

# POTENSI “*UNDERUTILISED VEGETABLE*” SEBAGAI SUMBER ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI

Rizki Kurniawan<sup>1</sup>, Shelvy Khadijah<sup>1</sup>, Sony Suwasono<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Prodi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember

<sup>2</sup>Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember  
Jl. Kalimantan No. 37 Kampus Bumi Tegalboto, Jember, Kode Pos 68121, Indonesia

\*E-mail : sony.unej@yahoo.co.id

## ABSTRAK

*Underutilised vegetable* sering ditemukan dalam kehidupan sehari-hari. Lamtoro (*Leuceana leucocephala*) dan takokak (*Solanum torvum*) merupakan contoh sayuran yang pemanfaatannya masih belum optimal. Lamtoro dikonsumsi bijinya sedangkan takokak dikonsumsi buahnya. Biji lamtoro dan buah takokak mengandung beberapa komponen aktif yaitu alkaloid, saponin, flavanoid, dan tannin. Komponen tersebut merupakan komponen aktif yang berpotensi sebagai antioksidan dan antibakteri. Oleh karena itu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan konsentrasi hambat minimum ekstrak sebagai antibakteri. Penelitian ini dilakukan dalam tiga tahapan, yaitu pembuatan bubuk ekstrak, karakterisasi bubuk ekstrak dengan uji total polifenol (*Follin-Ciocalteu*) serta identifikasi komponen ekstrak menggunakan LC-MS, analisis aktivitas antioksidan (*DPPH scavenging activity*), dan analisis aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi agar. Aktivitas antioksidan paling tinggi adalah pada ekstrak biji lamtoro dan buah takokak dengan konsentrasi pelarut etanol 50%. Penghambatan *Bacillus subtilis* dengan ekstrak biji lamtoro menghasilkan IC<sub>50</sub> sebesar 5,32 mg/ml dan MIC sebesar 27,36 mg/ml sedangkan ekstrak buah takokak menghasilkan IC<sub>50</sub> sebesar 5,69 mg/ml dan MIC sebesar 26,03 mg/ml. Penghambatan *Escherichia coli* dengan ekstrak biji lamtoro menghasilkan IC<sub>50</sub> sebesar 5,73 mg/ml dan MIC sebesar 28,65 mg/ml sedangkan ekstrak buah takokak menghasilkan IC<sub>50</sub> sebesar 5,59 mg/ml dan MIC sebesar 17,78 mg/ml.

**Kata Kunci :** Lamtoro, Takokak, Antioksidan, Antibakteri

## PENDAHULUAN

“*Underutilized vegetable*” adalah sayuran yang jarang dimanfaatkan dan memiliki minat konsumsi yang rendah. Tanaman *underutilized vegetable* biasanya tumbuh liar dan tidak dibudidayakan dalam jumlah yang banyak. Tanaman liar seringkali kita anggap sebagai gulma atau pengganggu yang tidak memiliki manfaat. Apabila dikaji dan diteliti seluruh isi dari alam ini pasti memiliki khasiat dan manfaat masing-masing. Secara empiris, masyarakat Indonesia pada jaman dahulu banyak memanfaatkan tanaman yang tumbuh bebas sebagai obat herba untuk mengobati penyakit maupun menjaga kesehatan.

Lamtoro dan Takokak merupakan sayuran yang saat ini jarang sekali dikonsumsi oleh masyarakat. Lamtoro pada umumnya dikonsumsi bijinya sedangkan takokak dikonsumsi buahnya. Biji lamtoro dan buah takokak dikonsumsi sebatas sebagai lalapan pada berbagai daerah di Indonesia. Kedua bahan tersebut mengandung beberapa komponen aktif yaitu fenol, flavonoid dan alkaloid, sehingga diduga memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri alami. Saat ini penggunaan senyawa antioksidan dan antibakteri alami lebih disarankan daripada penggunaan senyawa antioksidan dan antibakteri sintetik karena dapat menimbulkan efek samping salah satunya menyebabkan resistensi terhadap bakteri (Refdanita, 2004). Senyawa

antioksidan dan antibakteri yang berasal dari tanaman tidak bersifat karsinogenik.

