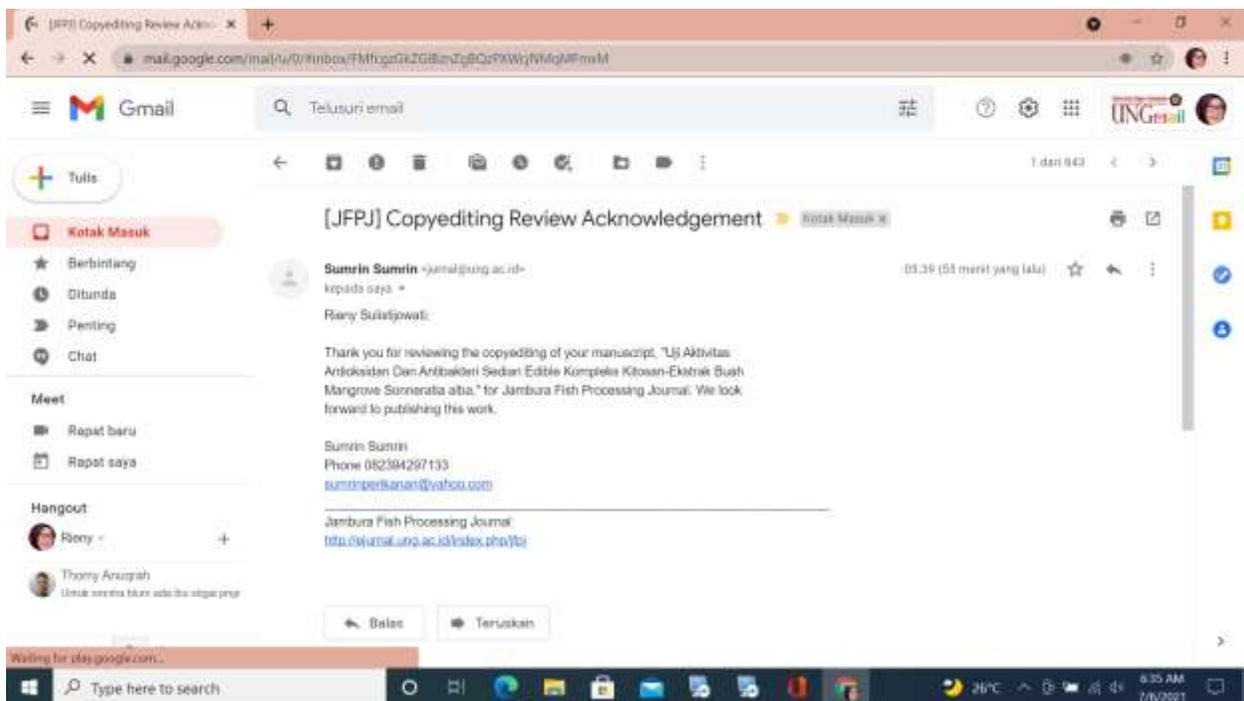
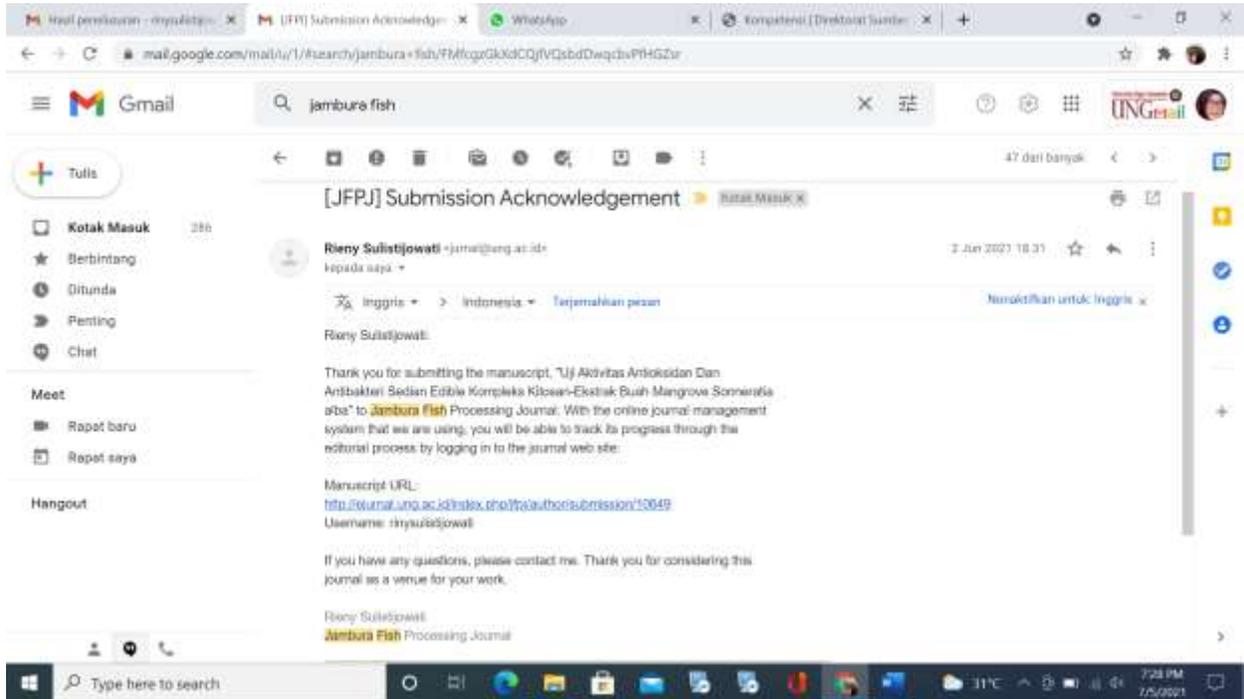


Correspondence JFPJ Vol 3 No2 2021. Uji Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Sedian Edible Kompleks Kitosan-Ekstrak Buah Mangrove Sonneratia alba"



UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI SEDIAAN *EDIBLE* KOMPLEKS KITOSAN-EKSTRAK BUAH MANGROVE *Sonneratia alba*

Commented [A1]: Dilakukan pada produk apa ?

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antibakteri pada sediaan *edible* kompleks kitosan-ekstrak buah mangrove *Sonneratia alba*. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, pengujian antibakteri yaitu uji diameter zona hambat (DZH) menggunakan metode difusi agar. Data hasil uji aktivitas antioksidan dianalisis secara deskriptif kualitatif dan kuantitatif, uji aktivitas antibakteri menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Faktor perlakuan adalah konsentrasi ekstrak buah mangrove yang terdiri dari 3 taraf, yaitu 1%, 2%, 3% dengan lima kali pengulangan. Hasil penelitian aktivitas antioksidan *edible* kitosan tanpa ekstrak *S.alba* memiliki IC_{50} sebesar 397.00 ppm, *edible* kompleks kitosan ekstrak *S.alba* masing-masing konsentrasi ekstrak 1% memiliki IC_{50} sebesar 198.02 ppm, konsentrasi ekstrak 2% memiliki IC_{50} sebesar 123.05 ppm dan konsentrasi ekstrak 3% memiliki IC_{50} sebesar 98.00 ppm. Hasil analisis uji *Duncan* menunjukkan bahwa konsentrasi 1% tidak berbeda nyata dengan 2% namun berbeda nyata dengan konsentrasi 3% dan konsentrasi 2% tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 3%.

