

LAPORAN AKHIR
PENELITIAN DASAR UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
TAHUN ANGGARAN 2018-2019



PENGEMBANGAN FILM EDIBLE PEMBAWA ZAT AKTIF
MENJADI GINGIVAL MUCOADHESIVE PATCH

Ketua : Dr.Miksusanti, MS (0023076802)
Anggota Tim: Herlina,Ssi,MSi,Apt (0003077102)
Najma Annuria Fithrie (0025038802)

Dibiayai Oleh Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat
Direktorat Jendral Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset,Teknologi
dan Perguruan Tinggi
Berdasarkan Surat Keputusan No.0041/UN9/SB.3LP2MP.PT/2018
DENGAN NOMOR KONTRAK PENELITIAN
0086/UN9/SB3.P2M.PT/2018

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
NOVEMBER 2018

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : PENGEMBANGAN EDIBLE FILM PEMBAWA ZAT
AKTIF MENJADI GINGIVAL MUCOADHESIVE
PATCH

Peneliti/Pelaksana
Nama Lengkap : Dr. Dra MIKSUSANTI, M.Si
Perguruan Tinggi : Universitas Sriwijaya
NIDN : 0023076802
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Kimia
Nomor HP : 081385423042
Alamat surel (e-mail) : miksusanti@gmail.com

Anggota (1)
Nama Lengkap : HERLINA S.Si, M.Kes
NIDN : 0003077102
Perguruan Tinggi : Universitas Sriwijaya

Anggota (2)
Nama Lengkap : NAJMA ANNURIA FITHRI
NIDN : 0025038802
Perguruan Tinggi : Universitas Sriwijaya

Institusi Mitra (jika ada)
Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 140,000,000
Biaya Keseluruhan : Rp 0

Mengetahui,
Dekan FMIPA UNSRI



(Prof. Dr. Iskhaq Iskandar)
NIP/NIK 897210041997021001

Kab. Ogan Ilir, 12 - 11 / 2018
Ketua

(Dr. Dra MIKSUSANTI, M.Si)
NIP/NIK 132086763

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian Universitas Sriwijaya



(Prof. Drs. Tatang Suhery M.A., Ph.D)
NIP/NIK 195904121984031002

Pengembangan Film Edibel Pembawa Zat Aktif Menjadi *Gingival Mucoadhesive Patch*

RINGKASAN

Berdasarkan Renstra yang telah digariskan UNSRI, dibidang pengembangan keanekaragaman hayati untuk kesehatan, maka Pada tahun pertama penelitian ini telah dikembangkan edible film komposit pati, dalam menghasilkan film aktif yang memenuhi standard fisik dan kimia suatu patch mucoadhesive yang berfungsi untuk carrier zat aktif bagi pengobatan infeksi dan radang gusi. Tujuan jangka panjang penelitian ini adalah untuk menghasilkan gingival mucoadhesive patch (film sebagai carrier obat gusi) berbasis edible film yang dimodifikasi. Tujuan khusus dari penelitian ini adalah untuk mencari komposisi dan zat aktif yang tepat dalam pembuatan film (patch) berbasis pati dan turunannya yang dapat membawa dan melepaskan zat aktif secara optimal ke bagian gusi yang di obati. Dasar dari penelitian ini adalah mencari komposisi film yang tepat sifat kepolarannya sehingga dapat menahan dan melepaskan zat aktif ke bagian yang diobati dengan optimal. Hasil yang di dapat pada tahun pertama ini adalah bahwa bahan dasar pati aren berhasil di modifikasi secara asetilasi dengan asam asetat anhidrat, untuk dijadikan bahan dasar pembuatan film (mucoadhesive Patch). Kitosan dapat dikompositkan dengan pati aren untuk dijadikan bahan film (mucoadhesive patch) yang dapat menghambat bakteri patogen *Streptococcus mutans* penginfeksi gusi. Zat aktif turunan minyak kelapa dan biji ketapang yaitu monoasil gliserol (MAG), virgin coconut oil (VCO) dapat diinkorporasi kedalam film (Patch) untuk meningkatkan kemampuannya dalam menghambat bakteri pathogen penginfeksi gusi. Film (Patch) yang dihasilkan juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*, *P. aeruginosa* yang sering memberi kontribusi pada infeksi gusi lewat makanan yang masuk melalui mulut.

Kata kunci: Film Edible, mucoadhesive Patch, Asetilasi, Kitosan , Monoasil Gliserol, VCO

Minyak Kelapa, Minyak Biji Ketapang, *Streptococcus mutans*, *E. coli*, *P.aeruginosa*.

PRAKATA

Segala puji bagi Allah, Tuhan Semesta Alam yang berkat rahmat, nikmat, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian PDUPT yang berjudul “ Pengembangan Film Edibel Pembawa Zat Aktif Menjadi *Gingival Mucoadhesive Patch* ”. Shalawat serta salam senantiasa terhaturkan kepada Nabi agung Muhammad Shallallahu ‘alaihi Wasallam. Penelitian ini ditulis untuk memberikan informasi mengenai potensi Pengembangan Film Edible Pembawa Zat Aktif Menjadi *Gingival Mucoadhesive Patch*.

Penulis menyadari bahwa dalam penelitian ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Allah SWT, Berkat rahmat dan kehendak-Nya penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik dan lancar.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. H. Anis Saggaf, selaku Rektor Universitas Sriwijaya, Bapak Prof. Dr. Iskhaq Iskandar, selaku Dekan Fakultas MIPA.
3. Bapak ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Universitas Sriwijaya.
4. Bapak ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa tulisan laporan ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, segala kritik dan saran yang membangun penulis harapkan untuk memperbaiki laporan tahunan penelitian PDUPT ini. Akhirnya Penulis berharap semoga tulisan ini bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan bagi kita semua.

Indralaya, November 2018

Dr.Miksusanti,MSi

DAFTAR ISI

	Halaman
Daftar Isi.....	i
Daftar Gambar	ii
Daftar Lampiran	iii
Ringkasan.....	ii
Prakata	
BAB.1 Pendahuluan.....	1
BAB 2.Tinjauan Pustaka.....	6
2.1. Road Map Penelitian.....	8
BAB 3.Tujuan dan Manfaat Penelitian.....	11
3.1.Diagram Alir Kerja.....	12
Bab 4. Metoda Penelitian	
BAB.5.Hasil dan Luaran Yang Dicapai.....	15
BAB 6. Kesimpulan dan Saran	
DAFTAR PUSTAKA.....	17
LAMPIRAN	18

DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel.1	Komposisi Asam Lemak Biji Ketapang	18
Tabel.2	Daya Hambat Monoasil Gliserol dari Minyak Biji Ketapang terhadap <i>Streptococcus mutans</i>	21
Tabel.3	Nilai Bilangan Gelombang Pati dan Patch yang Dimodifikasi	25
Tabel.4	Grade film (Patch) Berdasarkan Japanese Industrial Standard Sesuai Kriteria Film (Patch).	31
Tabel.5	Aktivitas Antibakteri MAG Minyak Edible dalam Film (Patch).	38
Tabel.6	Perbandingan Karakteristik Film (Patch) Sebelum dan Sesudah Di Inkorporasi dengan Monoasil Gliserol (MAG)	42
Tabel.7	Karakteristik Film (Patch) dari Pati Sagu	43
Tabel.8	Data Komposisi Kimia Virgin Coconut Oil Film (patch) yang Telah Diinkorporasi VCO	45

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar.1 Kromatografi GC Asam Lemak dari Minyak Biji Ketapang	16
Gambar.2 KLT Preparatif Minyak Hasil Etanolisis	18
Gambar.3 KLT Minyak Etanolisis dan Standard Monoasil Gliserol MAG n-Hexan, Dietil eter, dan Asam formiat	19
Gambar.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri MAG standard dan MAG sampel Terhadap <i>Streptococcus Mutans</i>	20
Gambar 5 Struktur Monomeritsin Gliserol	23
Gambar 6 Spektrum FTIR Tepung Pati Alami dan Termodifikasi	24
Gambar.7 Film (Patch) Pati Kontrol dan Pati Hasil Perlakuan dengan Asam Asetat	26
Gambar.8 Grafik Data Ketebalan Film Patch Hasil Perlakuan Aseatat	28
Gambar.9 Pengaruh Penambahan Asam Asetat Pada Pati Sagu terhadap Nilai Persen Perpanjangan Film(Patch)	30
Gambar.10 Pengaruh Penambahan Asetat Anhidrat terhadap Kekuatan Lipatan Film (patch)	30
Gambar.11 Pengaruh Penambahan Kitosan pada Film Sifat Fisik Film (Patch)	33
Gambar.12 Pengaruh Penambahan Kitosan terhadap <i>S.aureus</i>	35
Gambar.13 Morfologi Permukaan Fim (Patc) dengan Alat Scanning Electron Microscopy	37
Gambar.14 Aktivitas Antibakteri Film Pati (Patch) Yang Mengandung MAG	39
Gambar.15 Ativitas Antibakteri Patch Pati Terahap <i>P.aurugenosa</i>	40
Gambar.16 Aktivitas Antibakteri Patch Pati Terhadap <i>E. coli</i>	42
Gambar.17 Aktivitas Antibakteri Patch Pati Yang Mengandung MAG Terhadap <i>S. Mutan</i>	58
Gambar.18 Kurva Pengaruh Penambahan Virgin Coconat Oil pada Patch terhadap Jumlah Koloni Bakteri	64

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman	
Lampiran.1	Skema Persiapan Dedak Halus Bebas Lemak Kering	49
Lampiran.2	Skema Diagram Alir Preparasi Monoasil Gliserol Menggunakan Biokatalis Dedak Padi	50
Lampiran 3	Kondisi Alat Kromatografi Gas Yang Digunakan	51
Lampiran. 4	Data Perhitungan Monoasil gliserol dari Minyak	52
Lampiran.5	Perhitungan Konsentrasi % w/w Asam Lemak Minyak Kelapa	53
Lampiran.6	Data Perhitungan RF dari Monoasil Giserol	54
Lampiran.7	Zona Bening Terhadap Aktivitas Bakteri <i>Bacillus cereus</i>	54
Lampiran.8	Kromatografi Gas Kromatografi Standard Asam Lemak	58
Lampiran.9	Gambar Ekstraksi dan Persiapan Minyak	30
Lampiran.10	Gambar Proses Pembuatan Monoasil Gliserol	60
Lampiran.11	Gambar Proses Elusi dengan KLT Preparatif	61
Lampiran.12	Gambar Uji Antibakteri	62
Lampiran.13	Gambar Analisis Minyak Biji Ketapang	63
Lampiran.14	Gambar Tahapan Minyak untuk Reaksi Etanolisis	64
Lampiran.15	Gambar Tahapan Penotolan KLT	65
Lampiran.16	Gambar Pengujian Sifat Antibakteri	66
Lampiran.17	Perhitungan Analisis Kadar dan Asam Lemak Minyak	67
Lampiran.18	Perhitungan Nilai Rf MAG, DAG, dan TAG dari minyak edible	68
Lampiran.19	Perhitungan Luas Daya Hambat MAG Terhadap Bakteri Patogen	69

JUDUL: PENGEMBANGAN FILM EDIBLE PEMBAWA ZAT AKTIF MENJADI GINGIVAL MUCOADHESIVE PATCH

BAB 1. PENDAHULUAN

Patch merupakan salah satu bentuk sediaan farmasi yang sedang dikembangkan saat ini. Sediaan patch terdiri dari matriks tipis yang terbentuk dari satu atau lebih lapisan film polimer yang mengandung obat atau eksepian yang lain. Penggunaan patch dilakukan dengan cara menempelkan patch pada bagian yang nyeri kemudian patch akan dibiarkan selama waktu tertentu. Komposisi utama patch terdiri dari bahan aktif, polimer, plastisizer dan peningkat penetrasi. Selama ini masih dicari patch yang benar benar aman bagi konsumen Tidak mengandung zat toksik baik dari bahan polimer maupun jenis komposisi lainnya. Edible film yang berasal dari bahan hayati biar dikembangkan untuk membuat patch yang memenuhi standard sesuai renstra unsri yang menggariskan salah satu road map pengembangan Perguruan Tinggi melalui pengembangan produk produk kesehatan, maka dalam penelitian ini peneliti berencana ingin mengembangkan material hayati yang banyak tersedia di Sumatera Selatan menjadi salah satu produk kesehatan yaitu gingival mucoadesive patch. Penelitian ini akan melibatkan tim dari dosen Kimia dan dosen farmasi. Penelitian ini akan membantu renstra UNSRI 1916-2020 dalam mendukung pengembangan produk hayati menjadi material untuk transfer obat.

Pada tahun pertama akan dihasilkan data informasi tentang komposisi film yang cocok untuk dikembangkan menjadi mucoadesive patch. Dari proses pembuatan film ini akan didapat produk usulan paten dan publikasi. Pada tahun kedua akan diaplikasikan mucoadesive patch yang didapat pada tahun pertama secara invivo pada gusi kambing atau sapi. Dalam penelitian tahun kedua ini akan dihasilkan publikasi dan produk patch yang memenuhi kriteri uji invivo.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. PENGEMBANGAN MATERIAL EDIBLE FIM MENJADI MUCHOADESIVE PATCH

Ada tiga komponen penyusun film edibel, yaitu hidrokoloid, lemak dan komposit. Hidrokoloid yang digunakan dalam pembuatan film edibel adalah karbohidrat atau protein. Film yang dibentuk dari karbohidrat dapat berupa pati, gum (seperti contoh

alginat, pektin, dan gum arab), dan pati yang dimodifikasi secara kimia (Mehdizadeh et al., 2012).

Polisakarida khususnya pati banyak disarankan sebagai bahan dasar pembentuk film. Hal ini karena polisakarida mudah larut dalam air pada suhu ruang, mudah membengkak dan tergelatinisasi pada suhu rendah, tidak mudah retrogradasi sehingga dapat dihasilkan film yang lebih transparan, viskositas yang lebih rendah dan mempunyai sifat permeabilitas yang baik. Untuk memenuhi sifat ini maka pati alami perlu dimodifikasi sehingga didapat sifat yang diinginkan.

Edible film dan edible *coating* adalah lapisan tipis berbahan dasar polimer alami (polisakarida, protein maupun lemak) yang tidak bersifat racun, dapat dimakan dan mudah terbiodegradasi di lingkungan. Kedalam film edible dan edible coating dapat diinkorporasi berbagai macam zat aktif yang manfaatnya beragam. Dari beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa inkorporasi golongan zat aktif kedalam edible film dan edible coating, dapat merubah film menjadi bahan yang bersifat antibakteri dan mempunyai kemampuan meredam radikal bebas (Miksusanti et al., 2013; Ruiz-Navajas et al., 2013; Ponce et al., 2008). Lapisan film tipis dan film coating yang bersifat antibakteri dan antioksidan ini dapat digunakan sebagai pelapis makanan yang sekaligus mengawetkan makanan dan juga dapat bertindak sebagai pangan fungsional apabila mengandung bakteri probiotik yang mampu menstimulasi kesehatan apabila dimakan seperti makanan sehari-hari (pangan fungsional) (Gaamouche et al., 2014). Di bidang kesehatan (kuratif), film lapisan tipis yang diinkorporasi dengan zat aktif alami dapat digunakan untuk penyembuhan luka maupun peradangan pada kulit. Penyakit periodontal yang sering dikeluhkan oleh masyarakat adalah gingivitis. Hal ini terjadi karena kurangnya kesadaran masyarakat dalam menjaga kebersihan gigi dan mulut. Pengobatan gingivitis yang telah beredar salah satunya adalah sediaan oral gel dengan merek *Oxyfresh Super Relief Dental Gel*. Sediaan oral gel tersebut mengandung zat aktif berupa *chlorine dioxide* dan *zinc ocatat* yang dapat membantu dalam penyembuhan jaringan gingiva yang mengalami peradangan (George et al., 2013). Sediaan obat gingivitis dalam bentuk gel kurang efektif karena bersifat hidrofilik yang membuat gel lebih mudah larut dalam air liur sehingga mengurangi waktu kontak sediaan dengan bagian gusi yang radang (Angela, 2005).

Pengobatan gingivitis juga dapat dilakukan dengan memanfaatkan senyawa yang berasal dari bahan alam. Pemanfaatan bahan alam untuk penyakit gingivitis salah satunya dapat dilakukan dengan memanfaatkan tumbuhan cengkeh. Kandungan senyawa katekin dalam daun cengkeh mencapai 51% menjadi kandungan cengkeh memiliki kasiat sebagai obat gingivitis. Senyawa katekin diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan antibakteri yang sangat berguna untuk pengobatan gingivitis. Daun cengkeh merupakan salah satu komoditas ekspor Indonesia dari sector hasil perkebunan yang terdapat di Sumatra Selatan khususnya masyarakat daerah Babat Toman Kabupaten Musi Banyuasin (Suwignyo, 2011). Oleh sebab itu selain dilihat dari segi efektivitas dalam penyembuhan gingivitis pemanfaatan daun cengkeh juga dapat meningkatkan perekonomian masyarakat desa Babat Toman yang memiliki peranan di dalam sector perekonomian cengkeh.

Pengobatan periodontal yang sedang dikembangkan salah satunya adalah sediaan *gingival mucoadhesive patch*. Sistem penghantaran *gingival mucoadhesive* merupakan sytem penghantaran obat yang diletakan pada bagian gusi yang radang dengan menggunakan polimer sebagai pengontrol pelepasan obatnya (Livine, 2013). Mukoadhesif adalah polimer yang memiliki kekuatan mukoadhesi. Keuntungan dari kesediaan *gingival patch* adalah menghindari terjadinya *first-pass* metabolisme, tingkat plasma obat diturunkan sehingga efek samping berkurang, mengurangi terjadinya fluktuasi, dan mengurangi frekuensi pemberian obat sehingga meningkatkan kepatuhan pasien (Kumar *et al.*, 2007)

2.2.Monoasil Gliserol

Monoasilgliserol (MAG) minyak sawit yang pada awalnya hanya dikenal sebagai bahan pengemulsi pangan, ternyata juga dapat berperan sebagai bahan pengawet pangan, sifat ini tidak dimiliki oleh MAG dari minyak nabati lain. Perbedaan ini dikarenakan pada asam lemak minyak sawit didominasi oleh asam lemak jenuh rantai pendek dan menengah, sedangkan asam lemak minyak nabati lain didominasi oleh asam lemak tidak jenuh dan asam lemak jenuh rantai panjang. Jenis MAG minyak sawit yang telah ditemukan bersifat antimikroba khususnya untuk bakteri dan kapang adalah monolaurin, monokaprilin, monokaprat, monomeristin dan monoasilgliserol.

Penggunaan monolaurin yang menunjukkan penghambatan yang besar terhadap *C. pisciola*, *L. curvatus*, *B. thermosphacta* dan *L. sake* (Gram positif) sedangkan terhadap bakteri *P. flourescens*, *E. coli* dan *S. Typhimurium* (Gram negatif) sampai pada pemberian konsentrasi 2500 µg/ml tidak menunjukkan penghambatan. Hal yang sama juga ditemukan juga dengan menggunakan glyserol laurat diperoleh penghambatan yang tinggi terhadap *S. mutans* dan *S. mutans* sedangkan terhadap *E. coli* O:157:O7 dan *S. enteritidis* tidak menunjukkan aktivitas penghambatan sampai pada pemberian konsentrasi 1000 ppm. Monokaprilin dan monolaurin memiliki kemampuan yang lebih besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri, kapang dan khamir dibanding dengan dengan asam sorbat yang merupakan asam organik dan banyak digunakan sebagai pengawet pangan (Batovska et al., 2008).