Setiap tanaman memiliki karakteristik unik, sehingga setiap tanaman membutuhkan kondisi ekstraksi berbeda-beda untuk mendapatkan komponen aktif yang optimal. Faktor yang mempengaruhi ekstraksi seperti jenis pelarut, metode ekstraksi, dan konsentrasi pelarut perlu diperhatikan untuk menghasilkan ekstrak yang optimal. Etanol merupakan salah satu jenis pelarut yang sering digunakan oleh industri obat dan produk herba karena produk akhir yang diperoleh bersifat *food grade*. Etanol bersifat semi polar sehingga dapat melarutkan komponen polar dan non polar.

Menurut penelitian Ambarwati (2007) kandungan flavonoid dan alkaloid dalam suatu bahan dapat berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen sampai pada konsentrasi tertentu. Oleh karena itu perlu dilakukan ekstraksi komponen aktif dalam lamtoro dan takokak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi pelarut etanol yang tepat untuk mengekstrak senyawa bioaktif biji lamtoro dan buah takokak, serta untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan adalah biji lamtoro segar, tua (warna masih tetap hijau), buah takokak segar berwarna hijau dengan diameter 9 ( $\pm$ 3) mm dari sekitar Kabupaten Jember, dan kultur bakteri *Bacillus subtilis* IFO13719, *E.coli* JM109, diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

### Pembuatan ekstrak

Biji lamtoro disiapkan dalam keadaan segar dan buah takokak segar dicuci bersih kemudian dilakukan steam blanching selama 5 menit. Bahan masing masing ditimbang sebanyak 25 gram. Biji lamtoro dan buah takokak dihancurkan menggunakan *blender* sehingga diperoleh *puree*. Selanjutnya ditambahkan pelarut dengan perbandingan (1:7,5) sehingga didapat ekstrak. Pelarut yang digunakan adalah etanol dan air dengan perbandingan etanol :air (0:100); (25:75); (50:50); (75:25); %. Selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan menggunakan *shaker waterbath* pada suhu 60 °C selama 24 jam. Ekstrak yang didapat kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 60 °C hingga volume 20 ml. Ekstrak pekat yang diperoleh dilakukan pengeringan dengan menggunakan oven vakum pada suhu 50 °C selama 24 jam sehingga didapatkan serbuk ekstrak biji lamtoro dan buah takokak.

### Total polifenol (*Follin-ciocalteu*)

Pembuatan kurva standar asam galat pada konsentrasi (0; 125; 250; 500; 1000; 2000; 4000; 8000) $\mu$ M, lalu diambil 0,04ml dalam 8 tabung reaksi berbeda dan masing-masing ditambahkan 0,8 ml *reagen Follin Ciocalteu* yang telah diencerkan 10 kali. Kemudian *divortex* dan didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya ditambahkan 0,8 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7% dan ditera dengan aquades (total volume 4 ml). Kemudian tabung reaksi yang berisi larutan kurva standar tersebut ditutup dengan aluminium foil dan didiamkan ditempat gelap selama 2 jam, kemudian diukur absorbansi pada 765 nm. Pengujian total polifenol sampel dengan mengganti asam galat dengan larutan ekstrak sampel yang dibuat pada FP 500.