Kata kunci : *Sonneratia alba*, *edible*, *antioksidan*, *antibakteri*, *zona hambat*

ABSTRACT

The research aims to determine the antioxidant and antibacterial activity in chitosan complex *edible* preparation-*Sonneratia alba* fruit extract. The antioxidant activity is tested by applying DPPH method, while the antibacterial activity is tested by applying zone of inhibition using three isolates, *Salmonella* sp, *Morganella morganii* and *Havnia alvei*. Data in regards to antioxidant activity test are analyzed descriptively, qualitatively and quantitatively whereas, for antibacterial activity test, it employs completely randomized design. The treatment factors are concentrations of mangrove fruit extract that covers three levels, namely 1%, 2% and 3% with five replications. The finding shows that the antioxidant activity of chitosan edible preparation without *S.alba* extract contains IC_{50} 397.00 ppm, while chitosan complex *edible* with *S.alba* extract for 1% concentrations contains IC_{50} for 198.02 ppm, 2% concentrations contains IC_{50} for 123.05 ppm and 3% concentrations contains for 98.00 ppm. Meanwhile, the result of *Duncan* test indicates that 1% concentrations is insignificantly different with 2% concentrations yet it is significantly different from 3% concentrations.

Keywords: *Sonneratia alba*, *edible*, *antioxidant*, *antibacterial*, *zona of inhibition*

PENDAHULUAN

Industri kemasan mempunyai peranan yang sangat penting. Peran utama kemasan antara lain adalah mengawetkan dan melindungi produk dari kontaminasi eksternal termasuk keamanan makanan serta memelihara kualitas dan meningkatkan masa simpan. Bahan kemasan yang sempurna tidak boleh memindahkan satupun molekul berbahaya dari bahan kemasan ke dalam produk. *Edible coating* merupakan lapisan tipis yang dapat dimakan yang digunakan pada makanan dengan cara pencelupan atau penyemprotan untuk memberikan penahan yang selektif terhadap pemindahan gas, uap air dan perlindungan terhadap kerusakan mekanik (Gennadios, 2002). Bahan-bahan yang digunakan dalam memproduksi *edible coating* adalah polimer alam seperti kitosan. Kitosan merupakan turunan dari kitin yang berasal dari cangkang udang atau rajungan yang mengandung 20-30 % senyawa kitin, 21% protein dan 40–50% mineral.

Menurut Rao et al., (2005) bahwa kitosan banyak dimanfaatkan sebagai bahan penghambat bakteri yang dapat melindungi pangan dari kerusakan, akan tetapi kitosan masih memiliki beberapa kelemahan. Kelemahan dari kitosan adalah belum menghasilkan antioksidan secara optimal. Hal ini dapat diatasi dengan penambahan bahan dan modifikasi kitosan. Sari et al, (2013) menyatakan bahwa modifikasi yang tepat dapat menghasilkan senyawa antioksidan dan antibakteri yang baik dibandingkan penggunaan kitosan saja.

Beberapa peneliti telah mengembangkan metode modifikasi. Berdasarkan penelitian Sulistijowati et al (2019) *edible coating* kompleks kitosan galaktosa 1 g memiliki kinerja yang lebih baik sebagai antioksidan daripada kitosan. Analisis antioksidan dengan metode DPPH menemukan IC_{50} nilai sebesar 43,20 - 73,15 ppm dan aktivitas antibakteri kompleks kitosan galaktosa terhadap bakteri patogen dari *fillet* nila menghasilkan zona hambat 12 mm. Penambahan glukosa 1% di dalam kitosan 1% dan asam asetat 1% yang telah disterilisasi disebut kompleks kitosan glukosa (*chitosan glucose complex*) terbukti dapat melawan bakteri perusak makanan dan bakteri patogen serta memiliki antioksidan (Kanatt et al., 2007).

Bahan lain yang juga digunakan untuk mengawetkan produk perikanan yaitu bakteri asam laktat yang menghasilkan bakteriorisin yang efektif sebagai pengawet (Sulistijowati et al, 2015) namun hal ini terbatas karena sifat antibakterinya hanya aktif dalam keadaan asam sehingga dapat digunakan mangrove yang dapat bersifat sebagai sumber antioksidan dan antibakteri alami. Metabolit sekunder yang didapatkan antara lain fenolat, triterpenoid, flavonoid, saponin, tannin, alkaloid, steroid yang memiliki aktivitas senyawa bioaktif yang umumnya sebagai antioksidan dan antibakteri.

Commented [A2]: Di perbaiki lagi

Sonneratia alba banyak dimanfaatkan oleh masyarakat lokal sebagai makanan seperti rujak, dan dibuat tepung yang nantinya akan digunakan sebagai bahan baku untuk pembuatan produk olahan makanan lainnya. Pada penelitian ini, bakteri pembentuk histamin yang digunakan sebagai bakteri uji adalah bakteri yang diisolasi dari *fillet* ikan tuna. Pemanfaatan kompleks kitosan-ekstrak mangrove *S. alba* terhadap aktivitas antioksidan dan antibakteri belum pernah dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antibakteri pada sediaan *edible* kompleks kitosan-ekstrak buah mangrove *Sonneratia alba*.

METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu *oven*, *rotary vacuum evaporator*, botol sampel, *blander*, pisau, loyang, toples, aluminium foil dan ayakan, cawan petri, gelas ukur, beaker gelas, mikro pipet, spatula, timbangan digital, *hotplate*, *stirer*, *colonicounter*, *vortex*, spektrofotometer Uv-Vis, *laminary flow*, bunsen, erlenmeyer, tabung reaksi, pingset, jarum ose, dan jangka sorong

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu *fillet* tuna yang diperoleh dari TPI kota Gorontalo, buah mangrove *Sonneratia alba* yang diperoleh dari Desa Langge Kecamatan Anggrek Kabupaten Gorontalo Utara, kitosan, metanol *p.a*, *Butterfield's phosphate buffered*, *Deoxycholate agar*, akuades, asam asetat, gliserol, kristal 1,1-diphenyl-2-picrilhydrazil (DPPH) dan kertas cakram. Bahan penunjang yang digunakan adalah kertas saring, aluminium foil, kapas dan tisu.