Monolaurin dalam bahan pangan diduga kuat memiliki efek sinergis dengan bahan pengawet lain seperti asam-asam organik yang telah umum digunakan sebagai bahan pengawet diantaranya asam atau garam laktat, asam atau garam sitrat maupun asam atau garam sorbat (Silalahi et al., 2014). Monoasilgliserol (MAG) minyak sawit yang pada awalnya hanya dikenal sebagai bahan pengemulsi pangan, ternyata juga dapat berperan sebagai bahan pengawet pangan, sifat ini tidak dimiliki oleh MAG dari minyak nabati lain. Perbedaan ini dikarenakan pada asam lemak minyak sawit didominasi oleh asam lemak jenuh rantai pendek dan menengah, sedangkan asam lemak minyak nabati lain didominasi oleh asam lemak tidak jenuh dan asam lemak jenuh rantai panjang. Jenis MAG minyak sawit yang telah ditemukan bersifat antimikroba khususnya untuk bakteri dan kapang adalah monolaurin, monokaprilin, monokaprat, monomeristin dan monoasilgliserol.

Penggunaan monolaurin yang menunjukkan penghambatan yang besar terhadap *C. pisciola*, *L. curvatus*, *B. thermosphacta* dan *L. sake* (Gram positif) sedangkan terhadap bakteri *P. flourescens*, *E. coli* dan *S. Typhimurium* (Gram negatif) sampai pada pemberian konsentrasi 2500 µg/ml tidak menunjukkan penghambatan. Hal yang sama juga ditemukan juga dengan menggunakan glyserol laurat diperoleh penghambatan yang tinggi terhadap *S. mutans* dan *S. mutans* sedangkan terhadap *E. coli* O:157:O7 dan *S. enteritidis* tidak menunjukkan aktivitas penghambatan sampai pada pemberian konsentrasi 1000

ppm. Monokaprilin dan monolaurin memiliki kemampuan yang lebih besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri, kapang dan khamir dibanding dengan dengan asam sorbat yang merupakan asam organik dan banyak digunakan sebagai pengawet pangan (Batovska et al., 2008).

Monolaurin dalam bahan pangan diduga kuat memiliki efek sinergis dengan bahan pengawet lain seperti asam-asam organik yang telah umum digunakan sebagai bahan pengawet diantaranya asam atau garam laktat, asam atau garam sitrat maupun asam atau garam sorbat (Silalahi et al., 2014).

BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah :

1. Mengembangkan film edible berbahan pati (starch) menjadi *patch mucoadhesive* untuk carier pengobatan infeksi gusi.
2. Menentukan komposisi yang tepat untuk membuat *edible* film menjadi *patch mucoadhesive*.
3. Mencari kondisi dan komposisi yang tepat untuk menginkorporasi zat aktif dalam *patch mucoadhesive*.
4. Menganalisis pengaruh perubahan sifat fisik dan kimia dari film edible yang dijadikan *patch mucoadhesive*.
5. Menentukan sifat antibakteri dari *patch mucoadhesive* yang dihasilkan terhadap bakteri pathogen.
6. Menentukan kandungan zat aktif yang terperangkap dalam film *patch mucoadhesive* yang di kembangkan.

3.2 Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini diharapkan akan dihasilkan inovasi baru dalam pemanfaatan bahan aktif alami untuk menunjang kesehatan, melalui film tipis dari pati sebagai cariers obat dengan cara inkorporasi bahan-bahan aktif tersebut ke dalam matrik film tipis *patch mucoadhesive*.

BAB 4. METODA PENELITIAN

3.1 Pengambilan dan Persiapan Sampel

Sampel berupa biji ketapang berwarna merah tua dan kering diambil dari kabupaten Musi Banyu Asin, Sumatera Selatan. Sampel biji ketapang sebanyak 3 kg di keringkan kemudian dibersihkan dari kulit dan kotorannya. Biji ketapang yang bersih lalu dipanaskan pada suhu 80°C dalam oven hingga berat konstan dan kemudian sampel digerus. Setelah itu sampel siap diekstraksi.

3.2 Ekstraksi Minyak Biji Ketapang (Paimin, 1994)

Biji ketapang yang telah digerus lalu dimasukkan ke dalam alat press dengan tekanan 100 kg/ cm² selama 10 menit, minyak biji ketapang yang keluar ditampung dan disimpan di tempat yang rapat.

3.3 Pemurnian Minyak Biji Ketapang (Wahyuni, 2011)

Pemurnian minyak biji ketapang dilakukan dengan cara pengendapan (*settling*) selanjutnya pemisahan gumi (*degumming*) dan pemucatan (*adsorbing agent*). Sebanyak 250 mL minyak biji ketapang hasil ekstraksi dilakukan sentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 120 rpm. Minyak dibiarkan selama beberapa waktu agar kotoran atau koloid mengendap, selanjutnya minyak dipisahkan dari kotoran yang telah mengendap. Pemucatan dilakukan dengan karbon aktif ditambahkan sebanyak 0,25 gram diaduk selama 15 menit, lalu didiamkan selama dua jam. Kemudian minyak tersebut di sentrifugasi dan dipisahkan. Selanjutnya ke dalam minyak ditambahkan natrium sulfat anhidrat 0,1 g/10 mL minyak lalu disaring. Minyak yang telah mengalami pemurnian siap untuk dianalisa.

3.4 Penentuan Komposisi Asam Lemak Minyak Biji Ketapang dengan *Gas Chromatography* (GC)

a. Preparasi Sampel

Sebelum di analisis dengan GC, sampel minyak biji ketapang diambil 21,5 mg ditempatkan dalam tabung tertutup teflon dan ditambahkan 1 mL NaOH 0,5 N dalam metanol dan dipanaskan dalam penangas air selama 20 menit. Kemudian ditambahkan 2 mL BF₃ 20% dan 5 mg/ mL standar internal, dipanaskan lagi selama 20 menit. Setelah dingin ditambahkan 2 mL NaCl jenuh dan 1 mL heksana lalu dikocok dengan baik. Lapisan heksana dipisahkan dengan bantuan pipet tetes ke dalam tabung yang berisi 0,1 g NaSO₄ dan dibiarkan selama 15 menit. Fasa cair dipisahkan dan selanjutnya di injeksi dengan kromatografi gas.

b. Analisis Komposisi Asam Lemak dengan Alat GC

Minyak biji ketapang di identifikasi komposisi asam lemak menggunakan GC SHIMADZU dengan kondisi alat sebagai berikut:

Kolom	: Cyanopropil methyl sil (capillary column)
Dimensi kolom	: p = 60 m, Ø dalam = 0.25 mm, 025 µm Film Thickness
Laju alir N ₂	: 20 mL/menit
Laju alir H ₂	: 30 mL/menit
Laju alir udara	: 200 – 250 mL/menit
Suhu injektor	: 200°C
Suhu detektor	: 230°C
Suhu kolom	: Program temperatur
kolom temperatur	: awal 190°C diam 15 menit

Akhir 230 °C diam 20 menit

Rate 10°C/ menit

Ratio : 1 : 8

Inject Volum : 1 µL

Linier Velocity : 20 cm/sec

Kemudian di injeksikan pelarut sebanyak 1 µl ke dalam kolom. Bila aliran gas pembawa dan sistem pemanasan sempurna, puncak pelarut akan nampak dalam waktu kurang dari 1 menit. Setelah pena kembali ke nol (baseline) di injeksikan 5 µl campuran standar FAME (*fatty acid metil ester*). Jika semua puncak sudah keluar, lalu di injeksikan 5 µl contoh yang telah dipreparasi. Dilakukan pengukuran ukur waktu retensi dan puncak masing-masing komponen. Jika rekorder dilengkapi dengan integrator, waktu retensi dan luas puncak langsung diperoleh dari integrator. Waktu retensinya dibandingkan dengan standar untuk mendapatkan informasi mengenai jenis dari komponen-komponen dalam contoh.

3.5 Etanolisis Terhadap Minyak Biji Ketapang (Hasanudin, 2003)

Minyak biji ketapang dicampur dengan NaOH 2% dalam etanol 95% dengan perbandingan 1:1 (v/b). Reaksi berlangsung di atas mesin kocok agitasi 200 rpm pada suhu ruang. Reaksi dihentikan pada waktu 6 menit menggunakan 0,2 mL larutan asam klorida 6 N. Etanol sisa dipisahkan dalam corong pemisah, dicuci dengan air bebas ion sampai lapisan air (lapisan bawah) jernih. Lapisan atas sebagai produk etanolisis dibebaskan dari air terikut menggunakan 2 gram natrium sulfat anhidrat. Produk etanolisis

bebas air kemudian dipisahkan dengan KLT preparatif untuk mendapatkan MAG (Mappiratu, 1999 *dalam* Hasanudin, 2003).

3.6 Pemisahan dan Penentuan MAG dengan KLT Preparatif (Mappiratu, 1999 *dalam* Hasanudin, 2003)

Produk reaksi etanolisis dalam jumlah tertentu ditotolkan pada plat KLT silika gel G 60 F₂₅₄ dengan penotolan yang melebar (0,5 cm) dan memanjang (2 cm). Plat KLT yang telah ditotoli sampel selanjutnya dielusi dalam chamber berisi 30 mL eluen campuran heksana/dietil eter/ asam formiat 80: 20: 2 (v/v/v) sampai eluen naik pada batas atas. Noda yang terpisah pada plat KLT ditampakkan menggunakan penampak noda uap iodinium, kemudian dikerik dan diekstrak dengan 3x5 mL pelarut dietil eter untuk noda MAG. Ekstrak yang diperoleh diuapkan kemudian dipanaskan pada suhu 100°C dalam oven analitik sampai beratnya konstan. Ekstrak yang beratnya telah konstan ditimbang dan dihitung fraksi masa komponen MAG.

3.7 Pengujian Aktivitas Antibakteri MAG dari Minyak Biji Ketapang Terhadap Bakteri Patogen (Rostinawati, 2009)

Pengujian aktivitas antibakteri MAG dari minyak biji ketapang terhadap bakteri patogen dilakukan dengan metode sumur (Rostinawati,2009). Pengujian dilakukan dengan tiga kali pengulangan.

a. Persiapan Bakteri Uji

Kultur murni bakteri diperoleh dari stok bakteri di Laboratorium Kimia Dasar Jurusan Kimia Universitas Sriwijaya. Sebelum digunakan, bakteri dibiakkan pada media NA miring. Kultur uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *S. mutans*.

b. Pembuatan Stock *Nutrient Broth* (Narang, 2004)

Bubuk *Nutrient Broth* (NB) sebanyak 4 g dilarutkan dengan 500 mL akuades di dalam erlenmeyer. Selanjutnya media dipanaskan di atas pemanas listrik sambil diaduk hingga homogen. Setelah mendidih lalu diangkat dan didiamkan sampai suhu kurang lebih 50°C. Setelah itu dipindahkan ke dalam tabung reaksi lalu ditutup dengan kapas. Kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada tekanan 15 lbs, temperatur 121°C selama 15 menit (Narang, 2004). Stock NB akan digunakan pada kulturisasi bakteri uji dan pengujian antibakteri MAG dari minyak biji ketapang.

c. Pembuatan Agar Miring Untuk Kulturisasi Bakteri dari *Nutrient Agar* (Narang, 2004)

Bubuk *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 0,69 g dilarutkan dengan 30 mL akuadest di dalam erlenmeyer kemudian dipanaskan sampai larut. Lalu dimasukkan dalam lima tabung reaksi masing-masing 6 mL. Kemudian tabung reaksi di sterilisasi dalam autoklaf. Setelah itu tabung reaksi didiamkan sehingga membeku pada posisi miring pada suhu ruang kemudian diinkubasi pada 35°C selama 24 jam. Agar miring ini digunakan untuk penyediaan stok bakteri selama penelitian.

d. Peremajaan Bakteri (Miksusanti, 2011)

Peremajaan bakteri dilakukan secara aseptik dengan teknik agar miring, dengan cara diambil 1 mata jarum ose masing-masing biakan bakteri uji. Selanjutnya diinokulasi pada permukaan NA miring dengan cara menggores, dan kemudian diinkubasi pada 37°C selama 48 jam.

e. Kulturisasi Bakteri Uji (Suheryanto, 2010)

Medium NB yang diambil sebanyak 9 mL dan ditempatkan pada tabung reaksi, kemudian diinokulasikan sebanyak 1-2 mata jarum ose isolate bakteri uji dari medium agar miring secara aseptis. Medium NB dan isolate bakteri diinkubasi selama 48 jam pada

suhu kamar (kurang lebih 30°C). Selanjutnya diukur nilai OD (*Optical Density*) dengan alat spektrofotometer visible pada panjang gelombang 580 nm. Kultur dapat digunakan bila nilai OD atau absorbansi berada pada rentangan nilai 0,6 satuan absorbansi.

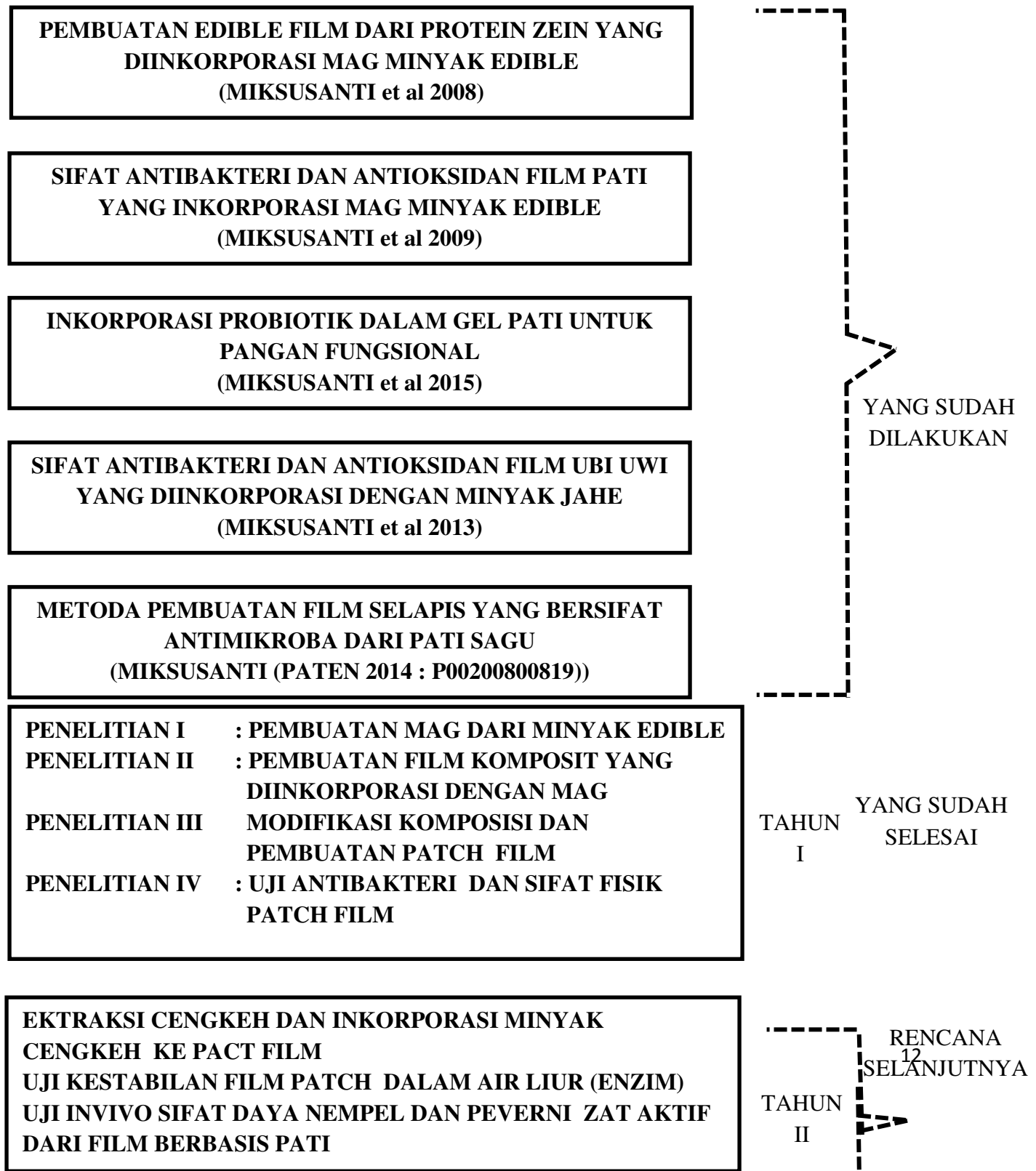
f. Pembuatan Medium *Nutrient Agar* (Narang, 2004)

Bubuk 1,15 g *Nutrient Agar* (NA) dilarutkan dengan 50 mL akuades di dalam erlenmeyer. Selanjutnya media dipanaskan di atas pemanas listrik sambil diaduk supaya homogen sampai mendidih. Selanjutnya diangkat dan didiamkan sampai suhu kurang lebih 50°C dan erlenmeyer ditutup dengan kapas. Kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada tekanan 15 lbs, temperatur 121°C selama 15 menit. Medium NA yang telah dibuat akan digunakan untuk tahap pengujian antibakteri MAG dari minyak biji ketapang dengan metode difusi sumur. Pengujian membutuhkan medium NA sebanyak 25 mL.

g. Pengujian Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Sumur (Rostinawati, 2009)

Pada pengujian aktivitas antibakteri digunakan metode difusi agar dengan sumur. Sebanyak 1 mL bakteri dari hasil kulturisasi prosedur (e) ditambahkan ke dalam 25 mL media NA untuk bakteri. Campuran diputar diatas meja sampai homogen, didinginkan sehingga menjadi padat dalam cawan petri steril. Setelah itu dibuat sumur yang berdiameter ± 4 mm dengan menggunakan *prevorator*. Selanjutnya, sebanyak 60 μ l MAG standar (0,2%), MAG dari hasil etanolisis minyak biji ketapang (0,2%), minyak ketapang (0,2%), dan pelarut dimasukkan ke dalam sumur. Inkubasi dilakukan pada suhu 35°C selama 48 jam untuk bakteri. Luas zona hambat diukur dengan menghitung luas hambatan sampel dikurangi luas hambatan pelarut.

**UPAYA PENGEMBANGAN FILM EDIBLE BERBASIS MOLEKUL HAYATI
UNTUK KESEHATAN**



4.3. Pengujian Aktivitas Antibakteri dan Antijamur dengan Metode Cakram

Kultur uji diinokulasikan sebanyak 1 ml ke dalam media NaCl 9 ml kemudian dituang ke cawan petri steril. Selanjutnya 25 ml media NA dituangkan ke cawan petri yang telah berisi 1 mL kultur uji. Setelah memadat, ditempelkan *edible film* yang mengandung zat aktif schang yang telah dipotong-potong dengan diameter 10 cm, dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1 hari. Zona penghambatan adalah lebar areal bening yang terbentuk di sekitar sumur yang diukur dengan jangka sorong dengan satuan mm. Selain itu, dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap kontrol yaitu *edible film* tanpa ditambahkan ekstrak sechang.

3.8. Pengukuran nilai IC₅₀ dari Aktivitas Antioksidan oleh Film yang Mengandung Ekstrak Aktif.

Nilai IC₅₀ (*inhibition concentration*) didefinisikan sebagai konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menghambat oksidasi sebesar 50% atau konsentrasi sampel uji yang dibutuhkan untuk menangkap 50% radikal DPPH. Grafik dibuat dengan konsentrasi sampel uji (ppm) sebagai absis (sumbu x) terhadap % inhibisi sebagai ordinat (sumbu y). Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi dimana ekstrak dapat menangkap radikal bebas sebesar 50% yang diperoleh dengan memakai persamaan regresi linier $y = a + bx$.

Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat bila nilai $IC_{50} < 50$ ppm, kuat bila nilai IC_{50} bernilai 50-100 ppm, sedang bila nilai IC_{50} bernilai 100-150 ppm, dan lemah bila nilai IC_{50} bernilai 151-200 ppm.

c.Pengujian Sifat Kstabilan Film Patch dalam Air Liur

Pengujian ini akan menggunakan prosedur dari Anderson *et al.* 2002. Enzim α -amilase dilarutkan di dalam buffer Na-fosfat 0.05 M pH 7. Pereaksi dinitrosalisilat dibuat dengan melarutkan 1 gram 3,5-dinitrosalisilat, 30 gram Na-K tartarat dan 1,6 gram NaOH dalam 100 ml aquades. Larutan maltosa standar yang digunakan adalah 0-10 mg masing-masing dalam 10 ml aquades. Sampel dibuat suspensi dalam aquades (1%), kemudian dipanaskan dalam penangas air selama 30 menit pada suhu 90°C kemudian didinginkan. Sebanyak 2 ml sampel dalam tabung ditambahkan 3 ml aquades dan 5 ml buffer Na-fosfat 0.1 M, pH 7. Lalu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 15 menit. Selanjutnya ditambahkan larutan enzim α -amilase dan diinkubasi lagi pada suhu 37°C selama 30 menit. Sebanyak 1 ml sampel dipipet ke dalam tabung reaksi lain, ditambah 2 ml pereaksi dinitrosalisilat. Lalu dipanaskan pada suhu 100°C selama 10 menit. Warna merah orange yang terbentuk diukur absorbansinya pada panjang gelombang 520 nm.

