



**POTENSI EKSTRAK BIJI LAMTORO (*Leucana leucocephala*)
KAYA POLIFENOL TERENKAPSULASI SEBAGAI
ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI**

SKRIPSI

oleh:

**Dini Novitasari
NIM 131710101113**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**POTENSI EKSTRAK BIJI LAMTORO (*Leucana leucocephala*)
KAYA POLIFENOL TERENKAPSULASI SEBAGAI
ANTIOKSDIAN DAN ANTIBAKTERI**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk
menyelesaikan Studi pada Program Studi Teknologi Hasil Pertanian (S-1)
dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

oleh:

**Dini Novitasari
131710101113**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**

PERSEMBAHAN

Saya persembahkan skripsi ini untuk:

1. Allah SWT, karena atas rahmat dan ridhaNya yang telah memudahkan segala urusan, semoga hamba selalu istiqomah di jalanNya (aamiin);
2. Nabi Muhammad SAW, yang telah membimbing manusia dari jaman jahiliyah ke jaman yang seperti sekarang;
3. Orang tua tercinta (Hadi Rusmanto dan Nanik Umiyati Ningsih), atas segala limpahan kasih sayang yang tercurahkan sejak kecil hingga kapanpun;
4. Kakak Citra, adik Rafi, mas Amin, dan kakak bayi yang selalu menemani, mendorong dan membantu dalam bentuk apapun;
5. Kakak sekaligus pembimbing di balik layar (Rizki Kurniawan, S.TP dan Shelly Khadijah, S.TP);
6. Official THP A 2013 dan teman seangkatan FTP 2013 yang telah menemani dan memberikan warna selama menempuh ilmu;
7. Almamater Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

MOTTO

“.....Niscaya Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antara kalian dan orang-orang yang diberi ilmu (agama) beberapa derajat”
(Al-Mujaadilah 58 ; 11)

“Allah mencintai pekerjaan yang apabila bekerja ia menyelesaiannya dengan baik”
- HR. Thabrani -

“Orang-orang hebat di bidang apapun bukan baru bekerja karena mereka terinspirasi, namun mereka menjadi terinspirasi karena mereka lebih suka bekerja. Mereka tidak menyiakan waktu untuk menunggu inspirasi”
- Ernest Newman -

“This life is an educator and we are always in a state must learn”
- Bruce Lee -

PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

nama : Dini Novitasari

NIM : 131710101113

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "**Potensi Ekstrak Biji Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) Kaya Polifenol Terenkapsulasi sebagai Antioksidan dan Antibakteri**" adalah benar–benar hasil karya saya sendiri, kecuali dalam kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan kepada institusi manapun serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan kebenaran isi laporan ini sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar–benarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Juni 2017

Yang menyatakan,

Dini Novitasari

NIM 131710101113

SKRIPSI

**POTENSI EKSTRAK BIJI LAMTORO (*Leucana leucocephala*)
KAYA POLIFENOL TERENKAPSULASI SEBAGAI
ANTIOKSDIAN DAN ANTIBAKTERI**

oleh:

**Dini Novitasari
NIM 131710101113**

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Sony Suwasono, M. App. Sc.
Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Nurhayati, S. TP., M. Si.

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Potensi Ekstrak Biji Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) Kaya Polifenol Terenkapsulasi sebagai Antioksidan dan Antibakteri**” karya Dini Novitasari NIM 131710101113 telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember pada :

Hari/ tanggal :

tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Dr. Ir. Sony Suwasono, M. App. Sc
NIP. 196411091989021002

Dr. Nurhayati, S. TP., M. Si
NIP.197904102003122004

Tim
Pengaji,
Ketua,

Anggota,

Ir. Giyarto, M.Sc
NIP. 196607181993031013

Dr. Bambang Herry P, S.TP., M.Si
NIP. 197505301999031002

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian,

Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng
NIP. 196809231994031009

RINGKASAN

Potensi Ekstrak Biji Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) Kaya Polifenol Terenkapsulasi sebagai Antioksidan dan Antibakteri; Dini Novitasari; 131710101113; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Tanaman lamtoro banyak digunakan sebagai peneduh tanaman kopi dan kakao. Biji lamtoro memiliki komponen aktif yaitu alkaloid, saponin, flavonoid, mimosine, dan tanin. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang memiliki efek antioksidan, anti tumor, anti radang, antibakteri dan anti virus. Senyawa polifenol di dalam biji lamtoro mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella thypimurrium*, dan *Staphylococcus aureus*. Namun, senyawa polifenol memiliki beberapa kelemahan yaitu sangat sensitif, tidak stabil dan mudah mengalami degradasi akibat kondisi lingkungan. Beberapa faktor yang dapat memicu terjadinya degradasi senyawa polifenol yaitu suhu, oksigen, dan cahaya sehingga perlu dilakukan pencegahan. Inovasi untuk mengurangi kerusakan senyawa polifenol yaitu dengan melakukan enkapsulasi.

Penelitian ini dilakukan dalam tiga tahapan, yaitu pembuatan ekstrak polifenol biji lamtoro, enkapsulasi ekstrak biji lamtoro kaya polifenol, dan melakukan pengujian total polifenol, aktivitas antioksidan, dan antibakteri serbuk enkapsulasi ekstrak biji lamtoro kaya polifenol. Ekstraksi polifenol biji lamtoro dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 50%. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan satu faktor perlakuan dengan tiga taraf. Faktor perlakuan adalah persentase penambahan maltodekstrin untuk 10% ekstrak biji lamtoro kaya polifenol yang digunakan dalam enkapsulasi. Ketiga taraf tersebut adalah MD5 (5% maltodekstrin dalam 85% aquades), MD10 (10% maltodekstrin dalam 80% aquades), dan MD15 (15% maltodekstrin dalam 75% aquades).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi maltodekstrin memiliki pengaruh terhadap serbuk enkapsulasi ekstrak biji lamtoro kaya polifenol

terenkapsulasi. Rendemen pada perlakuan MD15 lebih tinggi daripada MD5 dan MD10. Hal ini menunjukkan bahwa rendemen serbuk semakin tinggi ketika konsentrasi maltodekstrin ditingkatkan. Warna serbuk ekstrak biji lamtoro kaya polifenol terenkapsulasi adalah kuning. Hal tersebut dikarenakan ekstrak biji lamtoro berwarna orange. Serbuk ekstrak biji lamtoro kaya polifenol terenkapsulasi berpotensi sebagai antibakteri pada gram positif dan negatif. Nilai IC₅₀ untuk bakteri gram positif lebih besar daripada gram negatif. Nilai IC₅₀ perlakuan MD5 (5% maltodekstrin dan 85% aquades) sebesar 32,39 mg/ml, perlakuan MD10 (10% maltodekstrin dan 80% aquades) sebesar 33,66 mg/ml, sedangkan untuk perlakuan MD15 (15% maltodekstrin dan 75% aquades) sebesar 37,23 mg/ml pada bakteri *B. subtilis*, sedangkan pada bakteri *E. coli* untuk sampel MD5 sebesar 8,94 mg/ml, sampel MD10 sebesar 9,54 mg/ml, sedangkan untuk sampel MD15 sebesar 14,34 mg/ml.

SUMMARY

Antioxidant and Antibacterial Activities of Encapsulated Polyphenol Rich Extract from Lamtoro (*Leucaena leucocephala*); Dini Novitasari; 131710101113; Department of Agricultural Product Technology, Faculty of Agricultural Technology, University of Jember.

Lamtoro is widely used as a coffee and cocoa plant shade. Lamtoro bean contains isoflavones sulfate, steroid glycosides and alkaloids. Flavonoids are polyphenol compounds that have antioxidant effects, anti-tumor, anti-inflammatory, antibacterial and anti-virus. Polyphenol compounds can reduce growth of *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella thypimurrium*, and *Staphylococcus aureus* bacteria. However, the sensitivity polyphenol, it can be not stable and easy to get degradation. Some factors that can trigger the degradation of polyphenol compounds such as temperature, oxygen, and light so that prevention needs to be done. Innovation to reduce the damage of polyphenol compounds by encapsulation.

The research consist of three stages, the first stage were extraction of polyphenol from lamtoro, encapsulated polyphenol rich extract from lamtoro, and performed total polyphenol, antioxidant, and antibacterial encapsulation powder of lamtoro polyphenol rich extract. The extraction polyphenol of lamtoro was performed by maceration method using 50% ethanol. The experiment design is a one factor design with three levels. The treatment factor was the percentage of maltodextrin added for 10% of encapsulation of polyphenol rich extract of lamtoro. The three levels are MD5 (5% maltodextrin in 85% aquades), MD10 (10% maltodextrin in 80% aquades), and MD15 (15% maltodextrin in 75% aquades).

The results showed that the concentration of maltodextrin had an effect on the encapsulation powder of lamtoro polyphenol rich extract. The yield of sample MD15 was higher than MD5 and MD10. It shows that the yield of powder was high when maltodextrin concentration was increased. The color of encapsulation

powder of lamtoro polyphenol rich extract is yellow. Because the color of lamtoro extract is orange. Encapsulation powder of lamtoro polyphenol rich extract has potential as antibacterial in gram positive and negative. IC50 values for gram-positive bacteria is greater than gram-negative. IC50 values of sample MD5 (5% maltodextrin and 85% aquades) of 32.39 mg / ml, sample MD10 (10% maltodextrin and 80% aquades) of 33.66 mg / ml, while for sample MD15 (15% maltodextrin and 75 % aquades) of 37.23 mg / ml in *B. subtilis* bacteria, whereas in *E. coli* bacteria for sample MD5 of 8.94 mg / ml, sample MD10 of 9.54 mg / ml, while for sample MD15 of 14, 34 mg / ml.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga dengan segala niat dan keyakinan penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Potensi Ekstrak Biji Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) Kaya Polifenol Terenkapsulasi sebagai Antioksidan dan Antibakteri” dengan baik. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan program Strata Satu (S1) di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari dukungan, bimbingan dan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. Siswoyo Soekarno, S. TP., M. Eng selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
2. Ir.Giyarto, M.Sc selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
3. Dosen pembimbing utama (Dr. Ir. Sony Suwasono, M. App. Sc.) dan dosen pembimbing anggota (Dr. Nurhayati, S. TP., M. Si.) yang telah memberikan motivasi, bimbingan, dan saran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
4. Orang tua tercinta (Hadi Rusmanto dan Nanik Umiyati Ningsih), atas segala limpahan kasih sayang yang tercurahkan sejak kecil hingga kapanpun;
5. Kakak Citra, adik Rafi, dan mas Amin yang selalu menemani, mendorong dan membantu dalam bentuk apapun;
6. Kakak sekaligus pembimbing di balik layar (Rizki Kurniawan, S.TP dan Shelly Khadijah, S.TP);
7. Iranda Swastika, Nur Hanif Istikomah, dan Claudia Ayu Riendestya yang tidak pernah bosan atas semua ceritaku;
8. Intan Martha, Kiky Chily, Anis Shabrina, Amelia Robby, Sri Surya, Ike Wijayanti, dan M Ainul Yakin yang telah menjadi *partner* di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian;

9. Teman-teman THP A 2013 dan seangkatan FTP 2013 yang telah menemani dan memberikan warna selama menempa ilmu;
10. Almamater TK, SD, SMP, SMA dan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
11. serta pihak-pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penyusunan laporan ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, kritik atau saran terhadap penulisan laporan ini sangat penulis harapkan. Semoga karya tulis ini dapat memberikan manfaat dan sebagai referensi bagi pembaca. Aamiin

Jember, Juni 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	ix
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	2
1.3. Tujuan Penelitian	2
1.4. Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Biji Lamtoro	4
2.2. Ekstraksi	5
2.3. Polifenol	7
2.3.1. Flavonoid	7
2.3.2. Tanin	8
2.3.3. Alkaloid	8
2.4. Antioksidan	8

