

**PENGARUH JENIS PELARUT TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK DAGING DAN BIJI BUAH BINTARO (*Cerbera manghas L.*)
(Effect of Solvent Types On Antibacterial Activity of Bintaro (*Cerbera mangas L.*)
Meat and Seeds Extract)**

Samsul Rizal*, Hartami Dewi, Tanto Pratondo Utomo
Dosen Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Lampung
Jl. Prof. Dr. Soemantri Bojonegoro No.1 Bandar Lampung 35145
*Email korespondensi: marrizal@yahoo.com

Diterima: 18-09-2014

Disetujui: 28-02-2015

ABSTRACT

Bintaro fruit is a tropical plant that is widely grown in Indonesia, but it has not been utilized optimally. Seed of bintaro fruit contains saponin steroids and fatty acids such as palmitat, stearat, oleat, miristat, linolenat, and linoleat fatty acid. Kernel of bintaro fruit contains saponin and polifenol that are toxic for the pests and insects. Kernel and seed of bintaro fruit may contain antibacterial activity. Fatty acid content of bintrao fruit was influenced by level of its maturity, more mature contains more fatty acid. The purpose of this research is to determine the most suitable solvent to produce the best extract which has activity of anti bacteria and find out the level of anti bacteria activity which is produced from seed and kernel extracts from the bintaro fruit by using difusi agar method. This research was arranged in a Complete Randomized Block Design, two factorial with four replications. The first factor was different part of the fruit: seed and kernel. The second factor was different type of solvent: ethyl acetate, hexane and aquades. The data were analyzed using Bartlett test for homogeneity and Tuckey test for additivity. The data then were analyzed using Anova to see the differences between treatments and tested further using LSD of 5% level to determine the best treatment. The result of this research indicated that the kernel of bintaro fruit extracted with ethyl acetate produced the extract which has the highest resistant zone activity of anti bacteria (about 10,95 mm), categorized as an average activity of antibacterial, while bintaro seed extraxted with hexane has less active of antibateria (about 8,43 mm). The most sensitive bacterium againts seed extracts and kernel of bintaro was *Staphylococcus aureus*.

Keywords : antibacteria, bintaro fruit, extraction, and organic solvents

ABSTRAK

Buah bintaro merupakan tanaman tropis yang banyak ditanam di Indonesia, namun belum dimanfaatkan secara optimal. Buah bintaro mengandung steroid saponin dan asam lemak seperti palmitat, stearat, oleat, miristat, linolenat, dan asam lemak linoleat. Kernel buah bintaro mengandung saponin dan polifenol yang beracun untuk hama dan serangga. Kernel dan biji buah bintaro mungkin berisi aktivitas antibakteri. Kandungan asam lemak dipengaruhi oleh tingkat kematangan buah, dimana buah matang asam lemak lebih banyak. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan pelarut yang paling sesuai untuk menghasilkan ekstrak terbaik yang memiliki aktivitas antibakteri dan mengetahui tingkat antibakteri aktivitas yang dihasilkan dari ekstrak biji dan kernel bintaro dengan metode agar Difusi. Penelitian ini disusun dalam Rancangan Acak Lengkap, dua faktorial dengan empat ulangan. Faktor pertama adalah bagian yang berbeda dari buah: biji dan kernel. Faktor kedua adalah berbagai jenis pelarut, seperti etil asetat, heksana, dan aquades. Data dianalisis menggunakan uji Bartlett untuk homogenitas dan uji Tuckey

untuk aditivitas. Data kemudian dianalisis menggunakan Anova untuk melihat perbedaan antara perlakuan dan diuji lebih lanjut dengan menggunakan BNT dari tingkat 5% untuk menentukan perlakuan terbaik. Hasil penelitian ini menunjukkan Ekstrak daging buah bintaro matang dengan pelarut etil asetat memiliki zona hambat tertinggi sebesar 10,95 mm, tergolong aktivitas antibakteri sedang dan ekstrak biji buah bintaro dengan pelarut heksan memiliki zona hambat sebesar 8,43 mm, tergolong aktivitas antibakteri kurang aktif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kata Kunci: antibakteri, buah bintaro, ekstraksi, dan pelarut organik

PENDAHULUAN

Tanaman bintaro memiliki nama latin *Cerbera manghas* L, termasuk tumbuhan non pangan atau tidak untuk dimakan. Dinamakan cerbera karena bijinya dan semua bagian pohonnya mengandung racun yang dapat menghambat saluran ion yang disebut cerberin (Anonim, 2011). Tingkat kematangan buah bintaro memiliki hubungan erat dengan jumlah racun yang terkandung. Menurut Desrial (2001) buah bintaro pada tingkat kematangan *mature* atau matang yaitu penampakan warna kulit buah telah lebih dari 50 % bewarna merah memiliki kandungan racun yang telah berkurang dibandingkan saat buah masih mentah. Kays (1991) menyatakan bahwa pada tingkat kematangan *mature* seluruh reaksi pada buah telah berlangsung optimal sehingga kandungan minyak yang diduga sebagai sumber antibakteri berada dalam jumlah yang maksimal.

Penelitian Adrian (2010) yang mengkaji kandungan biji buah bintaro sebagai bahan bakar alternatif menunjukkan bahwa biji buah bintaro mengandung 46-64% minyak yang tersusun oleh asam palmitat (17,9%), asam stearat (4,38%), asam oleat (36,64%), miristat (0,17%), linolenat (2,37%), dan asam linoleat (23,44%). Menurut Khasbullah (2012) asam miristat terbukti memiliki aktivitas antibakteri dan menurut Murhadi (2010^a) asam lemak linoleat dan linolenat juga memiliki

aktivitas antibakteri yang baik. Penelitian Utami (2010) menyatakan daging buah bintaro mengandung senyawa saponin dan polifenol yang bersifat toksik. Dengan demikian, maka buah bintaro memiliki potensi sebagai antibakteri. Namun masalahnya adalah belum ada penelitian yang menguji aktivitas antibakteri dari daging dan biji buah bintaro matang. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang aktivitas antibakteri daging dan biji buah bintaro matang yang dipengaruhi oleh jenis pelarut saat proses ekstraksi.