3.9 Evaluasi Patch

3.9.1 Uji Ketebalan

Ketebalan 10 patch setiap formula (Shaikh et al,2013) di ukur pada 3 titik yaitu tepi kanan, tengah,dan tepi kiri.Pengukuran di lakukan dengan menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,01 mm (10 μ m), lalu di hitung rata-rata (ganesh and

moreshwar,2014). Patch yang baik berada pada rentang ketebalan 0,5 -20 mm dengan % CV tidak melebihi dari 5 % dengan menggunakan persamaan 2.

$$\% CV = \frac{\text{standar deviasi}}{\text{rata-rata}} \times 100 \%$$

3.9.2. Uji Ketahanan Lipatan (*folding edurance*)

patch dipotong 2 cm² dan di ambil acak sebanyak 10 lembar untuk tiap formula dan dilipat berulang kali pada posisi yang sama hingga *patch* retak pada interval waktu tertentu. Jumlah lipatan yang tidak menyebabkan *patch* patah pada interval waktu tertentu dihitung sebagai nilai *folding endurance*. Uji dilakukan triplo untuk setiap formula (Shaikh *et al.*, 2013). Patch dapat dikatakan memenuhi kriteria ini apabila jumlah lipatan yang dilakukan diatas 300.

BAB IV. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

4.1 HASIL EKSTRAKSI MINYAK DAN PEMABUATAN EKSTRAK KASAR MONOASIL GLISEROL (MAG) DARI MINYAK

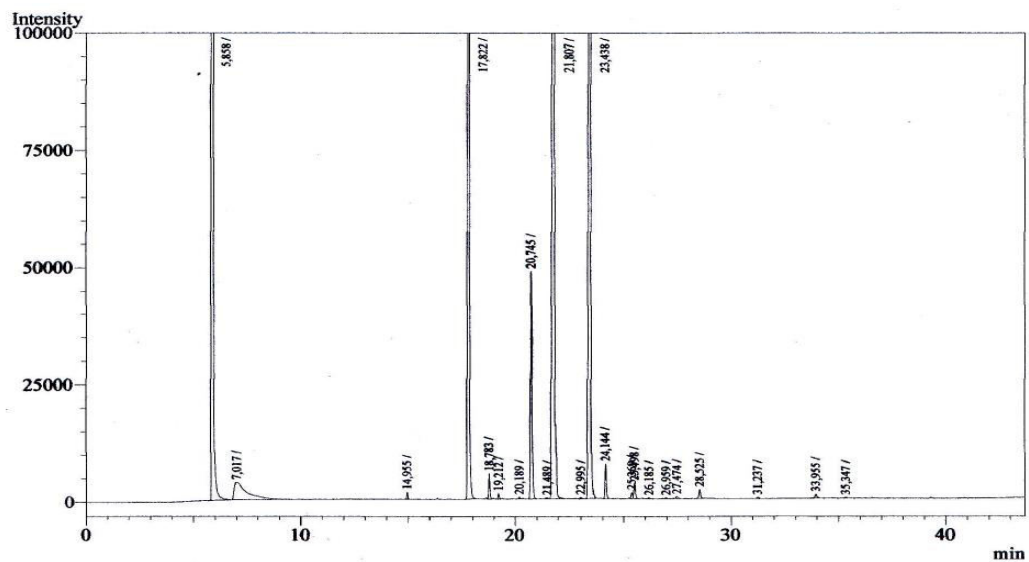
4.1.1 Kadar Minyak Biji Ketapang

Hasil ekstraksi 3000 gram biji ketapang dengan menggunakan metode pengepresan hidrolis didapatkan minyak biji ketapang sebanyak 230,75 gram atau setara dengan 7,69% (Lampiran 8). Kadar minyak yang didapatkan lebih rendah bila dibandingkan dengan kadar minyak biji ketapang yang didapat oleh Riyanti, dkk (2006) dengan metode sokletasi yaitu 58,66 % w/w. Hal ini dapat disebabkan karena proses ekstraksi terjadi pada temperatur yang rendah dibandingkan dengan sokletasi sehingga

dihasilkan minyak yang lebih sedikit. Metode pengepresan hidrolis dipilih, dengan harapan agar kualitas minyak biji ketapang yang dihasilkan lebih baik karena resiko degradasi minyak lebih kecil terjadi pada suhu rendah (Paimin, 1994).

4.1.2 Analisis Komposisi Asam Lemak Minyak Biji Ketapang dengan Kromatografi Gas

Penentuan kandungan asam lemak pada minyak biji ketapang dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi gas dan hasilnya dibandingkan dengan standar asam lemak. Di bawah ini merupakan kromatogram asam lemak dari minyak biji ketapang (Gambar 1):



Gambar 1. Kromatogram asam lemak dari minyak biji ketapang

Gambar 1 menunjukkan terdapatnya 22 puncak yang mengidentifikasi adanya 22 komponen senyawa. Puncak dengan waktu retensi kurang dari 10 menit berasal dari pelarut, sedangkan 20 puncak lainnya merupakan asam lemak. Dari kromatogram di atas

juga menunjukkan terdapatnya 4 puncak yang memiliki kandungan asam lemak yang cukup tinggi yaitu pada waktu retensi 23,438 menit (asam lemak oleat), 21,807 menit (asam lemak linoleat), 17,822 menit (asam lemak palmitat) dan 20,745 menit (asam lemak stearat) sedangkan yang memiliki kandungan asam lemak yang rendah terdapat 12 puncak yaitu pada waktu retensi 14,955 menit (asam lemak miristat), 18,783 menit (asam lemak palmitoleat), 19,212 menit (asam lemak heptadekanoat), 20,189 menit (asam lemak cis-10 heptadekanoat), 21,489 menit (asam lemak elaidat), 25,498 menit (asam lemak linolenat), 24,144 menit (asam lemak arakhidat), 25,369 menit (asam lemak cis-11 eikosanoat), 27,474 menit (asam lemak cis-11,14 eikosadienoat), 28,525 menit (asam lemak behenat), 31,237 menit (asam lemak trikosanoat), dan 33,955 menit (asam lemak lignoserat). Puncak dengan waktu retensi 22,995, 26,185, 26,959 dan 35,347 menit tidak diketahui kandungan asam lemaknya, hal ini disebabkan karena ketidaksesuaian waktu retensi antara minyak biji ketapang dengan standar asam lemak yang ada.

Komposisi asam lemak minyak biji ketapang dapat dilihat dari tabel 1 dibawah ini

:Tabel 1. Asam lemak minyak biji ketapang

No.	Asam Lemak	Σ atom C	Σ ikatan rangkap	Posisi	Waktu Retensi (Menit)	Konsentrasi (%b/b)
1.	Asam Miristat	14			14,955	0.09
2.	Asam Palmitat	16			17,822	19.50
3.	Asam Palmitoleat	16	1		18,783	0.36
4.	Asam Heptadekanoat	17			19,212	0.07
5.	Cis-10-Asam Heptadekanoat	17	1	n10cis	20,189	0.03
6.	Asam Stearat	18			20,745	3.94
7.	Asam elaidat,	18	1	n9trans	21,489	0.03
8.	Asam Oleat	18	1	n9cis	21,807	30.35
9.	Asam Linoleat	18	2	n6cis	23,438	27.87
10.	Asam Linolenat	18	3		25,498	0.30
11.	Asam Arakhidat	20			24,144	0.51

12.	Cis-11- Asam Eikosanoat	20	1	n11cis	25,369	0.11
13.	Cis-11,14- Asam Eikosadienoat	20	2	n11,14 cis	27,474	0.05
14.	Asam Behenat	22			28,525	0.16
15.	Asam Trikosanoat	23			31,237	0.02
16.	Asam Lignoserat	24			33,955	0.07
	Total Asam Lemak					83.43

Dari tabel 1 menunjukkan bahwa ada 16 jenis asam lemak pada minyak biji ketapang. Pada tabel diatas menunjukkan terdapatnya asam lemak jenuh yaitu asam miristat, asam palmitat, asam heptadekanoat, asam stearat, asam arakhidat, asam behenat, asam trikosanoat dan asam lignoserat, dan asam lemak tak jenuhnya yaitu asam palmitoleat, cis-10-asam heptadekanoat, asam elaidat, asam oleat, asam linoleat, cis-11-asam eikosanoat, asam linolenat dan cis-11,14-asam eikosadienoat.

4.1.3 Etanolisis Minyak Biji Ketapang dan Pemisahan MAG dari Hasil Etanolisis Minyak Biji Ketapang

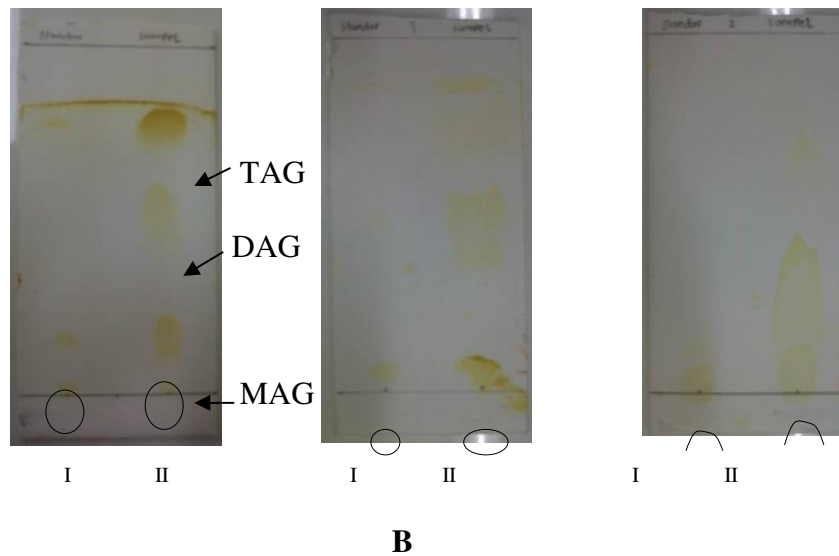
250 mL minyak biji ketapang yang didapat dari hasil ekstraksi diambil 10 mL minyak biji ketapang untuk dietanolisis. Produk etanolisis minyak biji ketapang berwujud cairan yang bewarna coklat keputihan dan hasil yang didapat sebanyak 8,07 gram. Untuk meyakini bahwa hasil produk etanolisis telah berlangsung maka dilakukan perbandingan antara minyak biji ketapang dan hasil produk etanolisis dengan menggunakan KLT preparatif (Gambar 2) :



Gambar 2 . KLT preparatif minyak hasil dari etanolisis (I) dan minyak biji ketapang (II)

Berdasarkan gambar di atas maka diketahui bahwa Rf antara minyak hasil etanolisis dengan minyak biji ketapang berbeda, hal ini menunjukkan bahwa telah terjadinya reaksi dari produk etanolisis tersebut. Hasil KLT preparatif ini akan terlihat pemisahannya setelah diuapkan dengan penampak noda iodium.

Dilakukan pula pengujian yang sama untuk meyakini noda MAG hasil dari etanolisis minyak biji ketapang dengan MAG standar yang diperoleh dari *South East Asian Food and Agricultural Science and Technology Center* (SEAFAST Center) IPB. MAG standar dari *SEAFAST Centre* berasal dari minyak kepala sawit MAG yang memiliki kemurnian 95% dan 5% nya masih terdapat campuran DAG dan TAG. Dalam satu plat KLT preparatif dilakukan perbandingan nilai Rf dari minyak biji ketapang hasil etanolisis dengan MAG standar, fasa diam yang di gunakan adalah silika gel 60 GF₂₅₄ dan fasa gerak dengan eluen yang berbeda pertama n-heksana: dietileter: asam formiat (80:20:2 v/v), kedua petroleum eter: dietileter: asam asetat glasial (70:30:0,2v/v), dan yang ketiga n-heksana: asam formiat (80:20:2 v/v). Hasil KLT preparatif lalu ditampakkan dengan penampak uap iodium supaya noda hasil elusi dapat terlihat. Gambar di bawah ini menunjukkan bahwa noda MAG standar dengan noda MAG hasil etanolisis minyak biji ketapang diperoleh Rf yang sama yaitu 0,06 cm (Lampiran 12), hal ini disebabkan karena keduanya memiliki kandungan asam lemak tertinggi yang sama yaitu asam oleat (Lampiran 11). Dari ketiga gambar di bawah ini pemisahan yang baik di peroleh pada fase gerak dengan pelarut n-heksan: dietileter: asam formiat (80:20:2) v/v (Gambar 3)



Gambar 3. KLT minyak etanolisis dan standar MAG, n-heksan: dietileter: asam formiat (80:20:2 v/v) **A**, petroleum eter: dietileter: asam asetat glasial (70:30:0,2 v/v) **B**, dan n-heksan: asam formiat (80:2 v/v) **C**, I= standar MAG (SEAFast IPB), II= Minyak hasil etanolisis

Dari 8,07 gram produk hasil etanolisis yang didapat hanya diambil 2,76 gram untuk selanjutnya di KLT preparatif menjadi MAG. Fasa diam yang digunakan adalah silika gel 60 GF₂₅₄ dan fasa gerak yang digunakan adalah eluen hasil pemisahan yang terbaik yaitu dengan pelarut n-heksan: dietileter: asam formiat (80:20:2) v/v. Hasil KLT preparatif ditampakkan menggunakan penampak uap iodium. Noda MAG hasil etanolisis memiliki jarak tempuh hanya 0,06 cm bila dibandingkan dengan DAG dan TAG yang memiliki jarak tempuh yang lebih jauh. Berdasarkan prinsip like disolve like tingkat kepolaran MAG reaktif lebih tinggi dari DAG, dan TAG terlihat pada gambar 4 diatas.

MAG bersifat semipolar yang mempunyai 2 gugus hidrofilik dan 1 gugus lipofilik, sedangkan DAG mempunyai dua gugus lipofilik dan 1 gugus hidrofilik serta TAG mempunyai tiga gugus lipofilik sehingga sangat menyukai pelarut yang mempunyai kepolaran yang rendah dan Rf yang ditempuh TAG semakin jauh dibandingkan dengan DAG dan MAG (Mappiratu, 1999).

Setelah di dapat noda MAG dari KLT preparatif kemudian noda MAG dikerik dan dikumpulkan lalu diekstrak dengan pelarut dietileter sebanyak 3x5 mL. Ekstrak yang diperoleh diuapkan pelarutnya dan dipanaskan dalam oven analitik dengan suhu 100°C sampai beratnya konstan. MAG yang didapat berwarna putih dengan kadar sebanyak 0,036 gram atau setara dengan 1,2 % .

4.1.4 Penentuan Aktivitas Antibakteri Monoasilgliserol Standar dan Monoasilgliserol Minyak Biji Ketapang Terhadap *S. mutans*

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan bakteri *S. mutans*. Bakteri ini dipilih karena sering mengkontaminasi makanan dan salah satu pembentuk spora yang penyebarannya sangat luas yang dapat menyebabkan infeksi baik pada manusia ataupun pada hewan (Hostacka dan Majtan, 1992 dalam Hasanudin, 2008). Bakteri ini juga resisten terhadap antibiotik streptomisin dan penisilin G (Parhusip, 2006 dalam Yudha, 2008). Pengujian antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode difusi sumur pada media agar padat NA. Sebanyak 60 µl MAG dari minyak biji ketapang, MAG standar, pelarut etil asetat dan minyak biji ketapang dimasukkan dalam masing-masing sumur agar yang telah diinokulasi dengan bakteri dan di inkubasi pada suhu 35°C selama 48 jam. Zona bening diamati di sekitar sumur yang menunjukkan penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri. Uji dilakukan menggunakan konsentrasi MAG sebesar 0,2% dengan

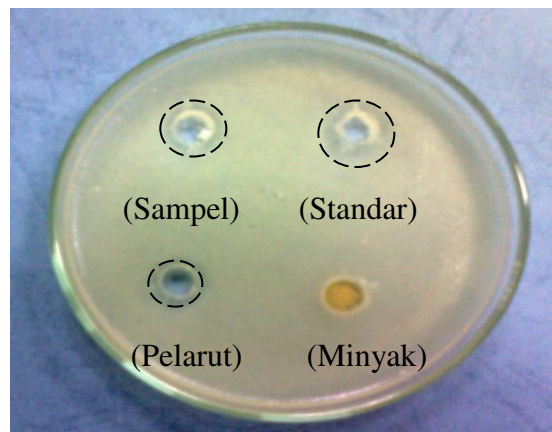
pengulangan sebanyak 3 kali. Uji tersebut menghasilkan zona bening (Gambar 6) dengan diameter zona hambat yang berbeda.

Pelarut yang digunakan untuk melarutkan MAG standar dan MAG dari minyak biji ketapang adalah etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semi polar. Sifat etil asetat yang semi polar menyebabkan zat yang terlarut dalam etil asetat akan memiliki dua sifat kelarutan, yaitu hidrofilik dan lipofilik (Adawiyah, 1998). Menurut Kanazawa *et al.* (1995) dalam Parhusip (2006) suatu senyawa yang mempunyai polaritas optimum akan mempunyai aktivitas antimikoba maksimum, karena untuk interaksi suatu senyawa antibakteri dengan bakteri diperlukan keseimbangan hidrofilik-lipofilik (HLB : *hydrophilic lipophilic balance*). Polaritas senyawa merupakan sifat fisik senyawa antibakteri yang penting. Sifat hidrofilik diperlukan untuk menjamin senyawa antibakteri larut dalam fase air yang merupakan tempat hidup bakteri, tetapi senyawa yang bekerja pada membran sel hidrofobik memerlukan pula sifat lipofilik, sehingga senyawa antibakteri memerlukan keseimbangan hidrofilik lipofilik untuk mencapai aktivitas yang optimal.

Tabel 2. Daya hambat MAG dari minyak biji ketapang, MAG Standar, dan pelarut terhadap *S. mutans*

Sampel	Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)			Total	Rataan	Zona Luas
		I	II	III			Daya Hambat (mm ²)
Minyak biji ketapang	0,2%	0	0	0	0	0	0
MAG dari minyak biji ketapang	0,2%	14	16	14	44	15	83
MAG standar	0,2%	18	18	18	54	18	160

Berdasarkan tabel diatas pengujian luas zona hambat MAG minyak biji ketapang terhadap *S. mutans* lebih kecil dibandingkan dengan MAG standar. MAG standar memiliki luas daya hambat 160 mm sedangkan MAG dari minyak biji ketapang memiliki luas daya hambat 83 mm. Perbedaan luas daya hambat MAG standar dan MAG dari minyak biji ketapang terhadap pertumbuhan koloni *S. mutans* diduga disebabkan oleh perbedaan kemampuan senyawa antibakteri yang terkandung pada masing-masing sampel dalam menghambat bakteri. MAG standar *SEAFast Center* berasal dari minyak kelapa sawit sedangkan MAG hasil etanolisis berasal dari minyak biji ketapang. Kedua ini mempunyai komposisi asam lemak yang berbeda. Perbedaan komposisi dan jenis asam lemak dari kedua minyak menyebabkan jenis MAG yang berbeda sehingga menghasilkan kemampuan sifat antibakteri yang berbeda pula.

