

Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Aktivitas Antioksidan serta Antibakteri Biji Buah Pangi (*Pangium edule* Reinw)

Juranli Pangisian, Meiske S. Sangi, Maureen Kumaunang

¹Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi, Jl. Kampus Unsrat, Kleak, Manado 95115 Sulawesi Utara

Corresponding author: jpangisian99@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa fitokimia serta menentukan aktivitas antioksidan dan antibakteri dari ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air biji buah pangi. Ekstrak etanol diperoleh dengan metode maserasi kemudian difraksinasi menggunakan corong pisah untuk memperoleh beberapa fraksi. Uji fitokimia dilakukan untuk melihat kandungan senyawa metabolit sekunder diantaranya alkaloid, fenolik, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid/steroid. Dilakukan juga pengujian kandungan total fenolik menggunakan metode spektrofotometri dengan pereaksi *Folin-Ciocalteu*. Uji aktivitas antioksidan ditentukan dengan menggunakan metode DPPH dan untuk uji aktivitas antibakteri menggunakan metode *Kirby-Bauer*. Hasil analisis fitokimia menunjukkan bahwa biji buah pangi mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu fenolik, saponin, tanin dan triterpenoid. Hasil pengujian kandungan total fenolik menunjukkan fraksi air memiliki nilai tertinggi sebesar 22,69 mg/g. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ditentukan menggunakan nilai *Inhibition Concentration* (IC). Fraksi air mengandung antioksidan tertinggi dengan nilai IC_{50} 60,77 μ g/mL. Berdasarkan hasil yang diperoleh biji buah pangi memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air biji buah pangi dengan konsentrasi 20%, 40%, 60% memiliki efektivitas penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan kategori lemah.

Kata kunci: Antibakteri; Antioksidan; Fitokimia; *Pangium edule* Reinw

Analysis of Secondary Metabolite Compounds and Determination of Antioxidant and Antibacterial Activity of Pangi Seeds (*Pangium edule* Reinw)

ABSTRACT

A research to determine identify the phytochemical compounds and to determine the antioxidant and antibacterial activity of ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and water fraction of Pangi fruit seeds has been carried out. The ethanol extract was obtained by the maceration method and then fractionated using a separating funnel to obtain several fractions. Phytochemical tests were carried out to see the content of secondary metabolites including alkaloids, phenolics, flavonoids, tannins, saponins, triterpenoids/steroids. The total phenolic content was also tested using the spectrophotometric method with *Folin-Ciocalteu* reagent. The antioxidant activity test was determined using the DPPH method and the antibacterial activity was determined using the *Kirby-Bauer* method. The results of the phytochemical analysis showed that the seeds of the pangi fruit contained secondary metabolites, namely phenolic compounds, saponins, tannins and triterpenoids. The results of the total phenolic content test showed that the water fraction had the highest value of 22.69 mg/g. The results of the antioxidant activity test were determined using the *Inhibition concentration* (IC). The water fraction contained the highest IC_{50} value of 60.77 μ g/mL. Based on the results obtained, the seeds of pangi fruit have strong antioxidant activity. The results of the antibacterial activity test showed that the ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and water fraction of Pangi fruit seeds with concentrations of 20%, 40%, 60% had the effect of inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria with weak categories.

Keywords: Antibacterial; Antioxidant; Phytochemical; *Pangium edule* Reinw

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara tropis yang memiliki keanekaragaman hayati. Pemanfaatan bahan alam dalam kehidupan masyarakat Indonesia telah dilakukan secara turun-temurun untuk memenuhi kebutuhan hidup, termasuk pemanfaatannya sebagai obat-obatan alami. Tumbuhan juga berperan sebagai sumber senyawa kimia berupa hasil metabolit primer maupun metabolit sekunder. Senyawa metabolit sekunder memiliki aktivitas antioksidan alami yang berguna untuk menetralkan radikal bebas. Metabolit sekunder merupakan senyawa yang dihasilkan atau disintesis oleh tumbuhan. Golongan senyawa metabolit sekunder antara lain alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin, saponin, triterpenoid dan steroid. Skrining fitokimia merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan dengan prinsip pengujian warna menggunakan suatu pereaksi warna (Julianto, 2019).

