

Uji Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Pangi (*Pangium edule* Reinw)

Sartika Stefany Kairupan, Sintia Tangel, Meiske Sientje Sangi, Lidya Irma Momuat*

*Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sam Ratulangi*

*Corresponding author: limomuat@unsrat.ac.id

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa fitokimia, kandungan total fenolik, aktivitas antioksidan dan aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air pada kulit buah pangi. Secara prosedur, terdapat beberapa langkah eksperimental utama. Pertama, pengujian total fenol. Kedua, uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Ketiga, uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram (Kirby-Bauer). Kandungan total fenolik tertinggi terdapat pada fraksi etil asetat yaitu sebesar 69,65 mg/g diikuti oleh ekstrak etanol 33,65 mg/g, fraksi air 26,4 mg/g dan fraksi n-heksana 16,65 mg/g. Aktivitas antioksidan golongan kuat yaitu pada fraksi n-heksana sebesar 66,365 μ g/mL dan fraksi air sebesar 62,419 μ g/mL, sedangkan golongan sangat kuat yaitu pada ekstrak etanol sebesar 49,204 μ g/mL dan fraksi etil asetat sebesar 6,695 μ g/mL. Aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol, fraksi air dan fraksi etil asetat tergolong lemah sedangkan fraksi n-heksana tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Kata kunci : Antioksidan, Antibakteri, Kulit buah pangi

Antioxidant and Antibacterial Activity Test of Pangi Fruit Peel Extract (*Pangium edule* Reinw)

Abstract

This study aimed to determine the content of phytochemical compounds, total phenolic content, antioxidant activity and antibacterial activity of ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and water fraction on pangi fruit peel. Procedurally, there are several main experimental steps. First, testing total phenol. Second, test antioxidant activity with the DPPH method. Third, test antibacterial activity by disc diffusion method (Kirby-Bauer). The highest total phenolic content was found in the ethyl acetate fraction of 69.65 mg/g followed by ethanol extract of 33.65 mg/g, water fraction of 26.4 mg/g and n-hexane fraction of 16.65 mg/g. The antioxidant activity of the strong group is in the n-hexane fraction of 66.365 μ g/mL and the water fraction of 62.419 μ g/mL, while the very strong group is in ethanol extract of 49.204 μ g/mL and the ethyl acetate fraction of 6.695 μ g/mL. The antibacterial activity in ethanol extract, water fraction and ethyl acetate fraction is relatively weak while the n-hexane fraction has no antibacterial activity.

Keywords : Antioxidant, Antibacterial, pangi fruit peel

PENDAHULUAN

Tumbuhan memproduksi senyawa-senyawa kimia sebagai hasil metabolisme. Senyawa kimia sebagai hasil metabolisme primer disebut metabolit primer yang digunakan sendiri oleh tumbuhan tersebut seperti karbohidrat, protein dan lemak. Selain itu juga menghasilkan golongan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, saponin dan tanin (Harborne, 1987). Golongan senyawa metabolit sekunder digunakan oleh tumbuhan sebagai bentuk pertahanan diri terhadap lingkungan oleh karena faktor seperti suhu, iklim, hama, penyakit tumbuhan bahkan juga memiliki kemampuan bioaktivitas yang banyak diteliti.

Skrining fitokimia merupakan tahap awal untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam simplisia atau bagian tumbuhan yang diuji. Melalui skrining fitokimia ini dapat dipelajari lebih lanjut mengenai komponen senyawa yang ditemui baik secara struktur kimianya, biosintesisnya, penyebaran secara alamiah dan fungsi biologisnya, isolasi, perbandingan senyawa kimia dari berbagai jenis tumbuhan dan bioaktivitasnya (Agustina *et al.*, 2016). Bioaktivitas yang banyak diteliti diantaranya aktivitas antioksidan dan antibakteri. Senyawa antioksidan diperlukan untuk mengatasi permasalahan akibat radikal bebas yang berasal dari dalam maupun luar tubuh. Senyawa yang berperan sebagai antioksidan alami umumnya berupa senyawa fenolik atau polifenol yang dapat berupa flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam organik polifungsional (Ayucitra *et al.*, 2011). Dengan adanya senyawa antioksidan maka senyawa radikal bebas akan berikatan dengan senyawa antioksidan membentuk molekul yang lebih stabil dan tak berbahaya (Sari *et al.*, 2013). Salah satu metode yang digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah menggunakan metode pengujian DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) karena lebih mudah, efisien, akurat, sederhana dan cepat dalam pengujiannya (Alam *et al.*, 2013). Antibakteri diperlukan untuk mengendalikan atau menghambat pertumbuhan serta aktivitas bakteri yang merugikan (patogen). Untuk mengetahui potensi bahan alam sebagai agen antibakteri, maka diperlukan metode yang tepat untuk pengujiannya. Metode uji antibakteri secara umum yaitu metode difusi cakram, dilusi dan difusi dilusi. Namun, yang paling banyak digunakan untuk uji antibakteri yaitu metode difusi (Balouri *et al.*, 2016; Nurhayati *et al.*, 2020).