Penelitian pendahuluan meliputi tahapan pengambilan dan preparasi sampel, ekstraksi dengan maserasi, uji jumlah bakteri pemicu histamin. Penelitian utama meliputi tahapan pembuatan *edible* kompleks kitosan-ekstrak mangrove *S. alba*, uji aktivitas antioksidan metode DPPH dan uji aktivitas antibakteri Larutan *edible* kompleks kitosan-ekstrak buah mangrove *S. alba*.

Larutan *edible* kompleks kitosan dan ekstrak mangrove *S. alba* diuji aktivitas antioksidan dan antibakteri terhadap bakteri pemicu histamin pada bakteri isolat dari *fillet* tuna. Penentuan uji antioksidan menggunakan metode DPPH untuk membuktikan adanya senyawa antioksidan pada suatu bahan, sedangkan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi untuk dilihat dari seberapa besar zona hambat yang dihasilkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Bakteri Pembentuk Histamin

Hasil Identifikasi menunjukkan bahwa semua koloni mempunyai morfologi yang berbeda. Hasil identifikasi bakteri pembentuk histamine dapat dilihat pada Gambar 1.

Commented [A3]: Di perbaiki

Commented [A4]: Bahasa inggris atau bahasa indonesia

Sifat koloni	1	2	3
Warna	Merah muda	Krem dan putih	Krem
Bentuk	Bulat	Bulat	Bulat
Tepian elevsi	Rata Cembung	Rata Cembung	Rata Cembung

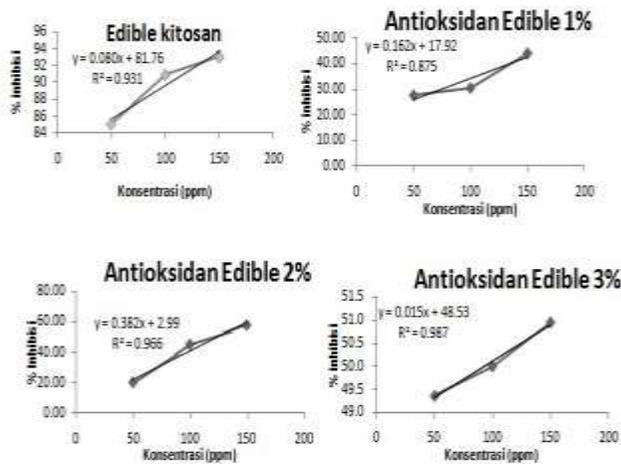
Tabel 1 menunjukkan karakteristik bakteri yang diisolasi pada media *deoxycholate agar* pada suhu 37°C selama 24 jam memiliki permukaan cembung dan tepian rata, bentuk koloni bulat dan warna bervariasi yaitu merah muda, krem dan putih. Sari (2014) menyatakan bahwa penampakan morfologi koloni yang berbeda-beda yang ditandai dengan adanya karakteristik yang berbeda dapat mengindikasikan bahwa koloni bakteri tersebut berasal dari spesies yang berbeda.

Umadayati et al (2015) menyatakan koloni bakteri *Salmonella* sp yang menggunakan media selektif *deoxycholate agar* diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam memiliki koloni berwarna merah muda (pink). Sesuai pernyataan Apelapi et al (2015) Koloni spesifik *Salmonella* sp. pada media XLDA ditandai dengan koloni berwarna merah jambu (pink) dengan atau tanpa inti hitam. Menurut Kanti et al (2002) bahwa *Salmonella* sp salah satu bakteri pembentuk histamin.

Fatuni et al (2014) menyatakan bahwa bakteri pembentuk histamin yang di isolasi dari ikan pindang diperoleh jenis bakteri *Klasiella pneumoniae*, *Klasiella oxytoca*, *Havnia alvei*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii* dan *Enterobacter aerogenes*. Karakteristik bakteri *Morganella morganii* yaitu warna koloni krem dan putih, bentuk koloni bulat, tepian rata dan permukaan cembung. Karakteristik bakteri *Havnia alvei* yaitu warna koloni krem, bentuk koloni bulat, tepian penuh dan permukaan cembung (Fatuni et al, 2014).

Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah metode serapan radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) karena merupakan metode yang sederhana, cepat, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat (Hanani, 2005). Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang 519 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum untuk DPPH. Pada penelitian ini larutan *edible* kitosan dan *edible* kitosan kompleks ekstrak *S.alba* dibuat masing-masing dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm menggunakan pelarut metanol untuk menentukan persamaan regresi dan persen penghambatan dari semua perlakuan. Terlihat semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi persen penghambatan seperti pada Gambar 1.



Commented [A5]: Keterangan gambarnya mana ?

Gambar 1 menunjukkan bahwa *edible* kitosan tanpa penambahan ekstrak menghasilkan IC_{50} terkecil yaitu 397.00 ppm dan *edible* dengan penambahan ekstrak 3% menghasilkan IC_{50} terbesar yaitu 98.00 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa *edible* kompleks kitosan memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dibandingkan tanpa penambahan ekstrak.

Aktivitas antioksidan *edible* kompleks kitosan ekstrak 1% memiliki IC_{50} yaitu 198.02 ppm dan *edible* kompleks kitosan ekstrak 2% memiliki IC_{50} yaitu 123.05. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang ditambahkan maka penghambatan terhadap radikal bebas semakin efektif. Priyanto, (2012) menyatakan semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang ditambahkan, maka semakin tinggi pula persen inhibisi terhadap efek penghambatan radikal bebas. Hal ini karena larutan DPPH yang berwarna ungu akan tereduksi oleh senyawa yang mampu mendonorkan atom hidrogen.

Semakin banyaknya senyawa antioksidan akan menyebabkan semakin besar pula peredaman warna ungu dari DPPH sehingga nilai absorbansi yang diperoleh semakin kecil. Peredaman tersebut dihasilkan oleh bereaksinya molekul DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan satu molekul komponen sampel sehingga terbentuk senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH-H) dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning (Zuhra et al, 2008).

Molyneux, (2004) semakin kecil nilai IC_{50} berarti aktifitas antioksidannya sangat tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Menurut Septiani dan Erwin (2013) secara spesifik suatu senyawa dikatakan

sebagai antioksidan sangat kuat jika ($IC_{50} < 50$ ppm), kuat (IC_{50} 50-100 ppm), sedang (IC_{50} 101-150 ppm) dan lemah (IC_{50} 151-200 ppm).