2.5. Antibakteri	10
2.6. <i>Bacillus subtilis</i> dan <i>Escherichia coli</i>.....	11
2.7. Enkapsulasi	12
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	15
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	15
3.2. Bahan dan Alat Penelitian	15
3.3. Pelaksaan Penelitian.....	16
3.3.1. Rancangan Penelitian.....	16
3.3.2. Tahapan Penelitian.....	16
3.3.3. Prosedur Analisis	18
3.4. Analisis Data	22
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1. Rendemen Ekstrak Polifenol Terenkapsulasi.....	23
4.2. Efisiensi Enkapsulasi.....	24
4.3. Warna	25
4.4. Total Polifenol.....	27
4.5. Aktivitas Antioksidan.....	28
4.6. Aktivitas Antibakteri.....	30
BAB 5. PENUTUP.....	34
5.1. Kesimpulan	34
5.2. Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	40

DAFTAR TABEL

	Halaman
3.1. Taraf penelitian enkapsulasi ekstrak polifenol biji lamtoro.....	16
4.1. Nilai IC50 serbuk enkapsulasi esktrak polifenol biji lamtoro.....	32

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1. Tanaman lamtoro (<i>Leucaena leucocephala</i>).....	4
2.2. Struktur dasar polifenol.....	7
3.1. Ekstraksi polifenol biji lamtoro.....	17
3.2. Enkapsulasi ekstrak biji lamtoro	18
4.1. Rendemen serbuk ekstrak biji lamtoro kaya polifenol terenkapsulasi maltodekstrin.....	23
4.2. Efisiensi enkapsulasi serbuk ekstrak biji lamtoro kaya polifenol polifenol terenkapsulasi maltodekstrin	24
4.3. Nilai <i>hue</i> enkapsulasi ekstrak biji lamtoro kaya polifenol polifenol terenkapsulasi maltodekstrin.....	26
4.4. Ekstrak dan serbuk biji lamtoro kaya polifenol polifenol terenkapsulasi maltodekstrin.....	26
4.5. Total polifenol serbuk biji lamtoro kaya polifenol setelah enkapsulasi dengan maltodekstrin dan setelah autoklaf	27
4.6. Aktivitas antioksidan serbuk biji lamtoro kaya polifenol setelah enkapsulasi dengan maltodekstrin dan setelah autoklaf	29
4.7. Daya hambat serbuk ekstrak biji lamtoro kaya polifenol terenkapsulasi maltodekstrin terhadap <i>B. subtilis</i>	30
4.8. Daya hambat serbuk ekstrak biji lamtoro kaya polifenol terenkapsulasi maltodekstrin terhadap <i>E. coli</i>	31

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Perhitungan rendemen enkapsulasi	40
B. Perhitungan warna	40
C. Perhitungan total polifenol	41
D. Perhitungan efisiensi enkapsulasi	44
E. Perhitungan aktivitas antioksidan	45
F. Perhitungan IC50 <i>Bacillus subtilis</i>	46
G. Perhitungan IC50 <i>Escherichia coli</i>	50
H. Dokumentasi penelitian.....	54

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Lamtoro, tanaman pelindung yang berasal dari daratan Amerika Tengah dan India, memiliki kandungan alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin (Pertiwi dkk., 2014). Tanaman lamtoro banyak digunakan sebagai peneduh tanaman kopi dan kakao (Usman, 2016). Senyawa polifenol memiliki bermacam-macam efek antara lain efek antioksidan, anti tumor, anti radang, antibakteri dan anti virus (Parubak, 2013). Secara empiris, biji lamtoro sering digunakan sebagai obat tradisional, salah satunya untuk mengobati cacingan dan menyembuhkan luka (Putra, 2015). Senyawa polifenol di dalam biji lamtoro mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella thypimurrium*, dan *Staphylococcus aureus* (Usman, 2016). Namun, senyawa polifenol memiliki beberapa kelemahan seperti sangat sensitif, tidak stabil dan mudah mengalami degradasi akibat kondisi lingkungan. Beberapa faktor yang dapat memicu terjadinya degradasi yaitu suhu, oksigen, dan cahaya.

Salah satu cara yang dapat mengurangi degradasi senyawa polifenol yaitu enkapsulasi. Enkapsulasi, proses penjeratan zat-zat sensitif atau bahan inti oleh polimer pelindung sebagai agen pengenkapsulasi. Enkapsulasi dilakukan untuk mempertahankan komposisi kimia seperti antioksidan dan polifenol serta mengurangi kerusakan senyawa-senyawa tersebut sebelum diaplikasikan (Hogan dkk., 2001). Selain itu, enkapsulasi bertujuan untuk mengubah bentuk cairan menjadi padatan, melindungi inti dari pengaruh lingkungan, memperbaiki aliran serbuk, menutupi rasa dan bau yang tidak enak, menyatukan zat-zat yang tidak tersatukan secara fisika kimia, menurunkan sifat iritasi inti terhadap saluran cerna, mengatur pelepasan bahan inti, dan memperbaiki stabilitas bahan inti (Istiyani, 2008). Bahan enkapsulan yang ideal memiliki ciri-ciri seperti dapat membentuk

formasi lapisan yang baik, *biodegradable*, viskositas yang rendah pada konsentrasi tinggi, dan harga yang ekonomis.

Maltodekstrin merupakan salah satu enkapsulan yang sering digunakan dalam proses enkapsulasi. Selain harganya yang terjangkau, maltodekstrin memiliki beberapa kelebihan seperti daya larutnya tinggi, higroskopisitas rendah, kemungkinan terjadi pencoklatan rendah, dan memiliki daya ikat kuat. Maltodekstrin juga tidak berasa dan dikenal sebagai bahan tambahan makanan yang aman (Blanchard dan Katz, 1995). Penambahan konsentrasi maltodekstrin tergantung pada sifat inti (*core*) yang dienkapsulasi.

1.2 Perumusan Masalah

Biji lamtoro memiliki senyawa-senyawa yang berguna bagi tubuh manusia, salah satunya yaitu polifenol yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan cara merusak komponen penyusun peptidoglikan sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh (Ainurrochmah dkk., 2013). Senyawa polifenol merupakan senyawa yang tidak tahan panas dan mudah teroksidasi pada suhu tinggi (Lestari dkk., 2014), sehingga perlu dilakukan enkapsulasi karena proses ini dapat mempertahankan komposisi kimia seperti antioksidan dan polifenol serta mengurangi kerusakan senyawa-senyawa tersebut sebelum diaplikasikan (Hogan dkk., 2001). Akan tetapi, sampai saat ini masih belum diketahui apakah ekstrak biji lamtoro kaya polifenol terenkapsulasi masih memiliki potensi sebagai antioksidan dan antibakteri.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. mengetahui karakteristik serbuk ekstrak biji lamtoro kaya polifenol terenkapsulasi,
2. mengetahui aktivitas antioksidan serbuk ekstrak biji lamtoro kaya polifenol terenkapsulasi, dan
3. mengetahui aktivitas antibakteri serbuk ekstrak biji lamtoro kaya polifenol terenkapsulasi.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan memberikan manfaat yaitu memberikan informasi pengetahuan tentang pengembangan potensi biji lamtoro sebagai sumber antioksidan dan antibakteri melalui enkapsulasi.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biji Lamtoro

Lamtoro, tumbuhan yang memiliki batang pohon keras dan berukuran tidak besar, daunnya majemuk terurai dalam tangkai berbilah ganda, bunganya berjambul warna putih dan buahnya mirip dengan buah petai (*Parkia speciosa*) tetapi ukurannya jauh lebih kecil dan berpenampang lebih tipis. Buah lamtoro termasuk buah polong, berisi biji-biji kecil yang jumlahnya cukup banyak. Buah polong berbentuk pita lurus, pipih dan tipis dengan sekat-sekat diantara biji (Putra, 2015).

Pohon lamtoro memiliki tinggi mencapai 2-10 m. Pada umumnya pohon biji lamtoro tumbuh di pinggir jalan maupun pinggir sungai (Soeryoko, 2011). Lamtoro termasuk jenis polong-polongan serbaguna yang paling banyak ditanam dan dengan pola pertanaman campuran. Loh (2008) menyebutkan klasifikasi tanaman lamtoro sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Fabales
Family	: Fabaceae
Genus	: Leucaena
Spesies	: <i>Leucaena leucocephala</i>



Gambar 2.1. Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) (Sumber: Usman, 2016)

Biji lamtoro yang sudah tua setiap 100 g mempunyai nilai kandungan kimia berupa zat kalori sebesar 148 kalori, protein 10,6 g, lemak 0,5 g, hidrat arang 26,2 g, kalsium 155 mg, besi 2,2 mg, vitamin A, Vitamin BI 0,23 mg (Dalimarta, 2008). Biji lamtoro mengandung senyawa aktif yaitu alkaloid, saponin, flavanoid, mimosine, dan tanin (Wijayakusuma, 2004). Senyawa flavonoid termasuk dalam metabolit sekunder dari tanaman yang mempunyai aktivitas biologi yang dapat berperan langsung sebagai antibiotika dengan mekanisme kerja menghancurkan sel dinding bakteri (Manoi, 2009). Pemanfaatan biji lamtoro oleh masyarakat selain sebagai pelengkap sayuran yaitu digunakan untuk mengobati beberapa penyakit. Efek farmakologis lamtoro diantaranya adalah menyembuhkan luka luar, abses paru, meluruhkan urine (diuretik), melancarkan darah, dan anti anti-inflamasi (Hariana, 2008).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya menggunakan pelarut cair atau gas yang dapat melarutkan benda cair atau gas sehingga dihasilkan sebuah larutan. Larutan terbentuk dari campuran zat-zat yang homogen, dimana pelarut memiliki komponen dengan jumlah yang lebih banyak daripada zat terlarut. Kemudahan partikel zat terlarut mengantikan molekul pelarut bergantung pada kekuatan relatif dari interaksi antara pelarut-pelarut, interaksi antara zat terlarut-zat terlarut, dan interaksi antara pelarut-zat terlarut. Jika tarik menarik zat terlarut-pelarut lebih kuat daripada tarik menarik pelarut-pelarut dan tarik menarik zat terlarut-terlarut, maka proses pelarutan akan berlangsung, proses ini disebut reaksi eksoterm. Jika interaksi zat terlarut-pelarut lebih lemah daripada interaksi pelarut-pelarut dan interaksi zat-zat terlarut maka proses ini disebut reaksi endoterm (Setiono, 1985).

Pelarut merupakan cairan yang mampu melarutkan zat lain yang umumnya berbentuk padatan tanpa mengalami perubahan kimia. Biasanya pelarut yang digunakan untuk melarutkan zat adalah air. Ada beberapa hal yang memungkinkan pelarut selain air digunakan seperti melarutkan basa kuat dalam air yang akan membuat basa kuat bereaksi dengan air memproduksi OH⁻. Pelarut

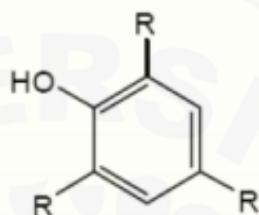
organik merupakan pelarut yang umumnya mengandung atom karbon dalam molekulnya. Pada pelarut organik, zat terlarut didasarkan pada kemampuan koordinasi dan konstanta dielektriknya. Pelarut organik dapat bersifat polar dan non polar bergantung pada gugus kepolaran yang dimilikinya. Contoh pelarut organik adalah alkohol, eter, ester, etil asetat, keton, dan sebagainya (Agoes, 2007).

Metode ekstraksi yang tepat menjadi salah satu faktor utama dalam ekstraksi. Berdasarkan penelitian Parhusip dan Azis (2011) ekstraksi flavonoid dilakukan dengan metode maserasi, dimana bahan direndam dalam pelarut selama 24 jam dengan beberapa perbedaan suhu ekstraksi. Ekstraksi dapat dimodifikasi sesuai dengan kebutuhan ekstraksi. Menurut Wazir (2011) penggunaan suhu tinggi untuk melakukan ekstraksi meningkatkan kelarutan dari senyawa flavonoid. Suhu tinggi mampu melepaskan senyawa fenolik yang terikat disebabkan oleh rusaknya unsur-unsur sel, sehingga semakin banyak senyawa fenolik yang terekstrak. Perlakuan agitasi selama ekstraksi akan membantu senyawa dalam bahan berinteraksi dengan pelarut dan memudahkan senyawa aktif untuk larut.