Tumbuhan pangi (*Pangium edule* Reinw) tersebar di seluruh Indonesia dengan penamaan yang berbeda di berbagai daerah. Daun pangi memiliki kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin dan steroid (Pinta *et al.*, 2017). Bijinya mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin, fenol dan terpenoid (Jatmiko, 2020; Manoppo *et al.*, 2019). Daging biji pangi mengandung senyawa antioksidan seperti vitamin C dan β -karoten dan senyawa golongan flavonoid yang berfungsi sebagai antibakteri, serta asam khaulmograt, asam sianida, asam hidrokarpat, asam gorlat dan tanin (Manuhutu, 2011). Golongan senyawa metabolit sekunder yang ada pada suatu tumbuhan, umumnya terdistribusi ke seluruh bagian tumbuhan namun dengan konsentrasi yang berbeda-beda (Jumika *et al.*, 2018). Berdasarkan penelusuran literatur kulit buah pangi belum ada informasi mengenai pemanfaatannya. Selama ini kulit buah pangi hanya dibuang, sehingga perlu dilakukan penelitian.

Berdasarkan uraian diatas, maka tujuan penelitian ini adalah menganalisis aktivitas antioksidan pada kulit buah pangi dan antibakteri terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 3 bulan di Laboratorium Kimia Lanjut dan Laboratorium Farmasi Lanjut Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi, Manado.

Alat dan Bahan

Alat

Alat-alat gelas (*pyrex*), pisau, ayakan, blender/grinder, desikator, kuvet, neraca analitik, kertas saring, aluminium foil, cawan porselin, oven, *shaker*, *rotary evaporator*, spektrofotometer UV-Vis, sudip, corong pisah, vortex, penangas air, kaca arloji, stirrer, jarum ose, pinset, inkubator, cakram kertas, cawan petri, autoklaf, pipet tetes, mikropipet, mistar berskala dan pembakar spiritus.

Bahan

Kulit buah pangi (*P. edule* Reinw) yang diperoleh dari desa Kamanga Kecamatan Tompaso, etanol, n-heksana, etil asetat, aquades, kloroform, amonia, asam galat, CH_3COOH glasial, H_2SO_4 pekat, serbuk Mg, FeCl_3 , HCl, pereaksi Mayer, pereaksi

Dragendorff, gelatin, pereaksi Folin-Ciocalteu, Na₂CO₃, kristal 1,1 difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), vitamin C, bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Farmasi Lanjut, nutrient agar (NA), BaCl₂.2H₂O, NaCl dan antibiotik *Ciprofloxacin*.

Prosedur Penelitian

Preparasi sampel

Buah pangi dicuci bersih, dikupas bagian kulitnya dengan ketebalan sekitar 1-3 mm. Dikeringanginkan selama 7 hari kemudian diblender hingga berbentuk serbuk kemudian diayak dengan ayakan 65 mesh. Selanjutnya disimpan dalam wadah untuk analisa lebih lanjut.

Ekstraksi Kulit Buah Pangi

Sebanyak 750 g kulit buah pangi diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan etanol sebanyak 1200 mL selama 3 x 24 jam. Selanjutnya disaring dan dipekatkan filtratnya dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Ekstrak kental yang diperoleh dimasukkan dalam oven pada suhu 40°C selama 2 hari.

Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Pangi

Sebanyak 5 g ekstrak etanol (EE) dilarutkan dalam 50 mL aquades. Selanjutnya larutan difraksinasi dengan menambahkan 50 mL n-heksana, dikocok dalam corong pisah dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan (aquades pada bagian bawah dan n-heksana di bagian atas) kemudian dipisahkan. Pelarut n-heksana ditambahkan kembali ke lapisan aquades, dikocok dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan, lalu dipisahkan kembali. Tahap ini dilakukan kembali hingga lapisan n-heksana menjadi bening. Kemudian lapisan aquades difraksinasi kembali dengan cara yang sama menggunakan pelarut etil asetat. Hasil fraksinasi diuapkan menggunakan alat *rotary vacuum evaporator* kemudian dimasukkan dalam oven pada suhu 40°C sampai seluruh pelarutnya menguap, sehingga diperoleh fraksi n-heksana (FH), fraksi etil asetat (FEA) dan fraksi air (FA).

Penentuan Kandungan Senyawa Fenolik Total

Analisis kandungan fenolik total menggunakan metode Folin-Ciocalteu (Conde *et al.*, 1997). Prosedur pengukuran sampel dilakukan dengan cara diambil sebanyak 0,1 mL larutan EE, FH, FEA dan FA ditambahkan dengan 0,1 mL reagen Folin-Ciocalteu 50% lalu divortex. Kemudian ditambahkan 2 mL Na₂CO₃ 2 % dan divortex lalu diinkubasi pada ruangan gelap selama 30 menit. Absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 750 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (Molyneux, 2004). Ekstrak etanol dan hasil fraksinasi masing-masing dilarutkan dalam etanol dengan konsentrasi 1000 µg/mL sebagai larutan stok. Kemudian diencerkan dalam 5 seri konsentrasi (50, 100, 150, 200, 250 µg/mL) dengan total volume 5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebagai larutan uji. Larutan DPPH dibuat dengan konsentrasi 0,4 mM dalam etanol. Selanjutnya ditambahkan 1 mL larutan DPPH ke dalam masing-masing tabung reaksi larutan uji, kemudian divortex dan diinkubasi selama 30 menit. Sebagai pembanding digunakan asam askorbat (vitamin C) dengan seri konsentrasi 1, 3, 6, 9, 12 µg/mL. Kemudian, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Nilai absorbansi dari setiap variasi konsentrasi dicatat dan dihitung aktivitas penangkal radikal bebas dan nilai IC₅₀. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali. Perhitungan nilai IC₅₀ dinyatakan dengan persamaan regresi linear dan perhitungan persen inhibisi dihitung dengan rumus berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Uji Aktivitas Antibakteri secara In-Vitro

