsih *et al.* (2012) melaporkan bahwa fraksi etil asetat buah asam kandis memiliki aktivitas antimikroba terhadap 11 mikroba pembusuk makanan yaitu *B. subtilis*, *S. aureus*, *Candida albicans*, *B. cereus*, *Listeria monositogenes*, *Bacillus* sp., *Enterobacter* sp,

K. pneumoniae, *Salmonella* sp., *E. Coli*, dan *V. Cholera*.

Buah asam kandis bisa dimanfaatkan sebagai bahan pengawet alami ikan segar, karena pada buah tersebut mengandung metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri. Teknik pengawetan secara kimia memanfaatkan kemampuan antimikroba, inhibitor enzim, serta aktivitas antioksidan pada ekstrak (Gortzi *et al.*, 2007). Namun, sediaan dalam bentuk ekstrak memiliki kelemahan diantaranya adalah waktu simpan yang pendek dan rentan terhadap kerusakan. Salah satu metode upaya untuk mencegahnya yaitu dengan cara enkapsulasi.

Metode enkapsulasi dapat meningkatkan bioaktivitas antimikroba dan aktivitas antioksidan (Gortzi *et al.* 2007 dan Sanchez *et al.*, 2010). Enkapsulasi bertujuan melindungi senyawa aktif dari degradasi yang dapat membentuk senyawa beracun dan memperpanjang umur simpan dari pengaruh lingkungan (Anal and Singh, 2007). Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan enkapsulasi ekstrak etanol buah asam kandis untuk mengetahui aktivitas antibakterinya.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf, *laminar air flow*, pipet mikro, pompa vakum, *shaker incubator*, neraca analitik, pipet mikro, seperangkat alat gelas, seperangkat alat evaporasi, dan *freeze drying* Labconco 800-522-7658.

Bahan-bahan yang digunakan adalah sampel buah asam kandis, akuades (H_2O), *nutrient agar* (NA), *nutrient broth* (NB), glukosa ($C_6H_{12}O_6$), etanol (CH_3CH_2OH), maltodekstrin, tetrasiklin dan mikroba uji (*K. pneumoniae*, *C. freundii*, *S. aureus*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *A. hydrophilla*, *Salmonella. sp*, *P. aeruginosa*, dan *V. cholerae*).

Metode

Preparasi Sampel

Serbuk kering daging buah asam kandis sebanyak 1,5 kg maserasi dengan pelarut etanol pada suhu ruang. Proses maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam. Ekstrak disaring, dan maserat yang diperoleh selanjutnya diuapkan dengan *rotary evaporator*, sehingga diperoleh ekstrak kasar etanol.

Enkapsulasi

Enkapsulasi yang dilakukan pada penelitian ini mengacu metode (Baranauskiene *et al.*, 2006). Ekstrak etanol buah asam kandis yang diperoleh sebelumnya dicampurkan dengan maltodekstrin, dengan formulasi penyalut 30 % (w/v) terhadap pelarut, dan ekstrak 20 % (w/w) terhadap penyalut, selanjutnya dilakukan penghomogenan menggunakan dengan kecepatan 1800 rpm selama 10 menit, dibekukan dalam *freezer*. Proses enkapsulasi dengan *freeze drying* selama 2 x 24 jam.

Uji Aktivitas Antibakteri

Skrining aktivitas antibakteri adalah metode difusi agar menggunakan sumur mengacu Valgas *et al.*, (2007). Pengujian aktivitas antibakteri sampel dilakukan dengan media agar. Kultur mikroba uji disebar pada media NA yang telah dibuat sumur. Sampel dengan variasi konsentrasi (10; 7,5; 5; 2,5; 1,5; 0,5 mg/ml), variasi konsentrasi yang dimasukkan ke dalam sumur, masing-masing sebanyak 20 μ l. Semua pekerjaan dilakukan dalam kondisi aseptik. Cawan petri diinkubasi selama 1 hari pada suhu ruang. Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat disekitar sumur. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dengan ketelitian

0,05 mm dan dilanjutkan perhitungan KHM, data yang diperoleh dianalisis menggunakan SPSS.