Tumbuhan yang teridentifikasi mengandung senyawa metabolit sekunder berpotensi sebagai sumber antioksidan alami. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat memberi perlindungan terhadap tubuh manusia dengan menangkalkan radikal bebas dalam tubuh (Lai-Cheong & McGrath, 2017; Allemann & Baumann, 2008). DPPH atau *1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl* merupakan salah satu metode yang sering digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan (Ahmad *et al.*, 2012).

Tumbuhan yang memiliki kandungan metabolit sekunder juga berpotensi sebagai antibakteri, diantaranya flavonoid, alkaloid dan saponin (Mamuaja & Lumoindong, 2017 ; Mufti *et al.*, 2017; Ningrum *et al.*, 2017; Dewi *et al.*, 2014). Metode yang biasa digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri adalah metode dilusi (cair dan padat) dan difusi cakram (Novita, 2016; Balouiri *et al.*, 2016).

Pangi merupakan salah satu tumbuhan yang digolongkan sebagai jenis pohon serbaguna dikarenakan hampir semua bagian tumbuhan ini dapat dimanfaatkan seperti daun, kulit kayu, batang, biji, daging buah dan bungkil biji (Sari & Suhartati, 2015). Diketahui bahwa biji buah pangi mengandung senyawa antioksidan yang berfungsi sebagai senyawa anti kanker antara lain asam askorbat atau vitamin C, ion besi dan β -karoten. Biji buah pangi juga mengandung senyawa golongan flavonoid yang berfungsi sebagai antibakteri diantaranya asam sianida, asam hidrokarpat, asam khaulmograt, asam gorlat dan tannin (Chye & Sim, 2009).

Menurut Makagansa *et al.* (2015), ekstrak biji buah pangi menggunakan pelarut akuades mengandung senyawa fenolik dan tanin yang didasarkan pada kandungan total fenol dan tanin terkondensasi. Selain itu, ekstrak etanol 50% biji buah pangi segar mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif pada konsentrasi 40-80 mg/mL sehingga dapat digunakan sebagai pengawet ikan (Widyasari, 2006; Mamuaja dan Lumoindong, 2015).

Berdasarkan uraian di atas maka telah dilakukan pengujian tentang kandungan senyawa metabolit sekunder, aktivitas antioksidan dan aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol dan beberapa fraksi biji buah pangi.

METODE PENELITIAN

Preparasi Sampel

Buah pangi (*Pangium edule* Reinw) yang diperoleh dari Desa Kamanga Kecamatan Tompaso Biji buah pangi dicuci bersih lalu direbus pada suhu 80 °C selama 15 menit. Setelah itu, daging biji dikeluarkan dan dipotong-potong kecil. Selanjutnya ditampung pada wadah plastik yang berlubang dan dicuci pada air mengalir selama 12 jam. Kemudian irisan daging biji buah pangi ini dikeringkan pada suhu ruang selama 5 hari dengan bantuan kipas angin. Setelah kering, daging biji buah pangi di serbukkan dengan menggunakan blender, kemudian diayak dengan menggunakan ayakan 65 mesh untuk mendapatkan serbuk yang seragam. Setelah itu disimpan pada wadah tertutup sebelum diekstraksi.

Ekstraksi dan Fraksinasi

Sebanyak 500 g serbuk halus biji buah pangi diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan etanol selama 3 x 24 jam. Selanjutnya disaring dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak kental yang didapat dikeringkan dalam oven selama 2 hari pada

suhu 40°C. Sebanyak 15 g ekstrak etanol dilarutkan dalam 150 mL akuades. Larutan selanjutnya difraksinasi dengan menambahkan 150 mL n-heksana, dikocok dalam corong pisah dan didiamkan selama 15-30 menit hingga terdapat dua lapisan (n-heksana pada bagian atas dan akuades di bagian bawah). Lapisan yang terbentuk kemudian dipisahkan dan diambil lapisan n-heksana. Penambahan pelarut n-heksana dilakukan beberapa kali hingga lapisan n-heksana terlihat bening. Selanjutnya, lapisan akuades difraksinasi kembali dengan cara yang sama menggunakan pelarut etil asetat. Hasil fraksinasi diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan dimasukkan ke dalam oven pada suhu 40 °C selama 2 hari. Sehingga didapati fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air.