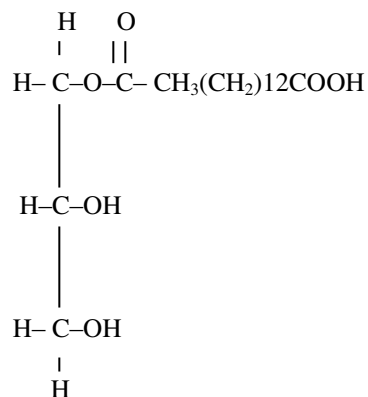


Gambar 4. Hasil uji aktivitas antibakteri MAG standar dan MAG sampel dari minyak biji ketapang terhadap *S. mutans*

Terbentuknya daerah bening disekitar sumur pada cawan petri menunjukkan terjadinya penghambatan pertumbuhan koloni bakteri akibat pengaruh senyawa

antibakteri yang terdapat pada MAG dari minyak biji ketapang. Komponen MAG standar yang berasal dari kelapa sawit yang memiliki sifat antibakteri adalah monolaurin, monomeristin, monokaprin dan monokaprilin, sedangkan komponen MAG yang berasal dari minyak biji ketapang yang dilaporkan memiliki sifat antibakteri hanya monomeristin (Wang, *et. al* , 1993 dalam Mappriatu, 1999). Struktur monomeristin gliserol (Gambar 5)

:



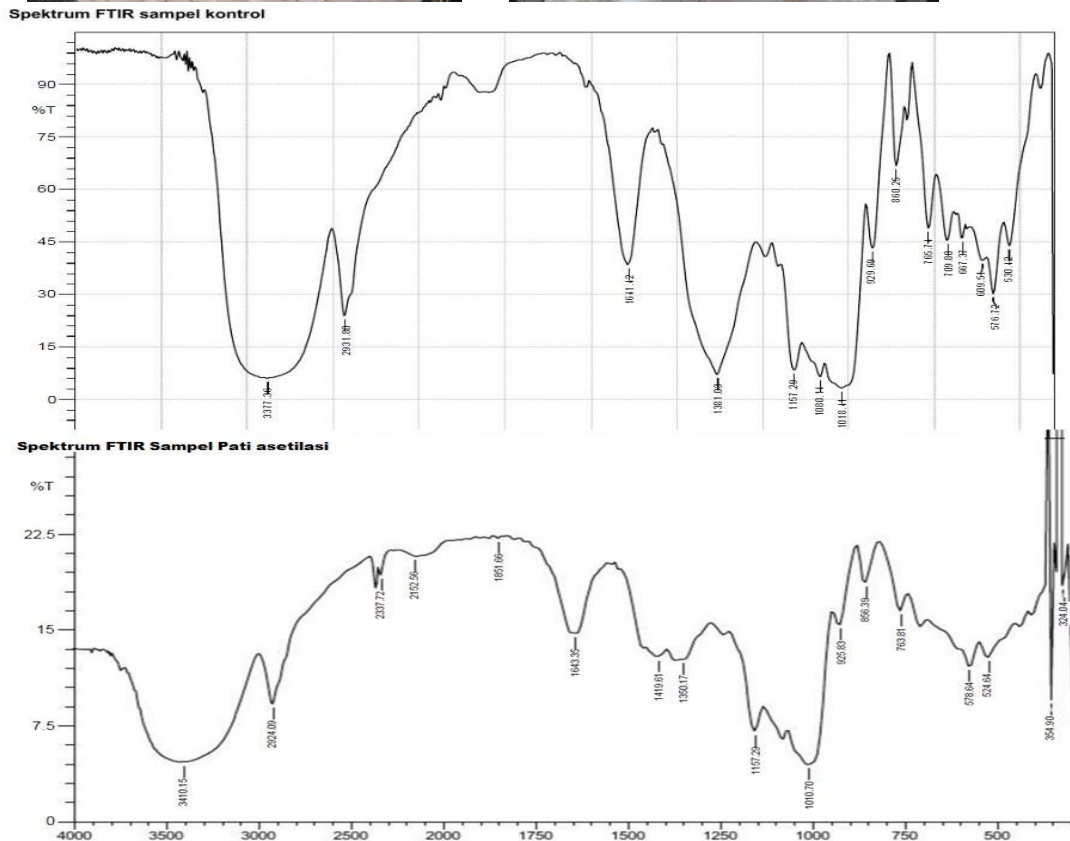
Gambar 5 . Struktur monomeristin gliserol

Berdasarkan sifat ini, MAG dapat mengganggu membran sel bakteri. Terganggunya membran sel bahkan dapat merusak sistem transfor energi (ATP) dan transfor asam amino yang terjadi di dalam membran sel sehingga kedua sistem tersebut maka dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri (Hamilton, 1986 *dalam* Hasanudin, 2008).

4.1.5 Hasil Modifikasi Pati Sagu Alami Menggunakan Metode Asetilasi

Pati Sagu alami yang digunakan pada pembuatan film komposit terlebih dahulu dimodifikasi dengan menggunakan metode asetilasi dengan menambahkan reagen asetat anhidrida dengan variasi komposisi 20%, 30% dan 50% (v/b_{pati}). Pati modifikasi terbaik pada konsentrasi 30% dengan nilai ketebalan yang tidak terlalu berbeda dari nilai

ketebalan film kontrol dan nilai kuat tarik terbesar. Pati Sagu alami dan pati termodifikasi sama-sama memiliki warna tepung yang putih bersih namun pada pati modifikasi tepung yang didapatkan lebih kasar tidak sehalus pati Sagu alami.



perubahan di dalam struktur kimianya (Yuliasin *et al*, 2001). Hasil identifikasi spektrum IR dari pati Sagu alami dengan pati modifikasi asetilasi menunjukkan pola spektrum yang sama ditandakan dengan tidak terdapat perbedaan pada bilangan gelombang puncak, bilangan gelombang puncak dapat dilihat pada gambar 7.

Gambar 6. Spektrum FTIR tepung pati Sagu alami dan pati modifikasi.

Tabel 3. Nilai Bilangan Gelombang (cm^{-1}) Pada Pati Sagu Alami dan Pati Modifikasi

Pati Kontrol	Pati Asetilasi	Jenis Ikatan
3377,36	3410,15	O-H
2931,80	2924,09	C-H
1157,29	1157,29	C-OH
1018,41	1010,70	α - 1,4 glikosidik

Dari spektrum yang terlihat dari gambar 3, ada puncak yang muncul pada bilangan gelombang $3377,36 \text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya gugus -OH pada pati kontrol. Pada pati asetilasi puncak yang menandakan adanya gugus -OH mengalami sedikit pergeseran pada nilai gelombang $3410,15 \text{ cm}^{-1}$. Menurut teori perubahan jenis ikatan kimia ditunjukkan dengan terjadinya pergeseran minimal 10 digit bilangan gelombang. Data spektrum inilah yang menunjukkan tidak terjadi reaksi kimia asetilasi yang diharapkan. Hal ini mungkin disebabkan karena pati Sagu yang digunakan pada penelitian ini kurang murni dan reaksi asetilasi yang digunakan kurang tepat sehingga menyebabkan pati Sagu dan asam asetat anhidrida hanya tercampur secara fisika. Menurut Erna, dkk (2008) pada pati yang kurang murni terdapat pengotor yang dapat mengganggu kelangsungan reaksi asetilasi. Prosedur penelitian yang dilakukan mengacu pada hasil penelitian Teja (2008) yang melakukan proses asetilasi pada pati sagu. Sedangkan penelitian yang dilakukan Muljana (2012) yang melakukan proses asetilasi pada pati sagu dengan menggunakan sodium asetat sebagai katalis dan melakukan proses asetilasi didalam sebuah reaktor batch

yang bertekanan 2-6 MPa. Pati yang dihasilkan dari penelitian ini memiliki perbedaan yang signifikan antara spektrum pati sagu alami dan pati terasetilasi. Ketidak berhasilan proses asetilasi dalam penelitian ini mungkin juga dikarenakan metode proses asetilasi yang kurang tepat. Pengaruh penambahan asetat anhidrida dalam penelitian ini dapat dilihat pada perubahan sifat fisik film yang dihasilkan dari pati dengan penambahan asam asetat anhidrida.

4.1.7 Hasil Pembuatan Film Pati Sagu Alami dan Pati Hasil Perlakuan dengan Asetat Anhidrida

Komposisi terbaik pada pembuatan film adalah 4 gram pati ditambahkan dengan 0,3 gram CMC dan 2 mL gliserol yang dilarutkan dalam 50 mL aquadest. Sebelum komposisi terbaik ini didapatkan telah dilakukan beberapa percobaan dengan variasi komposisi yang berbeda. CMC pada campuran pembuatan film berfungsi sebagai pengental larutan sehingga CMC menyebabkan banyaknya oksigen yang terperangkap karena pengadukan yang dilakukan secara terus menerus pada saat pemanasan menggunakan *magnetic stirrer*. Untuk menghilangkan oksigen yang terperangkap dilakukan pemakuman dengan pompa vacuum sebelum larutan dituangkan dalam plat kaca. Sedangkan gliserol dalam pembuatan film berfungsi sebagai plastizer. Gliserol memiliki bobot molekul yang kecil sehingga dapat menyatu dengan matriks film dan meningkatkan fleksibilitas film (Jacoeb, 2014). Maka dari itu penambahan gliserol akan meningkatkan persen perpanjangan namun jika gliserol yang ditambahkan terlalu banyak maka akan menurunkan nilai kuat tarik film. Film dari pati Sagu alami maupun pati modifikasi tidak memiliki aroma dan berwarna putih bersih namun pada film pati termodifikasi memiliki warna putih yang lebih jernih. Proses pemanasan larutan film harus dilakukan hingga larutan pati tergelatinasi sempurna dengan tujuan agar hampir seluruh granula pati mencapai pembengkakan maksimal.



(a)

(b)

Gambar 7. Film Pati Sagu (a) Dari Pati Murni/Kontrol (b) Pati Hasil Perlakuan dengan Asam Asetat Anhidrida

4.1.8 Hasil Karakterisasi Sifat Fisik Film Pati Hasil Perlakuan dengan Asetat Anhidrida

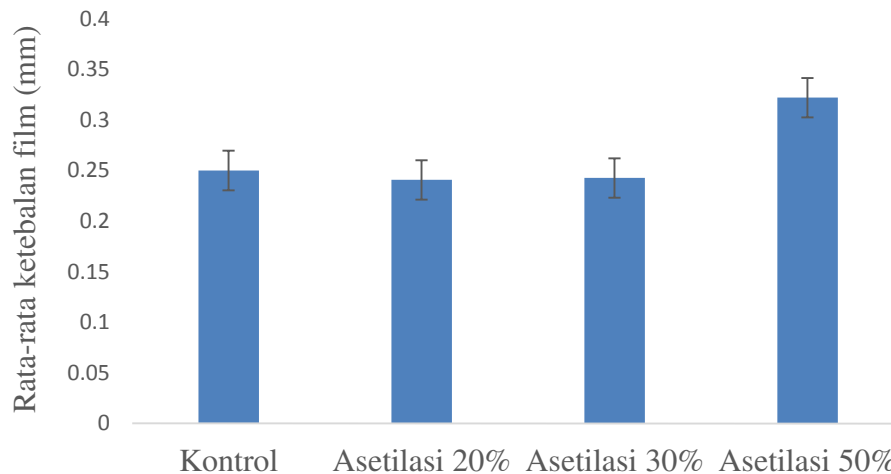
Modifikasi film dapat dilakukan secara fisika maupun kimia. Ciri hasil dari suatu modifikasi kimia adalah dengan bertambahnya gugus fungsional baru yang menggantikan gugus $-OH$ pada pati (Teja, dkk., 2008). Karakterisasi sifat fisik dilakukan pada film pati Sagu alami dan film pati Sagu dengan perlakuan asam asetat anhidrida 20%, 30% dan 50%. Hasil terbaik dari karakterisasi sifat fisik film dengan perlakuan dari ketiga variasi komposisi reagen dipilih untuk dilanjutkan pada pembuatan film pati Sagu termodifikasi yang diinkorporasi dengan kitosan. Karakterisasi sifat fisik yang dilakukan berupa : pengukuran ketebalan, pengukuran kuat tarik dan pengukuran nilai elastisitas film.

4.1.9 Data Hasil Pengukuran Ketebalan Film

Proses pengukuran ketebalan film dilakukan menggunakan micrometer scrub dan diukur pada 5 titik yang berbeda yang kemudian dihitung nilai rata-rata pada masing-masing film. Nilai ketebalan yang dihasilkan dari keempat film yang didapat memiliki

nilai yang berbeda, walaupun luas cetakan dan volume larutan yang digunakan sama.

Berikut adalah grafik ketebalan rata-rata film kontrol dan film pati termodifikasi.

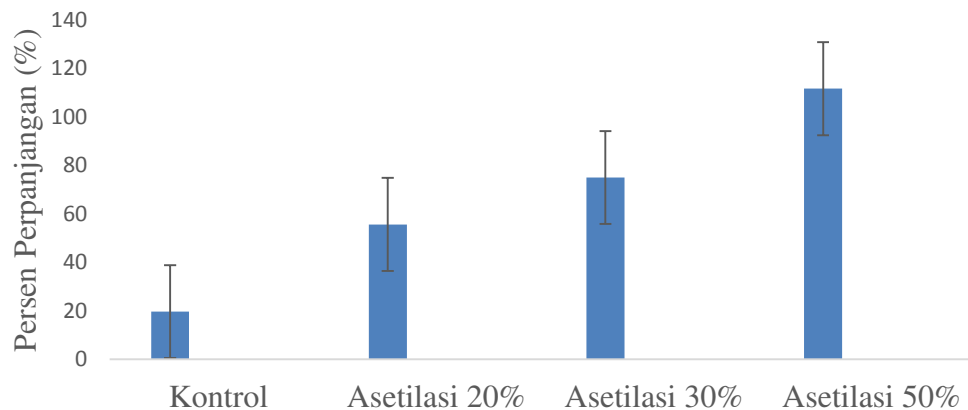


Gambar 8. Grafik Data Ketebalan Rata-rata Film Kontrol dan Film Pati Hasil Perlakuan dengan Asetat Anhidrida

Berdasarkan Gambar. 7 dapat dilihat bahwa nilai ketebalan terendah pada film dengan asam asetat anhidrida 20% sedangkan yang tertinggi pada film dengan asam asetat anhidrida 50%. Park *et al* (1996) menyatakan bahwa ketebalan film dipengaruhi oleh luas cetakan, volume larutan dan jumlah padatan dalam larutan film. Ketebalan merupakan parameter penting yang mempengaruhi laju transmisi gas dan uap air. Semakin tebal film yang dihasilkan maka akan semakin tinggi kemampuannya untuk menghambat laju gas dan uap air. Namun film dengan ketebalan yang terlalu besar akan membuat film tersebut lebih kaku. Ketebalan film standar biasanya sekitar 0,25 mm (Skurtys *et al*, 2011). Berdasarkan pengukuran data statistika ANOVA didapatkan bahwa perbedaan ketebalan film kontrol dan film hasil perlakuan dengan asam asetat anhidrida tidak berbeda nyata.

4.1.10 Data Hasil Pengukuran Persen Perpanjangan (Elastisitas) Film Patch

Data persen perpanjangan film didapatkan dari hasil perpanjangan film pada saat masing-masing beban ditambahkan pada film. Film awal yang diukur memiliki panjang 5 cm pada masing-masing film memiliki panjang akhir yang berbeda. Berikut adalah grafik nilai persen perpanjangan film kontrol dan film pati termodifikasi.



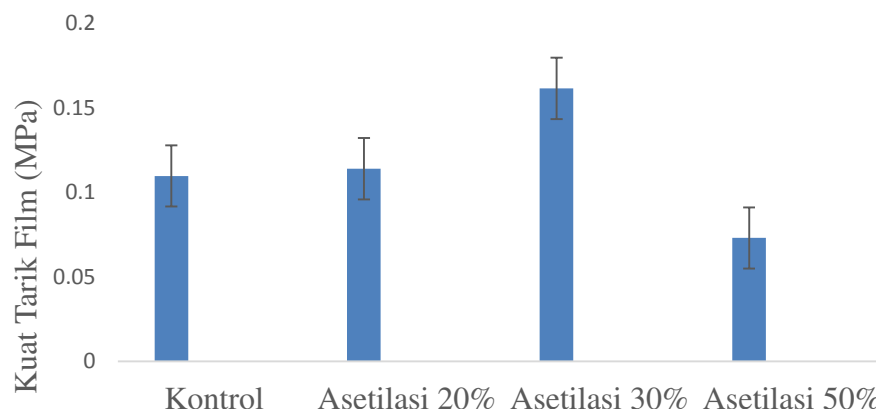
Gambar 9. Pengaruh Penambahan Asam Asetat Anhidrida pada Pati Sagu Terhadap Nilai Persen Perpanjangan Film.

Dapat dilihat dari gambar 9, nilai perpanjangan film terbesar pada film dengan volume reagen asam asetat anhidrida 50% dengan nilai persen perpanjangan sebesar 111,66%. Nilai panjang akhir film dengan perlakuan asam asetat anhidrida 50% pada saat penambahan beban maksimum bernilai 10,58 cm dari panjang awal 5 cm. Sedangkan nilai persen perpanjangan terendah pada film kontrol sebesar 19,66% dengan nilai panjang akhir sebesar 5,98 cm. Berdasarkan *Japanese Industrial Standards* dalam Miksusanti (2013) nilai persen perpanjangan untuk film kontrol termasuk dalam grade 9, sedangkan untuk film dengan volume asetat anhidrida 50% termasuk dalam grade 5. Menurut Krochta dan Jhonson (1997) nilai persen perpanjangan film yang lebih efisien sekitar 50%. Data persen perpanjangan masing-masing film menunjukkan tingkat elastisitas film

tersebut. Film kontrol memiliki sifat yang kaku atau kurang lentur dibandingkan dengan film pati termodifikasi. Berdasarkan data diatas nilai perpanjangan yang efisien adalah film dengan tepung asetilasi 20%. Data hasil pengukuran persen perpanjangan dapat dilihat pada lampiran 4.

4.1.11 Data Hasil Pengukuran Kuat Tarik Film

Pengujian kuat tarik dilakukan dengan cara menambahkan beban secara terus menerus hingga film tersebut putus. Pada saat penambahan beban dilakukan film dikur perpanjangannya, pada saat film tersebut putus maka itulah beban maksimalnya. Pengujian kuat tarik dilakukan agar mengetahui besarnya gaya yang dicapai untuk mencapai tarikan maksimum pada setiap satuan luas area film yang mengalami perenggangan atau pemanjangan. Berikut adalah grafik nilai kuat tarik film kontrol dan film pati termodifikasi.



Gambar 10. Pengaruh Penambahan Asam Asetat Anhidrida pada Pati Sagu Terhadap Nilai Kuat Tarik Film.