Metode yang digunakan adalah metode difusi dengan cakram kertas (Kirby-Bauer). Masing-masing cakram kertas steril dicelupkan selama ± 1 menit ke dalam larutan uji EE, FA, FEA dan FH dengan berbagai variasi konsentrasi (10%, 30% dan 50%) serta larutan antibiotik (kontrol positif) dan aquades (kontrol negatif) dengan menggunakan pinset steril (Tangapo, 2005). Kemudian diletakkan secara septik menggunakan pinset kedalam cawan petri berisi media dan bakteri uji, dengan mengatur jarak antar cakram agar tidak saling tumpang tindih pada saat terbentuknya zona bening. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Dilakukan perlakuan yang sama pada setiap bakteri uji.

Pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi selama 24 jam. Kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau substansi antibakteri ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk dalam media uji (Vandepitte *et al.*, 2005). Diameter zona bening diukur menggunakan mistar berskala (satuan milimeter). Data diperoleh dengan menghitung diameter keseluruhan zona bening yang terbentuk dikurangi diameter cakram kertas 6 mm. Kemudian diambil nilai rata-ratanya dari data pengulangan. Penggolongan kekuatan antibakteri dari daya hambat yang diperoleh digolongkan berdasarkan penggolongan Davis & Stout (1971), yaitu < 5 mm lemah, 5-10 mm sedang, 11-20 mm kuat, >20 mm sangat kuat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah pangi (*P. edule* Reinw) yang diperoleh dari desa Kamanga, Kecamatan Tompaso. Preparasi sampel dilakukan dengan mencuci buah pangi dengan air mengalir untuk membersihkan kotoran yang menempel pada kulit buahnya. Kulit buah pangi dikupas dengan ketebalan sekitar 1-3 mm untuk memisahkannya dari daging buahnya. Kulit buah pangi dikering-anginkan selama 14 hari. Tahap pengeringan bertujuan agar simplisia yang dihasilkan tidak mudah rusak karena berkurangnya kadar air dalam sampel serta menghentikan reaksi enzimatik yang dapat menurunkan mutu dari sampel (Utomo *et al.*, 2009). Sampel kering dihaluskan dengan menggunakan *blender* dan diayak dengan ayakan berukuran 65 mesh. Penghalusan sampel ini dilakukan untuk memperluas kontak permukaan dan interaksi antara simplisia dengan pelarut sehingga mempermudah pelarut menarik senyawa-senyawa yang terkandung dalam simplisia (Husni *et al.*, 2018).

Ekstraksi Kulit Buah Pangi (*P. edule* Reinw)

Serbuk simplisia kulit buah pangi dimaserasi menggunakan pelarut etanol 95% yang dilakukan secara berulang-ulang hingga pelarut etanol menjadi tidak berwarna lagi yang menandakan semua senyawa sudah terekstrak ke dalam pelarut. Etanol digunakan sebagai pelarut karena dapat melarutkan senyawa kimia yang bersifat kurang polar hingga yang bersifat polar (Suhendra *et al.*, 2019). Selanjutnya dilakukan penyaringan untuk memisahkan filtrat dan endapan. Filtrat yang diperoleh dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* lalu ekstrak kentalnya dimasukkan dalam oven pada suhu 40°C selama 2 hari. Hasil ekstraksi simplisia diperoleh rendemen sebesar 1,1146% dari total berat simplisia kering sebanyak 750 g.

Fraksinasi Kulit Buah Pangi (*P. edule* Reinw)

Metode fraksinasi yang digunakan yaitu metode fraksinasi cair-cair dengan menggunakan tiga pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda seperti n-heksana, etil asetat dan akuades. Pelarut n-heksana mewakili pelarut non polar, etil asetat mewakili pelarut semi polar dan akuades mewakili pelarut polar. Penggunaan variasi pelarut ini mengikuti prinsip *like dissolve like*, dimana senyawa-senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar sedangkan senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut pada pelarut non polar. Perbedaan pelarut ini juga dapat mempengaruhi kandungan total senyawa bioaktifnya karena perbedaan polaritas tersebut (Santoso *et al.*, 2012).

Proses fraksinasi dalam corong pisah menggunakan dua pelarut yang berbeda polaritas membentuk dua lapisan yang tidak saling bercampur, karena perbedaan massa jenis pelarutnya. Massa jenis pelarut di lapisan atas cenderung lebih kecil, sehingga massa jenis pelarut yang lebih besar berada di lapisan bawah. Senyawa-senyawa metabolit sekunder pada ekstrak akan terlarut ke dalam pelarut yang memiliki polaritas yang sama. Filtrat yang diperoleh dari setiap pelarut hasil fraksinasi dievaporasi dengan *rotary evaporator* kemudian ekstrak kentalnya dimasukkan dalam oven suhu 40^o C. Hasil fraksinasi yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 1.