Uji Bakterisida dan Bakteristatik

Metode uji Bakterisida dan bakteristatik mengacu pada Syamsir, dkk (2001). Uji dilakukan dengan menggoreskan ose pada zona hambat hasil uji aktivitas antibakteri kemudian digoreskan pada media NA baru, cawan petri diinkubasi selama 1 hari pada suhu ruang. Media yang tumbuh bakteri uji menunjukkan ekstrak etanol dan enkapsulat bersifat bakteristatik. Media yang tidak ditumbuhi bakteri uji menunjukkan ekstrak etanol dan enkapsulat bersifat bakterisida.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Ekstraksi buah asam kandis dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Etanol dapat merusak dinding sel pada sampel sehingga senyawa yang bersifat polar ataupun non polar dapat terlarut dalam etanol. Selama proses maserasi terjadi proses difusi (Basset *et al.*, 1994). Rendemen ekstrak kasar yang diperoleh sebesar 12,466 %. Ekstrak kasar yang diperoleh berupa cairan kental berwarna coklat kemerahan.

Enkapsulasi

Preparasi sampel dilakukan dengan dua variasi yaitu enkapsulasi maltodekstrin (tanpa ekstrak) yang digunakan sebagai kontrol negatif dan enkapsulasi ekstrak asam kandis. Rendemen enkapsulat ekstrak etanol buah asam kandis yang diperoleh 91,72% (w/w), sedangkan enkapsulat kontrol negatifnya sebesar 92,59% (w/w). Hal ini sesuai dengan pernyataan Hustiany (2006), dimana jumlah penyalut berbanding lurus dengan besar produk enkapsulat. Meskipun demikian, konsep tersebut bertolak belakang dengan Young *et al.* (1993), semakin tinggi konsentrasi penyalut terhadap ekstrak atau inti maka akan berbanding terbalik nilai rendemen yang dihasilkan, yang dikarenakan viskositas bahan yang akan dikeringkan semakin tinggi. Produk (gambar 1. a dan b) yang dihasilkan masing-masing berwarna merah pucat dan putih, bersifat higroskopis, larut dalam air, tidak larut dalam pelarut organik (etanol), serbuknya berupa kristal amorf yang sangat ringan).

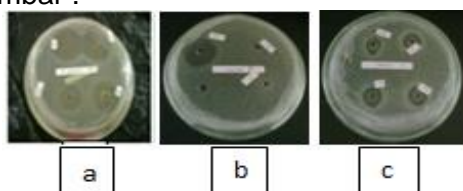


Gambar 1. (a) Hasil Enkapsulasi Ekstrak Asam Kandis (b) Hasil enkapsulasi Maltodekstrin

Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan enkapsulat buah asam kandis dilakukan dengan difusi sumur pada beberapa variasi konsentrasi terhadap 10 bakteri uji. Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak etanol buah asam kandis dapat menghambat semua bakteri uji, baik bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif dengan zona hambat yang lebih besar dibandingkan enkapsulatnya (Tabel 1).

Berdasarkan hasil yang diperoleh aktivitas antimikroba ekstrak etanol buah asam kandis tergolong pada spektrum luas atau mampu menghambat bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Zona hambat ekstrak terhadap bakteri *B. Cereus*, kontrol terhadap bakteri *Salmonella sp.*, dan enkapsulat terhadap *S. aureus* seperti pada gambar :



Gambar 2. Zona hambat (a) ekstrak *B. Cereus* (b) kontrol terhadap bakteri *B. Cereus* (c) enkapsulat terhadap *B. Cereus*.