Aplikasi ekstraksi telah diterapkan pada beberapa penelitian untuk menghasilkan senyawa aktif. Menurut Usman (2016), polifenol biji lamtoro efektif diekstrak dengan menggunakan etanol konsentrasi 50% dan maserasi suhu 60°C disertasi agitasi tetapi tanpa penentuan kecepatan pengadukan. Etanol yang tercampur dengan ekstrak biji lamtoro dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dan dilanjutkan dengan pengeringan menggunakan oven *vacum* dengan suhu 50°C selama 24 jam sehingga polifenol yang dihasilkan sebesar 220,46 mg GAE/g. Bahan lain yang juga memiliki polifenol yaitu daun jarak pagar. Ekstraksi polifenol daun jarak pagar telah dilakukan Nuria dkk (2009) menggunakan metode maserasi dengan etanol konsentrasi 70% selama 5 hari, dilanjutkan pemekatan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan putaran 60 rpm sehingga didapatkan rendemen 21,5 %.

2.3 Polifenol

Senyawa fenol dapat di definisikan secara kimiawi oleh adanya satu cincin aromatik yang membawa satu (fenol) atau lebih (polifenol) substitusi hidroksil, termasuk derifat fungsionalnya. Polifenol adalah kelompok zat kimia yang ditemukan pada tumbuhan. Zat ini memiliki tanda khas yakni memiliki banyak gugus fenol dalam molekulnya.



Gambar 2.2. Struktur dasar polifenol (Sumber: Silalahi, 2010)

Polifenol memiliki spektrum luas dengan sifat kelarutan pada suatu pelarut yang berbeda-beda. Hal ini disebabkan oleh gugus hidroksil pada senyawa tersebut yang dimiliki berbeda jumlah dan posisinya. Turunan polifenol sebagai antioksidan dapat menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Polifenol merupakan komponen yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan dalam buah dan sayuran (Hattenschwiler dan Vitousek, 2000).

2.3.1. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang banyak ditemukan di alam. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆ yang artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzen tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon kalkon. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenol yang memiliki gugus-OH dengan adanya perbedaan, keelektronegatifan yang tinggi, sehingga sifatnya polar. Pengelompokan 14 flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan pada rantai C₃ sesuai struktur

kimiannya seperti flavonol, flavon, flavanon, katekin, antosianidin dan kalkon (Robinson, 1995).

2.3.2. Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa fenol yang terdapat pada daun dan buah yang belum matang. Tanin merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan flavonoid, mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan untuk meratakan warna kulit. Selain itu, tanin juga banyak digunakan manusia sebagai antidiare, antibakteri, antiseptik, dan antifungi (Stevens dkk., 1993). Secara kimia tanin dapat dibedakan menjadi dua golongan yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis atau tanin galat (Robinson, 1995). Tanin terhidrolisis merupakan tanin yang berikatan dengan karbohidrat membentuk jembatan oksigen sehingga dapat dihidrolisis 15 dengan asam sulfat. Contoh dari tanin terhidrolisis adalah gallotanin. Tanin terkondensasi adalah tanin yang tidak dapat dihidrolisis, tetapi dapat terkondensasi menghasilkan asam klorida. Tanin jenis ini kebanyakan terdiri dari polimer flavonoid yang merupakan senyawa fenol. Salah satu contoh dari tanin terkondensasi adalah sorghum procyanidin (Stevens dkk., 1993)

2.3.3. Alkaloid

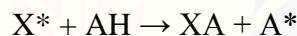
Alkaloid adalah golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Satu-satunya sifat alkaloid yang terpenting adalah kebasaananya. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Lenny, 2006). Alkaloid biasanya terdapat di dalam tumbuhan sebagai garam berbagai senyawa organik. Penggolongan alkaloid dilakukan berdasarkan sistem cincinnya seperti piridina, piperidina, indol, isokuinolina dan tropana (Robinson, 1995).

2.4 Antioksidan

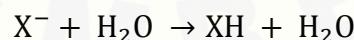
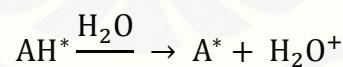
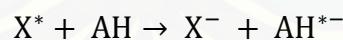
Antioksidan, senyawa yang dalam jumlah kecil dibanding substrat mampu menunda atau mencegah terjadinya oksidasi dari substrat yang mudah teroksidasi. Antioksidan memberikan elektron atau reduktan. Senyawa antioksidan yang

memiliki berat molekul kecil ini, mempunyai kemampuan melepas atom hidrogen dan menurunkan reaktivitas radikal (Winarsi, 2007). Antioksidan secara alami sudah dihasilkan dalam tubuh, namun jumlahnya terbatas untuk berkompetisi dengan radikal bebas yang dihasilkan setiap harinya oleh tubuh sendiri sehingga diperlukan adanya asupan antioksidan yang berasal dari luar tubuh. Suatu senyawa aktif dapat digunakan sebagai antioksidan apabila dapat menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Polifenol merupakan komponen yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan dalam buah dan sayuran (Hattenschwiler dan Vitousek, 2000).

Mekanisme dalam antioksidan merangkap radikal bebas digolongkan menjadi dua yaitu mekanisme *Hidrogen Atom Transfer* (HAT) dan *Electron Transfer* (ET) (Okawa dkk., 2001). Reaksi HAT pada umumnya terjadi akibat peroksidasi lemak yaitu radikal bebas (X^*) dengan antioksidan (AH) seperti pada reaksi di bawah ini:



Reaksi ET terjadi akibat reaksi reduksi oksidasi (redoks) antara radikal (X^*) dengan antioksidan (AH) yang menghasilkan produk stabil (XH) dan air (H_2O). Produk inilah yang dapat mempengaruhi warna menjadi memudar. Tahapan rekasinya disajikan pada reaksi di bawah ini:



Antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua dilihat dari sumbernya, yaitu antioksidan sintetik dan alami. Antioksidan sintetik mempunyai efektivitas tinggi, namun belum tentu aman bagi kesehatan. Antioksidan alami memiliki keuntungan dibandingkan antioksidan sintetik yaitu aman karena tidak terkontaminasi zat kimia dan mudah diperoleh (Pokorny dan Korczak., 2001). Antioksidan alami dapat dipilih sebagai sumber antioksidan yang aman untuk dikembangkan. Contohnya seperti nutrisi dan senyawa fitokimia yang terdapat di dalam buah dan

sayur. Jenis antioksidan yang banyak terdapat dalam buah dan sayur antara lain vitamin C, vitamin E, karotenoid, dan senyawa fenolik, khususnya flavonoid. Antioksidan yang terdapat dalam buah dan sayur dapat digunakan untuk melawan beberapa gangguan yang terjadi pada masyarakat seperti stres oksidatif, untuk melindungi sel dari kerusakan oksidatif dan mencegah penyakit kronis seperti kanker, penyakit kardiovaskular dan diabetes (Benjapak dkk., 2008).

Beberapa metode pengukuran aktivitas antioksidan yang biasa digunakan yaitu DPPH dan uji aktivitas kemampuan mereduksi. Metode DPPH, salah satu metode aktivitas antioksidan yang sederhana dengan menggunakan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) sebagai senyawa pendekripsi (Miller dkk., 2000). DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) adalah senyawa radikal bebas yang stabil yang dapat bereaksi dengan atom hidrogen yang berasal dari suatu antioksidan membentuk DPPH tereduksi (Simanjuntak dkk., 2004). Pengukuran kapasitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm. Penurunan absorbansi menunjukkan adanya aktivitas *scavenging* (aktivitas antioksidan).

2.5 Antibakteri

Antibakteri, suatu senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba yang menginfeksi. Aulia (2008) menyimpulkan antibakteri adalah obat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membasmikan bakteri, khususnya bakteri yang bersifat merugikan manusia. Terdapat beberapa istilah yang digunakan untuk menjelaskan pembasmian bakteri seperti germisid, bakterisid, bakteriostatik, antiseptik, dan desinfektan. Mekanisme kerja obat antibakteri tidak sepenuhnya dimengerti, namun dapat dikelompokkan dalam empat hal utama yaitu penghambatan terhadap sintesis dinding sel, penghambatan terhadap fungsi membran sel, penghambatan terhadap sintesis protein, penghambatan terhadap sintesis asam nukleat. Salah satu senyawa yang termasuk jenis antibakteri yaitu flavonoid.

Flavonoid berperan secara langsung yaitu dengan cara mengganggu fungsi sel mikroorganisme dan penghambatan siklus sel mikroba (Ambarwati, 2007).

Mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh senyawa antibakteri dapat disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya gangguan pada senyawa penyusun dinding sel, peningkatan permeabilitas membran sel yang dapat menyebabkan kehilangan komponen penyusun sel, menginaktivasi enzim, dan destruksi atau kerusakan fungsi material genetik. Kemampuan senyawa antibakteri untuk menghambat aktivitas pertumbuhan mikroba dalam sistem pangan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya temperatur, pH (keasaman), ketersediaan oksigen, dan interaksi/sinergi antara beberapa faktor tersebut (Nuria dkk., 2009). Tekanan osmotik dalam sel mikroba lebih tinggi dari pada di luar sel, sehingga kerusakan dinding sel mikroba akan menyebabkan terjadinya lisis yang merupakan dasar dari efek bakterisidal terhadap mikroba yang peka. Bakterisidal membunuh mikroba hanya 95% sedangkan antibakteri yang bersifat bakteriostatik dapat membunuh mikroba hingga 99% bahkan hingga tidak ada koloni yang terlihat (Ngajow, 2013).

2.6 *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*

Bakteri merupakan uniseluler, pada umumnya tidak berklorofil, terdapat beberapa yang fotosintetik dan produksi aseksualnya secara pembelahan, mempunyai ukuran sel kecil dimana setiap selnya hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop. Bakteri pada umumnya mempunyai ukuran sel 0,5-1,0 μm kali 2,0-5,0 μm , dan terdiri dari tiga bentuk dasar yaitu bentuk bulat atau kokus, bentuk batang atau *Bacillus*, dan bentuk spiral. *Bacillus subtilis* merupakan salah satu jenis bakteri gram positif yang dapat tumbuh optimal pada suhu antara 28 - 38°C dan pH 7,4. Pada umumnya terdapat pada hidung, mulut, tenggorokan, pori-pori, permukaan kulit, kelenjar keringat dan saluran usus. Infeksi *Bacillus subtilis* dapat berupa jerawat, bisul, dan luka (Jawetz dkk., 2001). Bakteri ini juga dapat menyebabkan kerusakan pada makanan kaleng yang nantinya apabila makanan tersebut dikonsumsi akan menyebakan gastroenteritis (Pratiwi, 2008). Contoh bakteri lainnya yang juga patogen yaitu *Escherichia coli*.

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif yang membentuk spora, umumnya memerlukan kelembapan yang cukup tinggi sekitar 85%, bersifat

fakultatif, dan membentuk koloni yang bundar, cembung, serta halus dengan tepi yang nyata (Jawetz, 2001). Pada umumnya dapat tumbuh secara optimum pada suhu 15 - 45°C serta pada pH 5,5 – 8. Dinding sel *Escherichia coli* terdiri dari murein, lipoprotein, fosfolipid, protein, dan lipopolisakarida (LPS) yang tersusun secara lapisan-lapisan (Dzen, 2003).

2.7 Enkapsulasi

Enkapsulasi, teknologi untuk menyalut atau melapisi suatu zat inti dengan suatu lapisan dinding polimer, sehingga menjadi partikel-partikel kecil berukuran mikro. Zat inti akan terlindungi dari pengaruh lingkungan luar dengan adanya lapisan dinding polimer ini. Bahan inti dapat berupa padatan, cairan atau gas. Serbuk yang terbentuk dapat berupa partikel tunggal atau bentuk agregat dan biasanya memiliki rentang ukuran partikel antara 5-5000 mikrometer. Ukuran tersebut bervariasi tergantung metode dan ukuran partikel bahan inti yang digunakan (Istiyani, 2008). Zat aktif yang dapat dibuat dalam sistem serbuk dapat berupa zat padat, cair ataupun gas, dengan ukuran partikel yang kecil. Sifat-sifat zat aktif dari sistem mikroenkapsulasi tergantung dari tujuan mikroenkapsulasi tersebut.