Dapat dilihat dari data kuat tarik pada gambar 9, nilai kuat tarik terbesar pada komposisi volume reagen asetat anhidrida 30% dengan nilai kuat tarik sebesar 0,1615

MPa sedangkan nilai kuat tarik terkecil pada komposisi volume reagen asetat anhidrida 50% dengan nilai 0,073 MPa. Dengan komposisi pati, CMC dan gliserol yang sama namun menghasilkan nilai kuat tarik yang berbeda hal ini disebabkan dikarenakan penambahan reagen asam asetat yang terlalu banyak. Pada film dengan kadar asetat anhidrida 50% film yang terbentuk memiliki nilai perpanjangan yang tinggi namun sangat mudah putus sehingga nilai kuat tariknya rendah. Sedangkan pada film dengan asam asetat anhidrida 30% memiliki nilai perpanjangan dibawah asetilasi 50% namun beban maksimum yang dicapai jauh lebih tinggi sehingga nilai kuat tariknya besar. Data nilai kuat tarik dapat dilihat pada lampiran 5. Data grade film dari penelitian ini berdasarkan *Japanese Industrial Standards* dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Grade Film Berdasarkan *Japanese Industrial Standards*

Film	Nilai Kuat Tarik (MPa)	Grade	Nilai Persen Perpanjangan (%)	Grade
Kontrol	0,1097	10	19,66	9
Asetilasi 20%	0,11401	10	55,60	7
Asetilasi 30%	0,1615	8	75	6
Asetilasi 50%	0,073	9	111,66	5

Data karakteristik yang telah didapatkan menunjukkan dari keempat film yang diukur, film dengan volume asam asetat anhidrida 30% memiliki sifat fisik yang paling optimum dengan nilai ketebalan 0,246 mm, nilai persen perpanjangan 75% yang termasuk dalam grade 6 dan nilai kuat tarik 0,1615 MPa yang termasuk dalam grade 8 menurut *Japanese Industrial Standards* (1975). Film pati termodifikasi 30% asam asetat anhidrida dapat bertahan pada beban maksimum yang tinggi dan perpanjangan yang cukup besar sehingga

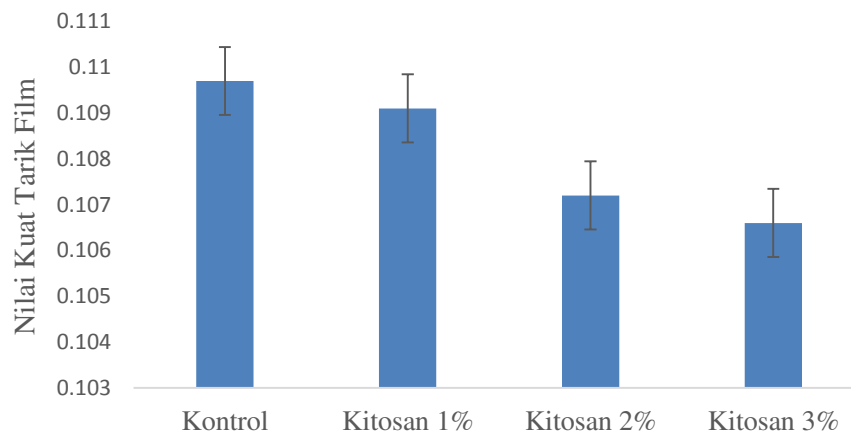
film tersebut memiliki nilai kuat tarik yang paling besar. Sehingga tepung pati yang diperlakukan dengan asetat anhidrida 30% dipilih untuk melanjutkan pembuatan film komposit.

4.1.12 Hasil Pembuatan Film Komposit Pati Hasil Perlakuan dengan Asetat Anhidrida dan Kitosan.

Pati sebagai bahan dasar pembuatan film telah banyak dilakukan dengan pertimbangan sifat fisik yang dihasilkan film cukup baik. Untuk meningkatkan kualitas sifat fisik yang semakin baik pati alami dapat dimodifikasi dan dapat diinkorporasikan dengan senyawa yang dapat bersifat sebagai antibakteri (Vasconez, 2009). Kitosan yang diinkorporasi dengan film pati termodifikasi merupakan zat pembawa antibakteri yang bersifat non toksik serta ramah lingkungan. Komposisi inkorporasi kitosan yang ditambahkan divariasikan sebesar 1%, 2% dan 3%, sedangkan komposisi campuran pati termodifikasi, CMC dan gliserol sama seperti pembuatan film kontrol dan film pati termodifikasi.

Film komposit pati termodifikasi dan kitosan yang didapatkan memiliki warna putih bening sama seperti film pati termodifikasi namun pada film komposit terdapat butiran kecil yaitu kitosan yang tidak larut sempurna. Film komposit pati asetilasi dengan kitosan mempunyai sifat fisik yang sedikit kaku dan nilai kuat tarik yang tidak jauh berbeda dari nilai kuat tarik pati kontrol, hal ini diduga disebabkan karena masuknya kitosan dalam lapisan film sehingga mengganggu ikatan pati pada film. Berdasarkan *Japanese Industrial Standards* film komposit kitosan 1%, 2% dan 3% termasuk dalam grade 10 dan nilai persen perpanjangan untuk ketiganya termasuk dalam grade 9. Penambahan kitosan dalam film memberikan perbedaan yang signifikan pada nilai persen perpanjangan film. Nilai ketebalan dan kuat tarik film tidak memiliki perbedaan yang signifikan antara film tanpa

kitosan dengan film yang diinkorporasi kitosan. Masuknya kitosan dalam film komposit dapat dilihat pada hasil identifikasi menggunakan SEM. Nilai kuat tarik film komposit dapat dilihat pada gambar 10.

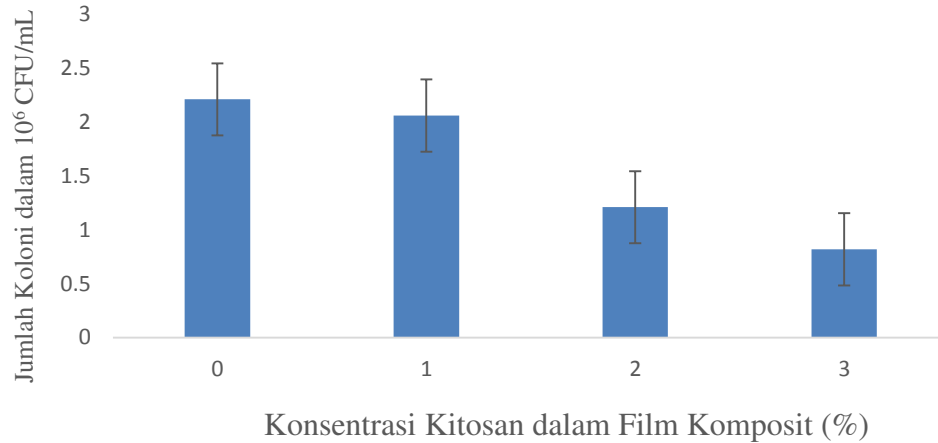


Gambar 11 Pengaruh Penambahan Kitosan pada Film Terhadap Nilai Kuat Tarik Film.

Film komposit pati termodifikasi dan kitosan selanjutnya diaplikasikan pada pengujian antibakteri untuk mengetahui kemampuan film komposit terhadap bakteri *S. mutans*. Data sifat fisik film komposit pati Sagu dengan perlakuan asam asetat dapat dilihat pada lampiran 6.

5.1.13 Pengaruh Penambahan Kitosan Sebagai Komposit dalam Film Pati Sagu

Pengujian aktivitas antibakteri yang dilakukan menggunakan metode SPC (*Standar Plate Count*) (Fardiaz, 1993), film komposit yang diuji mengandung kitosan dengan komposisi yang bervariasi agar dapat terlihat pengaruh penambahan kitosan dalam komposit film. Bakteri uji yang digunakan berupa bakteri *S. mutans* dimana bakteri *S. mutans* ini merupakan salah satu bakteri yang terdapat pada permukaan luka di kulit. Penurunan aktivitas antibakteri pada film komposit dapat dilihat pada gambar 12.



Gambar 12. Pengaruh Penambahan Kitosan pada Film Komposit Terhadap Bakteri *S. mutans* yang ditumbuhkan selama 24 jam.

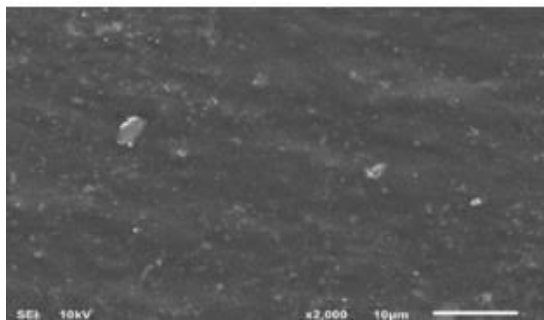
Berdasarkan hasil uji dengan menggunakan metode SPC yang dapat dilihat pada gambar 11, menunjukkan bahwa penambahan kitosan sebagai komposit pada film Sagu alami berpengaruh nyata dalam peranannya sebagai zat pembawa antibakteri. Penambahan komposisi kitosan juga berpengaruh dalam penurunan pertumbuhan bakteri, dimana penurunan pertumbuhan bakteri terbesar yaitu pada film komposit yang mengandung kitosan sebanyak 3% penurunannya sebesar 62%. Semakin banyak komposisi kitosan yang ditambahkan maka akan semakin menurunkan pertumbuhan bakteri *S. mutans* dapat dilihat pada lampiran 7 tepatnya tabel 16 jumlah koloni yang tumbuh pada film komposit yang mengandung kitosan 3% sebesar 82×10^5 CFU/mL dengan nilai log 5,913. Sedangkan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada film yang tidak mengandung kitosan sebanyak $2,21 \times 10^6$ CFU/mL dengan nilai log 6,34439.

Data dari hasil pengujian antibakteri yang telah dilakukan berupa adanya penurunan pertumbuhan bakteri bersamaan dengan meningkatnya komposisi kitosan yang terinkorporasi dalam film komposit. Hal ini disebabkan karena semakin banyak kitosan yang diinkorporasi maka semakin banyak gugus amina yang terperangkap di dalam film

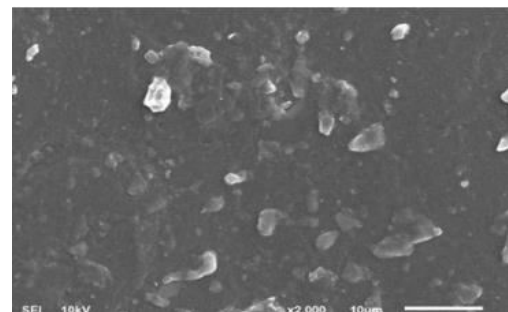
komposit. Menurut Kong, *et al* (2010), sifat antibakteri dari kitosan disebabkan karena adanya gugus amina yang dapat menyebabkan terganggunya membran seluler bakteri. Bakteri *S. mutans* merupakan bakteri gram positif yang tersusun atas peptidoglikan, peptidoglikan merupakan bagian terluar dari dinding sel bakteri gram positif. Gugus amina dalam kitosan mengganggu interaksi peptidoglikan pada dinding sel bakteri. Kitosan berinteraksi dengan cara perlahan-lahan melepaskan ikatan antaroligosakarida pada peptidoglikan yang ada pada membran sel bakteri menyebabkan dinding sel bakteri terbuka sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat hingga akhirnya bakteri tersebut mati.

4.1.14 Hasil Analisis SEM dari Film Komposit

Analisis morfologi permukaan film komposit pati Sagu termodifikasi dan kitosan serta morfologi permukaan film pati Sagu modifikasi dilakukan dengan menggunakan alat *Scanning Electron Microscopy* (SEM), morfologi masing-masing dapat dilihat pada



(1)



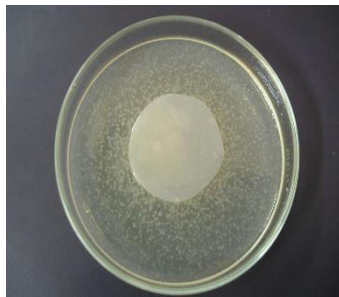
(2)

Gambar 13. Morfologi Permukaan dengan SEM Perbesaran 2000x (1) Film Pati Modifikasi dan (2) Film Komposit pati dan kitosan

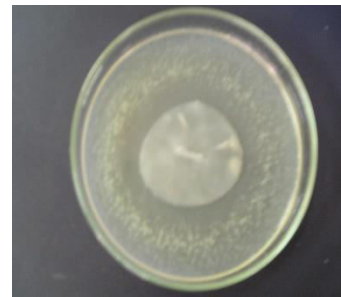
Pada hasil gambar morfologi permukaan film komposit kitosan dapat dilihat perbedaan dengan gambar morfologi pada permukaan film tanpa kitosan, pada morfologi

film komposit terlihat jelas bahwa kitosan menempel pada lapisan film secara tidak merata menutupi lapisan film. Kitosan yang menempel pada permukaan film inilah yang menyebabkan film komposit pati termodifikasi dengan kitosan memiliki nilai kuat tarik yang rendah karena kitosan menghalangi ikatan antara pati pada film, sehingga menghasilkan film yang sedikit lebih kaku dibandingkan dengan film tanpa penambahan kitosan.

Untuk menguji aktivitas antimikroba dari film edibel pati sagu yang diinkorporasi dengan MAG minyak edible, maka dilakukan serangkaian uji daya hambat film edibel pati sagu dengan metode kontak terhadap bakteri patogen yaitu *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, dan *Pseudomonas aeruginosa*.



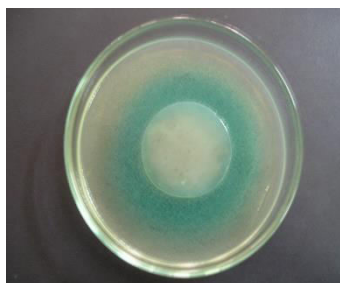
(a)



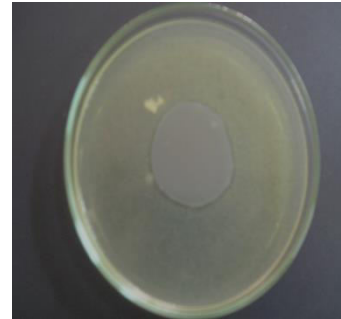
(b)

Gambar 14 Aktivitas antibakteri film pati sagu yang tidak mengandung minyak (a) dan yang mengandung MAG minyak edible (b) terhadap *L.monocytogenes*

Zona penghambatan adalah lebar areal bening yang terbentuk di sekitar sumur yang diukur dengan jangka sorong dengan satuan mm. Selain itu, dilakukan uji kontrol terhadap film edibel pati sagu tanpa MAG minyak edible.

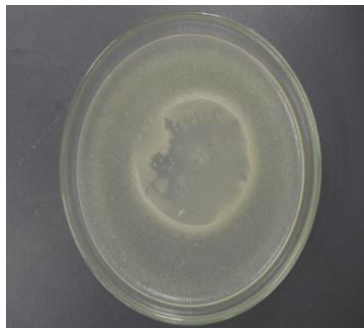


(a) (b)
Gambar 15 Aktivitas antibakteri film pati sagu yang tidak mengandung minyak (a) dan yang mengandung MAG minyak edible TK (b) diuji terhadap *P.aeruginosa*



(a) (b)
Gambar 16 Aktivitas antibakteri film pati sagu yang tidak mengandung minyak (a) dan yang mengandung MAG minyak edible (b) terhadap *E.coli K1.1*

Pada gambar 1 dan 2 untuk masing-masing *L.monocytogenes* dan *P. aeruginosa* terlihat bahwa areal tepi sekitar film edibel terjadi pengkerutan, ini diduga disebabkan oleh lendir yang dihasilkan oleh kedua bakteri tersebut yang dikenal sebagai eksopolisakarida sebagai salah satu faktor dalam pembentukan biofilm (Doyle *et al.* 2001).



(a) (b)
Gambar 17 Aktivitas antibakteri film pati sagu yang tidak mengandung minyak atsiri (a) dan yang mengandung MAG minyak edible (b) diuji terhadap *S. mutans*

Tabel 5 Aktifitas Antibakteri MAG minyak edible, dalam Film Patch Pati Kontrol

Bakteri	MAG minyak edible % (v/b)	Pengamatan setelah 24 jam	
		Luas hambatan ^A (mm ²)	Area kontak ^B
<i>E.coli K1.1</i>	0 (kontrol)	0	-
	0.05	0	-
	0.1	0	-
	0.4	0	+
	0.7	1.36±0.10 ^c	+
	1	2.76±0.09 ^{bc}	+
	1.3	5.86±0.13 ^a	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 (kontrol)	0	-
	0.05	0	-
	0.1	0	-
	0.4	0	+
	0.7	0.92±0.06 ^c	+
	1	1.67±0.09 ^b	+
	1.3	2.51±0.25 ^a	+
<i>Listeria monocytogenes</i>	0 (kontrol)	0	-
	0.05	0	-

	0.1	0	+
	0.4	0	+
	0.7	10.56±0.67 ^e	+
	1	17.44±0.23 ^{bc}	+
	1.3	31.09±0.30 ^a	+
<i>S.Mutans</i>	0 (kontrol)	0	-
	0.05	0	-
	0.1	0	-
	0.4	0	+
	0.7	2.54±0.11 ^c	+
	1	4.96±0.16 ^{bc}	+
	1.3	14.56±0.28 ^a	+

Keterangan:- Angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda menyatakan berbeda nyata pada Duncan test taraf 5 persen.

Pada tabel 5 terlihat bahwa film edibel dari pati sagu murni yang diinkorporasi dengan MAG minyak edible , mulai menunjukkan area kontak yang positif untuk semua bakteri uji mulai dari konsentrasi MAG minyak edible yang diinkorporasi 0.4% kecuali *L.monocytogenes* yang pada 0.1% telah menunjukkan area kontak yang positif. Zona hambat untuk semua bakteri uji mulai terlihat pada konsentrasi 0.7 % MAG minyak edible. *L.monocytogenes* menunjukkan zona hambat terbesar, yaitu $25.45 \pm 0.27 \text{ mm}^2$ *L.monocytogenes* pada konsentrasi MAG minyak edible dalam film 1.3%. Bakteri yang lain, memiliki aktivitas penghambatan berkisar 2.51 ± 0.25 - $14.56 \pm 0.28 \text{ mm}^2$ pada konsentrasi MAG minyak edible tersebut.

Aktivitas antibakteri film edibel pati sagu yang diradiasi sinar gamma (tabel 5) menunjukkan area kontak positif dan zona hambatan yang tidak terlalu berbeda nyata ($P < 0.05$) dengan film edibel dari pati sagu murni. Inkorporasi MAG minyak edible 1.3% dalam film edibel memberikan zona hambatan terbesar untuk *L.monocytogenes* sebesar $22.30 \pm 0.35 \text{ mm}^2$. Aktivitas hambatan film ini terhadap bakteri lain berkisar $1.80 \pm 0.07 - 13.2 \pm 0.26 \text{ mm}^2$.

Dibandingkan ke empat bakteri tersebut, *P.aeruginosa* paling resisten terhadap ketiga film pati sagu yang mengandung MAG minyak edible ($p < 0.05$). Hal ini dilihat dari luas zona hambat bakteri tersebut dibandingkan ketiga bakteri lainnya. Mekanisme resistensi *P.aeruginosa* belum diketahui dengan jelas, akan tetapi ada beberapa mekanisme resistensi yang bisa menjadi penyebabnya seperti kemampuan memodifikasi membran sitoplasma, kemampuan mengubah dinding sel dan eksresi aktiv sel (Sikkema *et al.* 1995). Beberapa hal tersebut kemungkinan membuat bakteri *P.aeruginosa* lebih tahan terhadap zat antimikroba. Bakteri yang paling peka terhadap film pati sagu yang mengandung MAG minyak edible adalah *L.monocytogenes*. Sedangkan area kontak positif untuk keempat bakteri tersebut hampir sama untuk kandungan MAG minyak edible yang sama dalam film pati sagu.

Berdasarkan pengujian aktivitas antimikroba memperlihatkan bahwa penambahan minyak atsiri, membuat film pati sagu menjadi bersifat antibakteri. Hal ini disebabkan karena MAG minyak edible, mempunyai senyawa antimikroba alami. Senyawa antimikroba dapat menyebabkan kerusakan sel bakteri dengan beberapa cara. Secara umum mekanisme kerja antimikroba dalam menghambat mikroba adalah: (1) bereaksi dengan membran sel, (2) inaktivasi enzim esensial, dan (3) mendestruksi atau

menginaktivasi fungsi dari materi genetik (Davidson. 2001). Menurut Pelczar dan Chan (1986), senyawa antimikroba dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuh mikroba dengan mekanisme berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat proses pembentukannya atau menyebabkan lisis pada dinding sel yang sudah terbentuk, dan perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga terjadi kebocoran nutrisi dari dalam sel. Dengan rusaknya membran sitoplasma akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan atau matinya sel.

Oliveira *et al* (1999) melaporkan bahwa senyawa terpenoid yang dimiliki MAG minyak edible dapat menghambat bakteri dalam oksidatif fosforilasi dan *uptake* oksigen. Terhambatnya proses ini dapat menyebabkan kematian sel bakteri. Zat yang dianggap memberi kontribusi paling baik sebagai zat antimikroba adalah senyawa alkohol fenolik maupun alkohol non fenolik. MAG minyak edible, mempunyai senyawa alkohol non fenolik seperti geraniol, linalool, isobomil alkohol dan alfa terpineol. Senyawa-senyawa ini diduga paling kuat memberi kontribusi terhadap sifat antimikroba film edibel pati sagu yang diinkorporasi dengan MAG minyak edible tersebut.