Proses ekstraksi dilakukan dengan penambahan pelarut yang memiliki sifat kepolaran berbeda untuk mengikat senyawa-senyawa aktif yang memiliki aktivitas antibakteri. Menurut Khasbullah (2012) asam palmitat (C:8) dan oleat (C:18) yang merupakan asam lemak rantai panjang (C>12) lebih bersifat nonpolar sehingga dibutuhkan pelarut nonpolar seperti heksan ($\leq 96\%$), sementara miristat terdiri dari asam lemak rantai pendek hingga sedang (C<12) dan lebih bersifat polar hingga semipolar sehingga digunakan pelarut polar seperti akuades dan semi polar yaitu etil asetat ($\leq 96\%$). Selain itu pemilihan pelarut disesuaikan dengan komponen lain yang terkandung dalam daging buah dan biji buah bintaro.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daging dan biji buah bintaro matang dilakukan terhadap bakteri patogen dan perusak pangan yang sering dijumpai pada makanan dan dapat menyebabkan keracunan. Bakteri uji yang

digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* untuk Gram positif serta *Escherichia coli* untuk Gram negatif. Metode pengujian menggunakan metode difusi agar sumur. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis pelarut dan bahan baku ekstrak daging dan biji buah bintaro matang.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama adalah daging dan biji buah bintaro (*Cerbera manghas*, L) *mature* yang didapat dari daerah citra garden Bandar Lampung dan kota Metro. Bahan kimia untuk ekstraksi terdiri dari heksana ($\leq 96\%$), akuades dan etil asetat ($\leq 96\%$). Bahan untuk analisis terdiri dari media *nutrient agar* (NA) dan media *nutrient broth* (NB) dengan bakteri penguji *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli*.

Metode Penelitian

Perlakuan disusun secara faktorial dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan empat kali ulangan. Rancangan perlakuan dalam penelitian dilakukan secara faktorial dengan dua faktor, sebagai faktor pertama adalah jenis bahan baku (B) yaitu ekstrak daging dan ekstrak biji buah bintaro. Faktor kedua adalah jenis pelarut (P) yaitu heksan ($\leq 96\%$) bersifat nonpolar, akuades bersifat polar, dan etil asetat ($\leq 96\%$) bersifat nonpolar dengan perbandingan sampel dan pelarut adalah 1:20 (b/v), 20 g sampel dilarutkan dengan 400 ml pelarut. Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak daging dan biji buah bintaro (*Cerbera manghas*) terhadap bakteri *S. aureus*, *B. cereus*, dan *E. coli* dilakukan dengan metode difusi agar sumur. Data diolah dengan analisis sidik ragam untuk

mendapat penduga ragam galat serta signifikan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antara perlakuan. Kesamaan ragam diuji dengan uji Barlet dan kemenambahan data diuji dengan uji Tukey. Data dianalisis lebih lanjut dengan uji BNT pada taraf 5%.

Penelitian diawali dengan persiapan sampel yang akan diuji aktivitas antibakterinya. Daging atau biji buah bintaro matang yang sudah dicuci bersih, dipisahkan, dipotong dan dikeringkan dalam oven pada suhu 55°C selama 48 jam. Bahan dihancurkan dan ditimbang masing-masing sebanyak 20 g x 12 plastik yang dijadikan sampel uji untuk diekstraksi. Bubuk daging dan biji buah bintaro masing-masing sebanyak 20 g direndam dengan 400 ml akuades, heksan ($\leq 96\%$), dan etil asetat ($\leq 96\%$) selama 48 jam dengan pengadukan selama 1 jam dengan vorteks di 24 jam pertama dengan kecepatan 1000 rpm, kemudian larutan buah dan biji bintaro disaring menggunakan kertas saring. Ekstrak daging dan biji buah bintaro dipekatkan dengan rotary evaporator suhu 35°C hingga volume ekstrak sekitar 10 ml. Ekstrak kasar yang diperoleh digunakan untuk uji aktivitas antibakteri (Lathifah, 2008 yang dimodifikasi).

Pengujian daya aktivitas antibakteri menggunakan bakteri *E.coli*, *S. aureus*, dan *B. cereus* dilakukan terhadap masing-masing perlakuan, yaitu :

- (1) Sampel B1P1 = biji buah bintaro matang dengan pelarut etil asetat 96%
- (2) Sampel B1P2 = biji buah bintaro matang dengan pelarut heksan 96%
- (3) Sampel B1P3 = biji buah bintaro matang dengan pelarut akuades
- (4) Sampel B2P1 = daging buah bintaro matang dengan pelarut etil asetat 96%

- (5) Sampel B2P2 = daging buah bintaro matang dengan pelarut heksan 96%
- (6) Sampel B2P3 = daging buah bintaro matang dengan pelarut akuades

Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan meliputi uji aktivitas antibakteri, warna, dan kekentalan ekstrak.

a. Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri dapat diukur dari zona bening atau zona penghambatan disekeliling sumur uji terhadap bakteri uji yaitu *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, dan *Escherichia coli*. Zona penghambatan yang diukur adalah radius (r , mm) penghambatan berupa areal bening disekeliling sumur uji, setelah diinkubasi selama 24 jam pada 37°C (sesuai jenis mikroba uji). Pengukuran jari-jari (r_p , mm) zona hambat disekeliling sumur uji dilakukan dengan cara mengukur jarak dari tepi sumur uji ke batas lingkaran terluar zona hambat menggunakan jangka sorong (ketelitian 0,05 mm) pada tiga sisi sumur uji kemudian dirata-ratakan dan dilakukan perhitungan diameter riil zona hambat (Gariga *et al.*, 1983).