Beberapa tujuan dari pembuatan serbuk yaitu mengubah bentuk cairan menjadi padatan, melindungi inti dari pengaruh lingkungan, memperbaiki aliran serbuk, menutupi rasa dan bau yang tidak enak, menyatukan zat-zat yang tidak tersatukan secara fisika kimia, menurunkan sifat iritasi inti terhadap saluran cerna, mengatur pelepasan bahan inti, dan memperbaiki stabilitas bahan inti. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi proses mikroenkapsulasi yaitu sifat fisikokimia bahan inti atau zat aktif, bahan penyalut yang digunakan, tahap proses mikroenkapsulasi (tunggal atau bertingkat), sifat dan struktur dinding serbuk serta kondisi pembuatan (basah atau kering) (Istiyani, 2008). Contoh beberapa bahan penyalut yaitu alginat, karagenan, pektin, dan maltodekstrin.

Maltodekstrin merupakan produk hasil hidrolisa parsial pati singkong dengan menggunakan asam maupun enzim. Whistler dan Miller (1997) menyebutkan maltodekstrin merupakan suatu hasil hidrolisis pati dengan

penambahan asam, enzim atau keduanya kemudian dilakukan pengaturan pH menjadi 4,5 dan dilanjutkan dengan pengeringan menggunakan *spraydryer* sehingga diperoleh maltodekstrin. Maltodekstrin memiliki *mouthfeel* yang lembut dan mudah dicerna.

Maltodekstrin berfungsi sebagai pembantu pendispersi, humektan, enkapsulan serta pembentuk viskositas. Maltodekstrin memiliki sifat dispersi cepat, daya larut yang tinggi, membentuk film, higroskopisitas rendah, mampu membentuk body, kemungkinan terjadi pencoklatan rendah, mampu menghambat kristalisasi dan memiliki daya ikat kuat. Maltodekstrin tidak berasa dan dikenal sebagai bahan tambahan makanan yang aman (Blanchard dan Katz, 1995). Kelebihan maltodekstrin adalah bahan tersebut dapat dengan mudah melarut pada air dingin, kelebihan lainnya adalah maltodekstrin merupakan oligosakarida yang tergolong dalam prebiotik. Maltodekstrin berperan sebagai pendispersi karena maltodekstrin berbentuk koil dimana bagian dalam akan berikatan dengan gugus hidrofob dan bagian luar akan berikatan dengan gugus hidrofil. Flavor adalah salah satu yang akan terikat oleh gugus hidrofob, sehingga maltodekstrin berperan dalam memerangkap flavor. Maltodekstrin bersifat humektan yaitu dapat mengikat air tetapi mempunyai *water activity* (*aw*) yang rendah, karena dapat mengikat air ini maka dapat digunakan dalam mengatur viskositas suatu produk sesuai yang diinginkan (Kurniati, 2015).

Salah satu alat atau teknologi yang digunakan dalam pembuatan mikroenkapsulasi yaitu *spray dryer*. *Spray dryer* banyak digunakan dalam industri makanan, farmasi, *biochemical*, plastik, resin, material keramik, *detergen*, pestisida, pupuk, bahan kimia organik dan inorganik, *skim powder*, susu, makanan bayi, kopi instan, teh, buah-buah kering, jus, enzim, dan vitamin. *Spray dryer* memiliki beberapa keuntungan, seperti laju kecepatan pengeringan, rentang yang besar untuk temperatur operasi, dan waktu tinggal yang singkat (Mujumdar, 2006). Umumnya *spray dryer* dipakai di proses akhir karena alat ini digunakan untuk mengontrol kualitas akhir produk.

Proses pada *spray dryer* terbagi menjadi dua tahap yaitu proses pengeringan dan proses pemisahan *powder* dengan udara panas yang terbawa keluar melalui

cyclone (Patel dkk., 2009). Beberapa variabel yang harus diperhitungkan yaitu suhu *inlet*, kecepatan *feed solution* di *inlet chamber*, suhu udara panas yang dimasukkan, serta pemilihan dari atomizernya sehingga didapatkan kondisi optimal dari geometri *spray dryer* yang diinginkan. Proses pengeringan metode *spray drying* dilakukan dengan cara menyemprotkan masa cair (dapat berupa larutan, emulsi atau suspensi) dengan atau tanpa bahan tambahan pada medium kering yang panas (udara). Pada sampel dengan kandungan gula tinggi, perlu ditambahkan bahan pengisi agar hasil akhirnya berupa serbuk halus yang tidak lengket. Melalui kontak panas dari aliran udara kering-panas, cairan yang telah diatomisasi dengan menggunakan roda berputar atau *nozzle* akan menguap dengan cepat dan dihasilkan masa berupa padatan/serbuk. Walaupun proses penguapan memerlukan suhu tinggi, tetapi karena berlangsung secara cepat diharapkan tidak mempengaruhi kualitas produk akhir yang dihasilkan. Kualitas hasil yang diperoleh pada metode *spray drying* dipengaruhi oleh dua hal, yaitu proses selama pengeringan (suhu *inlet*, kecepatan semprot, kondisi tabung, kecepatan aliran udara, dan lain-lain) dan kondisi sampel yang akan dikeringkan (sifat bahan, jenis dan konsentrasi bahan pengisi, dan lain-lain).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian, Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, Laboratorium Manajemen Agroindustri, dan Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Waktu pelaksanaan November 2016 sampai Mei 2017.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan adalah biji lamtoro tua ukuran 15 - 20 cm dari sekitar Kabupaten Jember, aquades, etanol dan maltodekstrin DE 12. Bahan yang digunakan untuk analisis adalah kertas saring, alumunium foil, DPPH, *follin ciocalteau*, asam galat, dan Na₂CO₃. Bahan yang digunakan untuk uji antibakteri adalah NB (*Nutrient Broth*), NA (*Nutrient Agar*, DMSO 2%, larutan garam fisiologis 0,85%, kultur bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*.

3.2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan untuk ekstraksi adalah peralatan gelas, neraca analitik (Ohaus, USA), blender, *shacker waterbatch* (Memmert D-91126, Jerman), dan *rotary evaporator* (Butchi, Jerman). Alat yang digunakan untuk enkapsulasi adalah *homogenizer* dan *spray dryer* (Lab Plant SD06, Serial Number 549). Alat yang digunakan untuk analisis adalah spektrofotometer (Thermo Scientific Genesys 10S UV-VIS, China), pipet mikro (Biohit 12636255, Jerman), *blue tip*, dan *yellow tip*. Alat yang digunakan untuk uji antibakteri adalah penangas air (Medline MS3OOHS, Jerman), bunsen, ose, oven (Memmert UN 55, Jerman), vortex (Medline VM-3000-MD, Jerman), cawan petri, *laminar air flow* (Crumair, Spanyol), inkubator (Heraeus Inst B6200, Jerman), *colony counter* (Stuart Scientific), dan autoklaf (Hirayama HL 36, Jepang).

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian dilaksanakan sebanyak empat tahap yaitu ekstraksi polifenol biji lamtoro, mikroenkapsulasi ekstrak polifenol biji lamtoro, karakterisasi ekstrak polifenol biji lamtoro terenkapsulasi (rendemen, warna, dan total polifenol), aktifitas antioksidan dan antibakteri. Rancangan percobaan adalah rancangan satu faktor dengan tiga taraf. Faktor perlakuan adalah variasi persentase penambahan maltodekstrin untuk 10% ekstrak biji lamtoro kaya polifenol yang digunakan dalam enkapsulasi. Ketiga taraf tersebut adalah MD5 (5% maltodekstrin dalam 85% aquades), MD10 (10% maltodekstrin dalam 80% aquades), dan MD15 (15% maltodekstrin dalam 75% aquades). Komposisi enkapsulasi ekstrak biji lamtoro kaya polifenol dapat dilihat pada **Tabel 3.1**.

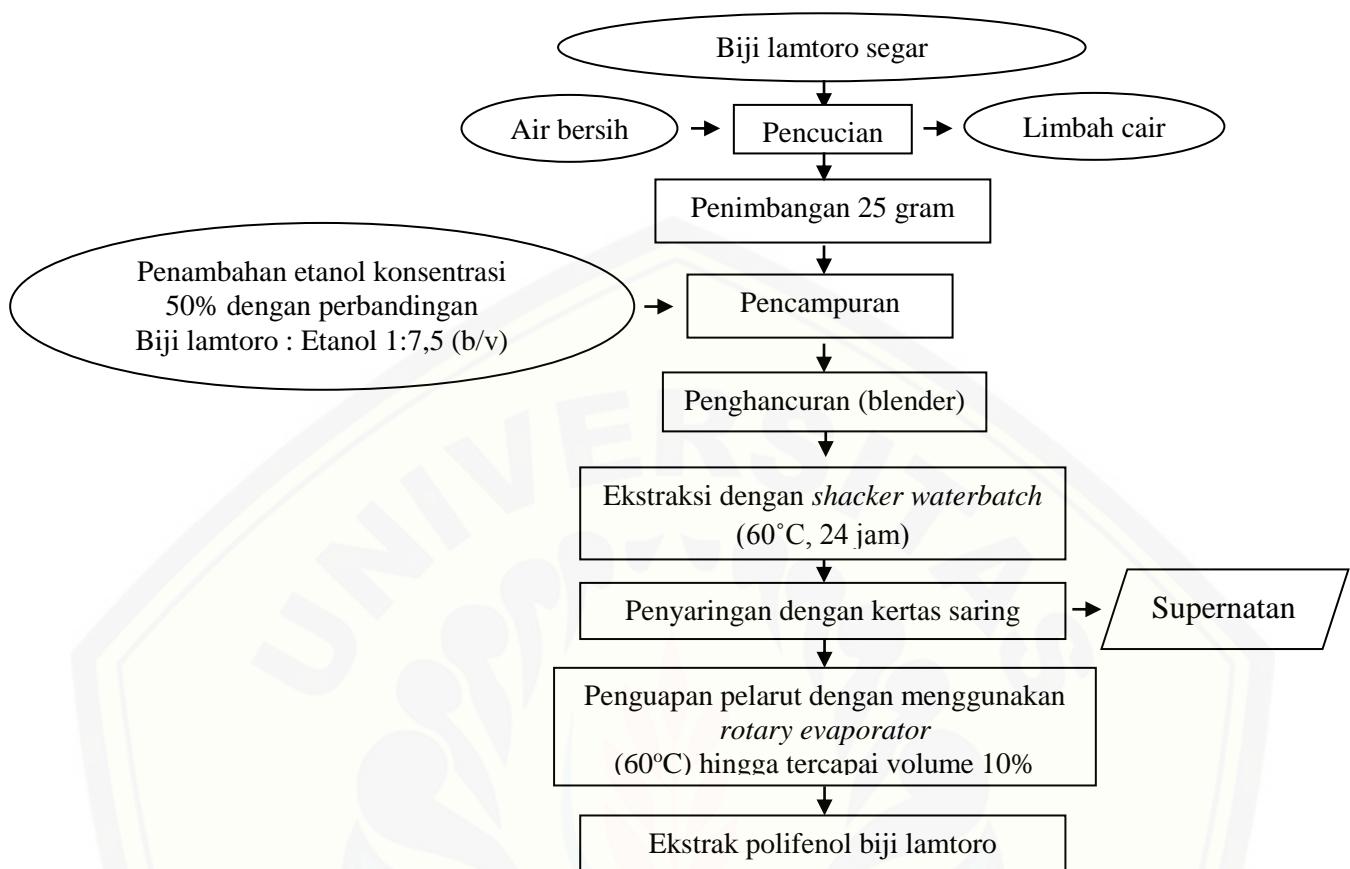
Tabel 3.1. Komposisi enkapsulasi ekstrak biji lamtoro kaya polifenol

Perlakuan	Komposisi		
	Ekstrak Polifenol (%)	Maltodekstrin (%)	Aquades (%)
MD5	10	5	85
MD10	10	10	80
MD15	10	15	75