Pada tabel 5 terlihat bahwa zona penghambatan terbesar adalah terhadap *listeria monocytogenes* yaitu 25.45 mm². Dari semua perlakuan terhadap sampel *film edibel* pati sagu, penghambatan yang kuat terhadap *listeria monocytogenes* sebagai bakteri Gram positif. Hal ini diduga oleh adanya perbedaan pada senyawa penyusun struktur dinding sel, di mana pada bakteri Gram positif dinding selnya lebih bersifat hidrofobik. Sedangkan pada dinding sel bakteri Gram negatif secara keseluruhan lebih bersifat hidrofilik (Burt. 2000). Semakin hidrofobik dinding sel bakteri, maka efek hidrofobik dari senyawa MAG minyak edible akan semakin kuat. Hal ini menyebabkan efek MAG

minyak edible sebagai zat antimikroba menjadi lebih dominan dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Selain itu, dinding sel bakteri Gram positif hanya berlapis tunggal, sedangkan pada bakteri Gram negatif memiliki tiga lapisan Pelczar 1972 dan Chen 1998). Kedua faktor inilah yang menyebabkan bakteri Gram positif lebih rentan terhadap senyawa MAG minyak edible melalui dinding selnya dibandingkan dengan bakteri Gram negatif.

Pada tabel 5 terlihat bahwa areal kontak yang ditunjukkan oleh film antibakteri relatif kecil dibandingkan data uji daya hambat senyawa yang terlarut dari film dengan metode kontak langsung. Hal ini disebabkan karena MAG minyak edible terperangkap dengan baik didalam film pati sagu. Fenomena ini terlihat juga dari perubahan warna film dari putih keabuan menjadi kuning seperti warna MAG minyak edible.

Tabel 6. Perbandingan karakteristik film edibel sebelum dan sesudah diberi MAG minyak edible

No.	Karakteristik Film Edibel	Jenis film edibel	
		Tanpa MAG minyak edible	Sagu+MAG minyak edible
1.	aw	0.566	0.352
2.	Derajat kejernihan (%)/warna	58.70	63.81
3.	Ketebalan film (mm)	0.130	0.160
4.	Kuat tarik (kgf/cm)	2.82	1.457
5.	Persen pemanjangan(%)	65.77	197.9
6.	Laju transmisi gas O ₂ (cm ² /m ² .24jam)	34.497	43.717
7.	Laju transmisi uap air	44.553	24.367

(g/m²/24 jam)

Uji organoleptik	Skor penilaian panelis*	
Warna	3.4	3.9
Rasa	3.86	3.1
Aroma	4.1	4.2

*)Keterangan:

1=sangat tidak menarik

2=tidak suka

3=netral (biasa)

4=suka

5=sangat suka

Dari penampakan warnapun kelihatan semakin baik, yaitu dari derajat kejernihan 58.70 persen meningkat menjadi 67.73 persen, film edibel kelihatan lebih jernih kekuningan, tidak buram. Kuat tarik meningkat dari 2.82 menjadi 1.457 Kgf/cm , persen pemanjangan meningkat dari 65.77 persen menjadi 197.9 persen.

Dari tabel 6. menunjukkan bahwa tanggapan panelis terhadap warna film meningkat dari 3.4/netral cenderung suka (film tanpa MAG minyak edible) menjadi 3.9 /cenderung suka (film yang diinkorporasi MAG minyak edible). Penilaian panelis terhadap aroma film juga meningkat dari 4.1 (suka) menjadi 4.2 (suka). Dari segi rasa rata-rata panelis memberi skors netral (3.1) untuk film edibel yang diinkorporasi MAG minyak edible , dibanding nilai suka (3.86) untuk film edibel yang tidak diinkorporasi MAG minyak edible ,.

Perbandingan Film Edibel yang Dihasilkan dengan Standar

Perbandingan karakteristik film edibel antibakteri yang dihasilkan dari ketiga jenis pati dibanding dengan standar (Japanese Industrial Standard, 1975) dapat dilihat pada tabel

7.

Tabel 7 Karakteristik film (patch) dari pati sagu

No	Karakteristik Film Edibel	Pati sagu yang diinkorporasi dengan MAG minyak edible ,	Standar (Grade)
1.	aw	0.566-0.352	-
2.	Derajat kejernihan (%)	63.81 c	-
3.	Ketebalan (mm)	0.13-0.16	Max 0.25
4.	Kuat tarik (Kgf/cm)	2.82-1.457	Min 1.0
5.	Persen pemanjangan (%)	65.77-197.9	Min 50
6.	Laju transmisi gas O ₂ (mL/m ² jam)	34.497-43.717	Max 50
7.	Laju transmisi uap air (g/m ² .24 jam)	44.553-24.367	Max 50

Bila dibandingkan dengan standar (JIS, 1975) seperti terlihat pada pada tabel 6.6, maka film edibel dari pati sagu yang dihasilkan dalam penelitian termasuk dalam grade

7-13. Aktivitas air (aw) film edibel pati sagu yang tidak dicampur dengan MAG minyak edible , menunjukkan nilai yang lebih besar dari pati sagu yang diinkorporasi dengan MAG minyak edible. Semakin kecil aw film semakin bagus karena film akan lebih tahan terhadap penyebab kerusakan.

Film yang dicampur MAG minyak edible, mempunyai derajat kejernihan 65.43 persen lebih tinggi dari film pati sagu kontrol. Semakin tinggi derajat kejernihan berarti film edibel yang dihasilkan semakin jernih.

4.1.15 Hasil Pembuatan Film patch Edibel dan Inkorporasi *Virgin Coconut Oil* (VCO)

Formulasi edibel kontrol yang baik digunakan pula pada film patch edible dengan inkorporasi *Virgin Coconut Oil* (VCO) dengan berbagai variasi konsentrasi. Variasi konsentrasi VCO dimulai dari 0,5% ; 1%; 1,5%; 2%; 2,5%; hingga yang tertinggi yaitu 3% dari berat total larutan film patch edibel yang terglutenasi (v/b). Penambahan VCO tersebut berpengaruh pada hasil kenampakan film patch. Pada film patch dengan inkorporasi 0,5% VCO kenampakan film patch tidak berbeda jauh dari kenampakan film patch edibel kontrol. Dimana film patch edibel tersebut berwarna putih transparan dan memiliki aroma seperti jagung. Namun, seiring banyaknya jumlah VCO yang ditambahkan, kenampakan film patch mulai berminyak dan beraroma seperti minyak kelapa

4.1.16 Hasil Penentuan Kandungan VCO yang Terperangkap dalam Film patch edibel dengan Metode GC

Komponen kimia yang terperangkap pada film patch edibel dianalisis dengan menggunakan metode kromatografi gas. Sebagai gas pembawa digunakan gas helium, dengan detektor FID. Kolom yang digunakan merupakan kolom kapiler HPs (95 % dimetil dan 5% fenilpolisiloxane), dengan panjang kolom 30 m. Suhu awal analisis 180^o C dan suhu akhirnya 280^o C.

Tabel 8. Data Komposisi Kimia VCO dan Film patch edibel yang Telah Diinkorporasi VCO

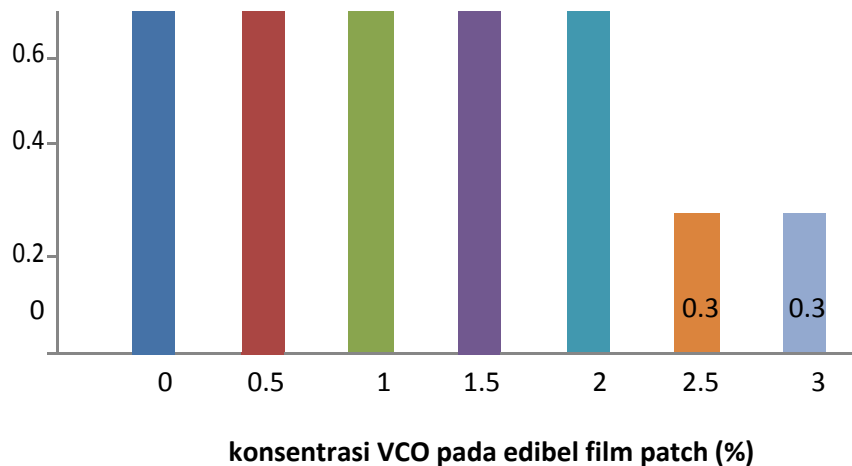
Nama senyawa	Jumlah yang Terkandung (% w/w)		
	VCO	Film patch edibel dengan VCO 2,5%	Film patch edibel dengan VCO 3%
Asam kaproat	0.67	0.66	0.89
Asam kaprilat	6.55	6.52	6.55
Asam kaprat	4.89	5.04	5.10
Asam laurat	36.13	38.33	38.74
Asam miristat	11.69	13.45	13.
Asam palmitat	5.23	6.60	7.01
Asam stearat	1.71	2.09	2.12
Asam oleat	3.64	4.07	4.43
Asam linoleat	0.81	1.14	1.69

Dari data diatas terlihat bahwa kandungan senyawa asam laurat pada VCO

sangat tinggi, senyawa tersebut terinkorporasi dengan baik pada film atchedibel. Kandungan asam lemak lain yang memiliki rantai sedang (*Medium Chain Fatty Acid/ MCFA*) pada film patch edibel juga meningkat seiring banyaknya jumlah VCO yang ditambahkan. MCFA merupakan asam lemak yang memiliki atom C berjumlah 8 –12, seperti asam kaprilat (C8), asam kaprat (C10), dan asam laurat (C12).

5.15 Hasil Pengujian Antibakteri

Pengujian antibakteri film patch edibel kontrol dan film patch edibel yang diinkorporasi VCO dilakukan terhadap bakteri *E. coli* yang merupakan bakteri gram negatif dengan metode *Standard Plate Count* (SPC). Hasil pengujian disajikan pada gambar 5 berikut :



Gambar 18. Grafik Pengaruh Penambahan Konsentrasi VCO pada Film patch Edibel Terhadap Jumlah Koloni Bakteri yang Terbentuk

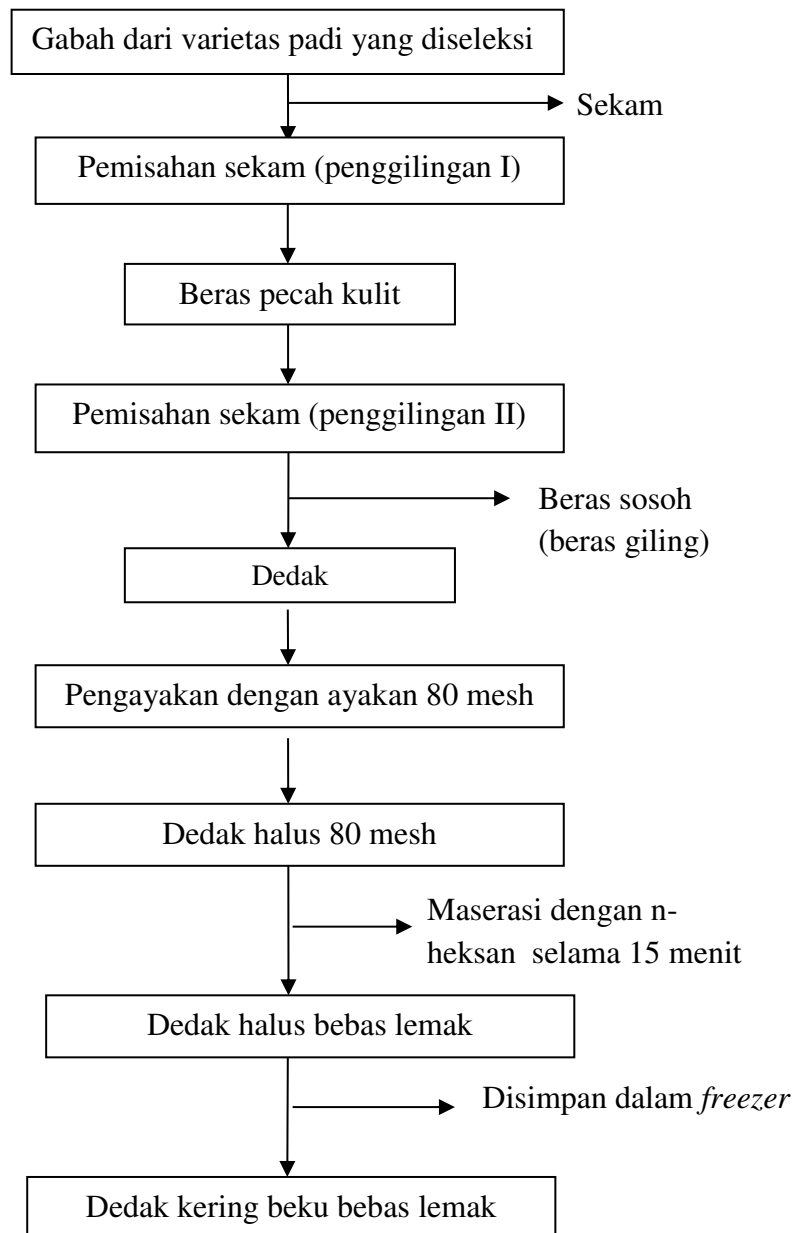
DAFTAR PUSTAKA

- Gaamouche, S., Arakrak, A., Bakkali, M., Laglaoui, A., 2014. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria and bacteriocins isolated from a traditional brine table olive against pathogenic bacteria. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 3, 657–666.
- Mehdizadeh, T., Tajik, H., Razavi Rohani, S.M., Oromiehie, A.R., 2012. Antibacterial, antioxidant and optical properties of edible starch-chitosan composite film containing *Thymus kotschyanus* essential oil. *Vet. Res. Forum* 3, 167–173.
- Miksusanti, Herlina, Masril, K., 2013. Antibacterial and Antioxidant of Uwi (*Dioscorea Alata* L) Starch Edible Film Incorporated with Ginger Essential Oil. *Int. J. Biosci. Biochem. Bioinforma.* 3, 354–357.
- Miksusanti, Setyawati Yusuf, 2014. Metoda Pembuatan Film Pelapis Makanan Yang Bersifat Antimikroba dan Antioksidan Dari Pati Aren Yang Diinkorporasi MAG minyak edible , (*Kaempferia padurata*) (Paten Nasional ID: P00200800819).
- Ponce, A.G., Roura, S.I., del Valle, C.E., Moreira, M.R., 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: In vitro and in vivo studies. *Postharvest Biol. Technol.* 49, 294–300.
- Ruiz-Navajas, Y., Viuda-Martos, M., Sendra, E., Perez-Alvarez, J.A., Fernández-López, J., 2013. In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils. *Food Control* 30, 386–392.
- George, J.P., Shoba, R., & Flemingson, J.L. 2013, foic acid: a positive influence on periodontal, tissue during health and disease, *International Journal of Health and Allied Science*, 2 (3):142-145.
- Angela, A. 2005, Pencegahan primer pada anak yang beresiko karies tinggi, *Maj Ked Gigi (Dent J)*, 38(3):130-134
- Levine, W.Z, Noah, S., Meytal, E.B.S, & John, T.D. 2013. A Novel Treatment of Gingival Recession Using a Botanical Topical Gingival Patch and Mouthinse. *The Journal of Contemporary Dental Proactive.* 14(5): 948-953.
- Kumar, V., Cotran, R.S, & Robbins, S.I. 2007. *Buku Ajar Patologi*. Edisi 7, Vol 1. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta, Indonesia.
- Batovska, D.I., Todorova, I.T., Tsvetkova, I. V., Najdenski, H.M., 2009. Antibacterial study of the medium chain fatty acids and their 1-monoglycerides: Individual effects and synergistic relationships. *Polish J. Microbiol.* 58, 43–47.
- Silalahi, J., Manurung, R., Sitompul, E., 2014. Antibacterial activity of hydrolyzed oils of different fatty acid composition against salmonella thypi and lactobacillus plantarum. *Int. J. PharmTech Res.* 7, 233–237.
- Batovska, D., Todorova, I., Parushev, S., Tsvetkova, I., Najdenski, H., Ubukata, M., 2008. Evaluation of Antibacterial Activity of Synthetic Aliphatic and Aromatic Monoacylglycerols. *Polish J. Microbiol.* 57, 261–265.

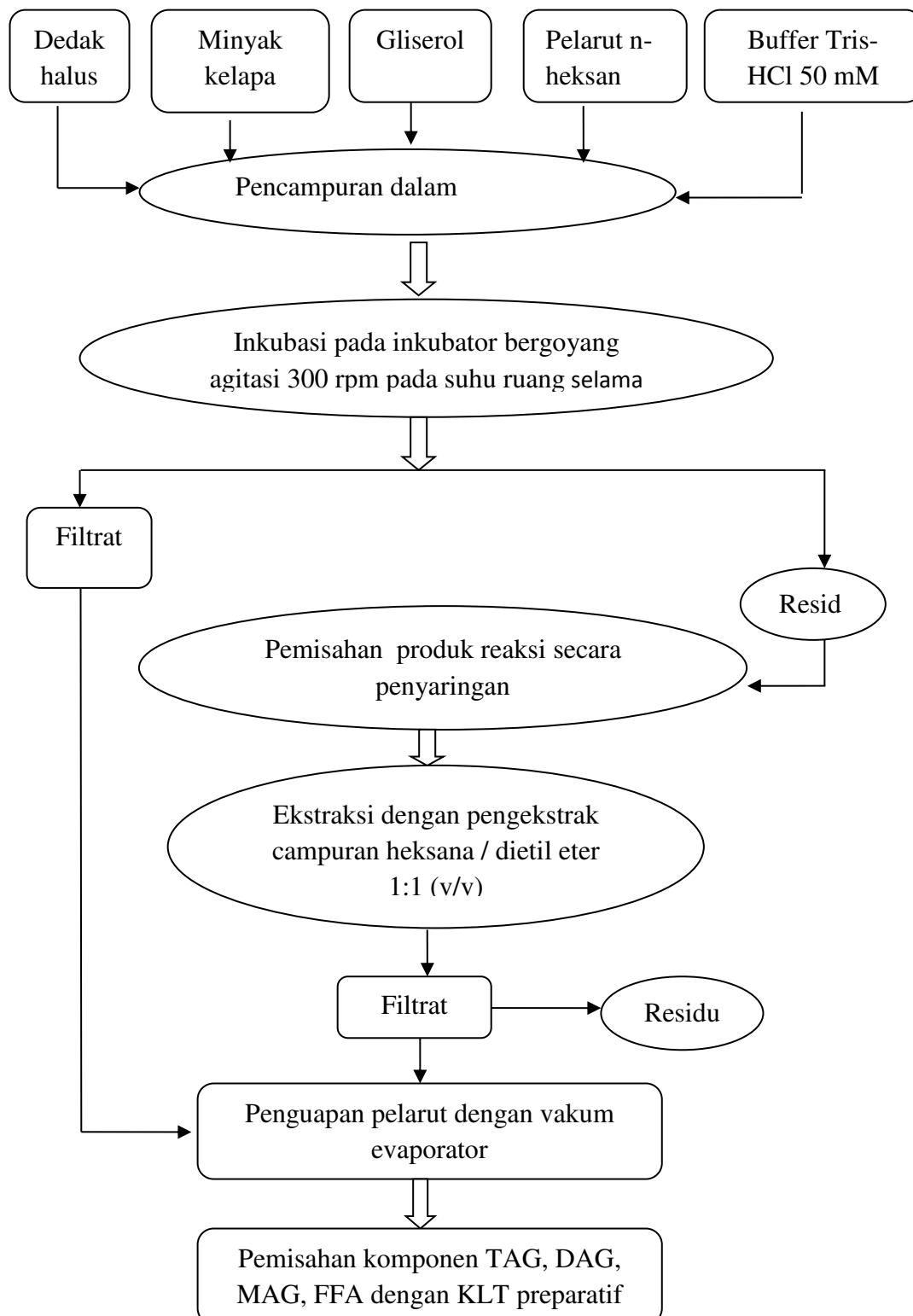
- Fithri, N.A. 2013. Formulasi Sediaan Bukoadhesif Film Hidrogel Gamullvution dengan Matriks Kitosan dan PVA serta Efeknya Pada Jumlahj Sel Polimorfonuklear dalam Proses Penyembuhan Luka Mukosa Bukal Tikus Wistar. *Tesis*. M.Sc., Program Pasca Sarjana Program Studi Ilmu Farmasi, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, Indonesia.
- Shaikh, M.T.M., Atul, A.G., Kiskor, S.S, & Chaudhari, S.R. 2013. Formulation Development & Evalusharation of Fase Dissolving Oral Film of Amlopidine besylate by Solvent Casting Technique. *LIUPBS*. 2(3): 534-544.
- Deephti, P.R, & Kumar, K.S. 2016. Formulation and Evaluation of Amilodipine besylate oral thin films. *LIPSR*. 7(1):199-205.
- Ganesh, R.K & Moreshwar, P.P. 2014. Design and In Vitro Evaluation of Mouth Dissolving Film Containing Amlodipine esylate. *WJPPS*. 3(10): 925-945.
- Yogananda, R, & Rakesh, B. 2012. An overview on mucoadhesive buccal patches. *International Journal of Universal Pharmacy and Life Science*. 2(2): 383-373.
- Patel, V.M., Prajapati, B.G, & Patel, M.M. 2007. Design and Characterization of Chitosan Containing Mucoadhesive Buccal Putches of Propanol Hydrochloride, *Acta Pharmaceutica*. 57: 61-72/

LAMPIRAN-LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema persiapan dedak halus bebas lemak kering beku.