Perhitungan menggunakan asumsi tinggi atau tebal media agar di dalam cawan petri uji adalah sama (9,0 cm) dan volume media agar cair yang ditambahkan sama (20 ml), maka perhitungan diameter zona hambat riil dapat menggunakan konsep dimensi luar lingkaran (dua dimensi). Perhitungannya adalah sebagai berikut (Murhadi^a, 2010).

1. Dihitung luas kotor (L_1 , mm²) lingkaran areal bening akibat daya hambat mikroba uji disekeliling sumur uji dengan persamaan luas:

$$L_1 = \pi \cdot r_1^2, \text{ dimana } r_1 = r_p + r_s$$

r_p = jarak dari lingkaran luar sumur ke lingkaran terluar areal bening disekeliling sumur uji (mm),

r_s = jari-jari sumur uji (mm), $\pi = 3,14$

2. Dihitung luas kontrol (L_2 , mm²) areal bening akibat daya hambat pelarut organik yang digunakan sebagai pengencer dengan persamaan luas, yaitu :

$$L_2 = \pi \cdot r_2^2, \text{ dimana } r_2 = r_k + r_s$$

r_k = jarak dari lingkaran luar sumur ke lingkaran terluar areal bening disekeliling sumur uji (mm) akibat

daya hambat/pengencer organik,

r_s = jari-jari sumur uji (mm), $\pi = 3,14$

3. Dihitung luas bersih (L_3 , mm²) dengan persamaan:

$$L_3 = L_1 - L_2$$

4. Dihitung jari-jari zona hambat riil (r_r , mm) dengan persamaan:

$$r_r = (L_3 / 3,14)$$

5. Dihitung nilai diameter zona hambat riil (d_r , mm) dengan persamaan:

$$d_r = 2 \cdot r_r$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

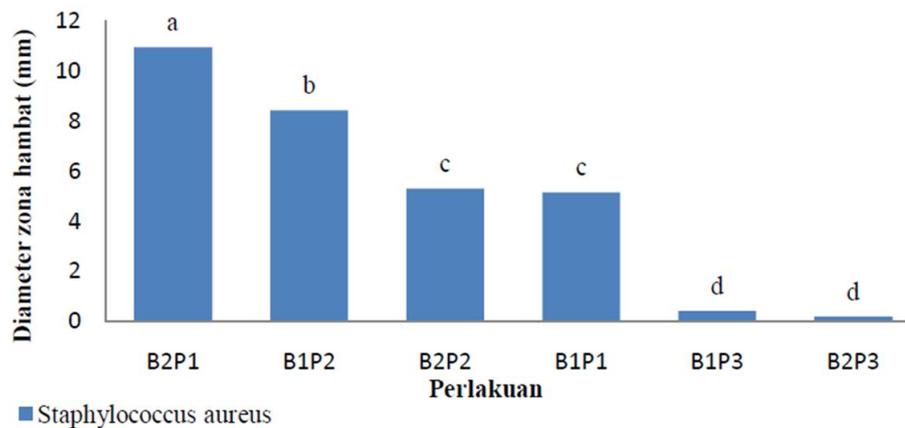
Staphylococcus aureus

Hasil pengukuran diameter zona hambat menunjukkan bahwa nilai diameter zona hambat tertinggi sampai terendah dari aktivitas antibakteri ekstrak daging dan biji buah bintaro matang terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara berurutan yaitu, ekstrak daging buah bintaro dengan pelarut etil asetat (B2P1) sebesar 10,95 mm dengan aktivitas antibakteri sedang, ekstrak biji buah bintaro dengan pelarut heksan (B1P2) sebesar 8,43 mm dengan aktivitas antibakteri kurang aktif, ekstrak daging buah bintaro dengan pelarut heksan (B2P2) sebesar 5,28 mm dengan aktivitas antibakteri sangat lemah, ekstrak biji buah bintaro dengan pelarut etil asetat (B1P1)

sebesar 5,15 mm dengan aktivitas antibakteri sangat lemah, ekstrak biji buah bintaro dengan pelarut akuades (B1P3) sebesar 0,39 mm dengan aktivitas antibakteri sangat lemah, dan ekstrak daging buah bintaro dengan pelarut akuades (B2P3) sebesar 0,16 mm dengan aktivitas antibakteri sangat lemah.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa jenis bahan baku dari buah bintaro

matang dan jenis pelarut yang digunakan sangat berpengaruh nyata terhadap aktivitas anti *Staphylococcus aureus*. Hasil uji BNT pada taraf 5 % menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara jenis bahan baku dan jenis pelarut yang digunakan. Nilai diameter zona hambat yang diuji BNT pada taraf 5 % terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* disajikan pada Gambar 1



Gambar 1. Nilai diameter zona hambat dari perlakuan ekstrak daging dan biji buah bintaro dengan pelarut etil asetat, heksan, dan akuades hambat terhadap *Staphylococcus aureus*

*) Grafik batang yang diikuti dengan huruf yang sama menyatakan bahwa perlakuan tidak berbeda nyata pada taraf 5 %.

Berdasarkan hasil uji BNT pada taraf 5 % pada Gambar 1, perlakuan ekstrak daging buah bintaro menggunakan pelarut etil asetat (B2P1) adalah perlakuan yang memiliki aktivitas antibakteri terbaik yang hasilnya berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, yaitu ekstrak daging dan biji buah bintaro yang diekstrak dengan pelarut heksan dan akuades. Tingginya aktivitas antibakteri dari daging buah bintaro yang diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat ini disebabkan kandungan bahan baku daging memiliki fenol yang terdiri dari pigmen flavonoid, tannin dan saponin. Menurut Murhadi (2010), saponin dan flavonoid dalam fenol dapat menghambat sintesis

asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi dari bakteri yang menyebabkan pertumbuhan bakteri terganggu dan bahkan menyebabkan kematian sel.