3.3.2 Tahapan Penelitian

a. Ekstraksi Biji Lamtoro

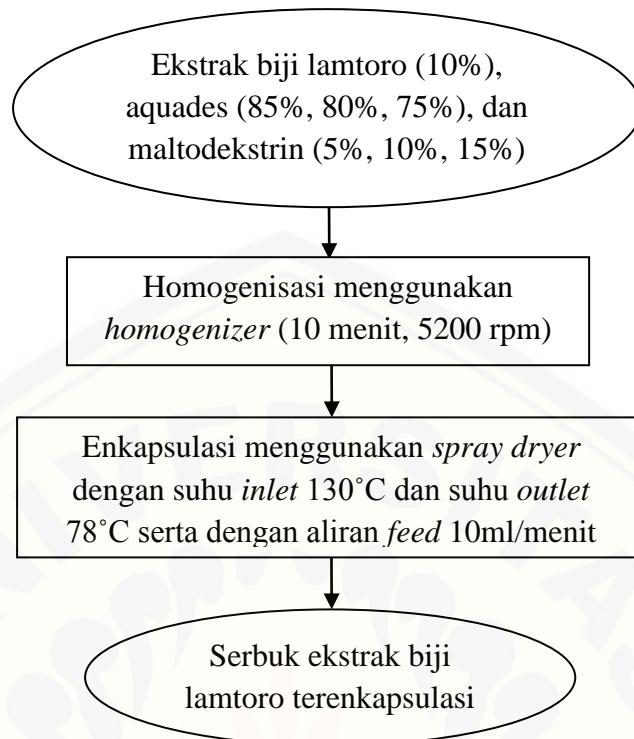
Ekstraksi biji lamtoro dilakukan dengan cara menyiapkan lamtoro tua dengan ukuran berkisar 15-20 cm dan memiliki warna hijau kecoklatan. Polong biji lamtoro dibuang kulitnya sehingga dihasilkan biji lamtoro yang selanjutnya dicuci untuk menghilangkan kotoran yang masih melekat. Biji lamtoro ditimbang sebanyak 25 gram dan ditambahkan etanol 50% sebanyak 7,5 kali dari berat biji lamtoro (b/v) ketika proses penghancuran dengan menggunakan blender. Biji lamtoro yang telah hancur dimaserasi disertai pengadukan dengan suhu 60°C selama 24 jam. Tahap selanjutnya, adalah penyaringan dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan antara ampas dan filtrat serta dilakukan penguapan dengan menggunakan *rotary evaporator* ($T = 60^\circ\text{C}$) hingga mencapai volume 10%. Diagram ekstraksi biji lamtoro dapat dilihat pada **Gambar 3.1**.



Gambar 3.1 Ekstraksi polifenol biji lamtoro

b. Enkapsulasi Ekstrak Polifenol Biji Lamtoro

Enkapsulan yang digunakan pada penelitian ini yaitu maltodekstrin DE 12. Maltodekstrin dilarutkan dengan menggunakan pelarut ekstrak biji lamtoro. Pembuatan suspensi dilakukan dengan menggunakan 3 macam variasi perbandingan maltodekstrin yaitu 5%, 10%, dan 15%. Suspensi dihomogenisasi dengan menggunakan *homogenizer* pada kecepatan 5200 rpm selama 10 menit. Suspensi yang telah homogen dilanjutkan dengan proses enkapsulasi dengan menggunakan *spray dryer* (suhu inlet = 130°C, suhu outlet = 78°C, aliran feed = 10 ml/menit). Diagram alir enkapsulasi ekstrak biji lamtoro dapat dilihat pada **Gambar 3.2.**



Gambar 3.2 Enkapsulasi ekstrak biji lamtoro

3.3.3 Prosedur Analisis

a. Efisiensi Enkapsulasi (Yang dkk., 2014)

Efisiensi enkapsulasi (EE) dihitung berdasarkan total polifenol serbuk ekstrak polifenol biji lamtoro (A_s) per total polifenol filtrat (A_f). Total polifenol ekstrak maupun filtrat biji lamtoro diukur dengan menggunakan metode *Folin ciocalteu*. Efisiensi enkapsulasi dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Efisiensi Enkapsulasi (\%)} = \frac{A_s (\text{mg GAE/g})}{A_f (\text{mg GAE/ml})} \times 100$$

b. Rendemen (Khamanga dkk., 2009)

Suspensi total yang berisikan ekstrak biji lamtoro kaya polifenol, aquades, dan maltodekstrin ditimbang sebelum dilakukan enkapsulasi. Serbuk yang dihasilkan setelah enkapsulasi juga ditimbang sehingga rendemen serbuk enkapsulasi dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Rendemen Serbuk (\%)} = \frac{\text{Berat serbuk setelah spray drying (g)}}{\text{Berat awal sebelum spray drying (g)}} \times 100$$

c. Warna

Pengukuran warna dilakukan dengan menggunakan *colour reader* Minolta CR-10. Tiap sampel terdiri dari 2 ulangan dan setiap ulangan dilakukan pengukuran warna pada lima titik yang berbeda, dikonversi dan dirata-rata. Lensa *colour reader* diletakkan pada porselen standar secara tegak lurus dan menekan tombol “Target” maka muncul nilai pada layar (*L*, *a*, *b*) yang merupakan nilai standarisasi kemudian menekan kembali tombol “Target” sehingga muncul nilai *dE*, *dL*, *da*, dan *db*. Pada *colour reader* yang diamati adalah nilai kecerahan warna (*L*).

Dimana : $L = 0$ (gelap)

$L = 100$ (cerah)

a^* = standar *a* + *da*

b^* = standar *b* + *db*

$$C^* = \sqrt{a^2 + b^2}$$

$$H = \text{arc tan} \frac{a^*}{b^*}$$

$H = 180 - \tan^{-1} b/a$ (jika *a* positif dan *b* positif)

= $180 + \tan^{-1} b/a$ (jika *a* negatif dan *b* positif)

= $180 - \tan^{-1} b/a$ (jika *a* negatif dan *b* negatif)

d. Total polifenol dengan menggunakan Metode *Follin ciocaltaeu* (Othman dkk., 2005)

Total polifenol diukur menggunakan metode *Follin ciocaltaeu*. Sampel sebanyak 1 gram ditera dengan menggunakan aquades hingga 5 ml, diambil 1 ml lalu ditera dengan aquades hingga 5 ml, diambil 1 ml lalu ditera dengan aquades hingga volume 10 ml, dan dilanjutkan dengan vortex. Sampel yang telah diencerkan ditambahkan 0,8 ml reagen *Follin ciocaltaeu* dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung rekasi yang telah berisi 0,04 ml sampel yang kemudian didiamkan selama 15 menit. Sampel yang telah tercampur *Follin ciocaltaeu* ditambahkan 0,8 ml larutan Na_2CO_3 dan didiamkan selama 60 menit. Sampel yang telah didiamkan selama 60 menit diukur absorbansi pada panjang gelombang 765 nm. Pembuatan kurva standart dilakukan dengan cara melarutkan asam galat di dalam methanol

dengan beberapa konsentrasi (125, 250, 500, 1000, 2000, 4000, dan 8000 μM). Kemudian kurva standar polifenol dibuat menggunakan cara yang sama dengan sampel.

- e. Aktivitas antioksidan dengan menggunakan Metode DPPH (Zakaria dkk., 2008)

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode DPPH yang mengacu pada penelitian Zakaria, dkk. (2008). Sampel sebanyak 1 gram ditera dengan menggunakan aquades hingga 5 ml, diambil 1 ml lalu ditera dengan aquades hingga 5 ml, diambil 1 ml lalu ditera dengan aquades hingga volume 10 ml, dan dilanjutkan dengan vortex.. Sampel yang telah diencerkan diambil 0,1 ml dan ditambahkan dengan 0,9 ml etanol *pro analys* serta 2 ml DPPH konsentrasi 0,1576 mg/ml, divortex dan didiamkan selama 15 menit. Sampel yang telah ditambahkan dengan etanol *pro analys* dan DPPH diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Blanko dibuat dengan cara 1 ml etanol *pro analys* ditambah dengan 2 ml DPPH konsentrasi 0,1576 mg/ml, didiamkan 15 menit, dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Perhitungan aktivitas antioksidan sebagai berikut.

$$\text{Aktivitas antioksidan} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\%$$

- f. Uji penghambatan serbuk ekstrak biji lamtoro terhadap pertumbuhan bakteri dengan metode dilusi agar

Metode dilusi agar dilakukan dengan cara penentuan nilai KHM dan IC50 dari serbuk terhadap bakteri yang terdiri dari beberapa tahapan sebagai berikut:

- a) Tahap persiapan sampel

Pada tahap persiapan sampel, peralatan dan bahan disterilisasi. Pembuatan larutan uji (stok larutan ekstrak biji lamtoro) dengan cara melarutkan serbuk ekstrak biji lamtoro dalam aquades steril. Larutan uji dibuat dalam berbagai konsentrasi 0 mg/ml; 4 mg/ml; 8 mg/ml; 16 mg/ml; 32 mg/ml; 64 mg/ml. Pada masing-masing larutan uji

diambahkan DMSO sebanyak 20 μ l dan larutan fisiologis berturut-turut adalah 980 μ l, 930 μ l, 880 μ l, 780 μ l, 580 μ l, dan 180 μ l. Pada saat akan dilakukan uji maka dilakukan penambahan media NA yang masih hangat dengan perbandingan 1:4. Pembuatan kontrol negatif 0% yaitu hanya menggunakan DMSO 20 μ l yang ditambah dengan larutan fisiologis 980 μ l dan media NA yang masih hangat. Selain itu disiapkan pula suspensi bakteri.

b) Tahap pengujian

Penentuan KHM dan IC50 pada bakteri dilakukan menggunakan metode dilusi agar dengan menghitung jumlah koloni. Masing-masing media NA yang masih hangat ditambahkan pada larutan uji dengan perbandingan 4:1. Campuran media dan larutan uji yang telah divortex dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah berisi 200 μ l suspensi mikroba (pengenceran 10⁻⁵ dan 10⁻⁶), diratakan dan dibiarkan memadat kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

c) Tahap pengamatan

Pengamatan dilakukan dengan menghitung koloni yang tumbuh pada cawan petri. KHM merupakan konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri secara optimal (99%) yaitu hampir tidak ada mikroba dalam cawan petri yang tumbuh, sedangkan IC50 merupakan konsentrasi yang mampu memberikan 50% penghambatan dari total koloni yang terdapat pada kontrol negatif.

Perhitungan IC50 diawali dengan menghitung jumlah koloni bakteri menggunakan metode BAM. Penentuan daya hambat ekstrak polifenol biji lamtoro terenkapsulasi sehingga didapatkan suatu persamaan $y = ax + b + c$ (nilai $y = 50\%$).

3.4 Analisis Data

Data hasil penelitian dibahas secara deskriptif disusun dan dimuat dalam bentuk tabel atau grafik. Tabel atau grafik yang telah didapatkan diinterpretasikan sesuai dengan pengamatan yang ada.



BAB 5. PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Peningkatan konsentrasi maltodekstrin pada pembuatan ekstrak biji lamtoro kaya polifenol menurunkan efisiensi enkapsulasi, nilai *hue*, dan aktivitas antioksidan, serta serbuk enkapsulasi ekstrak biji lamtoro kaya polifenol berpotensi sebagai antibakteri pada gram positif dan negatif. Nilai IC50 untuk bakteri gram positif lebih besar daripada gram negatif. Nilai IC50 perlakuan MD5 (5% maltodekstrin dan 85% aquades) sebesar 32,39 mg/ml, perlakuan MD10 (10% maltodekstrin dan 80% aquades) sebesar 33,66 mg/ml, sedangkan untuk perlakuan MD15 (15% maltodekstrin dan 75% aquades) sebesar 37,23 mg/ml pada bakteri *B. subtilis*, sedangkan pada bakteri *E. coli* untuk sampel MD5 sebesar 8,94 mg/ml, sampel MD10 sebesar 9,54 mg/ml, sedangkan untuk sampel MD15 sebesar 14,34 mg/ml.