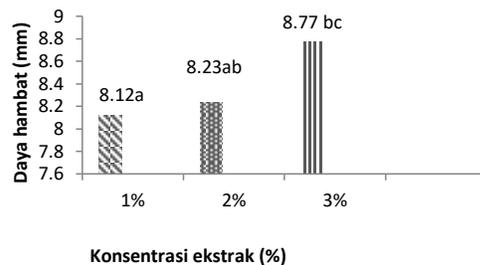
Flavonoid merupakan senyawa yang berperan sebagai antioksidan. Mekanisme antioksidan dari flavonoid adalah menangkap *reactive oxygen species* (ROS) secara langsung, mencegah regenerasi ROS, dan secara tidak langsung dapat meningkatkan aktivitas antioksidan enzim antioksidan seluler (Akhlaghi dan Bandy, 2009).

Commented [A6]: Sebutkan senyawa ROS yang akan bereaksi dengan flavonoid

Pengujian Aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri *edible* kompleks kitosan ekstrak *Sonneratia alba* dilakukan dengan metode difusi agar terhadap bakteri pembentuk histamin. Pengujian dilakukan dengan lima kali ulangan. Terbentuk zona bening merupakan indikasi adanya aktivitas antibakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri dari *edible* kompleks kitosan ekstrak *Sonneratia alba* dapat dilihat pada Gambar 2.s

Kertas cakram antibiotik (*chloromfenicol*) sebagai kontrol positif memiliki daya hambat sebesar 28.92 mm. *Edible* kitosan tanpa penambahan ekstrak sebagai kontrol negatif memiliki zona hambat sebesar 2.31 mm. Hal ini diduga konsentrasi kitosan yang digunakan menghasilkan larutan yang kental sehingga larutan sulit melakukan difusi ke media agar dibandingkan dengan larutan yang lebih encer. Sesuai dengan pernyataan Komariah et al. (2013) bahwa peningkatan konsentrasi kitosan menyebabkan viskositas semakin meningkat hingga kitosan akan lebih sulit berdifusi dalam media agar.



Hasil ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi ekstrak buah *S. alba* pada *edible* kompleks berpengaruh nyata ($p < 0.05$) terhadap daya hambat bakteri HDC. Hasil uji lanjut *Duncan* menunjukkan bahwa *edible* kompleks kitosan dengan penambahan ekstrak 1% memiliki daya hambat yang tidak berbeda nyata dengan *edible* kompleks kitosan konsentrasi ekstrak 2% namun berbeda nyata dengan *edible* kompleks kitosan dengan penambahan konsentrasi ekstrak 3%. Uji Daya hambat konsentrasi 2% memiliki daya hambat yang tidak berbeda nyata dengan 3%.

Berdasarkan diameter zona hambat yang dihasilkan terlihat semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin besar pula zona hambat yang terbentuk. Hal ini sesuai dengan Rahmawati (2014) bahwa semakin besar konsentrasi interaksi ekstrak yang diberikan maka semakin besar pula diameter daya hambat yang terbentuk, karena semakin banyak komponen bioaktif yang terkandung didalam ekstrak.

Zona hambat yang dihasilkan *edible* kompleks kitosan ekstrak mangrove *S. alba* lebih rendah bila dibandingkan dengan penelitian Sulistijowati *et al* (2019) dimana *edible* kompleks kitosan galaktosa menghasilkan zona hambat 12 mm. Hal ini diduga karena perbedaan bahan tambahan dan jenis bakteri yang dihambat sehingga menghasilkan zona hambat yang berbeda. Berdasarkan penelitian Wulandari *et al* (2015) aktivitas antibakteri *edible coating* kitosan konsentrasi 20%, 35% , 50% memiliki zona hambat dalam kategori kuat yaitu 13,875 mm, 15,25 mm dan 19,725 mm.

Diduga campuran senyawa flavonoid, alkaloid, terpenoid, tannin, dan saponin yang bertanggung jawab menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Paputungan *et al* (2017) bahwa buah mangrove *S. alba* mengandung senyawa tanin, saponin flavonoid, dan alkaloid.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa bakteri yang diisolasi dari fillet tuna yaitu *salmonella sp*, *Morganella morganii* dan *Havnia alvei*. *Edible* kompleks kitosan ekstrak *S.alba* memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dibandingkan penggunaan kitosan tanpa ekstrak. Perlakuan terbaik yaitu penambahan ekstrak 3% dengan nilai IC_{50} yaitu 98.00 ppm. Uji aktivitas antibakteri *edible* kompleks kitosan ekstrak *S.alba* terhadap bakteri pembentuk histamin memberikan zona hambat 8.77 mm pada konsentrasi penambahan ekstrak 3%.

Daftar Pustaka

- Apelape, CP. Wuri, AD. Sanam, UM. 2015. Perbandingan Nilai Total Plate Count (TPC) Dan Cemaran Salmonella Sp. Pada Ikan Tongkol (*Eutynnus Sp.*) Yang Dijual Di Tempat Pelelangan Ikan (Tpi), Pasar Tradisional Dan Pedagang Ikan Eceran Di Kota Kupang. *Jurnal Kajian Veteriner*. 3(2):121-137.
- Bourbon I, A. Pinheiro C, A. Cerqueira A, M. Rocha R, M, C. Avides C, M. Quintas C, A, M. Vicente A, A. 2011. Physico-chemical characterization of chitosan based edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight. *J Food Eng*.106:111-118.
- Fatuni S Y, Suwandi R, Jaecob M A. 2014. Identifikasi Kadar Histamin Dan Bakteri Pembentuk Histamin Dari Pindang Badeng Tongkol. *JPHPI*. 17(2): 112-118.