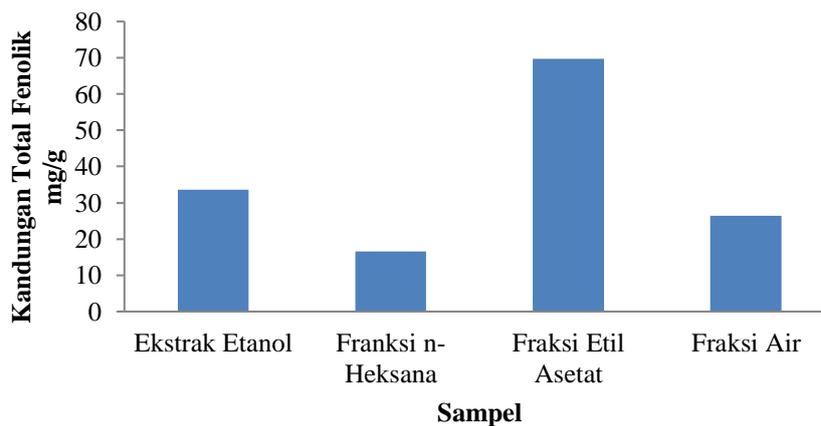
Tabel 1. Rendemen hasil fraksinasi ekstrak kulit buah pangi

Hasil Rendemen	Massa awal (g)	Massa akhir (g)	Rendemen (%)
N-Heksana	5	1,136	22,730
Etil Asetat	5	0,960	19,204
Air	5	1,293	25,860

Berdasarkan hasil pada Tabel 1. menunjukkan bahwa rendemen tertinggi yaitu pada pelarut air, kemudian diikuti pelarut n-heksana dan pelarut etil asetat. Banyaknya rendemen yang diperoleh menunjukkan bahwa pelarut air yang lebih banyak mengekstrak senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar dibandingkan dengan pelarut n-heksana dan etil asetat.

Hasil Penentuan Kandungan Senyawa Fenolik Total

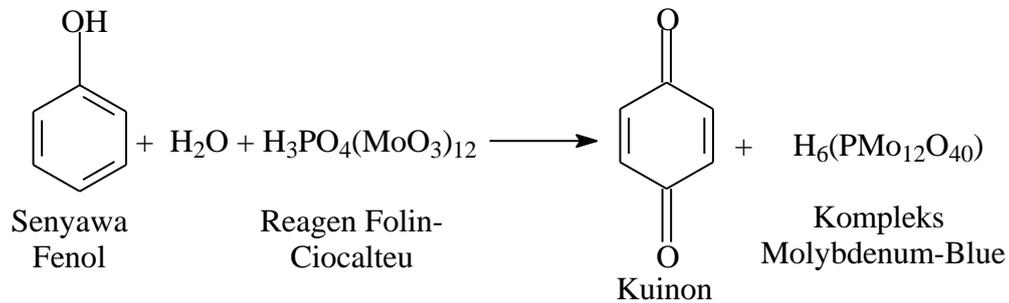
Penentuan kandungan senyawa fenolik total dapat diketahui melalui pengujian ekstrak dan fraksi pelarut dari kulit buah pangi dengan reagen Folin-Ciocalteu. Metode ini digunakan untuk mengetahui kemampuan ekstrak dari sampel untuk mereduksi Folin-Ciocalteu yang berwarna kuning (mengandung senyawa fosfomolibdat dan asam fosfotungstat) menjadi senyawa kompleks molibdenum-tungstat yang berwarna biru (Adrian *et al.*, 2021). Adanya perubahan warna sampel menjadi biru menunjukkan adanya nilai perbandingan lurus terhadap konsentrasi ion fenolat yang terbentuk. Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka pembentukan ion fenolat juga semakin besar, perubahan warna biru pada sampel menjadi semakin pekat sehingga dapat ditentukan secara spektrofotometer (Suryanto & Taroreh, 2019). Kandungan fenolik total ekstrak dan fraksi pelarut dari kulit buah pangi dinyatakan dengan ekuivalen asam galat (*Gallic Acid Equivalent-GAE*). Hasil kandungan senyawa fenolik total pada ekstrak kulit buah pangi ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil analisis kandungan total fenolik ekstrak etanol dan fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air kulit buah pangi

Berdasarkan Gambar 4 diketahui bahwa kulit buah pangi memiliki kandungan senyawa fenolik tertinggi pada fraksi etil asetat yaitu 69,65 mg/g, diikuti ekstrak etanol 33,65 mg/g, fraksi air 26,4 mg/g dan fraksi n-heksana 16,65 mg/g. Harborne (1987), menyatakan bahwa senyawa fenolik cenderung larut dalam pelarut polar. Namun, kelarutan senyawa fenolik dapat berbeda tergantung pada setiap jenis pelarut dan