### Aktivitas Antioksidan (*DPPH scavenging activity*)

Sebanyak 0,1 gram sampel dilarutkan dalam 10 ml etanol pada beaker glass 50ml, kemudian ditutup dengan aluminium foil dan diaduk dengan stirer selama 30 menit. Selanjutnya disentrifuse selama 3 menit dengan kecepatan 5000 rpm. Filtrat yang dihasilkan diambil 0,5 ml dan ditambah 0,25 ml reagen DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhidroksil*). Kemudian didiamkan selama 20 menit, selanjutnya filtrat ditera dengan etanol in mencapai volume 25 ml. Setelah itu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Blanko dibuat dengan cara mengganti sampel dengan etanol. Aktifitas antioksidan dihitung dengan rumus:

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} =$$

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

### Identifikasi komponen ekstrak menggunakan LC-MS

Sampel yang memiliki total polifenol paling tinggi diidentifikasi menggunakan LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectra*). Sampel di injeksi pada konsentrasi 1000 ppm, sebanyak 5 $\mu$ l pada alat Shimadzu LC-MS 2020 dengan kondisi fase gerak gradient pada menit ke 0 *mobile phase* B 0%, pada menit ke-60 *mobile phase* B 100%. Column yang digunakan ada dua, pada column 1 yaitu Shim-Pack GVP-ODS (5Lx2,0), column 2 yaitu Shim-Pack VP-ODS (250Lx4,6). *Mobile phase* A yaitu water formic acid 0,1%, *mobile phase* B yaitu acetonitrile. Kecepatan alir sampel sebesar 0,3ml/menit pada suhu 30°C. Data yang dihasilkan berupa scan berat molekul setiap zat yang terkandung di dalam sampel.

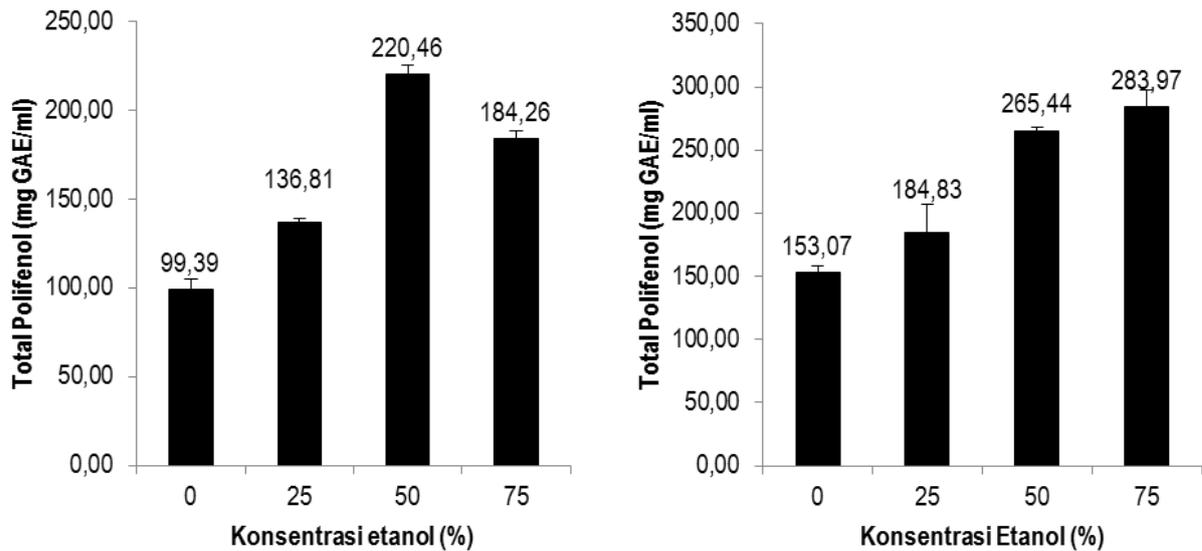
### Aktivitas antibakteri (*dilusi agar*)