Enkapsulat ekstrak etanol buah asam kandis juga dapat menghambat 10 bakteri uji. Hasil rata-rata diameter zona hambat cenderung lebih kecil dari diameter zona hambat ekstrak (Tabel 2). Gortzi *et al.* (2007) dan Sa´nchez *et al.* (2010), melaporkan aktivitas antibakteri enkapsulat cenderung mengalami peningkatan dari ekstrak. Hal ini terjadi karena pada konsentrasi sama, kandungan bioaktif pada enkapsulat lebih sedikit dibandingkan ekstrak. Semakin besar konsentrasi ekstrak pada enkapsulat akan berbanding lurus dengan aktivitas antibakteri (Baranauskiene *et al.*, 2006 dan Sa´nchez *et al.*, 2010). Rata-rata diameter zona hambat bakteri ekstrak dan enkapsulat yang diperoleh lebih besar dari 20 mm, termasuk aktivitas antimikroba yang sangat kuat (Davis and Stout 1971). Rata-rata diameter zona bening pada bakteri Gram positif lebih besar dibandingkan diameter Gram negatif, dikarenakan adanya perbedaan susunan dinding selnya (Jawetz *et al.*, 2005).

Penelitian lain melaporkan bahwa ekstrak etanol kulit buah manggis (*G. mangostana* Linn) pada konsentrasi 10% menghasilkan diameter zona hambat 11 mm terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *E. coli* (Poeloengan dan Praptiwi, 2010). Serbuk dari kulit *G. Mangostana* Linn aktif terhadap bakteri *S. aureus*, *Micrococci*, *S. albus* diameter zona hambat berturut-turut adalah 8, 8, dan 9 mm pada konsentrasi 0,5 mg/sumur (Priya *et al.*, 2010). Ekstrak kasar etanol buah asam kandis (*G. dioica* Blume) memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kuat dibandingkan *Garcinia* spesies lain.

Tabel 1 Nilai Rata-rata diameter Zona Hambat Ekstrak

Bakteri Uji	Konsentrasi Ekstrak (%)					
	1	0,75	0,5	0,25	0,15	0,05
Zona hambat Bakteri (mm)						
<i>A. hydrophila</i>	30,085	28,610	28,534	27,779	17,244	10,409
<i>E. coli</i>	25,363	25,044	25,265	17,754	17,016	11,444
<i>B. substilis</i>	23,848	25,574	25,269	25,559	16,335	9,909
<i>S. aureus</i>	24,735	23,822	20,404	19,429	18,508	14,779
<i>B. cereus</i>	28,754	27,508	26,904	22,959	16,179	14,510
<i>K.pneumoniae</i>	22,822	23,878	20,364	19,469	11,394	12,054
<i>Salmonella .sp</i>	21,629	21,891	21,560	20,954	17,119	14,441
<i>V. cholera</i>	25,272	21,991	22,524	21,389	15,624	15,185
<i>C. freundii</i>	28,804	28,789	29,243	26,209	22,212	13,103
<i>P. aeruginosa</i>	27,704	26,708	30,004	26,329	17,793	10,723

Tabel 2. Nilai Rata-rata Diameter Zona Hambat Enkapsulat

Bakteri Uji	Konsentrasi Enkapsulat (%)					
	1	0,75	0,5	0,25	0,15	0,05
	Zona hambat Bakteri (mm)					
<i>A. hydrophila</i>	17,747	19,327	13,786	9,307	8,053	0
<i>E. coli</i>	11,152	10,174	11,621	8,809	7,203	0
<i>B. substilis</i>	14,195	12,67	13,713	12,321	0	0
<i>S. aureus</i>	16,208	15,621	13,484	13,44	13,094	0
<i>B. cereus</i>	11,528	12,454	9,115	9,452	0	0
<i>K. pneumoniae</i>	14,393	13,296	9,578	7,584	6,994	0
<i>Salmonella .sp</i>	12,577	11,584	10,536	10,634	3,178	0
<i>V. cholera</i>	16,39	15,946	15,796	12,165	0	0
<i>C. freundii</i>	19,566	17,898	16,359	13,334	9,328	0
<i>P. aeruginosa</i>	11,603	8,803	9,433	11,658	0	0

Berdasarkan hasil uji statistik *analysis of variance* (ANOVA) ($P= 0,05$), pengujian sampel konsentrasi ekstrak dan enkapsulat (10; 7,5; 5; 2,5; 1,5; 0,5 mg/Lsumur) memberikan pengaruh terhadap besar diameter zona hambat bakteri, dengan nilai signifikasinya $0,000 < P$. Pemberian konsentrasi ekstrak dan enkapsulat terhadap masing-masing bakteri uji tidak berpengaruh atau tidak berbeda nyata terhadap besar diameter zona hambat, dibuktikan dengan nilai signifikasinya berturut-turut $0,453 > P$ dan $0,747 > P$ dengan kepercayaan 95%.