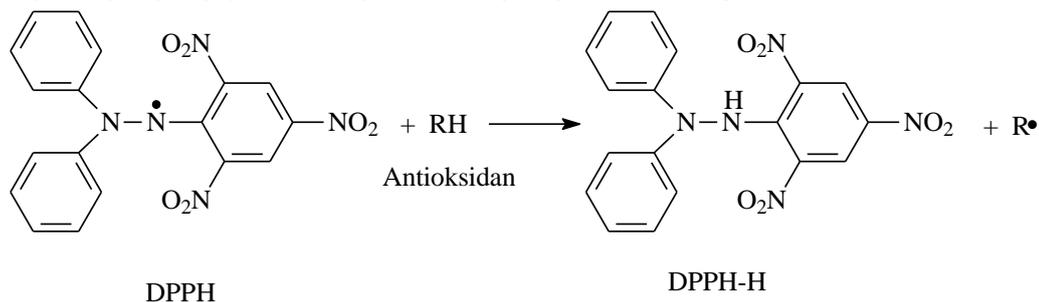
sampelnya. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa-senyawa fenol yang terkandung dalam kulit buah pangi bersifat semi polar sehingga cenderung lebih larut dalam pelarut semi polar seperti etil asetat. Fraksi etil asetat mereduksi reagen Folin-Ciocalteu dengan sangat baik daripada fraksi-fraksi lain sehingga hasil pengujian menunjukkan perubahan warna biru yang lebih pekat.



Gambar 5. Reaksi senyawa fenol dengan reagen Folin-Ciocalteu (Mukhriani *et al.*, 2019)

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Metode ini digunakan karena pengerjaannya yang sangat sederhana, mudah, cepat dan hanya memerlukan sedikit sampel dalam pengujiannya. Pada prinsipnya senyawa antioksidan mendonorkan atom hidrogennya pada radikal DPPH sehingga menjadi non radikal. Keadaan DPPH yang non radikal ditandai dengan pudarnya warna DPPH dari ungu menjadi kuning yang kemudian dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Molyneux, 2004).



Gambar 6. Reaksi DPPH dengan antioksidan (Sangkala *et al.*, 2014)

Nilai absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menghitung persentase penghambatan radikal bebas (% Inhibisi) sampel uji terhadap DPPH. Hasil pengujian menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak/sampel yang digunakan maka semakin tinggi juga nilai persentase inhibisi. Dari data persentase inhibisi yang diperoleh maka dapat ditentukan nilai IC₅₀ dari ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air kulit buah pangi dengan memplot nilai inhibisi pada sumbu y dan konsentrasi pada sumbu x. Nilai IC₅₀ merupakan nilai konsentrasi efektif larutan ekstrak/sampel yang dapat menangkal 50% radikal bebas DPPH (Palupi & Widyanto, 2020). Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin efektif sampel dalam menghambat radikal DPPH. Hasil perhitungan IC₅₀ yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan

Sampel	IC ₅₀ (µg/mL)
Ekstrak Etanol	49,204
Fraksi N-Heksana	66,365
Fraksi Etil Asetat	6,695
Fraksi Air	62,419
Vitamin C	1,077

Hasil perhitungan menunjukkan bahwa fraksi n-heksana memiliki nilai IC_{50} yang paling besar yaitu 66,365 $\mu\text{g/mL}$ diikuti fraksi air 62,419 $\mu\text{g/mL}$, ekstrak etanol 49,204 $\mu\text{g/mL}$ dan vitamin C 1,077 $\mu\text{g/mL}$. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat bila nilai IC_{50} lebih kecil dari 50 ppm, kuat bila IC_{50} bernilai 50-100 ppm, sedang bila IC_{50} bernilai 101-250, dan lemah bila IC_{50} 251-500 ppm (Phongpaichit *et al*, 2007). Dari kriteria tersebut maka dapat disimpulkan bahwa fraksi n-heksana dan fraksi air tergolong dalam kategori antioksidan kuat sedangkan ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan vitamin C tergolong dalam kategori antioksidan sangat kuat. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ini menunjukkan adanya korelasi dengan nilai kandungan total fenoliknya. Semakin besar nilai kandungan total fenolik maka nilai aktivitas antioksidannya juga semakin meningkat.

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri secara *In-Vitro*

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi menggunakan cakram kertas untuk menganalisa aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana dari kulit buah pangi (*P. edule* Reinw) terhadap bakteri uji yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Untuk menggolongkan daya hambat antibakteri maka dilakukan pengukuran diameter zona hambat. Zona hambat yang terbentuk ditandai dengan adanya zona bening disekitar kertas cakram yang menandakan adanya penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri. Zona bening disekitar cakram ini merupakan daerah difusi dari senyawa atau substansi antibakteri yang diukur besar diameternya sebagai acuan penggolongan kekuatan antibakterinya (Redwik *et al.*, 2019). Data hasil pengujian rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Diameter zona hambat ekstrak dan dari kulit buah pangi terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

Bakteri	Konsentrasi	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm)			
		EE	FA	FEA	FH
<i>S. aureus</i>	10%	0,33	1,42	0	0
	30%	0,33	0,83	0	0
	50%	0,33	1,83	1,00	0
	(+)	12,33	11,83	13,50	11,83
	(-)	0	0	0	0
<i>E. coli</i>	10%	0,67	2,83	1,00	0
	30%	0,83	1,83	1,17	0
	50%	0,83	2,83	1,33	0
	(+)	12,67	14,00	13,17	13,33
	(-)	0	0	0	0