Pada tahap persiapan sampel, peralatan dan bahan disterilisasi kecuali serbuk ekstrak lamtoro dan takokak. Selanjutnya pembuatan larutan uji yaitu pembuatan stok larutan ekstrak biji lamtoro dengan cara melarutkan serbuk ekstrak dalam aquades steril dengan konsentrasi 20%. Kemudian larutan uji dibuat dalam berbagai konsentrasi 0 mg/ml; 2 mg/ml; 4 mg/ml; 8 mg/ml; 16 mg/ml; 32 mg/ml. Setelah itu dilakukan penambahan DMSO masing-masing sebanyak 20 $\mu$ l dan larutan fisiologis berturut-turut adalah 980 $\mu$ l, 930 $\mu$ l, 880 $\mu$ l, 780 $\mu$ l, 580 $\mu$ l, dan 180 $\mu$ l. Pada saat akan dilakukan uji ditambah dengan media NA yang masih hangat dengan perbandingan 1:4. Pembuatan kontrol negatif 0% yaitu hanya menggunakan DMSO 20 $\mu$ l yang ditambah dengan larutan fisiologis 980 $\mu$ l dan media NA yang masih hangat. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian dihitung jumlah mikroba menggunakan colony counter. Jumlah mikroba yang didapatkan dibuat dalam bentuk kurva penghambatan dan didapatkan persamaan untuk menghitung  $\text{IC}_{50}$  dan MIC

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Total Polifenol Ekstrak

Total polifenol ekstrak biji lamtoro dan buah takokak dapat dilihat pada gambar 1. Histogram pengujian total polifenol ekstrak biji lamtoro menunjukkan hasil tertinggi adalah pada sampel konsentrasi etanol 50% dan paling rendah pada sampel konsentrasi etanol 0% sedangkan pada ekstrak buah takokak total polifenol tertinggi adalah pada konsentrasi etanol 75%. Total polifenol mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan konsentrasi etanol sebagai pelarut, namun pada konsentrasi etanol 75% ekstrak biji lamtoro total polifenol menurun. Hal ini diduga kandungan senyawa aktif yang terkandung pada biji lamtoro sifat kepolarannya sesuai dengan pelarut etanol pada konsentrasi 50%. Senyawa polar berikatan lebih kuat dengan senyawa polar lainnya.

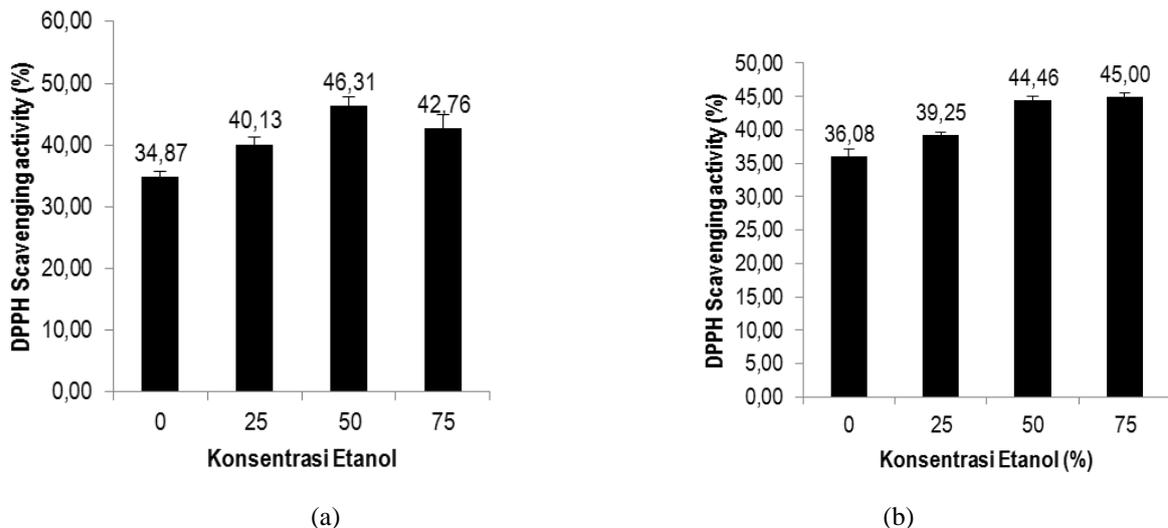


Gambar 1. Total polifenol ekstrak pada berbagai konsentrasi pelarut etanol biji lamtoro