Analisis Senyawa Metabolit Sekunder

Analisis fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, tanin, steroid dan triterpenoid. Metode analisis yang digunakan berdasarkan pada Harborne (1987).

Pengujian Alkaloid

Sebanyak 40 mg ekstrak etanol dan hasil fraksinasi ditambahkan 2 mL kloroform dan 2 mL amonia lalu disaring. Filtrat ditambahkan 3-5 tetes H₂SO₄ pekat lalu dikocok hingga terbentuk dua lapisan. Fraksi asam diambil, kemudian ditambahkan pereaksi Mayer dan Dragendorff masing-masing 4-5 tetes. Apabila terbentuk endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid, dengan pereaksi Mayer memberikan endapan berwarna putih dan pereaksi Dragendorff memberikan endapan berwarna kuning-merah.

Pengujian Fenolik

Diambil sebanyak 50 mg larutan ekstrak etanol dan hasil fraksinasi lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 2 tetes FeCl₃ 5%. Sampel mengandung fenolik ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, ungu, hijau atau biru yang kuat.

Pengujian Flavonoid

Sebanyak 50 mg ekstrak etanol dan hasil fraksinasi ditambahkan serbuk magnesium 0,1 mg dan 0,4 mL amil alkohol dan 4 mL alkohol kemudian campuran dikocok. Sampel mengandung flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

Pengujian Saponin

Sebanyak 40 mg ekstrak etanol dan hasil fraksinasi masing-masing ditambahkan 10 mL air. Kemudian dikocok selama 1 menit. Diamati jika terbentuk busa stabil maka sampel positif mengandung saponin.

Pengujian Tanin

Diambil 1 mL ekstrak etanol dan hasil fraksinasi dengan konsentrasi 1000 µg/mL masing-masing dimasukkan ke dalam 2 buah tabung reaksi. Tabung I ditambahkan 2-3 tetes FeCl₃ 1% dan tabung II ditambahkan 2-3 tetes larutan gelatin 10%. Sampel mengandung tanin bila terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman dan endapan putih untuk larutan yang ditambahkan gelatin 10%.

Pengujian Steroid/Triterpenoid

Sebanyak 40 mg ekstrak etanol dan hasil fraksinasi ditambahkan asam asetat (CH₃COOH) glasial sebanyak 10 tetes dan 2 tetes H₂SO₄. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Steroid memberikan warna biru atau hijau, sedangkan triterpenoid memberikan warna merah atau ungu.

Penentuan Kandungan Total Fenolik

Kandungan total fenolik ditentukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu (Conde *et al.*, 1997). Sebanyak 0.15 mL larutan ekstrak etanol dan hasil fraksinasi dengan konsentrasi 1000 µg/mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0.15 mL reagen Folin-Ciocalteu 50% lalu divortex. Setelah itu ditambahkan 3 mL Na₂CO₃ 2% lalu divortex kembali.

Selanjutnya larutan diinkubasi pada ruangan gelap selama 30 menit. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm.

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode Subedi *et al.* (2012). Larutan ekstrak etanol, hasil fraksinasi dan DPPH dibuat terlebih dahulu. Ekstrak dan hasil fraksinasi sampel dilarutkan dalam etanol dan larutan DPPH dibuat dengan konsentrasi 0,4 mM dalam etanol. Larutan sampel yang telah dibuat diencerkan dengan berbagai variasi konsentrasi (25 µg/mL, 50 µg/mL, 75 µg/mL, 100 µg/mL, 125 µg/mL) dengan total volume 4 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebagai larutan uji dan dibuat juga untuk blanko. Selanjutnya, ke dalam tabung reaksi larutan uji ditambahkan 0,8 mL larutan DPPH dan diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap. Setelah 30 menit, blanko dan larutan uji diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Nilai absorbansi dari setiap variasi konsentrasi dicatat dan dihitung aktivitas penangkap radikal bebasnya dan nilai IC₅₀. Pengujian dilakukan sebanyak dua kali. Perhitungan nilai IC₅₀ dinyatakan dengan persamaan regresi linear dan perhitungan aktivitas penangkap radikal bebas dinyatakan dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{APRB \%} = \frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{blanko}}} \times 100\%$$

Keterangan :