- Gennadios A, Milford AH, Lyndon BK. 2002. Application of Edible Coatings on Meats, Poultry and Seafoods: a review. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol* 30: 337- 350.
- Kanatt, S.R., C, Rhamesh, S. Arun. 2007. Chitosan glucose complex-anovel food preservative. *Food Chemistry*.106 : 521-528.
- Kanki M, Yoda T, Tsukamoto T, Shibata T. 2002. *Klebsiella pneumonia* produces no histamine: *Raoultella planticola* and *Roultella ornithinolytica* strains are histamine producers. *Applied and Environmental Microbiology*. 68(7): 3462-3466.
- Komariah, Wulansari N, Harmayanti W. 2013. Efektifitas Kitosan dengan Derajat Deasetilasi dan Konsentrasi Berbeda dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Gram Negatif (*Pseudomonas aeruginosa*) dan Gram Positif (*Staphylococcus aureus*) Rongga Mulut. *Seminar Nasional. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Trisakti*.
- Molyneux, P. 2004. The Use of Stable free radical *diphenylpicryl-hisrazyl* (DPPH) for estimating antioxidant activity. *J. Sci. Technol*. 26(2):211-219.
- Paputungan Z, Wonggo D, Kaseger BE. 2017. Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan buah mangrove *Sonneratia alba* di desa Nunuk Kecamatan Pinolosian Kabupaten Bolaang Mongondow Selatan. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. 5(3): 190-195.
- Rahmawati. 2014. Interaksi Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) dan Daun Sirih (*Piper betle L.*) terhadap Daya Hambat *Staphylococcus aureus* Secara In vitro. *Jurnal EduBio Tropika*. 2 (1): 121-186.
- Rao. M., S. Chander, R. dan Sharma, A. 2005. Development of shelfstable intermediatemoisture meat products using active *edible coating* and irradiation and mayonnaise-based shrimp salads. *Journal of food protection*. 63: 202-209.
- Sari N, I. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Tanah di Kecamatan Pattalassang Kabupaten Gowa. *Skripsi. UIN Alauddin Makassar. Makassar*.
- Sari, R, S., Baehaki, A., Lestari, D, S. 2013. Aktivitas Antioksidan Kompleks Kitosan Monosakarida. *J Fishtech*.2 (1):69-73.
- Sulistijowati, R. Husain, R. Datau, C, M. Kusbidinandri.2019. Antioxidant, antibacteri and antifungal activity of *edible coatingchitosan-galactose complex*. *Earth and Environmental Science*. 1-4.
- Sulistijowati, R. Nurhajati, J. Awom, Insawosami. 2015. The Effectiveness Inhibition Filtrate Bacteriocins *Lactobacillus acidophilus* Toward Contaminants Bacteria from Swordfish (*Auxis rochei*) Stew. *Journal of Bio-Science and Bio-Technology*. 7(3): 163-174.
- Umadayanti, Rahardjo S, Ilham, Mulyono M. 2020. Identifikasi *Salmonella* sp. Pada Cacing Sutra (*Tubifex* sp.) Tangkapan Dari Alam dan Hasil Budidaya. *Journal of Aquaculture and Fish Health*. 9(2):122-130.

Wulandari, K. Sulistijowati R. Mile L. 2015. Aktivitas Antibakteri Kitosan Kulit Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Sebagai Edible Coating Pada Bakso Ikan Tuna (*Thunnus sp.*). *Nike: Jurnal Ilmiah Perikanan dan Ilmu Kelautan*. 3(3):118-121.

Zuhra, C. F., Tarigan, J. B., & Sihotang, H. 2008. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari daun katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*, 3(1), 7-10.

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI SEDIAAN *EDIBLE* KOMPLEKS KITOSAN-EKSTRAK BUAH MANGROVE *Sonneratia alba*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antibakteri pada sediaan *edible* kompleks kitosan-ekstrak buah mangrove *Sonneratia alba*. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, pengujian antibakteri yaitu uji diameter zona hambat (DZH) menggunakan metode difusi agar. Data hasil uji aktivitas antioksidan dianalisis secara deskriptif kualitatif dan kuantitatif, uji aktivitas antibakteri menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Faktor perlakuan adalah konsentrasi ekstrak buah mangrove yang terdiri dari 3 taraf, yaitu 1%, 2%, 3% dengan lima kali pengulangan. Hasil penelitian aktivitas antioksidan *edible* kitosan tanpa ekstrak *S.alba* memiliki IC_{50} sebesar 397.00 ppm, *edible* kompleks kitosan ekstrak *S.alba* masing-masing konsentrasi ekstrak 1% memiliki IC_{50} sebesar 198.02 ppm, konsentrasi ekstrak 2% memiliki IC_{50} sebesar 123.05 ppm dan konsentrasi ekstrak 3% memiliki IC_{50} sebesar 98.00 ppm. Hasil analisis uji *Duncan* menunjukkan bahwa konsentrasi 1% tidak berbeda nyata dengan 2% namun berbeda nyata dengan konsentrasi 3% dan konsentrasi 2% tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 3%.

Kata kunci : *Sonneratia alba*, *edible*, *antioksidan*, *antibakteri*, *zona hambat*

ABSTRACT

The research aims to determine the antioxidant and antibacterial activity in chitosan complex *edible* preparation-*Sonneratia alba* fruit extract. The antioxidant activity is tested by applying DPPH method, while the antibacterial activity is tested by applying zone of inhibition using three isolates, *Salmonella* sp, *Morganella morganii* and *Havnia alvei*. Data in regards to antioxidant activity test are analyzed descriptively, qualitatively and quantitatively whereas, for antibacterial activity test, it employs completely randomized design. The treatment factors are concentrations of mangrove fruit extract that covers three levels, namely 1%, 2% and 3% with five replications. The finding shows that the antioxidant activity of chitosan *edible* preparation without *S.alba* extract contains IC_{50} 397.00 ppm, while chitosan complex *edible* with *S.alba* extract for 1% concentrations contains IC_{50} for 198.02 ppm, 2% concentrations contains IC_{50} for 123.05 ppm and 3% concentrations contains for 98.00 ppm. Meanwhile, the result of *Duncan* test indicates that 1% concentrations is insignificantly different with 2% concentrations yet it is significantly different from 3% concentrations.

Keywords: *Sonneratia alba*, *edible*, *antioxidant*, *antibacterial*, *zona of inhibition*

PENDAHULUAN

Industri kemasan mempunyai peranan yang sangat penting. Peran utama kemasan antara lain adalah mengawetkan dan melindungi produk dari kontaminasi eksternal termasuk keamanan makanan serta memelihara kualitas dan meningkatkan masa simpan. Bahan kemasan yang sempurna tidak boleh memindahkan satupun molekul berbahaya dari bahan kemasan ke dalam produk. *Edible coating* merupakan lapisan tipis yang dapat dimakan yang digunakan pada makanan dengan cara pencelupan atau penyemprotan untuk memberikan penahan yang selektif terhadap pemindahan gas, uap air dan perlindungan terhadap kerusakan mekanik (Gennadios, 2002). Bahan-bahan yang digunakan dalam memproduksi *edible coating* adalah polimer alam seperti kitosan. Kitosan merupakan turunan dari kitin yang berasal dari cangkang udang atau rajungan yang mengandung 20-30 % senyawa kitin, 21% protein dan 40–50% mineral.

Menurut Rao et al., (2005) bahwa kitosan banyak dimanfaatkan sebagai bahan penghambat bakteri yang dapat melindungi pangan dari kerusakan, akan tetapi kitosan masih memiliki beberapa kelemahan. Kelemahan dari kitosan adalah belum menghasilkan antioksidan secara optimal. Hal ini dapat diatasi dengan penambahan bahan dan modifikasi kitosan. Sari et al, (2013) menyatakan bahwa modifikasi yang tepat dapat menghasilkan senyawa antioksidan dan antibakteri yang baik dibandingkan penggunaan kitosan saja.