Nilai KHM merupakan konsentrasi terkecil ekstrak yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba uji. Nilai KHM ekstrak etanol buah asam kandis pada konsentrasi 0,5 mg/sumur untuk semua bakteri uji, enkapsulat buah asam kandis pada konsentrasi 1,5 mg/ sumur dan 2,5 mg/sumur.

Penelitian lain menunjukkan hasil nilai KHM *G. Mangostana* Linn, *S. aureus* 0,2 mg/sumur, *S. albus* dan *Micrococci* sebesar 0,05 mg/sumur (Priya et al., 2010). Ekstrak etanol buah asam kandis (*G. diocia* Blume) memiliki nilai KHM yang lebih besar dibandingkan *G. mangostana* Linn. Ekstrak etanol buah asam kandis memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dari enkapsulatnya.

Uji Bakteristatik dan Bakterisida

Ekstrak etanol buah asam kandis pada konsentrasi 1,5 mg/sumur bersifat bakterisida yaitu pada bakteri *S. aureus*, dan selebihnya bersifat bakteristatik. Enkapsulatnya bersifat bakteristatik pada bakteri *A. hidro*, *C. freundii*, *K. pneumoniae*,

Salmonella, *E. Coli*, *S. aureus* pada konsentrasi 1,5 mg, dan pada tiga bakteri uji lainnya tidak dilakukan uji karena tidak menghambat bakteri uji. Enkapsulat pada konsentrasi 0,5 mg/sumur tidak menghambat semua bakteri uji (Tabel 3). Hasil tabel menunjukkan ekstrak dan enkapsulat bersifat bakteristatik terhadap semua bakteri uji, kecuali ekstrak bersifat bakterisida terhadap *S. aureus*.

Tabel 3. Hasil Uji Bakteristatik dan Bakterisida.

Bakteri Uji	Ekstrak	Enkapsulat
<i>A. hydrophila</i>	+	+
<i>V. cholerae</i>	+	TL
<i>C. freundii</i>	+	+
<i>K. pneumoniae</i>	+	+
<i>P. aerogen</i>	+	TL
<i>A. cereus</i>	+	TL
<i>B. substilis</i>	+	TL
<i>Salmonella . sp</i>	+	+
<i>E. coli</i>	+	+
<i>S. Aureus</i>	-	+

Keterangan :

+ = Tumbuh Bakteri (Bakteristatik)

- = Tidak Tumbuh bakteri (Bakterisida)

TL = Tidak dilakukan

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan ekstrak buah asam kandis (*G. diocia* Blume) dan enkapsulatnya memiliki aktivitas antibakteri terhadap 10 bakteri uji

(*K. pneumoniae*, *C. freundii*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *E. coli*, *A. hydrophilla*, *Salmonella sp.*, *P. aeruginosa*, dan *V. cholerae*). Konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak 0,5 mg/sumur dan enkapsulatnya 1,5 mg/sumur bersifat bakteristatik.

TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dikti, yang telah mendukung kegiatan penelitian ini, melalui Hibah Bersaing 2013, dengan Nomor Surat Keputusan: 6249/ UN22.13/ LK/ 2013

DAFTAR PUSTAKA

- Ardiningsih, P., Sumarni, Nofiani, R., and Jayuska, A., 2012, Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Sub Fractions Asam Kandis (*Garcinia diocia* Blume), *J. of Applied Pharmaceutical Science* Vol. 2 (12),. 172-174.
- Anal, A. K., and Singh, 2007, Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery, *J. Trends in Food Science and Technology*, (18): 240-251.
- Baranauskiene, R., Venskutonis, P. R., Dewettinck, K., Verhe, R., 2006, Properties Of Oregano (*Origanum Vulgare* L.), Citronella (*Cymbopogon Nardus* G.) And Marjoram (*Majorana Hortensis* L.) Flavors Encapsulated Into Milk Protein-Based Matrices, *J. Food Research International*, (39): 413–425
- Basset, J., Denny, R.C., Jeffrey, G.H. dan Mendham, J, 1994, Buku Ajar Vogel Kimia Analitik Kuantitatif Anorganik, Edisi Ke-4, Pudjaatmaka, A.H. dan Setiono, L. (alih bahasa), EGC, Jakarta.
- Davis, W.W. dan T.R. Stout, 1971, Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay, *J. Microbiology*, (22): 659-665.
- Gortzi, O., Lalas, S., Chinou, I., And Tsaknis, J., 2007, Evaluation Of The Antimicrobial And Antioxidant Activities Of *Origanum Dictamnus* Extracts Before And After Encapsulation In Liposomes, *J. Molecules*, (12):932-945
- Hustiany, R., 2006, Modifikasi Asilasi Dan Suksinilasi Pati Tapioka Sebagai Bahan Enkapsulasi Komponen Flavour, Institut Pertanian Bogor, Bogor, (Disertasi).
- Jawetz, Melinick, and Adelberg`s, 2005, Mikrobiologi kedokteran, (alih bahasa), Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E.B., Mertaniasih, N.M., Harsono, S., dan Alimsardjono, L., Salemba Medika, Jakarta.
- Poeloenga, M.N dan Praptiwi, 2010, Uji aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Gardnia Mangostana* Linn), *Media Litbang Kesehatan*, 20(2) : 65-69.
- Priya, V., M. Jainu, S.K. Mohan., Saraswati P.,C.S.Gopan., 2010, Antimicrobial Activity of Pericarp Extract of *Garcinia Mangostana* Linn., *International J. of Pharma Sciences and Research (IJPSR)*, Vol.1(8), 2010, 278-281
- Rudiansyah, 2012, Aktivitas Pengawetan Fraksi Etil Asetat Buah Asam Kandis (*G. Diocia* Blum) Terhadap Tingkat Kesegaran Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Universitas Tanjungpura, Kimia FMIPA, Pontianak, (Skripsi).
- Sa`nchez, A. A., Espinosa, M.E., Vazquez, E.N.O., Camberos, E.P., Vazquez, R.S., and Cervantes, E.L., 2012, Antimicrobial and antioxidant activities of Mexican oregano essential oils (*Lippia graveolens* H. B. K.) with different composition when microencapsulated in β -cyclodextrin, *Society for Applied Microbiology*, (50) : 585–590
- Syamsir, E., 2001, Mempelajari Stabilitas Aktivitas Antimikroba Ekstrak Biji Atung (*Parinoriunr Glaberimum Hassk*) Selama Penyimpanan Terhadap *Staphylococcus Aureus*, Institut Pertanian Bogor, Bogor,(Tesis).
- Tursiman, Ardiningsih, P., dan Nofiani, R., 2012, Total Fenol Fraksi Etil Asetat Dari Buah Asam Kandis (*Garcinia diocia* Blume), *JKK*, volume (1):45-48
- Valgas, C., Souza, S.M., Smania E.F.A, and Smania, A., 2007, Screening Methods to Determine Antibacterial Activity of Natural Products, *J. Microbiol.*, (38):369-380.
- Young S.L., X, Sarda, and M. Rosenberg. 1993. Microenkapsulating properties of Whey Proteins, *J.Dairy S.ci.*, (76): 2878-2885.
- Yu, C., Yang, G., Zhong, F., and He, H., 2010, Two New Prenylated Xanthenes from the Bark of (*Garcinia xanthochymus*), *Bull. Korean Chem. Soc.*, 31(11): 3418-3420.