Keterangan : EE = Ekstrak Etanol, FA = Fraksi Air, FEA = Fraksi Etil Asetat, FH = Fraksi N-Heksana, (+) = *Ciprofloxacin*, (-) = akuades

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi kulit buah pangi (*P. edule*) terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan variasi konsentrasi 10%, 30%, 50% dengan tiga kali pengulangan setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C memberikan zona hambat yang kecil (< 5 mm) sedangkan kontrol positif *Ciprofloxacin* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan diameter zona hambat rata-rata pada kisaran 11,83-13,50 mm pada bakteri *S. aureus* dan 12,67-14 mm pada bakteri *E. coli*.

Berdasarkan penggolongan Davis & Stout (1971), nilai kekuatan aktivitas antibakteri yaitu < 5 mm lemah, 5-10 mm sedang, 11-20 mm kuat, >20 mm sangat kuat. Dari hasil pengukuran pada Tabel 5 maka nilai kekuatan ekstrak dan fraksi kulit buah pangi digolongkan lemah.

Tabel 5. Data hasil kategori golongan daya hambat ekstrak dan fraksi dari kulit buah pangi terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

Bakteri	Konsentrasi	Kategori Golongan Daya Hambat			
		EE	FA	FEA	FH
<i>S. aureus</i>	10%	Lemah	Lemah	-	-
	30%	Lemah	Lemah	-	-
	50%	Lemah	Lemah	Lemah	-
<i>E. coli</i>	10%	Lemah	Lemah	Lemah	-
	30%	Lemah	Lemah	Lemah	-
	50%	Lemah	Lemah	Lemah	-

Keterangan : EE = Ekstrak Etanol, FA = Fraksi Air, FEA = Fraksi Etil Asetat, FH = Fraksi N-Heksana, (-) = tidak ada aktivitas

Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi air dan fraksi etil asetat memiliki kekuatan daya hambat yang lemah sedangkan fraksi n-heksana tidak menunjukkan adanya aktivitas untuk menghambat bakteri *S. aureus* maupun *E. coli*. Daya hambat ekstrak etanol, fraksi air dan fraksi etil asetat terhadap bakteri gram negatif (*E. coli*) maupun bakteri gram positif (*S. aureus*) tergolong lemah, namun hasil pengukuran diameter daya hambat rata-rata kedua bakteri uji memberikan kepekaan yang lebih baik terhadap bakteri gram negatif dibandingkan dengan bakteri gram positif. Hal ini disebabkan karena perbedaan struktur dinding sel kedua bakteri tersebut. Dinding sel bakteri gram negatif terdiri dari satu lapisan peptidoglikan yang sangat tipis, sehingga senyawa antibakteri dalam kulit buah pangi menyebabkan dinding selnya rentan terhadap guncangan fisik, sedangkan dinding sel bakteri gram positif memiliki beberapa lapisan peptidoglikan yang tebal dan kaku serta adanya substansi dinding sel yang disebut asam teikoat (Arismawati *et al.*, 2019; Radji, 2011).