Beberapa peneliti telah mengembangkan metode modifikasi. Berdasarkan penelitian Sulistijowati et al (2019) *edible coating* kompleks kitosan galaktosa 1 g memiliki kinerja yang lebih baik sebagai antioksidan dari kitosan. Analisis antioksidan dengan metode DPPH menemukan IC_{50} nilai sebesar 43,20 - 73,15 ppm dan aktivitas antibakteri kompleks kitosan galaktosa terhadap bakteri patogen dari *fillet* nila menghasilkan zona hambat 12 mm. Penambahan glukosa 1% di dalam kitosan 1% dan asam asetat 1% yang telah disterilisasi disebut kompleks kitosan glukosa (*chitosan glucose complex*) terbukti dapat melawan bakteri perusak makanan dan bakteri patogen serta memiliki antioksidan (Kanatt et al., 2007).

Bahan lain yang juga digunakan untuk mengawetkan produk perikanan yaitu bakteri asam laktat yang menghasilkan bakteorisin yang efektif sebagai pengawet (Sulistijowati et al, 2015) namun hal ini terbatas karena sifat antibakterinya hanya aktif dalam keadaan asam sehingga dapat digunakan mangrove yang dapat bersifat sebagai sumber antioksidan dan antibakteri alami. Metabolit sekunder yang didapatkan antara lain fenolat, triterpenoid, flavonoid, saponin, tannin, alkaloid, steroid yang memiliki aktivitas senyawa bioaktif yang umumnya sebagai antioksidan dan antibakteri.

Sonneratia alba banyak dimanfaatkan oleh masyarakat lokal sebagai makanan seperti rujak, dan dibuat tepung yang nantinya akan digunakan sebagai bahan baku untuk pembuatan produk olahan makanan lainnya. Pada penelitian ini, bakteri pembentuk histamin yang digunakan sebagai bakteri uji adalah bakteri yang diisolasi dari *fillet* ikan tuna. Pemanfaatan kompleks kitosan-ekstrak mangrove *S. alba* terhadap aktivitas antioksidan dan antibakteri belum pernah dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antibakteri pada sediaan *edible* kompleks kitosan-ekstrak buah mangrove *Sonneratia alba*.

METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu *oven*, *rotary vacuum evaporator*, botol sampel, *blander*, pisau, loyang, toples, aluminium foil dan ayakan, cawan petri, gelas ukur, beaker gelas, mikro pipet, spatula, timbangan digital, *hotplate*, *stirer*, *colonicounter*, *vortex*, spektrofotometer Uv-Vis, *laminary flow*, bunsen, erlenmeyer, tabung reaksi, pingset, jarum ose, dan jangka sorong

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu *fillet* tuna yang diperoleh dari TPI kota Gorontalo, buah mangrove *Sonneratia alba* yang diperoleh dari Desa Langge Kecamatan Anggrek Kabupaten Gorontalo Utara, kitosan, metanol *p.a*, *Butterfield's phosphate buffered*, *Deoxycholate agar*, akuades, asam asetat, gliserol, kristal 1,1-diphenyl-2-picrilhydrazil (DPPH) dan kertas cakram. Bahan penunjang yang digunakan adalah kertas saring, aluminium foil, kapas dan tisu.

Penelitian pendahuluan meliputi tahapan pengambilan dan preparasi sampel, ekstraksi dengan maserasi, uji jumlah bakteri pemicu histamin. Penelitian utama meliputi tahapan pembuatan *edible* kompleks kitosan-ekstrak mangrove *S. alba*, uji aktivitas antioksidan metode DPPH dan uji aktivitas antibakteri Larutan *edible* kompleks kitosan-ekstrak buah mangrove *S. alba*.

Larutan *edible* kompleks kitosan dan ekstrak mangrove *S. alba* diuji aktivitas antioksidan dan antibakteri terhadap bakteri pemicu histamin pada bakteri isolat dari *fillet* tuna. Penentuan uji antioksidan menggunakan metode DPPH untuk membuktikan adanya senyawa antioksidan pada suatu bahan, sedangkan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi untuk dilihat dari seberapa besar zona hambat yang dihasilkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Bakteri Pembentuk Histamin

Hasil Identifikasi menunjukkan bahwa semua koloni mempunyai morfologi yang berbeda. Hasil identifikasi bakteri pembentuk *histamine* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Sifat Isolat-Isolat Bakteri Isolasi Dari Filet Tuna

Sifat koloni	Isolat -isolat		
	1	2	3
Warna	Merah muda	Krem dan putih	Krem
Bentuk	Bulat	Bulat	Bulat
Tepian	Rata	Rata	Rata
Elevasi	Cembung	Cembung	Cembung

Tabel 1 menunjukkan karakteristik bakteri yang diisolasi pada media *deoxycholate agar* pada suhu 37°C selama 24 jam memiliki permukaan cembung dan tepian rata, bentuk koloni bulat dan warna bervariasi yaitu merah muda, krem dan putih. Sari (2014) menyatakan bahwa penampakan morfologi koloni yang berbeda-beda yang ditandai dengan adanya karakteristik yang berbeda dapat mengindikasikan bahwa koloni bakteri tersebut berasal dari spesies yang berbeda.

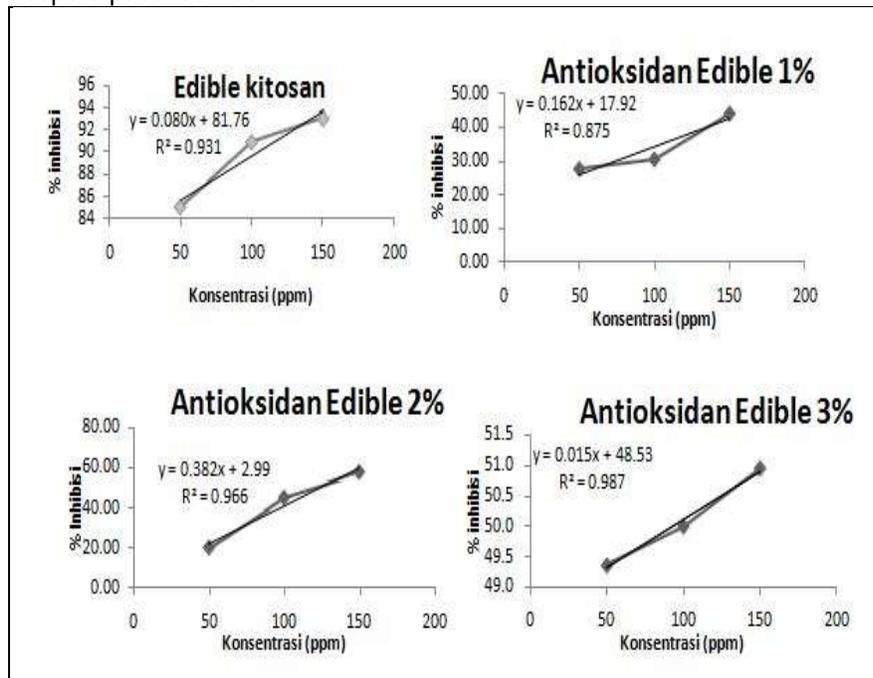
Umadayati et al (2015) menyatakan koloni bakteri *Salmonella* sp yang menggunakan media selektif *deoxycholate agar* diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam memiliki koloni berwarna merah muda (pink). Sesuai pernyataan Apelapi et al (2015) Koloni spesifik *Salmonella* sp. pada media XLDA ditandai dengan koloni berwarna merah jambu (pink) dengan atau tanpa inti hitam. Menurut Kanti et al (2002) bahwa *Salmonella* sp salah satu bakteri pembentuk histamin.