Menurut Utami (2010) pada penelitian buah dan biji bintaro sebagai insektisida, kandungan fenol yang ada dalam daging buah bintaro dapat melindungi tanaman dan bersifat sangat toksik terhadap serangga dan sejenisnya. Selain itu, penggunaan pelarut etil asetat yang bersifat semipolar baik digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar. Pelarut etil asetat merupakan senyawa semipolar

yang memiliki dua sifat kelarutan yaitu hidrofilik dan lipofilik. Senyawa yang mempunyai polaritas optimum akan mempunyai aktivitas antibakteri maksimum karena interaksi suatu senyawa antibakteri dengan bakteri terjadi keseimbangan hidrofilik dan lipofilik (*Hydrophilic Lipophilic Balance: HLB*) (Kanazawa *et al.* 1995).

Perlakuan daging buah bintaro matang dengan pelarut etil asetat (B2P1) menghasilkan zona hambat yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan biji buah bintaro matang menggunakan pelarut heksan (B1P2) ini diduga karena heksan merupakan pelarut non polar yang memiliki kecenderungan mengikat senyawa non polar. Beberapa senyawa asam lemak yang dominan dikandung biji buah bintaro merupakan senyawa rantai panjang seperti asam palmitat dan oleat yang belum terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang baik. Namun, diduga kandungan cerberin dan kandungan lain di dalam biji dapat diekstrak menggunakan pelarut heksan dan memiliki aktivitas antibakteri meskipun lebih rendah dari perlakuan ekstrak daging buah bintaro dengan pelarut etil asetat. Perlakuan ekstrak daging buah bintaro dengan pelarut heksan (B2P2) tidak berbeda nyata dengan perlakuan ekstrak biji buah bintaro menggunakan pelarut etil asetat (B1P1), hasil uji dapat dilihat dari besarnya diameter zona hambat yang dihasilkan. Persamaan kedua perlakuan B2P2 dan B1P1 ini dikarenakan ekstrak daging buah bintaro memiliki aktivitas antibakteri yang baik meskipun penggunaan pelarut heksan yang bersifat non polar tidak dapat mengikat senyawa-senyawa antibakteri yang diinginkan. Ekstrak biji buah bintaro memiliki aktivitas antibakteri yang lebih rendah bila dibandingkan dengan ekstrak daging buah bintaro, walaupun penggunaan pelarut etil asetat yang

bersifat semipolar lebih mampu mengekstrak senyawa yang ada di dalam biji buah bintaro baik senyawa rantai panjang maupun rantai pendek.

Besarnya nilai diameter zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak daging dan biji buah bintaro juga dipengaruhi oleh struktur *Staphylococcus aureus* yang relatif sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja. *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif dengan sebagian besar lapisan peptidoglikan yang banyak mengandung asam amino alanin yang cenderung bersifat hidrofobik (Lestari, 2008). Antibakteri umumnya bersifat hidrofobik sehingga mengikat membran sel bakteri yang bersifat hidrofobik untuk mencapai kestabilan dan memperoleh suspensi zat yang efektif. Adanya gugus hidrofilik berupa gugus hidroksi dan gugus hidrofobik berupa asam lemak teresterkan dapat menimbulkan gangguan permeabilitas membran sel bakteri yang pada taraf tertentu menyebabkan keluarnya isi sel (lisis). Beberapa jenis asam lemak seperti linolenat (18:3) telah terbukti memiliki aktivitas anti *Staphylococcus aureus* (Murhadi, 2010^b).

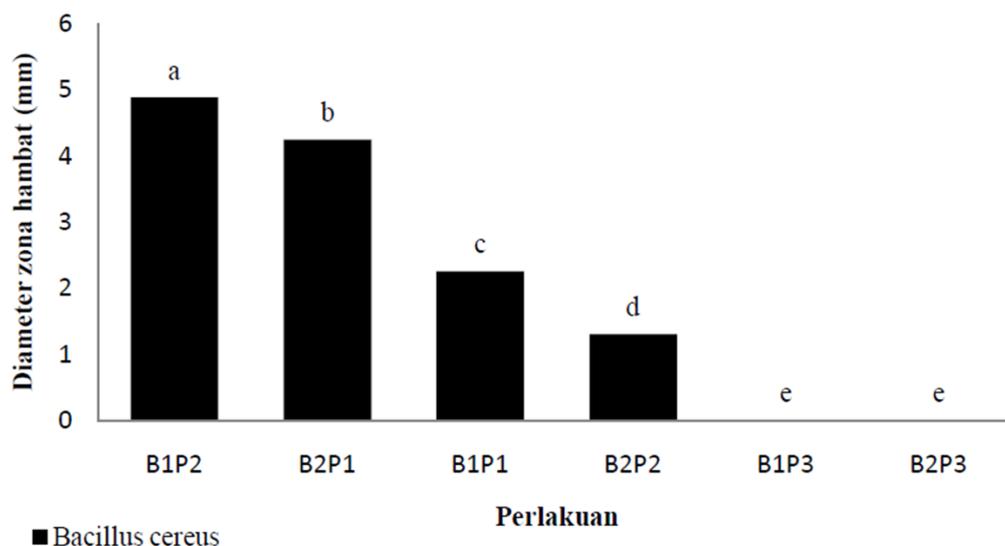
Bacillus cereus

Hasil pengukuran diameter zona hambat tertinggi sampai terendah dari ekstrak daging dan biji buah bintaro matang terhadap bakteri *Bacillus cereus* secara berurutan yaitu, ekstrak biji buah bintaro dengan pelarut heksan (B1P2) sebesar 4,88 mm dengan aktivitas antibakteri sangat lemah, ekstrak daging buah bintaro dengan pelarut etil asetat (B2P1) sebesar 4,24 mm dengan aktivitas antibakteri sangat lemah, ekstrak biji dengan pelarut etil asetat (B1P1) sebesar 2,26 mm dengan aktivitas antibakteri sangat lemah, ekstrak daging dengan

pelarut heksan (B2P2) sebesar 1,31 mm dengan aktivitas antibakteri sangat lemah, ekstrak biji dan daging buah bintaro dengan pelarut akuades (B1P3 dan B2P3) tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa jenis bahan baku dan pelarut yang digunakan sangat berpengaruh nyata terhadap aktivitas anti *Bacillus cereus*.