Gambar 1. Total polifenol ekstrak pada berbagai konsentrasi pelarut etanol buah takokak. Etanol merupakan pelarut yang nilai kepolarannya lebih rendah dibandingkan air. Pelarut yang paling optimal dalam ekstraksi komponen bioaktif dalam biji lamtoro yaitu etanol:air sebesar 1:1. Menurut Chew *et al.* (2011), penggunaan pelarut yang dikombinasi memberikan hasil total polifenol lebih tinggi apabila dibandingkan dengan pelarut tunggal. Sehingga wajar apabila total polifenol pada ekstrak yang menggunakan pelarut etanol 50% lebih tinggi. Perlunya analisis kadar total polifenol ini menurut Bahri-Sahloul *et al.* (2014), yaitu terdapat kaitan antara aktivitas antioksidan dan antibakteri yang dipengaruhi oleh komposisi dari senyawa fenolik.

#### Aktivitas antioksidan ekstrak

Aktivitas antioksidan ekstrak biji lamtoro dan buah takokak dapat dilihat pada gambar 2. Data pada histogram menunjukkan aktivitas antioksidan ekstrak biji lamtoro paling tinggi adalah pada sampel dengan pelarut etanol konsentrasi 50% sedangkan ekstrak buah takokak pada sampel dengan pelarut etanol konsentrasi 75%. Aktivitas antioksidan dapat dikaitkan dengan total polifenol pada sampel. Hasil uji menunjukkan bahwa total polifenol ekstrak memiliki korelasi yang searah dengan aktivitas antioksidan. Polifenol merupakan salah satu komponen yang memiliki sifat antioksidan, sehingga diduga senyawa yang berperan dalam mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak adalah dari golongan flavonoid.

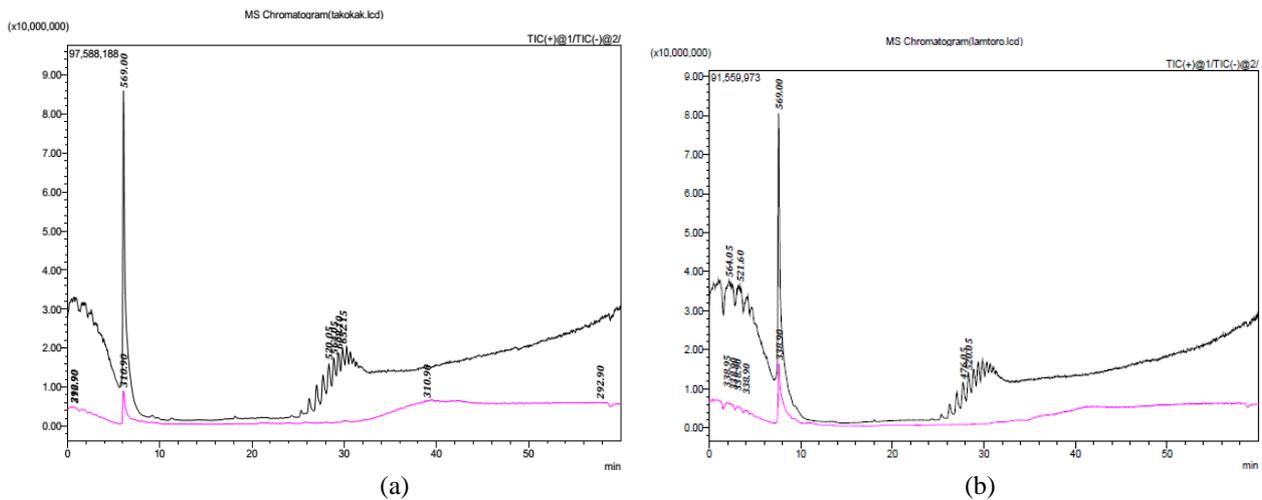


Gambar 2. Aktivitas antioksidan ekstrak pada berbagai konsentrasi pelarut etanol (a) biji lamtoro (b) buah takokak