A_{blanko} = Absorbansi DPPH

A_{sampel} = Absorbansi sampel + DPPH

Uji Aktivitas Antibakteri secara *In-Vitro*

Metode yang digunakan adalah metode Kirby-Bauer yakni metode difusi dengan cakram kertas. Larutan uji ekstrak etanol biji buah pangi dengan berbagai konsentrasi (2%, 4%, 6% dan 8%) larutan akuades (kontrol negatif), masing-masing diteteskan pada kertas cakram yang berbeda sebanyak 20 µL lalu dibiarkan beberapa menit sampai meresap. Selanjutnya diletakkan dalam cawan petri berisi media NA. Untuk larutan antibiotik (kontrol positif) langsung diletakkan ke media NA. Kemudian cawan petri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 1x24 jam. Perlakuan yang sama dilakukan pada setiap fraksi.

Pengamatan dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi. Daerah bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan anti-bakteri lainnya yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat. Diameter zona hambat diukur dalam satuan milimeter (mm) menggunakan mistar berskala dengan cara diameter keseluruhan dikurangi diameter cakram kertas 5 mm dan diambil nilai rata-rata dari data pengulangan. Penggolongan kekuatan antibakteri dari daya hambat yang diperoleh digolongkan seperti berikut: < 5 mm lemah, 5-10 mm sedang, 11-20 mm kuat, >20 mm sangat kuat (Davis and Stout, 1971).

Analisis Data

Analisis data hasil pengujian aktivitas antibakteri biji pangi dianalisa secara statistik menggunakan one way anova pada taraf kepercayaan 95%, kemudian dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan menggunakan SPSS v.21.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Fraksinasi

Hasil ekstrak yang diperoleh dari 500 g biji buah pangi dengan pelarut etanol (EE) dan fraksinasi menggunakan pelarut n-heksana (FH), etil asetat (FEA) dan air (FA) dapat dilihat pada Tabel 1.

Metode maserasi digunakan pada penelitian ini karena merupakan cara ekstraksi sederhana dengan cara merendam sampel dalam pelarut organik selama beberapa hari pada temperatur ruang. Pemilihan pelarut di dasarkan atas konsep *like dissolve like*, dimana suatu pelarut akan cenderung melarutkan senyawa yang memiliki tingkat kepolaran yang sama.

Senyawa polar akan larut dalam pelarut polar begitu juga senyawa non-polar akan larut dalam pelarut non-polar. Etanol merupakan pelarut yang sangat baik karena dapat melarutkan senyawa bersifat polar dengan sangat baik, juga sedikit dapat melarutkan senyawa non-polar. Hal ini dikarenakan etanol memiliki dua gugus dengan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu gugus hidroksil (polar) dan gugus alkil (non-polar) (Algariri *et al.*, 2013).

Tabel 1. Hasil rendemen ekstrak etanol (EE), fraksi n-heksana (FH), fraksi etil asetat (FEA) dan fraksi air (FA) biji buah pangsi.

Ekstrak	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)
EE	24,5034	4,901
FH	11,1583	74,389
FEA	1,0189	6,793
FA	0,9104	6,069

Analisis Metabolit Sekunder

Analisis senyawa metabolit sekunder biji buah pangsi menggunakan metode skrining fitokimia yang merupakan jenis pengujian secara kualitatif. Hasil yang diamati berupa perubahan warna dari sampel uji dan adanya endapan. Hasil analisis senyawa metabolit sekunder dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisis senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol (EE), fraksi n-heksana (FH), fraksi etil asetat (FEA) dan fraksi air (FA) biji buah pangsi

Metabolit Sekunder	EE	FH	FEA	FA
Alkaloid				
Pereaksi Mayer	-	-	-	-
Pereaksi Dragendorf	-	-	-	-
Fenolik	+	-	+	+
Flavonoid	-	-	-	-
Saponin	+	+	+	+
Tanin	+	+	+	+
Steroid	-	-	-	-
Triterpenoid	-	-	+	+

Berdasarkan data hasil uji senyawa fitokimia pada tabel diatas dapat dilihat bahwa biji buah pangsi mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder seperti fenolik, saponin, tanin dan triterpenoid. Hal ini menunjukkan bahwa biji buah pangsi dapat berpotensi sebagai antioksidan dan antibakteri. FA biji buah pangsi mengandung lebih banyak jenis senyawa fitokimia dibandingkan EE, FH dan FEA. FA biji buah pangsi teridentifikasi mengandung senyawa fenolik, saponin, tanin dan triterpenoid.