Interaksi antara kedua faktor tersebut sangat berpengaruh nyata terhadap aktivitas antibakteri pada bakteri *Bacillus cereus*. Nilai rata-rata dari aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji *Bacillus cereus* berkisar antara 0–4,875 mm. Hasil uji BNT 5 % aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus cereus* disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Nilai diameter zona hambat dari perlakuan ekstrak daging dan biji buah bintaro dengan pelarut etil asetat, heksan dan akuades hambat terhadap *Bacillus cereus*

*) Grafik batang yang diikuti dengan huruf yang sama menyatakan bahwa perlakuan tidak berbeda nyata pada taraf 5 %.

Berdasarkan hasil uji BNT 5 %, ekstrak biji buah bintaro dengan pelarut heksan (B1P2) memiliki aktivitas antibakteri terbaik yang menunjukkan hasil berbeda nyata jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini disebabkan tingginya kandungan minyak biji buah bintaro (46 – 64 %). Sebagian besar asam lemak dalam biji buah bintaro berupa asam oleat (36,64%), asam linoleat (23,44%) dan asam palmitat (17,9%). Ketiga asam lemak tersebut termasuk ke dalam golongan asam lemak rantai panjang (Khasbullah, 2012) sehingga mampu diekstrak dengan baik

menggunakan pelarut yang bersifat nonpolar yaitu heksan.

Perlakuan ekstrak daging buah bintaro dengan pelarut akuades (B2P3) tidak berbeda nyata dengan perlakuan ekstrak biji buah bintaro dengan pelarut akuades (B1P3) yaitu tidak memiliki aktivitas anti *Bacillus cereus*. Hal ini disebabkan kandungan dari biji maupun daging buah bintaro bukan merupakan senyawa golongan rantai pendek yang bersifat polar, sehingga saat diekstraksi dengan pelarut polar tidak ada senyawa antibakteri yang terikat. Menurut Utami (2013) penggunaan pelarut akuades dalam

ekstraksi menghasilkan ekstrak yang tidak memiliki antibakteri.

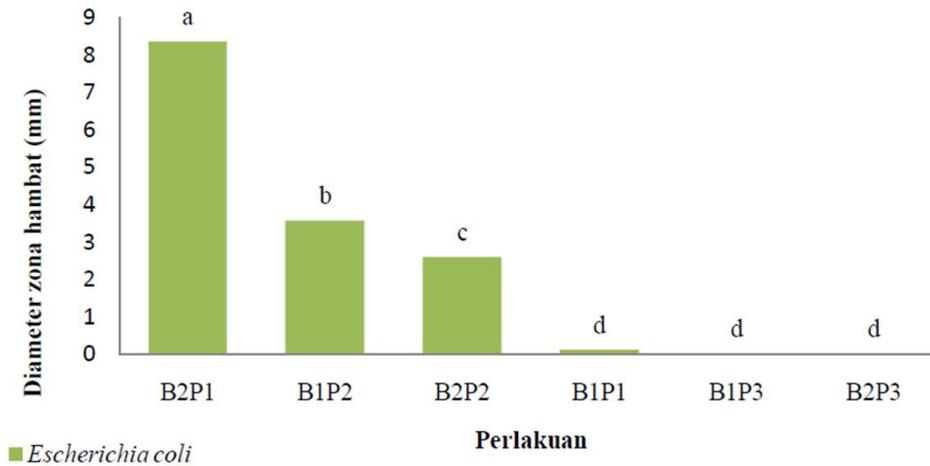
Bacillus cereus merupakan bakteri Gram positif yang memiliki struktur penyusun dinding sel yang sederhana sehingga lebih mudah dirusak oleh senyawa antibakteri walaupun senyawa tersebut jumlahnya relative sedikit atau memiliki aktivitas antibakteri yang lemah. Aktivitas anti *Bacillus cereus* lebih kecil jika dibandingkan dengan aktivitas anti *Staphylococcus aureus*. Hal ini dikarenakan bentuk kokus dari *S.aureus* lebih mudah ditembus senyawa antibakteri yang bersifat hidrofobik sehingga *S.aureus* lebih sensitif jika dibandingkan dengan *B.cereus*.

Escherichia coli

Hasil penelitian menunjukkan diameter zona hambat tertinggi sampai terendah dari ekstrak daging dan biji buah bintaro matang terhadap bakteri *Escherichia coli* secara berurutan yaitu, ekstrak daging buah bintaro dengan pelarut etil asetat (B2P1) sebesar 8,35 mm dengan aktivitas antibakteri kurang aktif, ekstrak biji buah bintaro dengan pelarut heksan (B1P2) sebesar 3,56 mm dengan aktivitas antibakteri sangat lemah, ekstrak daging dengan pelarut heksan (B2P2) sebesar 2,59 mm dengan aktivitas antibakteri sangat lemah, ekstrak biji dengan pelarut etil asetat (B1P1) sebesar 0,11 mm dengan aktivitas antibakteri sangat lemah, serta ekstrak biji dan daging buah bintaro dengan pelarut akuades (B1P3 dan B2P3) yang tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa jenis bahan baku dan pelarut yang digunakan sangat berpengaruh nyata terhadap aktivitas anti *Escherichia coli*. Nilai rata-rata dari aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji *E. coli* berkisar antara 0–8,353 mm. Hasil uji BNT 5 % aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji *Escherichia coli* disajikan pada Gambar 3.