5.1. Saran

Hasil penelitian ini dapat dijadikan dasar penelitian selanjutnya untuk diaplikasikan ke produk pangan maupun sebagai pengawet alami. Akan tetapi perlu diperbaiki lagi dalam hal efisiensi. Begitu pula perlu diperhatikan proses enkapsulasi sehingga tidak terjadi kontaminasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. Bandung: ITB Press.
- Ainurrochmah, A., Evi, R., dan Lisa, L. 2013. Efektivitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Shigella flexneri* dengan Metode Sumuran. *Lentera Bio*, Vol.2 (3): 233-237. ISSN 2252-3979.
- Aisyah, N. 2016. "Mikroenkapsulasi Ekstrak Polifenol Biji Kakao Inferior Sebagai Antioksidan dan Antimikroba". Skripsi. Jember: Universitas Jember.
- Ambarwati. 2007. Efektivitas Zat Antibakteri Biji Mimba (*Azadirachta indica*) untuk Menghambat Pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureus*. *Biodiversitas*, Vol.8 (3): 320-325.
- Amic, D., Dusanka, D. A., Drago, B., dan Nenad, T. 2003. Structure-Radical Scavenging Activity Relationship of Flavonoids. *Croatica Chemica Acta CCACAA*, Vol.76 (1): 55-61.
- Amila., Cepy, H., Yukeu, F., Fitrianti, D., dan Indra, T. 2016. Pengaruh Jenis Penyalut Terhadap Stabilitas Likopen Dalam Bentuk Sediaan Serbuk. *IJPST*, Vol.3 (3): 111-118.
- Aulia, I. A. 2008. "Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanolik Daun Arbenan (*Duchesnea indica* (Andr.) Focke) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* Multiresisten Antibiotik Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya". Skripsi. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Benjapak, N., Swasitang, P., dan Tanpanich, S. 2008. Determination of Antioxidant Capacity and Nutritive Values of Pak-Wanban (*Sauvopus androgynus* L. Merr.). *KKU Sci J*, Vol.36 (4): 279-289.
- Blanchard, P.H. dan Katz. 1995. *Starch: Chemistry and Technology*. New York: Academic Press Inc.
- Dalimartha, S. 2008. *Care Your Self Hipertensi*. Jakarta: Penebar Plus.
- Dzen, S. M. 2003. *Bakteriologik Medik*. Malang: Bayumedia.

- Gonta, A., T, Lupascu., I, Povar., N, Timbaliuc., T, E, Sukhanov., V, Petrova., dan I, A, Skorik. 2016. Enhacement of Antioxidant and Antibacterial Activities by Immobilization of Natural Bactericide into Hybrid Supramolecular Chitosan Bio-composite Gel. *IFMBE Proceedings*, Vol.55: 301-303.
- Hariana A. 2008. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri 2*. Depok: Penebar Swadaya.
- Hattenschwiller, S., dan Vitousek, P. M. 2000. The Role of Polyphenols Interrestrial Ecosystem Nutrient Cycling. *Review PII: S0169-5347(00)01861-9 TREE*, Vol.15 (6): 238-243.
- Hossain, S. J., M, H, Basar., B, Rokeya., K, M, T, Arif., M, S, Sultana., dan M, H, Rahman. 2013. Evaluation of Antioxidant, Antidiabetic, and Antibacterial Activities of The Fruit of *Sonneratia apetala*. *Orient Pharm Exp Med*, Vol.13: 95-102.
- Hutching, J.B. 1999. *Food and Appearance, second edition*. Maryland: Aspen publ. Inc.
- Istiyani, K. 2008. "Mikroenkapsulasi Insulin untuk Sediaan Oral Menggunakan Metode Emulsifikasi dengan Penyalut Natrium Alginat dan Kitosan". Skripsi. Depok: FMIPA Universitas Indonesia.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E, A. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Surabaya: Salemba Medical.
- Khamanga, S, M., Parfitt, N., Nyamuzhiwa, T., Haidula, H., dan Walkerl, R, B. 2009. The Evaluation Eudragit Microcapsules Manufactured by Solvent Evaporation Using USP Apparatus 1. *Dissolution Technologies*.
- Kurniati, E. 2015. "Pengaruh Maltodekstrin Pati Talas (*Colocasia esculenta L. Schottt*) Terhadap Kualitas Es Krim". Skripsi. Makassar: Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin.
- Lenny S. 2006. *Senyawa Flavonoid, Fenilpropanoida dan Alkaloida*. Medan: Fak. MIPA. USU.
- Lestari, P. P., Dewi, K., dan Khairul, A. 2014. Anthocyanin Identification of Methanol-HCl Extract Active Fraction in Rosella (*Hibiscus Sabdariffa L*) and Its Potential as Xanthine Oxidase Inhibitor. Vol.22 (3): 72-78. ISSN 0854-0675.

- Loh K. Y. 2008. Know The Medicinal Herb: *Leucaena leucocephala*. *Journal Malaysian Family Physician*, Vol.3 (2): 123.
- Manoi, F. 2009. Binahong (*Anredera Cordifolia*) Sebagai Obat. *Jurnal Warta Penelitian Dan Pengembangan Tanaman Industri*, Vol.15 (1): 3-5.
- Miller, H. E., Rigelholz, F., Marquart, L., Prakash, A., dan Kanter, M. 2000. Antioxidant Content of Whole Grain Breakfast Cereals, Fruits and Vegetables. *Journal of The American College of Nutrition*, Vol.19 (3): 312S-319S.
- Mujumdar, A. S. 2006. *Handbook of Industrial Drying*. Singapura: CRC Press Online.
- Ngajow. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *Jurnal MIPA UNSRAT Online*, Vol.2 (2): 128-132.
- Nuria, M. C., Faizatun, A., dan Sumantri. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*, *Escherechia Coli* dan *Salmonela Typhi*. Vol.5 (2): 26-37.
- Othman, A., Ismail, A., Ghani, N, A., dan Adenan, I. 2005. Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Cocoa Beans. *Journal of Food Chemistry*, Vol.100: 1523-1530.
- Palupi, N. W., Pandu, K. J. S., dan Yuwanti, S. 2014. Enkapsulasi Cabai Merah dengan Teknik Coacervation Menggunakan Alginat yang Disubstitusi dengan Tapioka Terfotooksidasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, Vol.3 (3): 87-93.
- Parhusip, A. J. N., dan Azis, B. S. 2011. Antimicrobial Activity of Melinjo Seed and Peel Extract (*Gnetum gnemon*) Agants Selected Pathogenic Bacteria. *Microbiology Indonesia*, Vol.5 (3): 103-112.
- Parubak, A. S. 2013. Senyawa Flavonoid yang Bersifat Antibakteri dari Akway (*Drimys becariana Gibbs.*). *Chemical Program*, Vol.6 (1): 34-36.
- Patel, R., Patel, M., dan Suthar, A. 2009. *Spray Drying Technology: an Overview*, *Department of Pharmaceutics*. India: Ganpat University.
- Pelczar. J. M., dan Chan E.C.S. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia.

- Pertiwi, M., Hartati, S., dan Sri, H. 2014. Optimalisasi Konsentrasi Ekstrak Saponin Daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala* (Lam.) De Wit.) sebagai Agensi Pembusa Alami Sampo. Prosiding. Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI, 253-254. ISBN 979363174-0.
- Pokorny, J. N., dan Korczak, J. 2001. *Preparation of natural antioxidant*. In: M. Gordon (Ed.), *Antioxidant In Food*. New York, Washington D.C: CRC Press.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Putra, W. S. 2015. *Kitab Herbal Nusantara: Aneka Resep dan Ramuan Tanaman Obat Untuk Berbagai Gangguan Kesehatan*. Yogyakarta: Kataha.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi ke-4 Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB Press.
- Rohdiana, D., Dede, Z. A., dan Arista, B. 2013. Aktivitas Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* oleh Berbagai Jenis Teh dan Seduhannya. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*, Vol.16 (1): 37-44.
- Simanjuntak, P., Parwati, L., Lenny, E., Tamat, S., dan Murwani, R. 2004. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Benalu Teh, *Scurrula oortiana* (Korth) Danser (Loranthaceae). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, Vol.2 (1): 1693-1831.
- Soeryoko, H. 2011. *Tanaman Obat Terpopuler Untuk Pelangsing dan Penurun Kolesterol*. Yogyakarta: Andi.
- Suwasono, S. 2017. Antioxidant and AntibacterialActivity of Polyphenol-Rich Extracts of Mulberry Leaves (*Morus alba*) Agants *Escherichia coli*. International Seminar on Food Sovereignty and Sustainable Agriculture.
- Thabti, I., Walid, E., Hedia, H., Ali, F., dan Maria, D. G. C. 2012. Identification and quantification of phenolic acids and flavonol glycosides in Tunisian *Morus* species by HPLC-DAD and HPLC–MS. *Journal of Functional Food*, Vol.4: 367-374.
- Timotius, K. H. 1982. *Mikrobiologi Dasar*. Cetakan I. Salatiga: UKSW.
- Usman, S. K. "Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Biji Lamtoro (*Leucaena leucephala*)". Skripsi. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Wazir, D. 2011. Antioxidant Activities of Different Parts of *Gnetum gnemon* L. *Journal Plant Biochemistry and Biotechnology*.

- Whistler, F.R. and Miller, J. N. 1997. *Carbohydrate Chemistry for Food Scientist*. London: Academica, Inc.
- Wijayakusuma, H. 2004. *Bebas Diabetes Militus Ala Hembing*. Jakarta: Puspa Swara.
- Winarsi, H. 2007. *Isoflavon, Sumber dan Sifatnya, serta Efek Pada Penyakit Denegeratif*. Yogyakarta: Kanisius.
- Yang, Z., Peng, Z., Li, J., Li, S., Kong, L., Li, P. dan Wang, Q. 2014. Development and Evaluation Of Novel Flavour Microcapsules Containing Vanilla Oil Using Complex Coacervation Approach. *Food Chemistry*, Vol.145: 272-277.
- Yuliawaty, S. T., dan Wahono, H. S. 2015. Pengaruh Lama Pengeringan dan Konsentrasi Maltodekstrin Terhadap Karakteristik Fisik Kimia dan Organoleptik Minuman Instan Daun Mengkudu (*Morinda Citrifolia L*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, Vol.3 (1): 41-52.
- Zakaria, R. 2008. “*Kemunduran Mutu Ikan Gurami (Osphronemus gouramy) Pasca Panen pada Penyimpanan Suhu Chilling*”. Skripsi. Bogor: IPB.

LAMPIRAN**A. Perhitungan Rendemen Enkapsulasi**

Sampel	Ulangan	Berat suspensi (gram)	Berat bubuk (gram)	Rendemen (%)	Rata-rata	stdev
MD5	1	497,99	10,87	2,183	2,020	0,230
	2	498,02	9,25	1,857		
MD10	1	498,08	15,63	3,138	3,246	0,153
	2	499,11	16,74	3,354		
MD15	1	498,96	20,56	4,121	4,275	0,218
	2	499,24	22,11	4,429		

Keterangan:

MD5 = 5% maltodekstrin dan 85% aquades; MD10 = 10% maltodekstrin dan 80% aquades; MD15 = 15% maltodekstrin dan 75% aquades

B. Perhitungan Warna

PERLAKUAN	ULANGAN	NILAI A					RATA2	NILAI B					RATA2	NILAI L					RATA2
		1	2	3	4	5		1	2	3	4	5		1	2	3	4	5	
MD5	1	-4	-4,4	-4,4	-4,8	-4,1	-4,34	10	10,4	10,9	10,7	10	10,4	2,2	3,2	3,4	3,6	2,8	3,04

	2	-4,1	-4	-4,1	-4	-4,4	-4,12	10,9	10,3	9,9	10,1	10,7	10,38	2,8	2,2	3	3,1	2,8	2,78
MD10	1	-4,1	-4,2	-3,3	-4,1	-3,9	-3,92	10,7	11,1	10,9	11,5	11,1	11,06	3,3	3,3	2,9	2,9	3,5	3,18
	2	-3,9	-3,9	-3,4	-4,2	-4,1	-3,9	11	11,3	10,8	11,4	11,4	11,18	3	2,9	3,3	3,9	3	3,22
MD15	1	-3,8	-3,8	-3,9	-3,9	-3,5	-3,78	11,9	11,8	12	11,9	12	11,92	2,9	3,3	3,7	3,2	3,3	3,28
	2	-3,6	-4	-3,4	-3,6	-3,6	-3,64	12,1	11,9	11,9	12,2	11,8	11,98	3,3	3,1	3,2	3,8	3,4	3,36