Fenolik merupakan senyawa bahan alam dengan ciri utama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau lebih substituen hidroksil. Senyawa fenolik bersifat polar sehingga cenderung mudah larut dalam air. Kelompok utama dari golongan senyawa ini antara lain fenol sederhana, fenil propanoid, poliketida, flavonoid serta stilben. Sebagian dari kelompok senyawa ini berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya dapat ditemui dalam vakuola sel (Ilyas, 2013). Pengujian kandungan senyawa fenolik dilakukan dengan menambahkan besi (III) klorida ($FeCl_3$) ke dalam sampel sambil melihat perubahan warna yang akan terbentuk. EE, FEA dan FA menunjukkan perubahan warna merah yang berarti adanya kandungan senyawa fenolik. Pembentukan warna pada pengujian ini merupakan hasil dari reaksi antara $FeCl_3$ dengan sampel.

Pengujian saponin menunjukkan semua sampel mengandung senyawa saponin yang ditandai dengan terbentuknya busa stabil. Saponin merupakan senyawa bersifat polar

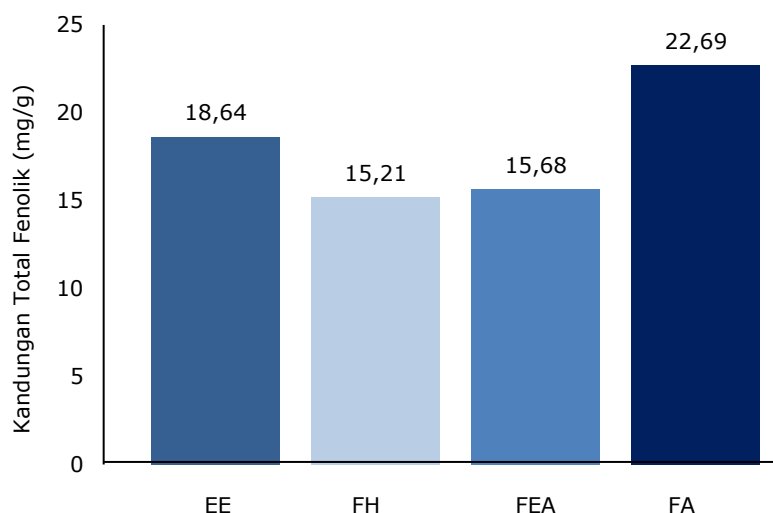
sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti air. Saponin juga dapat bersifat non-polar karena memiliki gugus hidrofob yaitu aglikon (sapogenin). Busa yang terbentuk pada pengujian saponin disebabkan karena adanya glikosida yang dapat membentuk busa dalam air dan terhidrolisis menjadi glukosa (Ningsih *et al.*, 2016). Pada pengujian ini semua ekstrak teridentifikasi mengandung senyawa saponin.

Tanin merupakan golongan senyawa polifenol. Senyawa tanin bersifat polar karena memiliki gugus hidroksil (OH). Pengujian tanin dilakukan dengan menggunakan 2 perlakuan. Uji warna dengan penambahan FeCl_3 untuk melihat perubahan warna dan penambahan larutan gelatin untuk melihat endapan yang terbentuk. Pada pengujian ini, penambahan FeCl_3 pada semua sampel tidak menunjukkan adanya perubahan warna. Tapi untuk semua sampel yang ditambahkan larutan gelatin menunjukkan adanya endapan yang terbentuk. Hal ini menunjukkan bahwa biji buah pangi mengandung senyawa tanin. Menurut Harborne (1987), terbentuknya endapan disebabkan karena senyawa tanin menggumpalkan protein dari gelatin, karena kemampuan tanin yang dapat bereaksi dengan protein membentuk kopolimer yang tidak larut dalam air.