#### Identifikasi Senyawa Ekstrak

Identifikasi senyawa ekstrak buah takokak menggunakan LC-MS menghasilkan data dalam bentuk kromatogram dan spektrum. Komponen dominan dalam ekstrak muncul

sebagai peak yang dihitung dapat dideteksi berat molekulnya. Hasil kromatogram ekstrak dapat dilihat pada gambar 3.



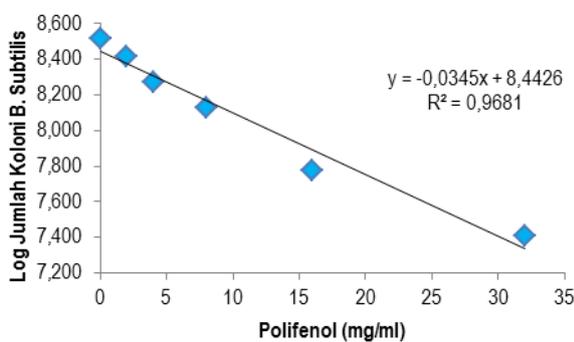
Gambar 3. Kromatogram ekstrak (a) biji lamtoro (b) buah takokak

Pada gambar MS-Spectrum akan terdeteksi berat molekul dari peak yang dominan muncul. Selanjutnya berat molekul yang ada dianalisis terdapat beberapa senyawa yang dapat diketahui pada ekstrak 50% etanol biji lamtoro yaitu mimosine (m/z 199), chrysoeriol (m/z 299), muristerone A (m/z 541), erucamide (m/z 338), dan progointrin (m/z 388) sedangkan pada ekstrak buah takokak adalah decamethylcyclopentasiloxane (m/z 388), 6 alfa-hydroxy-3-oxo (m/z 476), muristerone A (m/z 541), capsanthin (m/z

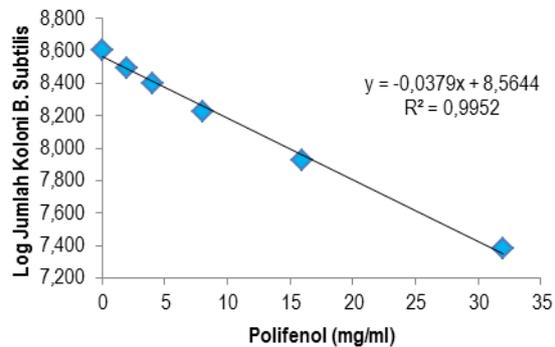
585), dan rescinnamin (m/z 635). Komponen tersebut diduga berperan sebagai antioksidan dan antibakteri ekstrak biji lamtoro dan buah takokak.

**Aktivitas Antibakteri Ekstrak**

Aktivitas antibakteri ekstrak disajikan dalam bentuk kurva penghambatan pertumbuhan. Berdasarkan kurva tersebut didapatkan persamaan untuk menentukan nilai IC<sub>50</sub> dan MIC ekstrak. Kurva logaritmik penghambatan pertumbuhan *B. subtilis* dapat dilihat pada gambar 4



(a)