Lampiran 2. Skema diagram alir preparasi MAG menggunakan biokatalis dedak padi



Lampiran 3. Kondisi alat kromatografi gas

Kolom	: <i>Cyanopropil methyl sil (capillary column)</i>	
Dimensi kolom	: p = 60 m, Ø dalam = 0.25 mm, 025 µm, Tickness	Film
Laju alir N ₂	: 20 mL/menit	
Laju alir H ₂	: 30 mL/menit	
Laju alir udara	: 200 – 250 mL/menit	
Suhu injektor	: 200°C	
Suhu detektor	: 230°C	
Suhu kolom	: Program temperatur	
- kolom temperatur	: awal 190°C diam 15 menit Akhir 230 °C diam 20 menit Rate 10°C/ menit	
Ratio	: 1 : 8	
Inject Volum	: 1 µL	
Linier Velocity	: 20 cm/sec	

Lampiran 4. Data Perhitungan Berat MAG

	W vial (g)	W vial + MAG (g)	W MAG (g)
Sampel 70	17,389	17,4171	0,028
Sampel 72	21,674	21,748	0,074

a) Menghitung berat MAG :

$$W \text{ MAG} = W \text{ vial} - (W \text{ vial} + \text{MAG})$$

$$W \text{ MAG } 70 = 17,4171 \text{ g} - 17,389 \text{ g} \\ = 0,028 \text{ g}$$

$$W \text{ MAG } 72 = 21,748 \text{ g} - 21,674 \text{ g} \\ = 0,074 \text{ g}$$

b) Menghitung rendemen MAG:

$$\text{Dikethaui : } W \text{ MAG } 70 = 0,028 \text{ g}$$

$$W \text{ MAG } 72 = 0,074 \text{ g}$$

$$W \text{ minyak kelapa yang digunakan} = 2 \text{ g (setara 2,2 mL)}$$

Ditanya : rendemen MAG 70 dan MAG 72 ?

Jawab :

$$\text{rendemen} = \frac{W \text{ MAG}}{W \text{ minyak kemiri}} \times 100 \%$$

$$\text{rendemen MAG } 70 = \frac{0,028 \text{ g}}{2 \text{ g}} \times 100\% = 1,4 \%$$

$$\text{rendemen MAG } 72 = \frac{0,074 \text{ g}}{2 \text{ g}} \times 100\% = 3,7\%$$

Lampiran 5 Perhitungan Konsentrasi %w/w Asam Lemak Minyak kelapa

Rumus :

$$\% \text{ w/w} = \frac{A \text{ sampel} / A \text{ standar} \times C \text{ standar}}{\text{gr contoh}}$$

Misal : menghitung %w/w asam linoleat

$$\begin{aligned} \% \text{ w/w} &= \frac{2642271 / 53160 \times 0,02}{0,0245} \\ &= \frac{49,70411 \times 0,02}{0,0245} \\ &= \frac{0,99408}{0,0245} \\ &= 40,5747 \% \text{ w/w} \end{aligned}$$

Lampiran 6. Data Perhitungan Rf

	Jarak MAG (cm)	Jarak DAG (cm)	Jarak TAG (cm)	Jarak pelarut (cm)
Sampel 70	0,9	2,1	12,5	18,5
Sampel 72	0,8	2,2	10,9	18,5
Standar	0,5	-	-	18,5

Menghitung Rf :

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh komponen}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

$$Rf \text{ MAG standar} = \frac{0,5 \text{ cm}}{18,5 \text{ cm}} = 0,027 \text{ cm}$$

$$Rf \text{ MAG 70} = \frac{0,9 \text{ cm}}{18,5 \text{ cm}} = 0,048 \text{ cm}$$

$$Rf \text{ DAG 70} = \frac{2,1 \text{ cm}}{18,5 \text{ cm}} = 0,113 \text{ cm}$$

$$Rf \text{ TAG 70} = \frac{12,5 \text{ cm}}{18,5 \text{ cm}} = 0,676 \text{ cm}$$

$$Rf \text{ MAG 72} = \frac{0,8 \text{ cm}}{18,5 \text{ cm}} = 0,043 \text{ cm}$$

$$Rf \text{ DAG 72} = \frac{2,2 \text{ cm}}{18,5 \text{ cm}} = 0,119 \text{ cm}$$

$$Rf \text{ TAG 72} = \frac{10,9 \text{ cm}}{18,5 \text{ cm}} = 0,589 \text{ cm}$$

Lampiran 7. Zona Bening Terhadap Aktivitas Bakteri *Streptococcus mutans*

Sampel	Diameter (mm ²)							
	Minyak	Sumur	Etil asetat (pelarut)		MAG standar		MAG sampel	
			I	II	I	II	I	II
MAG 70	0	8	10	12	12	13	14	17
MAG 72	0	8	8	9	9	10	12	15

Perhitungan zona bening :

* **Zona Bening MAG 70**

- Diameter sumur

$$d = 0,8 \text{ cm}$$

$$r = \frac{1}{2} \times 0,8 \text{ cm}$$

$$= 0,4 \text{ cm}$$

$$= 4 \text{ mm}$$

$$L \text{ sumur} = \pi r^2$$

$$= 3,14 \times (4)^2$$

$$= 3,14 \times 16$$

$$= 50,24 \text{ mm}^2$$

- Diameter etil asetat

$$d = 1 \text{ cm}$$

$$r = \frac{1}{2} \times 1 \text{ cm}$$

$$= 0,5 \text{ cm}$$

$$= 5 \text{ mm}$$

$$L \text{ zona bening} = \pi r^2$$

$$L \text{ etil asetat} = 3,14 \times (5)^2$$

$$= 3,14 \times 25$$

$$= 78,5 \text{ mm}^2$$

- Diameter etil asetat (duplo)

$$d = 1,2 \text{ cm}$$

$$r = \frac{1}{2} \times 1,2 \text{ cm}$$

$$= 0,6 \text{ cm}$$

$$= 6 \text{ mm}$$

$$L \text{ etil asetat (duplo)} = 3,14 \times (6)^2$$

$$= 3,14 \times 36$$

$$= 113,04 \text{ mm}^2$$

$$L \text{ zona bening rata-rata} = \frac{78,5 + 113,04}{2} = 95,77 \text{ mm}^2$$

$$\text{Total zona hambat} = L \text{ zona bening rata-rata} - L \text{ sumur}$$

$$= 95,77 - 50,24$$

$$= 45,53 \text{ mm}^2$$

-
-
-
-
-
-
-

<ul style="list-style-type: none"> - Diameter MAG standar $d = 1,2 \text{ cm}$ $r = \frac{1}{2} \times 1,2 \text{ cm}$ $= 0,6 \text{ cm}$ $= 6 \text{ mm}$ Luas zona bening $= \pi r^2$ L MAG standar $= 3,14 \times (6)^2$ $= 3,14 \times 36$ $= 113,04 \text{ mm}^2$ L MAG standar (duplo) $= 3,14 \times (6,5)^2$ $= 3,14 \times 42,25$ $= 132,665 \text{ mm}^2$ L zona bening rata-rata $= \frac{113,04+132,65}{2} = 122,845 \text{ mm}^2$ 	<ul style="list-style-type: none"> - Diameter MAG standar (duplo) $d = 1,3 \text{ cm}$ $r = \frac{1}{2} \times 1,3 \text{ cm}$ $= 0,65 \text{ cm}$ $= 6,5 \text{ mm}$
<p>Total zona hambatan = L zona bening rata-rata – L sumur – Zona hambatan pelarutan</p> $= 122,845 - 50,24 - 45,53$ $= 27,075 \text{ mm}^2$	
<ul style="list-style-type: none"> - Diameter MAG sampel $d = 1,4 \text{ cm}$ $r = \frac{1}{2} \times 1,4 \text{ cm}$ $= 0,7 \text{ cm}$ $= 7 \text{ mm}$ Luas zona bening $= \pi r^2$ L MAG sampel $= 3,14 \times (7)^2$ $= 3,14 \times 49$ $= 153,86 \text{ mm}^2$ L MAG sampel (duplo) $= 3,14 \times (8,5)^2$ $= 3,14 \times 72,25$ $= 226,865 \text{ mm}^2$ L zona bening rata-rata $= \frac{226,865+153,86}{2} = 190,36 \text{ mm}^2$ 	<ul style="list-style-type: none"> - Diameter MAG sampel (duplo) $d = 1,7 \text{ cm}$ $r = \frac{1}{2} \times 1,7 \text{ cm}$ $= 0,85 \text{ cm}$ $= 8,5 \text{ mm}$
<p>Total zona hambatan = L zona bening rata-rata – L sumur – Zona hambatan pelarutan</p> $= 190,36 - 50,24 - 45,53$ $= 94,59 \text{ mm}^2$	

* **Zona Bening MAG 72**

- Diameter sumur

$$d = 0,8 \text{ cm}$$

$$r = \frac{1}{2} \times 0,8 \text{ cm}$$

$$= 0,4 \text{ cm}$$

$$= 4 \text{ mm}$$

$$L \text{ sumur} = \pi r^2$$

$$= 3,14 \times (4)^2$$

$$= 3,14 \times 16$$

$$= 50,24 \text{ mm}^2$$

- Diameter etil asetat

$$d = 0,8 \text{ cm}$$

$$r = \frac{1}{2} \times 0,8 \text{ cm}$$

$$= 0,4 \text{ cm}$$

$$= 4 \text{ mm}$$

$$\text{Luas zona bening} = \pi r^2$$

$$L \text{ etil asetat} = 3,14 \times (4)^2$$

$$= 3,14 \times 16$$

$$= 50,24 \text{ mm}^2$$

$$L \text{ etil asetat (duplo)} = 3,14 \times (4,5)^2$$

$$= 3,14 \times 20,25$$

$$= 63,585 \text{ mm}^2$$

$$L \text{ zona bening rata-rata} = \frac{50,24 + 63,585}{2} = 56,91 \text{ mm}^2$$

$$\text{Total zona hambat} = L \text{ zona bening rata-rata} - L \text{ sumur}$$

$$= 56,91 - 50,24$$

$$= 6,67 \text{ mm}^2$$

- Diameter MAG standar

$$d = 0,9 \text{ cm}$$

$$r = \frac{1}{2} \times 0,9 \text{ cm}$$

$$= 0,45 \text{ cm}$$

$$= 4,5 \text{ mm}$$

$$\text{Luas zona bening} = \pi r^2$$

$$L \text{ MAG standar} = 3,14 \times (4,5)^2$$

$$= 3,14 \times 20,25$$

$$= 63,585 \text{ mm}^2$$

$$L \text{ MAG standar (duplo)} = 3,14 \times (5)^2$$

$$= 3,14 \times 25$$

$$= 78,5 \text{ mm}^2$$

$$L \text{ zona bening rata-rata} = \frac{63,585 + 78,5}{2} = 71,04 \text{ mm}^2$$

$$\text{Total zona hambat} = L \text{ zona bening rata-rata} - L \text{ sumur} - \text{Zona hambat pelarut}$$

$$= 71,04 - 50,24 - 6,67$$

$$= 14,13 \text{ mm}^2$$

- Diameter MAG sampel

$$d = 1,2 \text{ cm}$$

$$r = \frac{1}{2} \times 1,2 \text{ cm}$$

$$= 0,6 \text{ cm}$$

$$= 6 \text{ mm}$$

$$\text{Luas zona bening} = \pi r^2$$

$$L \text{ MAG sampel} = 3,14 \times (6)^2$$

- Diameter etil asetat (duplo)

$$d = 0,9 \text{ cm}$$

$$r = \frac{1}{2} \times 0,9 \text{ cm}$$

$$= 0,45 \text{ cm}$$

$$= 4,5 \text{ mm}$$

- Diameter MAG standar (duplo)

$$d = 1 \text{ cm}$$

$$r = \frac{1}{2} \times 1 \text{ cm}$$

$$= 0,5 \text{ cm}$$

$$= 5 \text{ mm}$$

- Diameter MAG sampel (duplo)

$$d = 1,5 \text{ cm}$$

$$r = \frac{1}{2} \times 1,5 \text{ cm}$$

$$= 0,75 \text{ cm}$$

$$= 7,5 \text{ mm}$$

$$= 3,14 \times 36$$

$$= 113,04 \text{ mm}^2$$

$$\text{L MAG sampel (duplo)} = 3,14 \times (7,5)^2$$

$$= 3,14 \times 56,25$$

$$= 176,625 \text{ mm}^2$$

$$\text{L zona bening rata-rata} = \frac{113,04 + 176,625}{2} = 144,83 \text{ mm}^2$$

$$\text{Total zona hambat} = \text{L zona bening rata-rata} - \text{L sumur} - \text{Zona hambat pelarut}$$

$$= 144,83 - 50,24 - 6,67$$

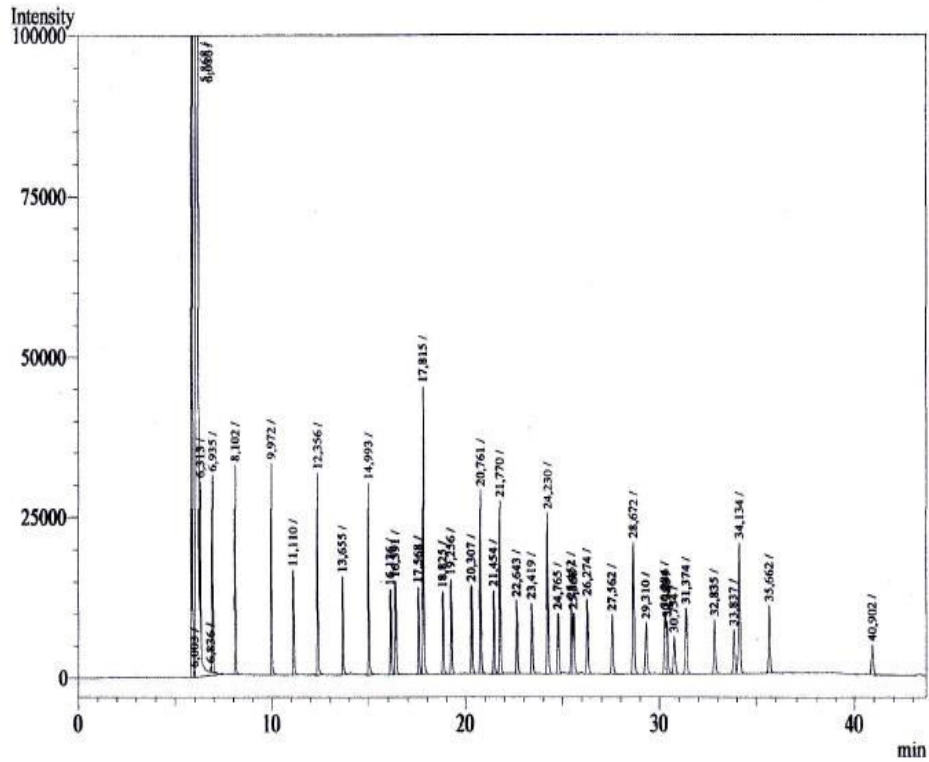
$$= 87,92 \text{ mm}^2$$

Zona hambat masing-masing sampel terhadap bakteri *S. mutans*

Sampel	Total zona hambat (mm ²)		
	Minyak	MAG kelapa sawit	MAG kemiri
MAG 70	0	27,075	94,59
MAG 72	0	14,13	87,92

Lampiran 8. Kromatogram Standar Asam Lemak *Gas Chromatography* (GC)

User Name : Admin
Sample Name : STANDAR ASAM LEMAK 37 KOMP-TERKENDALI
Sample ID : STANDAR ASAM LEMAK 37 KOMP- I
Sample Type : Unknown
Data Name : C:\GCsolution\Data\asam lemak\2012\11_NOVEMBER\1-11-2012) STANDAR ASAM LEMAK TERKEN
Method Name : C:\GCsolution\Data\asam lemak\Metode As Lemak-Dcs 2010\cistrans10dcs2010c (yg dipake).gcm



Lampiran 9. Gambar Ekstraksi dan Persiapan Minyak



Alat press hidrolik



Minyak kelapa hasil *press*



Minyak kelapa yang sudah murni

Lampiran 10. Gambar Proses Pembuatan MAG



Proses maserasi dedak



Dedak kering beku bebas lemak



Pengocokan sampel

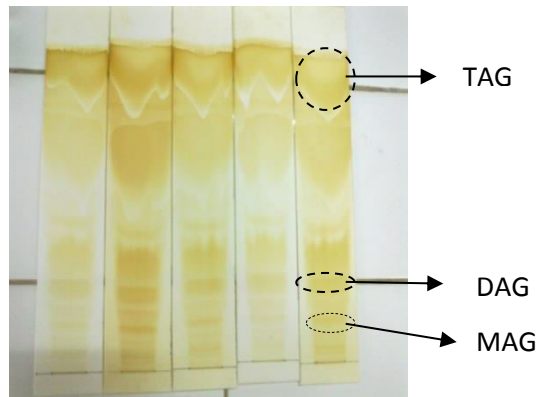


Hasil Evaporasi Sampel

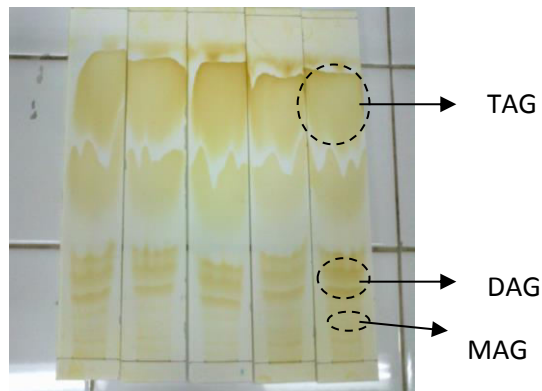
Lampiran 11. Gambar Proses Elusi Dengan KLT Preparatif