Steroid dan triterpenoid diketahui merupakan senyawa bioaktif yang bersifat non polar. Pada pengujian ini digunakan asam asetat (CH_3COOH) dan asam sulfat (H_2SO_4) yang nantinya akan berikatan dengan molekul senyawa triterpenoid/steroid. Hasil pengujian menunjukkan bahwa FEA mengandung senyawa triterpenoid. Selain itu, FA juga menunjukkan adanya senyawa triterpenoid. Jika mengacu pada prinsip *like dissolves like* senyawa triterpenoid seharusnya hanya dapat larut dalam pelarut non polar, tapi dalam penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa triterpenoid tersebut dapat larut dalam air. Hal ini diduga disebabkan oleh gaya antar molekul yaitu gaya dipol-dipol induksian dan ikatan hidrogen. Molekul polar yang memiliki dipol permanen akan menginduksi molekul nonpolar yang tidak memiliki dipol, sehingga akan terjadi gaya elektrostatis di antara keduanya atau yang disebut gaya dipol-dipol induksi (Effendi, 2006). Gaya ini juga yang membuat senyawa triterpenoid *cycloartenol* dan *9,19-cycloanost-24-en-3-ol,acetat* dalam penelitian Balafif *et al.* (2013) menunjukkan kelarutannya terhadap air yang bersifat polar. Selain disebabkan oleh adanya gaya dipol-dipol induksi, kemungkinan suatu senyawa non-polar larut dalam pelarut polar juga dapat disebabkan oleh adanya kemampuan untuk membentuk ikatan hidrogen melalui H pada air (H_2O) dengan atom O (oksigen) pada gugus hidroksil maupun ester yang dimiliki suatu senyawa triterpenoid sehingga membuat senyawa tersebut dapat larut dalam air.

Kandungan Total Fenolik

Kandungan total fenolik dalam EE, FH, FEA dan FA dari biji buah pangi ditunjukkan dalam Gambar 1.



Gambar 1. Kandungan total fenolik ekstrak etanol (EE), fraksi n-heksana (FH), fraksi etil asetat (EA) dan fraksi air (FA) dari biji buah pangi

Kandungan total fenolik pada biji buah panggi dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat (*Gallic Acid Equivalent*). Berdasarkan Gambar 2, diketahui bahwa FA biji buah panggi memiliki kandungan total fenolik tertinggi sebesar 22,69 mg/g. Hal ini menunjukkan bahwa dalam setiap gram ekstrak FA setara dengan 22,69 mg asam galat. Selanjutnya, diikuti oleh EE, FEA, dan FH. FA memiliki kandungan total fenolik tertinggi karena senyawa fenolik bersifat polar dan cenderung larut dalam pelarut polar.

Pada pengujian kandungan total fenolik, larutan uji menunjukkan sedikit perubahan warna menjadi warna biru. Perubahan warna yang terjadi karena adanya reaksi antara senyawa fenolik dengan Folin-Ciocalteu dalam suasana basa. Pereaksi Folin-Ciocalteu mengoksidasi fenolik-hidroksi serta mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) membentuk kompleks molibdenum-tungsten atau *molybdenum blue* yang dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 750 nm. Peningkatan intensitas warna biru akan sebanding dengan jumlah senyawa fenolik yang ada dalam sampel (Alfian dan Susanti, 2012; Blainski *et al.*, 2013). Senyawa fenolik memiliki peran dalam aktivitas antioksidan karena adanya gugus hidroksil yang berfungsi sebagai penyumbang atom hidrogen ketika bereaksi dengan senyawa radikal.

Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dari biji buah panggi ditentukan dengan menggunakan metode serapan radikal bebas *1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl* (DPPH). Hasil pengujian antioksidan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengujian aktivitas antioksidan EE, FH, FEA dan FA dari biji buah panggi

Ekstrak	IC ₅₀ (µg/mL)
EE	75,65
FH	95,60
FEA	82,09
FA	60,77

Berdasarkan data pada Tabel 3, dapat dilihat bahwa nilai aktivitas antioksidan dilihat dari seberapa besar nilai IC₅₀ (*Inhibitor Concentration*). IC₅₀ merupakan parameter yang digunakan untuk menunjukkan hasil pengujian antioksidan. Nilai dari IC₅₀ menunjukkan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50% atau dapat didefinisikan juga sebagai bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%.