Nilai Hue Serbuk Enkapsulasi Ekstrak Polifenol Biji Lamtoro

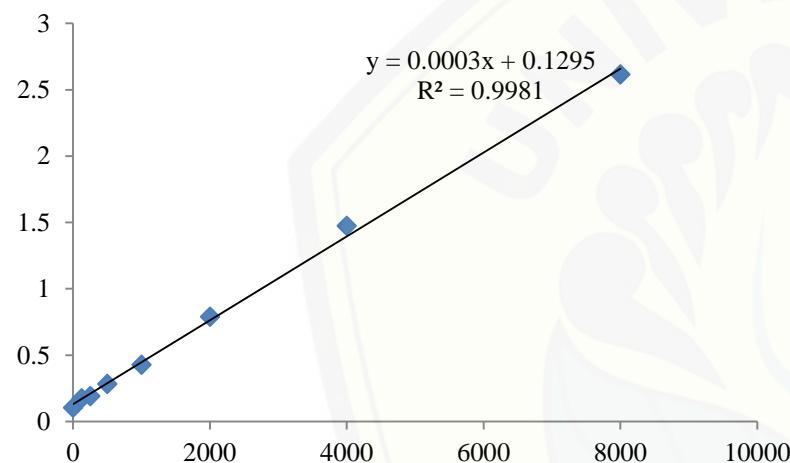
PERLAKUAN	ULANGAN	L	A	B	Hue	Rata	stdev
MD5	1	3,04	4,34	10,4	112,7	112,2	0,71
	2	2,78	4,12	10,38	111,6		
MD10	1	3,18	3,92	11,06	109,5	109,4	0,20
	2	3,22	-3,9	11,18	109,2		
MD15	1	3,28	3,78	11,92	107,6	107,2	0,49
	2	3,36	3,64	11,98	106,9		

C. Perhitungan Total Polifenol

Kurva Standart Asam Galat

Konsentrasi (μ M)	Absorbansi
0	0,104
125	0,173
250	0,19
500	0,282
1000	0,428

2000	0,789
4000	1,473
8000	2,615



1. Total Polifenol Serbuk Enkapsulasi Ekstrak Polifenol Biji Lamtoro (*Spray dryer*)

Sampel	Ulangan	Absorbansi	variabel x	konstanta	X	konsentrasi bubuk (μM)	konversi	konsentrasi akhir (mg GAE/g)	rata	stdev
MD5	1	0,409	0,0003	0,1295	931,667	232916,667	0,17012	39,624	39,340	0,284
	2	0,407	0,0003	0,1295	925,000	231250,000	0,17012	39,340		
	3	0,405	0,0003	0,1295	918,333	229583,333	0,17012	39,057		
MD10	1	0,231	0,0003	0,1295	338,333	84583,333	0,17012	14,389	13,633	0,781
	2	0,226	0,0003	0,1295	321,667	80416,667	0,17012	13,680		
	3	0,220	0,0003	0,1295	301,667	75416,667	0,17012	12,830		

MD15	1	0,178	0,0003	0,1295	161,667	40416,667	0,17012	6,876	6,309	0,567
	2	0,174	0,0003	0,1295	148,333	37083,333	0,17012	6,309		
	3	0,170	0,0003	0,1295	135,000	33750,000	0,17012	5,742		

2. Total Polifenol Serbuk Enkapsulasi Ekstrak Polifenol Biji Lamtoro (Autoklaf)

Sampel	Ulangan	Absorbansi	variabel x	konstanta	X	konsentrasi bubuk (μM)	konversi	konsentrasi akhir (mg GAE/g)	rata	stdev
MD5	1	0,365	0,0003	0,1295	785,000	196250,000	0,17012	33,386	33,481	0,714
	2	0,361	0,0003	0,1295	771,667	192916,667	0,17012	32,819		
	3	0,371	0,0003	0,1295	805,000	201250,000	0,17012	34,237		
MD10	1	0,203	0,0003	0,1295	245,000	61250,000	0,17012	10,420	10,798	0,357
	2	0,208	0,0003	0,1295	261,667	65416,667	0,17012	11,129		
	3	0,206	0,0003	0,1295	255,000	63750,000	0,17012	10,845		
MD15	1	0,152	0,0003	0,1295	75,000	18750,000	0,17012	3,190	4,229	0,996
	2	0,160	0,0003	0,1295	101,667	25416,667	0,17012	4,324		
	3	0,166	0,0003	0,1295	121,667	30416,667	0,17012	5,174		

D. Perhitungan Efisiensi Enkapsulasi

Total Polifenol Ekstrak Biji Lamtoro

Sampel	Ulangan	Absorbansi	variabel x	konstanta	x	Konsentrasi polifenol (μM)	konversi	konsentrasi akhir (mg GAE/ml)	rata	stdev
Ekstrak	1	0,198	0,0003	0,1295	228,333	57083,333	0,17012	9,711	9,238	0,590
	2	0,19	0,0003	0,1295	201,667	50416,667	0,17012	8,577		
	3	0,196	0,0003	0,1295	221,667	55416,667	0,17012	9,427		

Total Polifenol dalam 50 ml Ekstrak Biji Lamtoro

1 ml	1,0200	Gram
	1019,980	Mg
polifenol	5520,292	Mg

Efisiensi Enkapsulasi

Sampel	Ulangan	Polifenol (mg GAE/g)	Berat serbuk (g)	Total polifenol	Polifenol ekstrak (mg GAE/ml)	Efisiensi (%)	Rata-rata	stdev
MD5	1	38,45	10,87	417,952	5520,292	7,571	7,015	0,787
	2	38,54	9,25	356,495	5520,292	6,458		
MD10	1	10,38	15,63	162,239	5520,292	2,939	3,028	0,126
	2	10,28	16,74	172,087	5520,292	3,117		
MD15	1	5,42	20,56	111,435	5520,292	2,019	2,199	0,255
	2	5,94	22,11	131,333	5520,292	2,379		

E. Perhitungan Aktivitas Antioksidan

1. Aktivitas Antioksidan Serbuk Enkapsulasi Ekstrak Polifenol Biji Lamtoro (Spray dryer)

Sampel	Ulangan	Blanko	Absorbansi	% penghambatan	Rata	Stdev
MD5	1	1,991	1,185	40,482	39,866	0,747
	2	2,011	1,205	40,080		
	3	2,093	1,276	39,035		
MD10	1	1,991	1,355	31,944	32,075	0,118
	2	2,011	1,364	32,173		
	3	2,093	1,421	32,107		
MD15	1	1,991	1,479	25,716	25,665	0,926
	2	2,011	1,514	24,714		
	3	2,093	1,537	26,565		

2. Aktivitas Serbuk Enkapsulasi Ekstrak Polifenol Biji Lamtoro (Autoklaf)

Sampel	Ulangan	Blanko	Absorbansi	% penghambatan	Rata	Stdev
MD5	1	1,991	1,567	21,296	21,130	0,943
	2	2,011	1,569	21,979		
	3	2,093	1,672	20,115		
MD10	1	1,991	1,625	18,383	18,643	0,613
	2	2,011	1,622	19,344		
	3	2,093	1,712	18,204		
MD15	1	1,991	1,764	11,401	12,276	0,826
	2	2,011	1,762	12,382		

3 2,093 1,82 13,043

F. Perhitungan IC50 *Bacillus subtilis*

Sampel	Ulangan	Konsentrasi Polifenol (mg/ml)	Jumlah Koloni 10 ⁵	Jumlah Koloni 10 ⁶	Perhitungan BAM	Jumlah Koloni (CFU/ml)	Rata - Rata	Log Jumlah Koloni	SD	% Penghambatan
MD5	1	0	378	189	515	2,58E+08	2,57E+08	8,411	2,74E+06	0,00%
		4	334	141	432	2,16E+08	2,11E+08	8,325	4,55E+06	17,89%
		8	288	129	379	1,90E+08	1,87E+08	8,273	2,05E+06	27,19%
		16	266	121	352	1,76E+08	1,73E+08	8,239	2,50E+06	32,67%
		32	207	97	276	1,38E+08	1,35E+08	8,130	4,04E+06	47,56%
		64	68	35	94	4,68E+07	4,92E+07	7,692	2,10E+06	80,87%
	2	0	382	190	520	2,60E+08				
		4	328	137	423	2,11E+08				
		8	281	131	375	1,87E+08				
		16	261	120	346	1,73E+08				
		32	205	95	273	1,36E+08				
		64	74	37	101	5,05E+07				
	3	0	371	189	509	2,55E+08				
		4	320	135	414	2,07E+08				
		8	277	131	371	1,85E+08				
		16	258	118	342	1,71E+08				
		32	194	93	261	1,30E+08				
		64	76	35	101	5,05E+07				

MD10	1	0	378	191	517	2,59E+08	2,58E+08	8,411	1,31E+06	0,00%
		4	324	147	428	2,14E+08	2,12E+08	8,326	3,09E+06	17,92%
		8	298	132	391	1,95E+08	1,98E+08	8,296	1,98E+06	23,33%
		16	261	126	352	1,76E+08	1,78E+08	8,251	2,29E+06	30,85%
		32	195	103	271	1,35E+08	1,39E+08	8,142	3,41E+06	46,18%
		64	105	43	135	6,73E+07	6,68E+07	7,825	1,20E+06	74,09%
	2	0	374	190	513	2,56E+08				
		4	324	144	425	2,13E+08				
		8	302	136	398	1,99E+08				
		16	273	124	361	1,80E+08				
		32	210	103	285	1,42E+08				
		64	99	45	131	6,55E+07				
	3	0	377	192	517	2,59E+08				
		4	316	142	416	2,08E+08				
		8	302	135	397	1,99E+08				
		16	270	123	357	1,79E+08				
		32	203	102	277	1,39E+08				
		64	106	43	135	6,77E+07				
MD15	1	0	380	189	517	2,59E+08	2,59E+08	8,413	1,39E+06	0,00%
		4	326	152	435	2,17E+08	2,16E+08	8,335	2,10E+06	16,56%
		8	306	140	405	2,03E+08	2,01E+08	8,304	1,64E+06	22,24%
		16	268	127	359	1,80E+08	1,80E+08	8,255	7,87E+05	30,49%
		32	211	115	296	1,48E+08	1,49E+08	8,174	1,46E+06	42,36%
		64	122	57	163	8,14E+07	8,26E+07	7,917	2,10E+06	68,11%
	2	0	382	191	521	2,60E+08				

	4	320	150	427	2,14E+08
	8	301	138	399	2,00E+08
	16	266	129	359	1,80E+08
	32	214	118	302	1,51E+08
	64	119	60	163	8,14E+07
3	0	375	192	515	2,58E+08
	4	330	148	435	2,17E+08
	8	308	136	404	2,02E+08
	16	268	130	362	1,81E+08
	32	209	118	297	1,49E+08
	64	125	62	170	8,50E+07

1. IC50 MD5

$$\begin{aligned}y &= -0,0001x^2 + 0,0163x + 0,0778 \\50\% &= -0,0001x^2 + 0,0163x + 0,0778 \\0,5 &= -0,0001x^2 + 0,0163x + 0,0778\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\hline X^2 - 163X + 4222 \\(X - 32,29)(X - 130,71) \\X &= 32,29 \text{ mg/ml} \\X &= 130,71 \text{ mg/ml}\end{aligned}$$

2. IC50 MD10

$$y = -0,0001x^2 + 0,0162x + 0,0680$$

$$50\% = -0,0001x^2 + 0,0162x + 0,0680$$

$$0,5 = -0,0001x^2 + 0,0162x + 0,0680$$

$$X^2 - 162X + 4320$$

$$(X - 33,66)(X - 128,34)$$

$$X = 33,66 \text{ mg/ml}$$

$$X = 128,34 \text{ mg/ml}$$

3. IC50 MD15

$$y = -0,0001x^2 + 0,0154x + 0,0652$$

$$50\% = -0,0001x^2 + 0,0154x + 0,0652$$

$$0,5 = -0,0001x^2 + 0,0154x + 0,0652$$

$$X^2 - 154X + 4348$$

$$(X - 116,77)(X - 37,23)$$

$$X = 116,77 \text{ mg/ml}$$

$$X = 37,23 \text{ mg/ml}$$

G. Perhitungan IC50 *Escherichia coli*

Sampel	Ulangan	Konsentrasi Polifenol (mg/ml)	Jumlah Koloni 10 ⁵	Jumlah Koloni 10 ⁶	Perhitungan BAM	Jumlah Koloni (CFU/ml)	Rata - Rata	Log Jumlah Koloni	SD	% Penghambatan
MD5	1	0	44	17	55	2,77E+07	2,85E+07	7,455	9,46E+05	0,00%
		4	30	9	35	1,77E+07	1,83E+07	7,263	6,94E+05	35,64%
		8	21	2	21	1,05E+07	1,12E+07	7,050	6,94E+05	60,64%
		16	11	0	10	5,00E+06	5,00E+06	6,699	4,55E+05	82,45%
		32	6	0	5	2,73E+06	3,18E+06	6,503	4,55E+05	88,83%
		64	2	0	2	9,09E+05	1,06E+06	6,026	2,62E+05	96,28%
	2	0	48	14	56	2,82E+07				
		4	32	10	38	1,91E+07				
		8	22	3	23	1,14E+07				
		16	10	0	9	4,55E+06				
		32	7	0	6	3,18E+06				
		64	2	0	2	9,09E+05				
	3	0	50	15	59	2,95E+07				
		4	31	9	36	1,82E+07				
		8	23	3	24	1,18E+07				
		16	12	0	11	5,45E+06				
		32	8	0	7	3,64E+06				
		64	3	0	3	1,36E+06				
MD10	1	0	49	18	61	3,05E+07	3,02E+07	7,479	9,46E+05	0,00%
		4	31	11	38	1,91E+07	1,97E+07	7,294	5,25E+05	34,67%
		8	23	5	25	1,27E+07	1,23E+07	7,089	4,55E+05	59,30%