Hasil uji BNT 5 % menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara jenis bahan baku dan jenis pelarut yang digunakan. Berdasarkan hasil uji BNT tersebut, ekstrak daging buah bintaro dengan pelarut etil asetat (B2P1) memiliki aktivitas anti *E. coli* terbaik yang menunjukkan hasil berbeda nyata jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini disebabkan daging buah bintaro mengandung fenol yang terdiri dari flavonoid, tannin, dan saponin. Senyawa tersebut dapat mengganggu pertumbuhan bakteri dan menyebabkan kematian sel. Menurut Utami (2010) pada penelitian buah dan biji bintaro sebagai insektisida, kandungan fenol yang ada dalam daging buah ini dapat melindungi tanaman dan bersifat sangat toksik terhadap serangga dan jenisnya. Pelarut etil asetat merupakan senyawa semipolar yang memiliki dua sifat kelarutan yaitu hidrofilik dan lipofilik. Senyawa yang mempunyai polaritas optimum akan mempunyai aktivitas antibakteri maksimum karena interaksi suatu senyawa antibakteri dengan bakteri akan menyebabkan terjadinya keseimbangan hidrofilik dan lipofilik (HLB:*Hydrophilic Lipophilic Balance*) (Kanazawa *et al.*, 1995).



Gambar 3. Nilai diameter zona hambat dari perlakuan ekstrak daging dan biji buah bintaro dengan pelarut etil asetat, heksan dan akuades hambat terhadap *Escherichia coli*

*) Grafik batang yang diikuti dengan huruf yang sama menyatakan bahwa perlakuan tidak berbeda nyata pada taraf 5 %.

Aktivitas antibakteri ekstrak biji buah bintaro dengan pelarut etil asetat (B1P1), serta ekstrak biji dan daging menggunakan pelarut akuades (B1P3 dan B2P3) tidak berbeda nyata, yaitu memiliki aktivitas antibakteri yang sangat lemah atau tidak ada aktivitas anti *Escherichia coli*. Perlakuan B1P1, B1P3, dan B2P3 tidak berbeda nyata. Hal ini diduga karena kandungan dari biji buah bintaro yang menjadi sumber senyawa antibakteri merupakan golongan senyawa rantai panjang, sehingga senyawa antibakteri yang dihasilkan kurang maksimal jika diekstraksi dengan menggunakan pelarut semipolar dan polar. Bakteri *Escherichia coli* merupakan Gram negatif yang memiliki dinding sel lebih kompleks. Dinding sel bakteri Gram negatif tersusun dari tiga lapisan, yaitu lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah berupa lipopolisakarida, dan lapisan dalam berupa peptidoglikan, serta memiliki membran paling luar yang menutupi lapisan peptidoglikan (Khasbullah, 2012). Hal ini menyebabkan ekstrak daging dan biji buah bintaro sulit menembus dan merusak

dinding sel bakteri *E. coli*. Bakteri Gram negatif mempunyai sisi hidrofilik, yaitu karboksil, asam amino dan hidoksil. Hal tersebut menyebabkan bakteri Gram negatif sensitif terhadap senyawa antibakteri yang bersifat polar (Madigan *et al.*, 2003). Molekul-molekul yang bersifat hidrofilik seperti alkaloid dan flavonoid lebih mudah melewati lipoposakarida dibandingkan dengan hidrofobik (Jawetz *et al.* 2005). Nilai diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli* terbesar dihasilkan ekstrak daging menggunakan pelarut etil asetat (B2P1), namun aktivitas antibakteri yang dimiliki ekstrak tersebut masih kurang aktif. Sementara aktivitas antibakteri ekstrak lainnya sangat lemah bahkan tidak ada aktivitas anti *E.coli*.

Rekapitulasi aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, dan *Escherichia coli*

Aktivitas antibakteri dari produk maserasi daging dan biji buah bintaro disebabkan karena sifat lipolitik monogliserida yang memungkinkan masuk ke dalam plasma membran yang

dapat menghambat daya kerja enzim yang berpengaruh terhadap produksi energi ataupun transpor nutrient. El-masry *et al.* (2000) menyebutkan bahwa senyawa antibakteri dikatakan memiliki aktivitas antibakteri tinggi apabila diameter zona hambatnya lebih dari 12 mm, tergolong sedang jika memiliki nilai diameter zona hambat berkisar antara 9-12 mm, tergolong kurang aktif jika berkisar antara

6-9 mm dan tergolong sangat lemah jika kurang dari 6 mm.

Hasil uji lanjut BNT 5 % terhadap zona hambat ekstrak biji dan daging buah bintaro yang dimaserasi menggunakan tiga pelarut, yaitu etil asetat, heksan, dan akuades terhadap bakteri, yaitu *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, dan *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Aktivitas antibakteri ekstrak biji dan ekstrak buah bintaro matang

No	Kode Sampel	Bakteri Uji	Nilai Zona Hambat (mm)	Keterangan
1	B1P2	<i>S.aureus</i>	8.43	Kurang aktif
2	B1P1	<i>S.aureus</i>	5.15	Sangat lemah
3	B1P2	<i>B.cereus</i>	4.88	Sangat lemah
4	B1P2	<i>E.coli</i>	3.56	Sangat lemah
5	B1P1	<i>B.cereus</i>	2.26	Sangat lemah
6	B1P3	<i>S.aureus</i>	0.39	Sangat lemah
7	B1P1	<i>E.coli</i>	0.11	Sangat lemah
8	B1P3	<i>B.cereus</i>	0	Tidak ada
9	B1P3	<i>E.coli</i>	0	Tidak ada
10	B2P1	<i>S.aureus</i>	10.95	Sedang
11	B2P1	<i>E.coli</i>	8.35	Kurang aktif
12	B2P2	<i>S.aureus</i>	5.28	Sangat lemah
13	B2P1	<i>B.cereus</i>	4.24	Sangat lemah
14	B2P2	<i>E.coli</i>	2.59	Sangat lemah
15	B2P2	<i>B.cereus</i>	1.31	Sangat lemah
16	B2P3	<i>S.aureus</i>	0.16	Sangat lemah
17	B2P3	<i>B.cereus</i>	0	Tidak ada
20	B2P3	<i>E.coli</i>	0	Tidak ada