Hasil pengujian menunjukkan aktivitas yang lemah ini juga disebabkan karena ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana tidak larut sempurna/terlarut sebagian dalam akuades saat pembuatan larutan uji karena perbedaan polaritas. Sedangkan fraksi air larut sempurna dalam akuades karena memiliki kepolaran yang sama. Senyawa yang berperan sebagai antibakteri yaitu senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak etanol, fraksi air dan fraksi etil asetat yang dapat merusak permeabilitas dari dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom akibat interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Nagappan *et al.*, 2011). Hasil skrining fitokimia menunjukkan adanya flavonoid dalam ekstrak etanol, fraksi air dan fraksi etil asetat. Senyawa flavonoid yang bersifat polar inilah yang diperkirakan terlarut dalam akuades (polar) sehingga berperan sebagai aktivitas antibakteri.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol kulit buah pangi (*P. edule* Reinw) mengandung flavonoid, saponin, tanin dan steroid. Fraksi air mengandung flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid. Fraksi etil asetat mengandung flavonoid, tanin dan steroid. Fraksi n-heksana mengandung senyawa saponin, tanin dan steroid. Kandungan total fenolik tertinggi terdapat pada fraksi etil asetat yaitu sebesar 69,65 mg/g diikuti oleh ekstrak etanol 33,65 mg/g, fraksi air 26,4 mg/g dan fraksi n-heksana 16,65 mg/g. Kulit buah pangi (*P. edule* Reinw) memiliki aktivitas antioksidan yang kuat hingga sangat kuat. Aktivitas yang kuat terdapat pada fraksi n-heksana dan fraksi air yakni sebesar 66,365 µg/mL dan 62,419 µg/mL, sedangkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat terdapat pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat yakni sebesar 49,204 µg/mL dan 6,695 µg/mL. Ekstrak etanol, fraksi air dan fraksi etil asetat kulit buah pangi (*P. edule* Reinw) memiliki aktivitas antibakteri tergolong lemah sedangkan pada fraksi n-heksana tidak memiliki aktivitas antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrian, G., Suryanto, E. & Wewengkang, D. S. 2021. Aktivitas Penangkal Radikal Bebas dari Fraksi Kulit Kayu Sagu Baruk (*Arenga microcarpa* Beccari). *Pharmacon*. 10(1): 762-766.
- Agustina, A., Ruslan & Wiraningtyas, A. 2016. Skrining Fitokimia Tanaman Obat di Kabupaten Bima. *Cakra Kimia*. 4(1): 71-76.
- Alam, M. N., Bristi, N. J. & Rafiquzzaman, M. 2013. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 21(2):143-152.
- Arini, D. I. D. 2012. Potensi Pangi (*P. edule* Reinw) Sebagai Bahan Pengawet Alami Dan Prospek Pengembangannya Di Sulawesi Utara. *Info BPK Manado*. 2(2): 103-114.
- Arismawati, Saputri, W. O. A. W. & Hartati. 2019. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Turi (*Sesbania grandiflora* (L.) Press) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella* thypi dan *Streptococcus mutans*. *Medula*. 7(1): 10-19.
- Ayucitra, A., Indraswati, N., Mulyandasari, V., Dengi, Y. K., Francisco, G. & Yudha, A. 2011. Potensi Senyawa Fenolik Bahan Alam Sebagai Antioksidan Alami Minyak Goreng Nabati. *Widya Teknik*. 10(1): 1-10.
- Balouri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. 2016. Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6(2):71-79.
- Conde, E., Cadahia, E., Garcia-Vallejo, M. C., Simon, B. F. D. & Adradros, J. R. G. 1997. Low Molecular Weight Polyphenol in Cork of *Quercus suber*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45(7): 2695-2700.
- Cowan, M. M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(4): 564-582.
- Davis, W. W. & Stout, T. R. 1971. Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. *Microbiology*. 22(4): 659-665.
- Day, R. A. & Underwood, A. L. 1999. *Analisis Kimia Kuantitatif, Edisi Kelima*. Jakarta: Erlangga.
- Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Cetakan Pertama*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Halim, F., Warouw, S. M., Rampengan, N. H. & Salendu, P. 2017. Hubungan Jumlah Koloni *Escherichia coli* Dengan Derajat Dehidrasi Pada Diare Akut. *Sari Pediatri*. 19(2): 81-85.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid III, terjemahan. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya.
- Husni, E., Suharti, N. & Atma, A. P. T. 2018. Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* Linn) serta Penentuan Kadar Fenolat Total dan Uji Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 5(1): 12-16.
- Istiantora, Y., H. & Gan, V. 1995. *Penicillin, Cephalosporin dan Antibiotika β -lactam lainnya, dalam Farmakologi dan Terapi, Edisi ke-4*. Jakarta: FKUI.
- Jatmiko, R. A. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Keluak (*P. edule*) Terhadap Bakteri *Salmonella typhi*. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Jumika, R., Sundaryono, A. & Nurhamidah. 2018. Isolasi Ekstrak Kulit Batang *J. multifida* L. Serta Implementasinya Pada Modul Pembelajaran Kimia Organik Bahan Alam. *Journal of Science Education*. 2(2): 147-152.
- Katrin & Bendra, A. 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak, Fraksi dan Golongan Senyawa Kimia Daun *Premna oblongata* Miq. *Pharmaceutical Sciences and Research*. 2(1): 21-31.
- Lay, B. W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium. Edisi 1*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Lung, J. K. S. & Destiani, D. P. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan metode DPPH. *Farmaka*. 15(1): 52-62.
- Makagansa, C., Mamuaja, C. F. & Mandey, L. C. 2015. Kajian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pangi (*P. edule* Reinw) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus*

- cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* Dan *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. **3(1)**: 16-25.
- Manoppo, J. S. S., Sakul, E. H. & Tengker, A. C. 2019. Potensi Bioinsektisida Dari Ekstrak Daun, Kulit Batang Dan Biji Tumbuhan Pangi (*P. edule* Reinw) Dalam Meningkatkan Mortalitas Larva *Crocidolomia binotalis*. *Jurnal Sains dan Teknologi*. **2(1)**: 9-19.
- Manuhutu, E. 2011. Efektivitas Biji Pangi (*P. edule* Reinw) sebagai bahan pengawet alami terhadap beberapa sifat mutu dan masa simpan Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis*). Tesis. Manado: Ilmu Pangan, Pascasarjana. UNSRAT.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal Science of Technology*. **26(2)**: 211-219.
- Mukhriani, Sugiarna, R., Farhan, N., Rusdi, M. & Arsul, M. I. 2019. Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Anggur (*Vitis vinifera* L). *ad-Dawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2(2): 95-102.
- Nagappan, T., Ramasamy, P., Wahid, M. E. A., Segaran, T. C. & Vairappan, C. S. Biological Activity of Carbazole Alkaloids and Essential Oil of *Murraya Koenigii* Against Antibiotic Resistant Microbes and Cancer Cell Lies. *Molecules*. 16(11): 9651-9564.
- Nawir, M., Taksirawati, I. & Baharuddin. 2017. Pemanfaatan Tanaman Pangi (*P. edule* Reinw) pada Lahan Agroforestri Desa Watu Toa Kecamatan Marioriwawo Kabupaten Soppeng. *Jurnal Hutan dan Masyarakat*. **9(2)**: 123-130.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N. & Hidayatulloh, A. 2020. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt Dengan Metode Difusi Sumuran Dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*. **1(2)**: 41-46.
- Palupi, N. S. & Widyanto, R. 2020. Pengujian Kapasitas Antioksidan Wedang Tahu dalam Rangka Meningkatkan Mutu Fungsionalnya. *Jurnal Mutu Pangan*. 7(1): 46-51.
- Pelczar, M. J. & Chan, E. C. S. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, diterjemahkan oleh Hadioetomo, R. S. Jakarta: UI Press.
- Phongpaichit, S., Nikom, J., Rungjindamai, N., Sakayaroj, J., Hutadilok-Towatana, N., Rukachaisirikul, V. & Kirtikara, K. 2007. Biological Activities of Extracts From Endophytic Fungi Isolated From *Garcinia* Plants. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 51(3): 517-525.
- Pinta, Lolo, W. A. & Yamlean, P. V. Y. 2017. Identifikasi Kandungan Fitokimia Dan Uji Kadar Hambat Minimum Dan Kadar Bunuh Minimum Ekstrak Etanol Daun Pangi (*P. edule* Reinw. Ex Blume) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*). *Pharmakon*. **6(3)**: 260-267.
- Radji, M. 2011. *Mikrobiologi, Buku Kedokteran*. Jakarta: ECG.
- Redwik, D. U. W., Simbala, H. E. & Edy, H. J. 2019. Identifikasi Fitokimia dan Uji Daya Hambat Dari Ekstrak Etanol Tangkai Buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria* giseke) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Pharmakon*. 8(4): 936-944.
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Belajar.
- Sangkala, S. A. , Jura, M. R. & Tangkas, I. M. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Merah (*Pandanus baccari* L) di Daerah Poso Sulawesi Tengah. *Jurnal Akademika Kimia*. 3(4): 198-205.
- Santoso, J., Anwariyah, S., Rumiantin, R. O., Putri, A. P., Ukhty, N. & Yoshie-Stark, Y. 2012. Phenol Content, Antioxidant Activity and Fibers Profile of Four Tropical Seagrasses From Indonesia. *Journal of Coastal Development*. 15(2): 189-196.
- Sari, D. K., Wardhani, D.H. & Prasetyaningrum, A. 2013. Kajian Isolasi Senyawa Fenolik Rumput Laut *Euclima cottonii* Berbantu Gelombang Mikro Dengan Variasi Suhu Dan Waktu. *Jurnal Teknik Kimia*. **3(19)**: 38-43.
- Sari, R. & Suhartati. 2015. Pangi (*P. edule* Reinw) Sebagai Tumbuhan Serbaguna Dan Sumber Pangan. *Info Teknis EBONI*. **12(1)**: 23-37.
- Sastrohamidjojo, H. 2007. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Gadjah Mada University.

- Sibuea, F. S. Y. 2015. Ekstraksi Tanin Dari Kluwak (*P. edule* R.) Menggunakan Pelarut Etanol dan Aquades dan Aplikasinya Sebagai Pewarna Makanan. *Skripsi*. Semarang: Universitas Negeri Semarang.
- Siregar, S. F. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Air Rebusan Kulit Batang Ingul (*Toona sinensis* M. Roem) Terhadap Beberapa Bakteri. *Skripsi*. Fakultas Farmasi, USU Medan.
- Sleumer, H. 1958. Flacourtiaceae. *Flora Malesiana*. **5(1)**: 35-39.
- Suhendra, C. P., Widarta, I. W. R. & Wiadnyani, A. A. I. S. 2019. Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata cylindrica* (L) Beauv.) Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. **8(1)**: 27-35.
- Suryanto, E. & Taroreh, M. R. I. 2019. Ultrasound-assisted Extraction Antioksidan Serat Pangan dari Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Chemistry Progress*. 12)2:104-110.
- Tangapo, A. M. 2005. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Tumbuhan Daun Sendok (*Plantago major*) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Skripsi*. Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Utomo, A. D., Rahayu, W. S. & Dhiani, B. A. 2009. Pengaruh Beberapa Metode Pengeringan Terhadap Kadar Flavonoid Total Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Pharmacy*. **6(1)**: 58-68.
- Vandepitte, J., Engbaek, K., Rohner, P., Plot. P. & Heuck, C. G. 2005. *Prosedur Laboratorium Dasar untuk Bakteriologis Klinis*. Edisi 2. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Victor, L. 1980. *Antibiotics in Laboratory Tests*. USA: The Williams and Wilkins Company.
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi Kelima. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Wibowo, A. P. W. & Andrivani, R. 2016. Perhitungan Jumlah Bakteri *Escherichia coli* Dengan Pengolahan Citra Melalui Metode *Thresholding* Dan *Counting Morphology*. *Jurnal Ilmiah Teknologi Informasi Terapan*. **2(3)**: 235-243.
- Wijaya, L., Saleh, I., Theodorus & Salni. 2015. Efek Antiinflamasi Fraksi Daun Andong (*Cordyline fruticosa* L.) Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley*. *Biomedical Journal of Indonesia*. **1(1)**: 16-24.