Fatuni et al (2014) menyatakan bahwa bakteri pembentuk histamin yang di isolasi dari ikan pindang diperoleh jenis bakteri *Klasiella pneumoniae*, *Klasiella oxytoca*, *Havnia alvei*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii* dan *Enterobacter aerogenes*. Karakteristik bakteri *Morganella morganii* yaitu warna koloni krem dan putih, bentuk koloni bulat, tepian rata dan permukaan cembung. Karakteristik bakteri *Havnia alvei* yaitu warna koloni krem, bentuk koloni bulat, tepian penuh dan permukaan cembung (Fatuni et al, 2014).

Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah metode serapan radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) karena merupakan metode yang sederhana, cepat, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat (Hanani, 2005). Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang 519 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum untuk DPPH. Pada penelitian ini larutan *edible* kitosan dan *edible* kitosan kompleks ekstrak *S.alba* dibuat masing-masing dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm menggunakan pelarut metanol untuk menentukan persamaan regresi dan persen

penghambatan dari semua perlakuan. Terlihat semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi persen penghambatan seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Konsentrasi IC 50% Penghambatan DPPH

Gambar 1 menunjukkan bahwa *edible* kitosan tanpa penambahan ekstrak menghasilkan IC₅₀ terkecil yaitu 397.00 ppm dan *edible* dengan penambahan ekstrak 3% menghasilkan IC₅₀ terbesar yaitu 98.00 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa *edible* kompleks kitosan memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dibandingkan tanpa penambahan ekstrak.

Aktivitas antioksidan *edible* kompleks kitosan ekstrak 1% memiliki IC₅₀ yaitu 198.02 ppm dan *edible* kompleks kitosan ekstrak 2% memiliki IC₅₀ yaitu 123.05. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang ditambahkan maka penghambatan terhadap radikal bebas semakin efektif. Priyanto, (2012) menyatakan semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang ditambahkan, maka semakin tinggi pula persen inhibisi terhadap efek penghambatan radikal bebas. Hal ini karena larutan DPPH yang berwarna ungu akan tereduksi oleh senyawa yang mampu mendonorkan atom hidrogen.

Semakin banyaknya senyawa antioksidan akan menyebabkan semakin besar pula peredaman warna ungu dari DPPH sehingga nilai absorbansi yang diperoleh semakin kecil. Peredaman tersebut dihasilkan oleh bereaksinya molekul DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan satu molekul

komponen sampel sehingga terbentuk senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH-H) dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning (Zuhra et al, 2008).

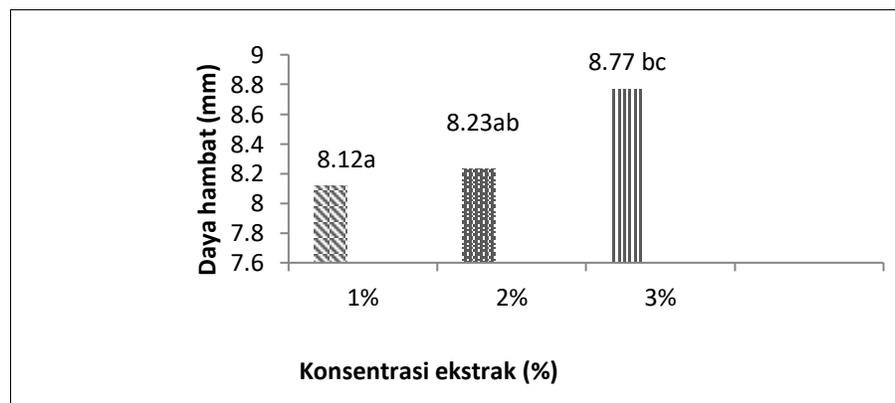
Molyneux, (2004) semakin kecil nilai IC_{50} berarti aktifitas antioksidannya sangat tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Menurut Septiani dan Erwin (2013) secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika ($IC_{50} < 50$ ppm), kuat (IC_{50} 50-100 ppm), sedang (IC_{50} 101-150 ppm) dan lemah (IC_{50} 151-200 ppm).

Flavonoid merupakan senyawa yang berperan sebagai antioksidan. Mekanisme antioksidan dari flavonoid adalah menangkap *reactive oxygen species* (ROS) secara langsung, mencegah regenerasi ROS, dan secara tidak langsung dapat meningkatkan aktivitas antioksidan enzim antioksidan seluler (Akhlaghi dan Bandy, 2009).

Pengujian Aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri *edible* kompleks kitosan ekstrak *Sonneratia alba* dilakukan dengan metode difusi agar terhadap bakteri pembentuk histamin. Pengujian dilakukan dengan lima kali ulangan. Terbentuk zona bening merupakan indikasi adanya aktivitas antibakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri dari *edible* kompleks kitosan ekstrak *Sonneratia alba* dapat dilihat pada Gambar 2.

Kertas cakram antibiotik (*chloromfenicol*) sebagai kontrol positif memiliki daya hambat sebesar 28.92 mm. *Edible* kitosan tanpa penambahan ekstrak sebagai kontrol negatif memiliki zona hambat sebesar 2.31 mm. Hal ini diduga konsentrasi kitosan yang digunakan menghasilkan larutan yang kental sehingga larutan sulit melakukan difusi ke media agar dibandingkan dengan larutan yang lebih encer. Sesuai dengan pernyataan Komariah et al. (2013) bahwa peningkatan konsentrasi kitosan menyebabkan viskositas semakin meningkat hingga kitosan akan lebih sulit berdifusi dalam media agar.



Gambar 2. Daya Hambat Edible Kompleks Kitosan Ekstrak Buah Mangrove

Hasil ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi ekstrak buah *S. alba* pada *edible kompleks* berpengaruh nyata ($p < 0.05$) terhadap daya hambat bakteri HDC. Hasil uji lanjut *Duncan* menunjukkan bahwa *edible kompleks* kitosan dengan penambahan ekstrak 1% memiliki daya hambat yang tidak berbeda nyata dengan *edible kompleks* kitosan konsentrasi ekstrak 2% namun berbeda nyata dengan *edible kompleks* kitosan dengan penambahan konsentrasi ekstrak 3%. Uji Daya hambat konsentrasi 2% memiliki daya hambat yang tidak berbeda nyata dengan 3%.