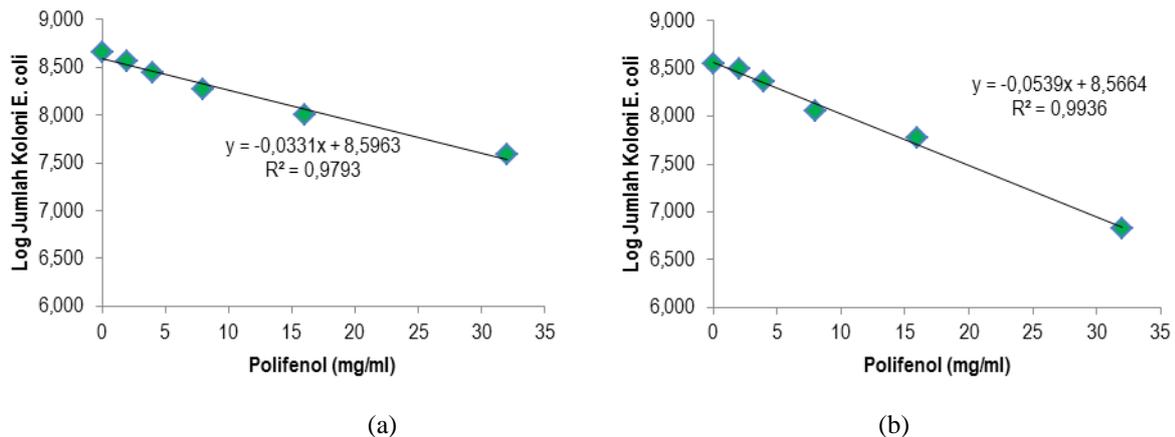


(b)

Gambar 4. Kurva logaritmik penghambatan pertumbuhan *B. subtilis* oleh ekstrak (a) biji lamtoro (b) buah takokak

Pada penentuan nilai MIC ekstrak biji lamtoro dan buah takokak dengan berbagai konsentrasi terhadap *Bacillus subtilis* didapatkan persamaan linier sehingga dapat digunakan untuk menentukan nilai IC<sub>50</sub>. Persamaan pada kurva hubungan menggunakan kurva logaritmik ekstrak biji lamtoro yaitu  $y = -0,0354x + 8,4426$ . Berdasarkan persamaan tersebut dapat ditentukan IC<sub>50</sub> yaitu 8,726 mg/ml dan MIC yaitu 28,986 mg/ml. Persamaan pada kurva hubungan menggunakan kurva logaritmik ekstrak buah

takokak yaitu  $y = -0,0379x + 8,5644$ . Berdasarkan persamaan tersebut dapat ditentukan IC<sub>50</sub> yaitu 7,943 mg/ml dan MIC yaitu 26,385 mg/ml. Berdasarkan kurva hubungan dapat dikatakan semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin menurun log pertumbuhan bakteri. Kurva logaritmik penghambatan pertumbuhan *E. coli* dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Kurva logaritmik penghambatan pertumbuhan *E. coli* oleh ekstrak (a) biji lamtoro (b) buah takokak

Pada penentuan nilai MIC ekstrak biji lamtoro dan buah takokak dengan berbagai konsentrasi terhadap *Escherichia coli* didapatkan persamaan linier sehingga dapat digunakan untuk menentukan nilai  $IC_{50}$ . Persamaan pada kurva hubungan menggunakan kurva logaritmik ekstrak biji lamtoro yaitu  $y = -0,0331x + 8,5963$ . Berdasarkan dengan persamaan tersebut dapat ditentukan  $IC_{50}$  yaitu 9,09 mg/ml dan MIC yaitu 30,21 mg/ml. Persamaan pada kurva hubungan menggunakan kurva logaritmik ekstrak buah takokak yaitu  $y = -0,0539x + 8,5664$ . Berdasarkan dengan persamaan tersebut dapat ditentukan  $IC_{50}$  yaitu 5,58 mg/ml dan MIC yaitu 18,55 mg/ml. Berdasarkan kurva hubungan dapat dikatakan semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin menurun log pertumbuhan bakteri.