		16	15	0	14	6,82E+06	6,52E+06	6,814	1,39E+06	78,39%
		32	10	0	9	4,55E+06	4,24E+06	6,628	5,25E+05	85,93%
		64	4	0	4	1,82E+06	1,97E+06	6,294	2,62E+05	93,47%
2	0	45	19	58	2,91E+07					
	4	35	9	40	2,00E+07					
	8	20	6	24	1,18E+07					
	16	11	0	10	5,00E+06					
	32	8	0	7	3,64E+06					
	64	4	0	4	1,82E+06					
3	0	51	17	62	3,09E+07					
	4	33	11	40	2,00E+07					
	8	22	5	25	1,23E+07					
	16	17	0	15	7,73E+06					
	32	10	0	9	4,55E+06					
	64	5	0	5	2,27E+06					
MD15	1	0	51	20	65	3,23E+07	3,35E+07	7,525	1,14E+06	0,00%
	4	36	11	43	2,14E+07	2,11E+07	7,323	5,25E+05	37,10%	
	8	30	7	34	1,68E+07	1,62E+07	7,210	1,05E+06	51,58%	
	16	19	0	17	8,64E+06	8,64E+06	6,936	4,55E+05	74,21%	
	32	12	0	11	5,45E+06	5,15E+06	6,712	5,25E+05	84,62%	
	64	6	0	5	2,73E+06	3,03E+06	6,481	2,62E+05	90,95%	
2	0	52	22	67	3,36E+07					
	4	34	13	43	2,14E+07					
	8	27	6	30	1,50E+07					
	16	20	0	18	9,09E+06					

	32	10	0	9	4,55E+06
	64	7	0	6	3,18E+06
3	0	55	21	69	3,45E+07
	4	34	11	41	2,05E+07
	8	29	8	34	1,68E+07
	16	18	0	16	8,18E+06
	32	12	0	11	5,45E+06
	64	7	0	6	3,18E+06

1. IC50 MD5

$$y = -0,0005x^2 + 0,0427x + 0,1582$$

$$50\% = -0,0005x^2 + 0,0427x + 0,1582$$

$$0,5 = -0,0005x^2 + 0,0427x + 0,1582$$

$$X^2 - 85X + 684$$

$$(X - 9)(X - 76)$$

$$X = 8,94 \text{ mg/ml}$$

$$X = 76,06 \text{ mg/ml}$$

2. IC50 MD10

$$y = -0,0005x^2 + 0,0409x + 0,1551$$

$$50\% = -0,0005x^2 + 0,0409x + 0,1551$$

$$0,5 = -0,0005x^2 + 0,0409x + 0,1551$$

$$X^2 - 82X + 690$$

$$(X - 98,66)(X - 14,34)$$

$$X = 98,66 \text{ mg/ml}$$

$$X = 14,34 \text{ mg/ml}$$

3. IC50 MD15

$$y = -0,0004x^2 + 0,0393x + 0,1459$$

$$50\% = -0,0004x^2 + 0,0393x + 0,1459$$

$$0,5 = -0,0004x^2 + 0,0393x + 0,1459$$

$$X^2 - 98X + 885$$

$$(X - 10)(X - 88)$$

$$X = 10 \text{ mg/ml}$$

$$X = 88 \text{ mg/ml}$$

H. Dokumentasi Penelitian



Buah Lamtoro Segar



Biji Lamtoro



Penghancuran menggunakan blender



Biji lamtoro dalam pelarut sebelum ekstraksi
dalam shaker waterbatch



Biji lamtoro dalam pelarut setelah
ekstraksi dalam shacker waterbatch



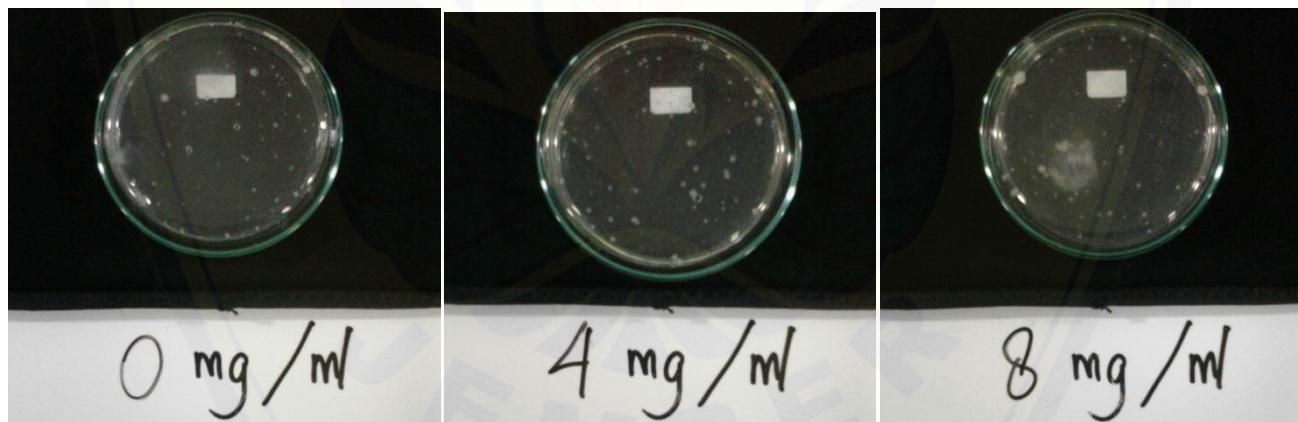
Proses homogenisasi

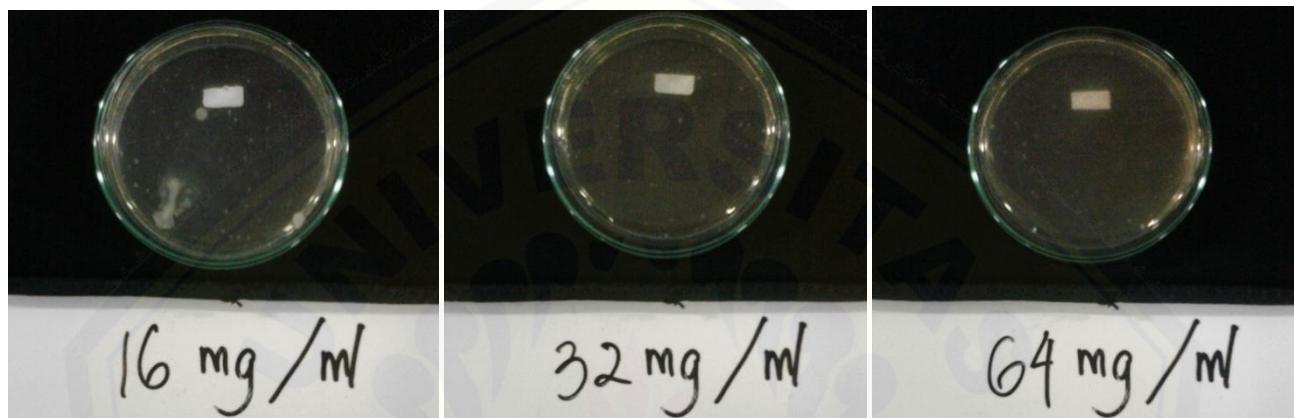


Proses enkapsulasi menggunakan *spray dryer*

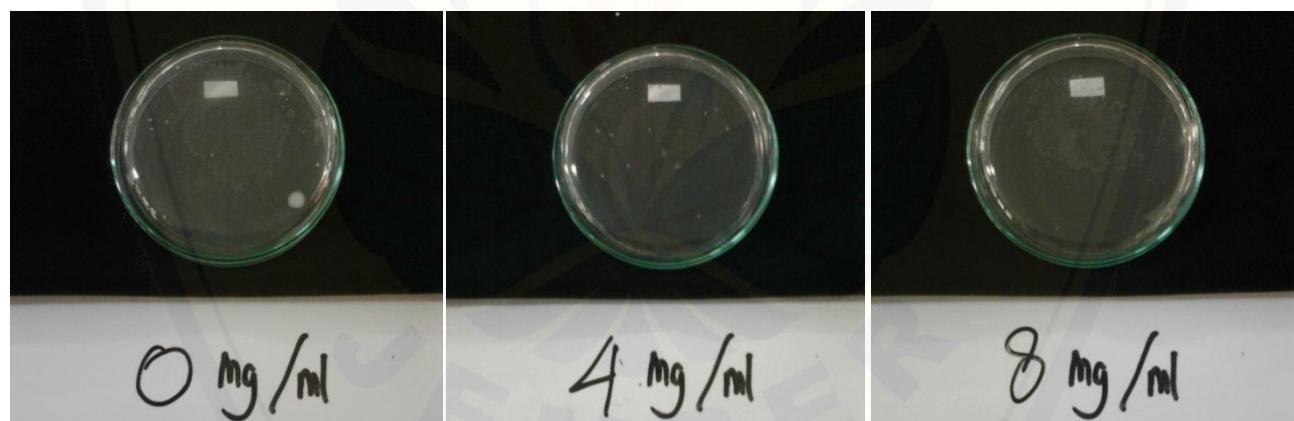


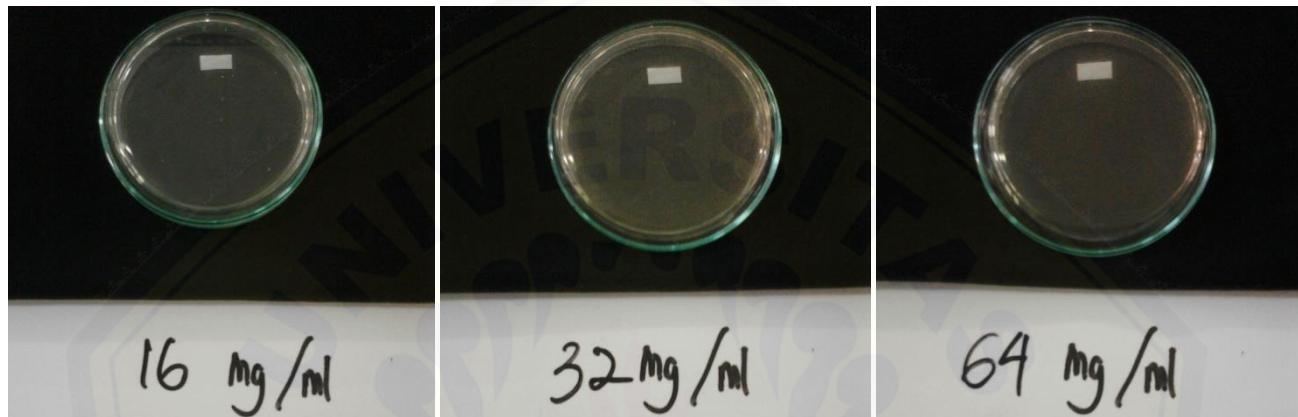
Serbuk enkapsulasi ekstrak polifenol biji lamtoro (15%, 10%, 5%)





Uji KHM bakteri *Bacillus subtilis*





Uji KHM bakteri *Escherichia coli*