Menurut Molyneux (2004), kekuatan antioksidan suatu sampel dapat dibagi menjadi 5 berdasarkan nilai IC₅₀ yang diperoleh, yaitu < 50 ppm sangat kuat, 50-100 ppm kuat, 100-150 ppm (sedang), 150-200 ppm (lemah), dan > 200 ppm adalah sangat lemah. Semakin rendah nilai IC₅₀, maka semakin baik aktivitas antioksidan dalam suatu sampel. Berdasarkan penggolongan tersebut, maka dapat dilihat bahwa aktivitas antioksidan biji buah panggi tergolong kuat untuk semua ekstrak. Nilai IC₅₀ FA memiliki nilai yang lebih rendah sebesar 60,77 µg/mL diikuti dengan EE sebesar 75,65 µg/mL, FEA 82,09 µg/mL dan FH 95,60 µg/mL. Aktivitas antioksidan yang diperoleh menunjukkan hasil yang berbanding lurus dengan hasil kandungan total fenolik. Hal ini diduga kandungan total fenolik pada sampel memiliki pengaruh terhadap aktivitas antioksidan.

Aktivitas Antibakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri dianalisis secara statistik menggunakan *one way anova* kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut *duncan* untuk melihat apakah EE, FH, FEA dan FA biji buah panggi dengan masing-masing konsentrasi 20%, 40%, 60% menunjukkan perbedaan nyata (BNT) terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Hasil analisis *anova* dan uji lanjut *duncan* dapat dilihat pada Tabel 4. Berdasarkan hasil analisis uji Anova yang ditunjukkan pada Tabel 4 bahwa nilai dari P < 0,05. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan nyata antara setiap perlakuan terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan substitusi dari EE, FH, FEA dan FA biji buah panggi.

Tabel 4. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak etanol dan beberapa fraksi biji buah pangi terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Ekstrak	Perlakuan	Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri (mm) (Rata-rata ± SD)	
		Gram-positif (<i>S. aureus</i>)	Gram-negatif (<i>E. coli</i>)
Etanol	(+)	13,50 ± 1,00 ^d	14,50 ± 0 ^d
	(-)	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a
	20%	1,33 ± 0,80 ^b	1,17 ± 0,52 ^{bc}
	40%	1,25 ± 0,25 ^b	0,75 ± 0,43 ^b
	60%	3,83 ± 0,52 ^c	1,83 ± 0,52 ^c
Fraksi n-Heksana	(+)	12,00 ± 0,66 ^c	13,83 ± 0,52 ^c
	(-)	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a
	20%	1,08 ± 0,14 ^{ab}	0,83 ± 0,29 ^b
	40%	1,25 ± 0,66 ^b	1,00 ± 0,25 ^b
	60%	2,25 ± 1,09 ^b	1,25 ± 0,50 ^b
Fraksi Etil Asetat	(+)	12,00 ± 0,75 ^d	14,25 ± 0,43 ^c
	(-)	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a
	20%	0,58 ± 0,14 ^{ab}	1,25 ± 0,25 ^b
	40%	1,25 ± 0 ^b	1,42 ± 0,52 ^b
	60%	2,92 ± 1,15 ^c	1,58 ± 0,29 ^b
Fraksi Air	(+)	12,08 ± 0,14 ^d	13,50 ± 0,43 ^d
	(-)	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a
	20%	0,92 ± 0,14 ^b	1,50 ± 0,25 ^c
	40%	0,58 ± 0,29 ^{ab}	0,83 ± 0,29 ^b
	60%	3,25 ± 0,90 ^c	0,83 ± 0,38 ^b

Keterangan: (+) = Ciprofloxacin; (-) = Akuades; a.b.c.d = Huruf dibelakang angka menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$). Notasi huruf serupa berarti tidak ada perbedaan nyata pada taraf uji *Duncan* yang memiliki nilai 5%.

Berdasarkan dari hasil uji lanjut BNT dapat dilihat bahwa efek penghambatan untuk masing-masing konsentrasi di setiap sampel menunjukkan adanya perbedaan efek penghambatan tetapi juga terdapat beberapa konsentrasi pada masing-masing sampel yang efek penghambatannya dapat dikatakan sama. Berdasarkan penggolongan Davis and Stout (1971), dapat diperoleh data hasil penggolongan daya hambat dari EE, FH, FEA dan FA biji buah pangi terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* memiliki kategori penghambatan lemah.