B1=biji, B2=daging, P1=etil asetat, P2=heksan, P3=akuades

Berdasarkan Tabel 1 diketahui bahwa ekstrak yang memiliki zona hambat terbesar adalah ekstrak yang berasal dari daging buah bintaro, namun perbedaan

zona hambat antara daging dan biji buah bintaro tidak terlalu besar. Zona hambat terbesar yang dihasilkan ekstrak daging buah bintaro yaitu 10,95 mm terhadap *S.*

aureus sedangkan zona hambat terbesar yang dihasilkan ekstrak biji buah bintaro yaitu 8.43 mm terhadap *S. aureus* pula. Zona hambat ekstrak daging buah bintaro yang lebih besar jika dibandingkan dengan ekstrak biji buah bintaro, diduga karena kandungan daging buah bintaro yang lebih beragam dan jumlahnya lebih banyak. Senyawa-senyawa saponin dan polifenol dalam daging buah bintaro diketahui dapat melindungi tanaman dan bersifat toksik (Utami, 2010).

Hasil penelitian yang telah dilakukan berbeda dengan hasil penelitian Utami (2010) yang menguji ekstrak daging, biji, dan daun buah bintaro sebagai insektisida. Hasil penelitian Utami (2010) menunjukkan bahwa aktivitas insektisida terbesar terhadap hama *Eurema* spp. dihasilkan dari ekstrak biji buah bintaro, yaitu sebesar 63,49 %, ekstrak daging buah sebesar 55,56 % dan daun buah sebesar 47,62 %. Besarnya aktivitas insektisida pada biji disebabkan oleh kandungan cerberin yang terdapat dalam biji buah bintaro. Cerberin merupakan golongan alkaloid atau glikosida yang diduga berperan terhadap mortalitas serangga uji dan senyawa cerberin. Namun cerberin mudah larut dalam air dan mudah menguap pada suhu tinggi, sehingga diduga kandungan cerberin biji buah bintaro berkurang selama proses ekstraksi berlangsung.

Tiga jenis pelarut yang menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antibakteri tertinggi sampai terendah,

adalah pelarut etil asetat, heksan, dan akuades. Tingginya aktivitas antibakteri pada ekstrak diduga karena sifat dari kepolaran pelarut yang mendekati sifat kepolaran senyawa yang terkandung dalam daging dan biji buah bintaro matang. Etil asetat yang bersifat semipolar lebih mampu mengekstrak senyawa-senyawa aktif yang terkandung karena sifatnya yang mampu mengikat senyawa polar dan non polar. Senyawa yang terekstrak tersebut berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri dari ekstrak daging dan biji buah bintaro, semakin banyak senyawa yang terekstrak dari bahan maka semakin tinggi aktivitas antibakterinya.

Warna dan Sifat Oily Ekstrak

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan warna dan sifat oily ekstrak yang dihasilkan sebagai data penunjang untuk menduga senyawa aktif yang terekstrak. Hasil warna ekstrak menunjukkan perbedaan warna dari kuning – kuning kemerahan – kuning kecoklatan – abu-abu – hitam pekat (Gambar 4). Ekstrak daging buah bintaro matang menggunakan pelarut heksan (B2P2) menghasilkan warna kuning yang sangat jernih, sedangkan ekstrak biji buah bintaro matang menggunakan pelarut heksan (B1P2) bewarna kuning keruh. Hal ini diduga karena senyawa asam-asam lemak yang dapat diekstrak dengan pelarut non polar dalam daging buah bintaro matang lebih sedikit atau bahkan tidak ada jika dibandingkan dalam biji buah bintaro matang.



Gambar 4. Perbandingan warna ekstrak dari daging dan biji buah bintaro menggunakan pelarut heksan, etil asetat dan akuades.

Ekstrak daging buah bintaro matang menggunakan pelarut etil asetat (B2P1) menghasilkan warna kuning kecoklatan jernih, sedangkan ekstrak biji buah bintaro matang menggunakan pelarut etil asetat (B1P1) berwarna abu-abu pekat. Ekstrak daging buah bintaro matang menggunakan pelarut akuades (B2P3) menghasilkan warna kuning kemerahan yang jernih, berbeda dengan ekstrak biji buah bintaro menggunakan pelarut akuades (B1P3) yang menghasilkan warna hitam pekat. Hal ini diduga karena pelarut akuades lebih bersifat polar dan dapat mengekstrak senyawa lain selain asam lemak, seperti karbohidrat, protein, dan komponen lain yang ada di dalam daging dan biji buah bintaro matang. Perbedaan warna pada ekstrak daging dan biji buah bintaro diduga karena senyawa-senyawa pewarna polar, semipolar dan non polar alami pada buah bintaro ikut terekstrak. Menurut Salleh (1997) biji buah bintaro juga mengandung lukosida / alkaloid (*cerberine*, *cerberoside*, *neriifolin*, dan *thevetin*) sedangkan daging buah bintaro mengandung flavonoid, saponin, dan steroid. Harbone (1987) menyatakan bahwa senyawa-senyawa pigmen alami tanaman pada buah dan biji tanaman

diketahui memiliki warna mulai dari kuning sampai coklat kehitaman.