Berdasarkan diameter zona hambat yang dihasilkan terlihat semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin besar pula zona hambat yang terbentuk. Hal ini sesuai dengan Rahmawati (2014) bahwa semakin besar konsentrasi interaksi ekstrak yang diberikan maka semakin besar pula diameter daya hambat yang terbentuk, karena semakin banyak komponen bioaktif yang terkandung didalam ekstrak.

Zona hambat yang dihasilkan *edible kompleks* kitosan ekstrak mangrove *S. alba* lebih rendah bila dibandingkan dengan penelitian Sulistijowati *et al* (2019) dimana *edible kompleks* kitosan galaktosa menghasilkan zona hambat 12 mm. Hal ini diduga karena perbedaan bahan tambahan dan jenis bakteri yang dihambat sehingga menghasilkan zona hambat yang berbeda. Berdasarkan penelitian Wulandari *et al* (2015) aktivitas antibakteri *edible coating* kitosan konsentrasi 20%, 35%, 50% memiliki zona hambat dalam kategori kuat yaitu 13,875 mm, 15,25 mm dan 19,725 mm.

Diduga campuran senyawa flavonoid, alkaloid, terpenoid, tannin, dan saponin yang bertanggung jawab menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Papatung *et al* (2017) bahwa buah mangrove *S. alba* mengandung senyawa tanin, saponin flavonoid, dan alkaloid.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa bakteri yang diisolasi dari fillet tuna yaitu genus *salmonella sp*, *Morganella morganii* dan *Havnia alvei*. *Edible kompleks* kitosan ekstrak *S. alba* memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dibandingkan penggunaan kitosan tanpa ekstrak. Perlakuan terbaik yaitu penambahan ekstrak 3% dengan nilai IC_{50} yaitu 98.00 ppm. Uji aktivitas antibakteri *edible kompleks* kitosan ekstrak *S. alba* terhadap bakteri pembentuk histamin memberikan zona hambat 8.77 mm pada konsentrasi penambahan ekstrak 3%.

Daftar Pustaka

- Apelape, CP. Wuri, AD. Sanam, UM. 2015. Perbandingan Nilai Total Plate Count (TPC) Dan Cemaran Salmonella Sp. Pada Ikan Tongkol (*Eutynnus Sp.*) Yang Dijual Di Tempat Pelelangan Ikan (Tpi), Pasar Tradisional Dan Pedagang Ikan Eceran Di Kota Kupang. *Jurnal Kajian Veteriner*. 3(2):121-137.
- Bourbon I, A. Pinheiro C, A. Cerqueira A, M. Rocha R, M, C. Avides C, M. Quintas C, A, M. Vicente A, A. 2011. Physico-chemical characterization of chitosan based edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight. *J Food Eng*.106:111-118.
- Fatuni S Y, Suwandi R, Jaecob M A. 2014. Identifikasi Kadar Histamin Dan Bakteri Pembentuk Histamin Dari Pindang Badeng Tongkol. *JPHPI*. 17(2): 112-118.
- Gennadios A, Milford AH, Lyndon BK. 2002. Application of Edible Coatings on Meats, Poultry and Seafoods: a review. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol* 30: 337- 350.
- Kanatt, S.R., C, Rhamesh, S. Arun. 2007. Chitosan glucose complex-anovel food preservative. *Food Chemistry*. 106: 521-528.
- Kanki M, Yoda T, Tsukamoto T, Shibata T. 2002. *Klebsiella pneumonia* produces no histamine: *Raoultella planticola* and *Roultella ornithinolytica* strains are histamine producers. *Applied and Environmental Microbiology*. 68(7): 3462-3466.
- Komariah, Wulansari N, Harmayanti W. 2013. Efektifitas Kitosan dengan Derajat Deasetilasi dan Konsentrasi Berbeda dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Gram Negatif (*Pseudomonas aeruginosa*) dan Gram Positif (*Staphylococcus aureus*) Rongga Mulut. *Seminar Nasional*. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Trisakti.
- Molyneux, P. 2004. The Use of Stable free radical *diphenylpicryl-hisrazyl* (DPPH) for estimating antioxidant activity. *J. SCi. Technol*. 26(2):211-219.
- Paputungan Z, Wonggo D, Kaseger BE. 2017. Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan buah mangrove *Sonneratia alba* di desa Nunuk Kecamatan Pinolosian Kabupaten Bolaang Mongondow Selatan. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. 5(3): 190-195.
- Rahmawati. 2014. Interaksi Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) dan Daun Sirih (*Piper betle L.*) terhadap Daya Hambat *Staphylococcus aureus* Secara In vitro. *Jurnal EduBio Tropika*. 2 (1): 121-186.
- Rao. M., S. Chander, R. dan Sharma, A. 2005. Development of shelfstable intermediatemoisture meat products using active *edible coating* and irradiation and mayonnaise-based shrimp salads. *Journal of food protection*. 63: 202-209.
- Sari N, I. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Tanah di Kecamatan Pattalassang Kabupaten Gowa. *Skripsi*. UIN Alauddin Makassar. Makassar.

- Sari, R. S., Baehaki, A., Lestari, D, S. 2013. Aktivitas Antioksidan Kompleks Kitosan Monosakarida. *J Fishtech*.2 (1):69-73.
- Sulistijowati, R. Husain, R. Datau, C, M. Kusbidinandri. 2019. Antioxidant, antibacteri and antifungal activity of edible coating chitosan-galactose complex. *Earth and Environmental Science*. 1-4.
- Sulistijowati, R. Nurhajati, J. Awom, Insawosami. 2015. The Effectiveness Inhibition Filtrate Bacteriocins *Lactobacillus acidophilus* Toward Contaminants Bacteria from Swordfish (*Auxis rochei*) Stew. *Journal of Bio-Science and Bio-Technology*. 7(3): 163-174.
- Umadayanti, Rahardjo S, Ilham, Mulyono M. 2020. Identifikasi *Salmonella* sp. Pada Cacing Sutra (*Tubifex* sp.) Tangkapan Dari Alam dan Hasil Budidaya. *Journal of Aquaculture and Fish Health*. 9(2):122-130.
- Wulandari, K. Sulistijowati R. Mile L. 2015. Aktivitas Antibakteri Kitosan Kulit Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Sebagai Edible Coating Pada Bakso Ikan Tuna (*Thunnus* sp.). *Nike: Jurnal Ilmiah Perikanan dan Ilmu Kelautan*. 3(3):118-121.
- Zuhra, C. F., Tarigan, J. B., & Sihotang, H. 2008. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari daun katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*, 3(1), 7-10.