Pada pengujian ini, kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik *Ciprofloxacin* dan untuk kontrol negatifnya adalah akuades. *Ciprofloxacin* digunakan sebagai kontrol positif karena antibiotik ini memiliki efek antibakteri yang besar karena merupakan jenis antibiotik dengan spektrum luas (*broad spectrum*) dan merupakan golongan florokuinolon yang umum digunakan untuk menghambat DNA girase (topoisomerase II) dan topoisomerase IV dalam bakteri (Chye and Sim, 2009).

KESIMPULAN

Kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air biji buah pangi *Pangium edule* Reinw yaitu fenolik, saponin, tanin dan triterpenoid. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air biji buah pangi memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC₅₀ berturut-turut sebagai berikut, fraksi air 60,77 µg/mL, ekstrak etanol 75,65 µg/mL, fraksi etil asetat 80,09 µg/mL dan fraksi n-heksana 95,60 µg/mL. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air biji buah pangi *Pangium edule* Reinw memiliki efektivitas penghambatan pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan kategori penghambatan lemah.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, R., Munim, A. and Elya, B. 2012. Study of Antioxidant Activity with Reduction of Free Radical DPPH and Xanthine Oxidase Inhibitor of The Extract *Ruellia tuberosa* Linn Leaf. *International Research Journal of Pharmacy*. **3(11)**: 66-70.
- Allemann, I. B. and Baumann, L. 2008. Antioxidants Used in Skin Care Formulations. *Skin Therapy Letter*. **13(7)**: 5-8.
- Balouiri, M., Sadiki, M. and Ibensouda, S. K. 2016. Methods for in Vitro Evaluating Antimicrobial Activity. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. **6(2)**: 71-79.
- Chye, F.Y. and Sim, K.Y. 2009. Antioxidative and Antibacterial Activities of *Pangium edule* Reinw Seeds Extracts. *International Journal of Pharmacology*. **5(5)**: 285-297.
- Davis, W. W. and Stout, T. R. 1971. Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. *Microbiology*. **22(4)**: 659-665.
- Dewi, M. K., Ratnasari, E. dan Trimuyono, G. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Majapahit (*Crescentia cujete*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu. *Lentera Bio*. **3(1)**: 51-57.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tanaman*. ITB, Bandung.
- Julianto, T. S. 2019. *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. UII, Yogyakarta.
- Lai-Cheong, J. E. and McGrath, J. A. 2017. Structure and function of skin, hair and nails. *Medicine (United Kingdom)*. **45(6)**: 347-351.
- Makagansa, C., Mamuaja, C. F. dan Mandey, L. C. 2015. Kajian Aktivitas Anti-Bakteri Ekstrak Biji Pangi (*Pangium edule* Reinw) Terhadap *Staphylococcus Aureus*, *Bacillus Cereus*, *Pseudomonas Aeruginosa* dan *Escherichia Coli* Secara In Vitro. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. **3(1)**: 16-25.
- Mamuaja, C. F. dan Lumoindong, F. 2017. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Biji Kluwek (*Pangium edule* Reinw) Sebagai Bahan Pengawet Alami Bakso Ikan Tuna. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. **20(3)**: 592-601.
- Mufti, N., Bahar, E. dan Arisanti, D. 2017. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sawo terhadap Bakteri *Escherichia coli* secara in Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*. **6(2)**: 289-294.
- Ningrum, R., Purwanti, E. dan Sukarsono. 2016. Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Batang Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) Sebagai Bahan Ajar Biologi untuk SMA Kelas X. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*. **2(3)**: 231-236.
- Novita, W. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih (*Piper Betle* L) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutans* secara in Vitro. *Jambi Medical Journal*. **4(2)**: 140-155.
- Sari, R. dan Suhartati. 2015. Pangi (*Pangium edule* Reinw.) sebagai Tanaman Serbaguna dan Sumber Pangan. *Info Teknis Eboni*. **12(1)**: 23-37.
- Subedi, A., Aimatya, M. P., Shrestha, T. M., Mishra, S. K. and Pokhrel, B. M. 2012. Antioxidant and Antibacterial Activity of Methanolic Extract of *Machilus odoratissima*. *Journal of Science Engineering and Technology*. **8(1)**: 73-80.
- Widyasari, H. E. 2006. Pengaruh Pengawetan Menggunakan Biji Picung (*Pangium edule* Reinw) Terhadap Kesegaran dan Keamanan Ikan Kembung [Tesis]. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.