Ekstrak biji buah bintaro matang menghasilkan sifat yang lebih berminyak jika dibandingkan dengan ekstrak daging buah bintaro matang dengan menggunakan pelarut yang sama. Pelarut yang digunakan berpengaruh terhadap sifat oily ekstrak yang dihasilkan. Asam lemak seperti asam palmitat dan asam oleat merupakan asam lemak rantai panjang yang larut pada pelarut non polar (heksan), sedangkan asam lemak rantai sedang larut pada pelarut semipolar (etil asetat) dan asam lemak rantai pendek larut pada pelarut polar (akuades). Jumlah kandungan minyak pada biji buah bintaro juga dipengaruhi oleh tingkat kematangan buah. Semakin mencapai kematangan yang maksimal, maka kandungan minyak di dalam biji buah bintaro akan semakin banyak (Kays, 1991).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan:

1. Penggunaan pelarut etil asetat terhadap daging buah dan biji bintaro matang memiliki aktivitas antibakteri yang

- lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut akuades dan heksan.
2. Daging buah bintaro matang memiliki aktivitas antibakteri lebih tinggi dibandingkan dengan biji buah bintaro matang.
 3. Ekstrak daging buah bintaro matang dengan pelarut etil asetat memiliki zona hambat tertinggi sebesar 10,95 mm, tergolong aktivitas antibakteri sedang dan ekstrak biji buah bintaro dengan pelarut heksan memiliki zona hambat sebesar 8,43 mm, tergolong aktivitas antibakteri kurang aktif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrian, W.D. 2010. Biji buah bintaro sebagai bahan bakar alternatif. tugas akhir sekolah. SMAN 8 Tangerang.
<http://kompasiana.com/biji-buah-bintaro-sebagai-bahan-bakar-alternatif>. Di akses tanggal 13 Maret 2013. 6 hlm.
- BPPP. 2011. Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Bogor. Vol 17, Nomor 1. Hlm. 2-4.
- Desrial. 2011. Bahan bakar nabati minyak genset dari biji bintaro: racun sianida. <http://www.migas.esdm.go.id/tracking/beritakemigas/detil/25.6780/minyak-genset-dari-biji-bintaro-bahan-bakar-nabati>. Diakses tanggal 16 juli 2013. 2 hlm.
- El-Masry, A.H., H.H. Fahmy, and S.H.A. Abdelwahed. 2000. Synthesis and antimicrobial activity of some new benzimidazole derivatives. *J. of Molecules*. 5:1429-1438.
- Gariga, M., M. Hugas, T. Aymerich, and J.M. Monfort. 1983. Bacteriogenic activity of lactobacilli from fermented sausage. *J. App. Bacteriol*. 75:142-148.
- Harborne, JB. 1987. Metode Fitokimia. Padmawinata K. dan I. Soediro (Penerjemah). Niksolihin S, (Editor). ITB, Bandung.
- Jawetz, E., J.L. Melnick, and E.A. Adelberg. 2005. Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan. Huriati dan Hartanto (Penerjemah). Penerbit Buku Kedokteran EGC Ed. 14, Jakarta. 845 hlm.
- Kanazawa, A., T. Ikeda, and T. Endo. 1995. A novel approach to mode of action of cationic biocides morphological effect on antibacterial activity. *J. App. Bacteriology* 78:55-60.
- Kays, J.S. 1991. Postharvest Physiology of Perishable Plant Products. An Avi Book. Published by Van Nostrand Reinhold, New York. Pages 82-91.
- Khasbullah, K. 2012. Kajian Karakteristik Fungsional Produk Etanolisis Campuran CPO (Crude Palm Oil) dan PKO (Palm Kernel Oil) Pada Reaksi Etanolisis Tingkat Dua (Tesis). Magister Teknologi Industri Pertanian Unila, Bandar Lampung. Hlm.1-22..
- Madigan M.T., J.M. Martinko, and J. Parker. 2003. Brock Biology of Microorganism. Ed ke-10. Prentice Hall, New York :.
- Lathifah, A.L. 2008. Uji Efektifitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri Pada Buah

- Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L.*) dengan Variasi Pelarut. (Skripsi). Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Malang. Malang. Hlm. 25-26.
- Lestari, L. 2008. Kajian Aktivitas Antibakteri Fraksi Produk Etanolisis Minyak Inti Sawit (Palm Kernel Oil). (Skripsi). Jurusan THP FP Unila, Bandar Lampung. Hlm 37-38.
- Murhadi^a. 2010. Antimikroba dari Tanaman: Golongan Senyawa, Sumber, dan Aktivasnya. Buku Referensi (ISBN 978-979-8510-16-8; Oktober,2010). Cetakan Pertama. Penerbit Lembaga Penelitian Universitas Lampung, Bandar Lampung. Hlm. 2- 36.
- Murhadi^b. 2010. Mekanisme kerja senyawa antibakteri golongan fenolik dan alkaloid dari tanaman (ulasan ilmiah). Majalah TEGI (Majalah Ilmiah Teknologi Agroindustri) ISSN 20 85-6067. Vol.2, No.1. Hlm. 37-35.
- Salleh. 1997. Ethno botany, ethno pharmacognasy and documentation of Malaysia medicinal and aromatic plants. UKM Malaysia. <http://www.borneofocus.com/saip/vaic/R&D/article5.htm>
- Utami, S. 2010. Aktivitas insektisida bintaro (*Cerbera odollam* Gaertn) terhadap hama *Eurema spp.* pada skala laboratorium. Balai Penelitian Kehutanan Palembang. Palembang. Hlm 211-220.
- Utami, S.U. 2013. Rendemen dan Aktifitas Antimikroba Ekstrak Ampas Kopi Bubuk Robusta dengan berbagai Pelarut Organik. (Skripsi). Jurusan THP FP Unila, Bandar Lampung. Hlm 13-21.