Bakteri gram positif dan gram negatif mempunyai dinding sel yang berbeda susunan kimianya. Dinding sel bakteri gram negatif lebih banyak susunannya daripada bakteri gram positif. Dinding sel bakteri gram positif hanya tersusun dari satu lapisan saja, yaitu lapisan peptidoglikan yang relatif tebal. Sedangkan dinding sel bakteri gram negatif mempunyai dua lapisan dinding sel yaitu lapisan luar yang tersusun dari lipopolisakarida dan protein dan lapisan dalam yang tersusun dari peptidoglikan tetapi lebih tipis daripada lapisan peptidoglikan pada bakteri gram positif (Timotius, KH, 1982).

Komposisi utama peptidoglikan pada bakteri gram positif yaitu terdiri atas teichoic, asam teichuroni, dan berbagai macam polisakarida, sedangkan bakteri gram negatif yaitu lipoprotein, membrane luar dan lipopolisakarida. Membran luar pada gram negatif memiliki sifat hidrofilik, namun komponen lipid pada dinding selnya justru memiliki sifat hidrofobik. Polisakarida dan asam amino pada lembar peptidoglikan bakteri gram positif bersifat sangat polar. Bakteri gram positif memiliki dinding sel yang sangat tebal, dapat bertahan dari aktivitas cairan empedu di dalam usus namun peptidoglikannya rentan terhadap lisozim sehingga dapat rusak oleh senyawa antibakteri. Kerusakan sel bakteri yang terjadi akibat bahan antimikroba tidak dapat diimbangi dengan kemampuan perbaikan dari sel bakteri, sehingga bakteri menjadi lisis (Ariesdyanata, 2008).

### KESIMPULAN

Konsentrasi pelarut etanol yang sesuai untuk mengekstrak biji lamtoro dan buah takokak adalah 50%. Antioksidan ekstrak biji lamtoro paling tinggi adalah pada konsentrasi etanol 50% sebesar 46,31 % dan ekstrak buah takokak pada konsentrasi etanol 75% sebesar 45%. Penghambatan *Bacillus subtilis* oleh ekstrak biji lamtoro didapatkan  $IC_{50}$  yaitu 8,726 mg/ml dan MIC yaitu 28,986 mg/ml sedangkan ekstrak buah takokak didapatkan 7,943 mg/ml dan MIC yaitu 26,385 mg/ml. Penghambatan *Escherichia coli* oleh ekstrak biji lamtoro didapatkan  $IC_{50}$  yaitu 9,09 mg/ml dan MIC yaitu 30,21 mg/ml sedangkan ekstrak buah takokak didapatkan  $IC_{50}$  yaitu 5,58 mg/ml dan MIC yaitu 18,55 mg/ml.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ambarwati. 2007. Efektivitas Zat Antibakteri Biji Mimba (*Azadirachta indica*) untuk Menghambat Pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureus*. ISSN: 1412-033X. Vol 8
- Ariesdyanata, C. 2008. Perbedaan Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Bettle Lynn*) Dengan Daun Sirih Merah (*Piper Croatum*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. ADLN Jurnal
- Chew Y. L., Chan E. W. L., Tan P. L., Lim Y. Y., Stanslas J., Goh J. K. 2011. Effect of Ethanol Concentration, Extraction Time and Extraction Temperature on the Recovery of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of *Centella asiatica* Extracts. *International Food Research Journal* 18: 571-578.
- Refdanita. 2004. Pola Kepekaa Kuman Terhadap Antibiotik di Ruang Intensif Rumah Sakit Fatmawati Tahun 2001-2002. *Makara Kesehatan*. Vol. 8
- Sahloul R, Ben Fredj R, Boughalleb N, Shriia J, Saguen S, Hilbert JL, Troitin F, Ammar S, Bouzid S, Harzallah S. 2014. Phenolic Composition and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Extracts Obtained from *Crataegus azarolus* L. var. *Aronia* (Willd.) *Batt. Ovaries Calli. Journal of Botany*. Article ID 623651.
- Timotius K.H. 1982. Mikrobiologi Dasar. Salatiga. Universitas Kristen Satya. Wacana.