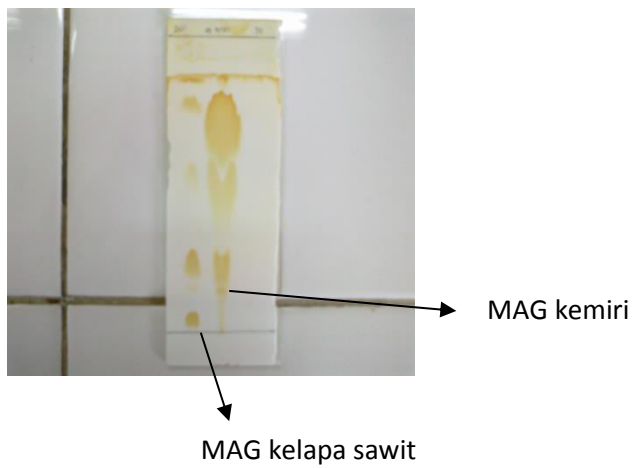
Elusi sampel



pemisahan campuran produk 70

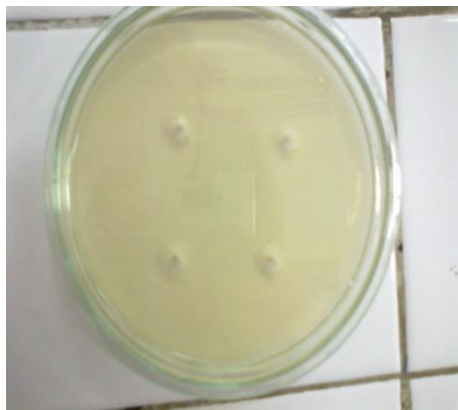


Pemisahan campuran produk 72



Perbandingan Rf MAG kelapa dan MAG minyak sawit

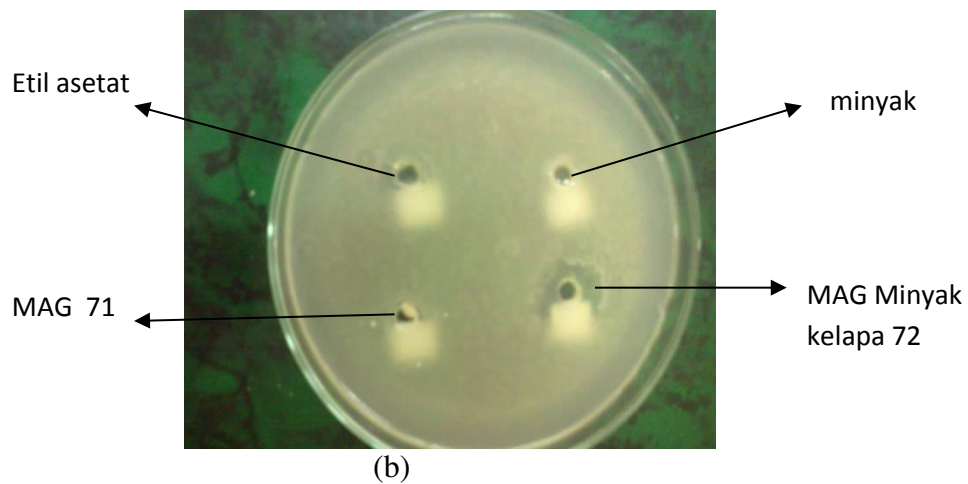
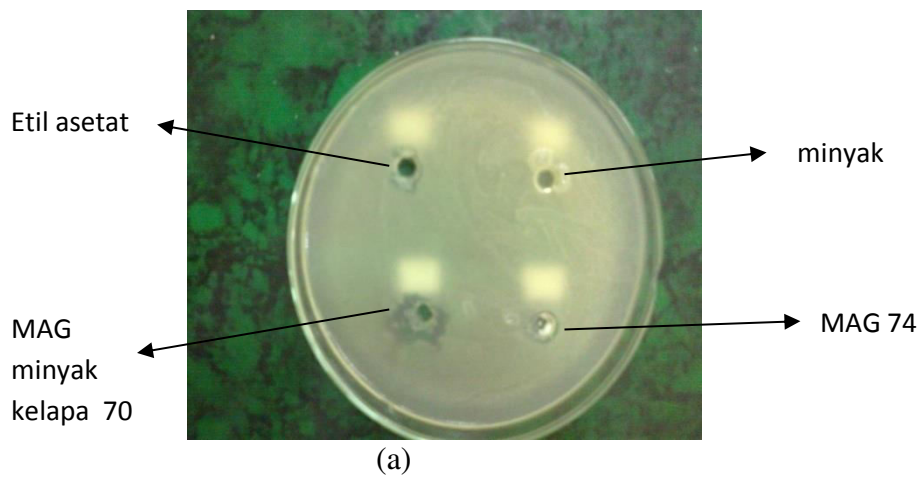
Lampiran 12. Gambar Uji Antibakteri



Bulatan Sumur pada NA Padat



Stok Bakteri Uji (*S. Mutans*)



Zona Hambat Disekitar Sumur, (a) Sampel 70; (b) Sampel 72

Lampiran 13. Gambar analisis minyak biji ketapang



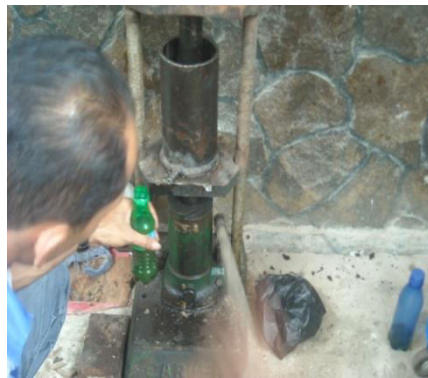
Gambar buah ketapang



Gambar Biji Ketapang



Gambar bubuk biji ketapang



Gambar alat pres biji ketapang



Gambar minyak biji ketapang
sebelum dimurnikan



Gambar minyak biji ketapang
setelah dimurnikan

Lampiran 14. Gambar tahapan minyak untuk reaksi etanolisis



NaOH dalam Minyak 2% : etanol 95%
Disentrifugasi



Minyak setelah disentrifugasi
Dipisahkan etanol dengan minyak



Penambahan Akuadest
Sampai lapisan bawah jernih



Lapisan bawah jernih



Minyak Hasil Etanolisis

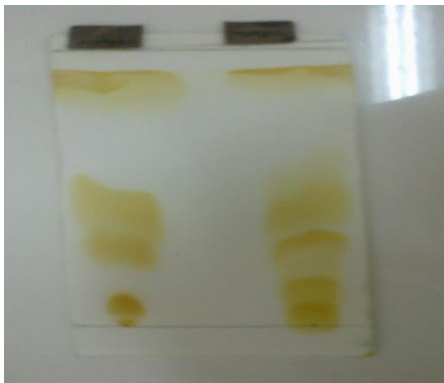
Lampiran 15. Gambar tahapan penotolan KLT



Penotolan minyak hasil etanolisis



Sampel sedang di elusi



Minyak hasil etanolisis dengan minyak biji ketapang



MAG standar dengan minyak etanolisis
Heksana: dietileter: asam formiat

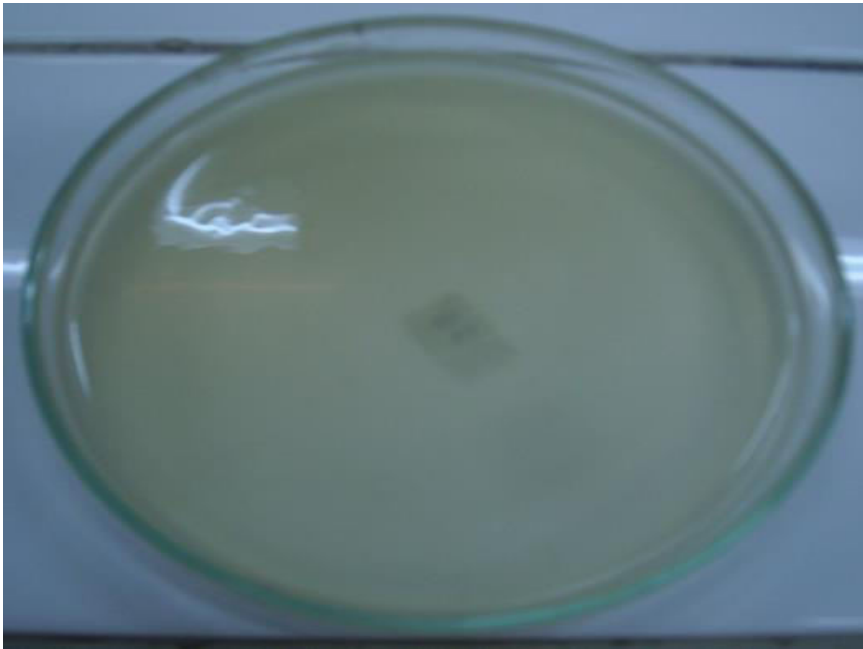


MAG standar dengan minyak etanolisis
petroleum eter:dietileter:as.asetat glasial

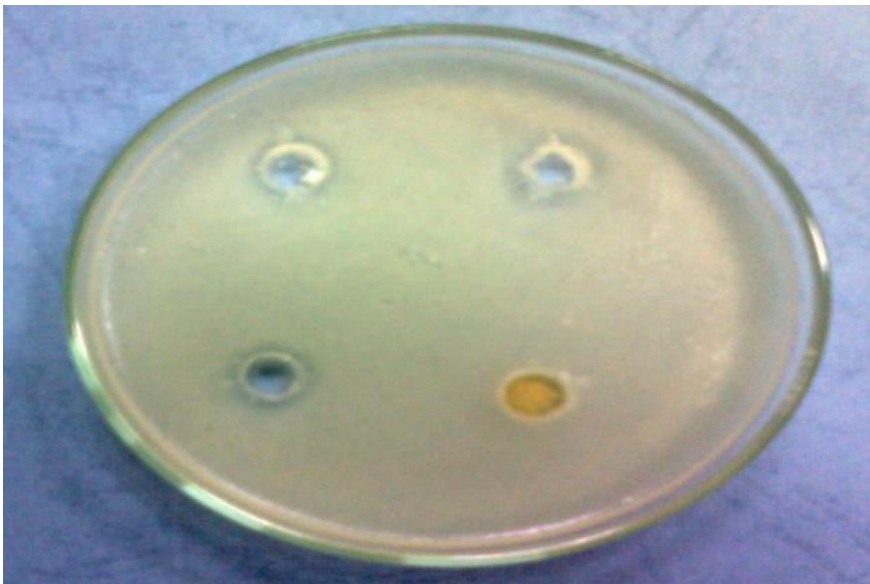


MAG standar dengan minyak etanolisis
Heksana : asam formiat

Lampiran 16. Gambar tahapan antibakteri



Nutrient Agar dan Isolat Bakteri



Uji Aktivitas Antibakteri
MAG Standar dan MAG sampel

Lampiran 17. Perhitungan analisis kadar dan asam lemak minyak biji ketapang

Analisa Kadar Minyak

$$\text{Kadar minyak} = \frac{\text{Berat minyak (gr)}}{\text{Berat Kemiri (gr)}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan analisa kadar minyak biji ketapang

$$\begin{aligned}\text{Kadar minyak} &= \frac{230,75 \text{ gram}}{3000 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 7,69 \%\end{aligned}$$

Tabel 1. Data hasil analisis kadar minyak

Sampel	Biji Ketapang
Berat sampel (g)	3000
Berat minyak (g)	230,75
Kadar minyak (%w/w)	7,69

Kadar Asam Lemak Minyak Biji Ketapang

$$\% \frac{b}{b} = \frac{\frac{\text{area sampel}}{\text{area standar}} \times C \text{ standar } \% \frac{b}{v} \times \text{vol contoh (mL)}}{\text{Bobot contoh (gr)}} \times 100\%$$

$$\% \frac{b}{b} = \frac{\frac{\text{area sampel}}{\text{area standar}} \times C \text{ standar } 100\% \frac{b}{\text{mL}} \times 1 \text{ mL}}{\text{Bobot contoh (gr)}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan kadar asam lemak asam miristat

$$\begin{aligned}\% \frac{b}{b} &= \frac{\frac{5588}{112439} \times 0,04}{0,0215} \\ &= 0,092 \% \text{ b/b}\end{aligned}$$

Tabel 2. Komposisi asam lemak minyak biji ketapang dan minyak kelapa sawit

No.	Asam Lemak	Komposisi (%)	
		Minyak Kelapa Sawit	Minyak Biji Ketapang
1.	Asam palmitat	41,0	19,50
2.	Asam oleat	30,0	30,35
3.	Asam stearat	3,6	3,94

Lampiran. 18 Perhitungan nilai Rf MAG, DAG dan TAG dan Kadar MAG dari minyak biji ketapang

Perhitungan Nilai Rf

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

Contoh Perhitungan Rf MAG Minyak Biji Ketapang

$$\begin{aligned} Rf \text{ MAG} &= \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}} \\ &= \frac{1,2 \text{ cm}}{18,5 \text{ cm}} \\ &= 0,06 \text{ cm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} Rf \text{ DAG} &= \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}} \\ &= \frac{4,9 \text{ cm}}{18,5 \text{ cm}} \\ &= 0,26 \text{ cm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} Rf \text{ TAG} &= \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}} \\ &= \frac{4,9 \text{ cm}}{18,5 \text{ cm}} \\ &= 0,75 \text{ cm} \end{aligned}$$

Perhitungan Kadar MAG Minyak Biji Ketapang

$$\text{Fraksi massa (\%)} \text{ komponen X} = \frac{\text{Berat MAG}}{\text{Berat Total}} 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Berat bobot MAG (\%)} &= \frac{0,036}{3 \text{ mL}} \times 100\% \\ &= 1,2 \% \end{aligned}$$

Lampiran 19. Perhitungan luas daya hambat bakteri

a. Zona Bening

$$\begin{aligned} \text{Diameter} &= 1,8 \text{ cm} \\ \text{Maka, r} &= 0,9 \text{ cm} \\ &= 9 \text{ mm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Luas Zona Bening} &= \pi r^2 \\ &= \pi (9)^2 \\ &= 3,14 \times (81) \\ &= 254 \text{ mm}^2 \end{aligned}$$

b. Difusi Sumur

$$\begin{aligned} \text{Diameter} &= 0,8 \text{ cm} \\ \text{Maka, r} &= 0,4 \text{ cm} \\ &= 4 \text{ mm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Luas Difusi Sumur} &= \pi r^2 \\ &= \pi (4)^2 \\ &= 3,14 \times (16) \\ &= 50 \text{ mm}^2 \end{aligned}$$

b. Pelarut

$$\begin{aligned} \text{Diameter} &= 1,1 \text{ cm} \\ \text{Maka, r} &= 0,55 \text{ cm} \\ &= 5,5 \text{ mm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Luas Pelarut} &= \pi r^2 \\ &= \pi (5,5)^2 \\ &= 3,14 \times (30) \\ &= 94 \text{ mm}^2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Luas Daya Hambat 1} &= \text{Luas Zona Bening} - \text{Luas difusi sumur} \\ &= 254 \text{ mm}^2 - 50 \text{ mm}^2 \\ &= 204 \text{ mm}^2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Luas Daya Hambat 2} &= \text{Luas Pelarut} - \text{Luas Difusi Sumur} \\ &= 94 \text{ mm}^2 - 50 \text{ mm}^2 \\ &= 44 \text{ mm}^2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total Daya hambat} &= \text{Luas Daya Hambat 1} - \text{Luas Daya Hambat 2} \\ &= 204 \text{ mm}^2 - 44 \text{ mm}^2 \\ &= 160 \text{ mm}^2 \end{aligned}$$

Lampiran 20.. Komposisi asam lemak minyak biji ketapang

LT-IV.4.4.5	LABORATORY TEST REPORT	Page 2 of 2
-------------	-----------------------------------	-------------

Certificate No. : LT-405-1323
 Laboratory No. : BM/XI/12/2431
 Sample Id : Minyak Biji Ketapang

<i>Parameter</i>	Result	Unit	Technique Analysis
Fatty Acid			
Myristic Acid, C14:0	0.09	%w/w	GC
Palmitic Acid, C16:0	19.49	%w/w	GC
Palmitoleic Acid, C16:1	0.36	%w/w	GC
Heptadecanoic Acid, C17:0	0.07	%w/w	GC
Cis-10-Heptadecanoic Acid, C17:1	0.03	%w/w	GC
Stearic Acid, C18:0	3.93	%w/w	GC
Elaidic Acid, C18:1n9t	0.02	%w/w	GC
Oleic Acid, C18:1n9c	30.35	%w/w	GC
Linoleic Acid, C18:2n6c	27.87	%w/w	GC
Arachidic Acid, C20:0	0.51	%w/w	GC
Cis-11-Eicosenoic Acid, C20:1	0.11	%w/w	GC
Linolenic Acid, C18:3n3	0.30	%w/w	GC
Cis-11,14-Eicosedienoic Acid, C20:2	0.05	%w/w	GC
Behenic Acid, C22:0	0.16	%w/w	GC
Tricosanoic Acid, C23:0	0.02	%w/w	GC
Lignoceric Acid, C24:0	0.07	%w/w	GC
Total Asam Lemak	83.42	%w/w	GC

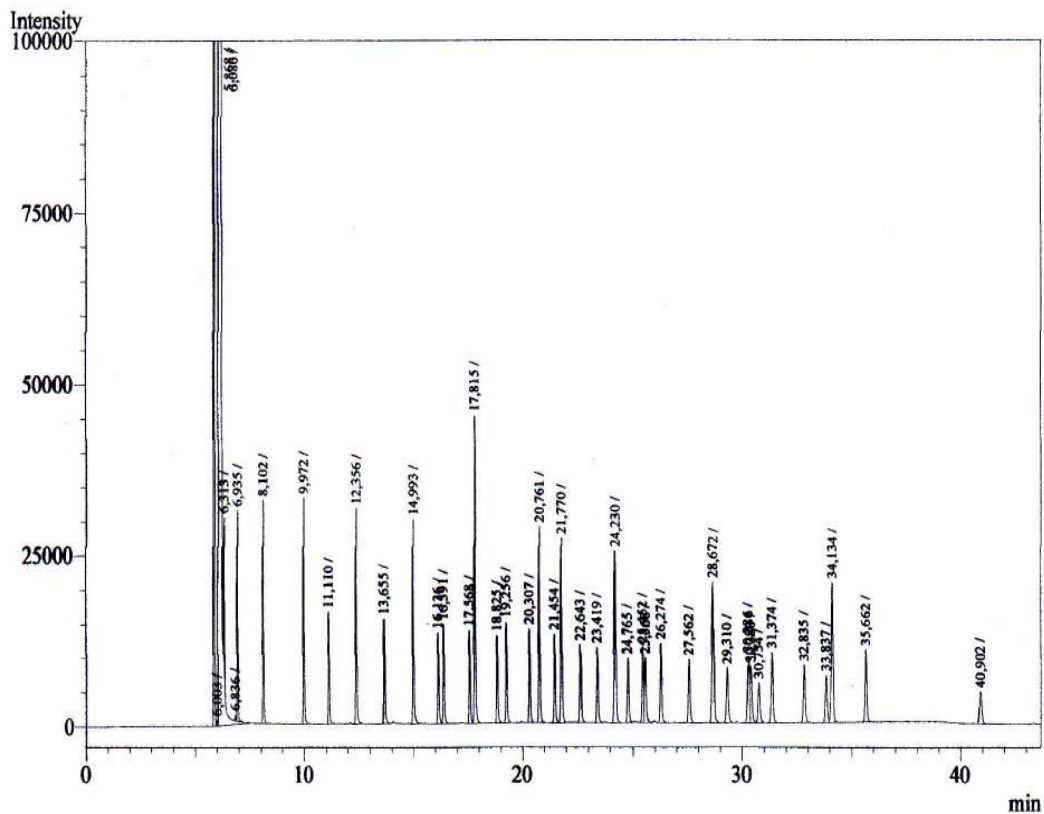
REMARKS:

*) *Outside the scope of accreditation*

above regulatory limit

Lab Terpadu IPB is not responsible for the sampling process

Lampiran 21. Gambar kromatogram standar asam lemak



Analisis Komposisi Asam Lemak menggunakan alat GC SHIMADZU dengan kondisi alat sebagai berikut:

Kolom	: Cyanopropil methyl sil (capillary column)
Dimensi kolom	: p = 60 m, Ø dalam = 0.25 mm, 025 µm Film Thickness
Laju alir N ₂	: 20 mL/menit
Laju alir H ₂	: 30 mL/menit
Laju alir udara	: 200 – 250 mL/menit
Suhu injektor	: 200°C
Suhu detektor	: 230°C
Suhu kolom	: Program temperatur
kolom temperatur	: awal 190°C diam 15 menit Akhir 230 °C diam 20 menit Rate 10°C/ menit
Ratio	: 1 : 8
Inject Volum	: 1 µL
Linier Velocity	: 20 cm/sec

