

Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Film Fenyalut Makanan dari Biji Melinjo (*Gnetum gnemon L.*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Characterization and Antibacterial Activity test of Edible Film from Melinjo Seeds (*Gnetum gnemon L.*) on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

¹Listia Mulyani, ²Anggi Arumsari, ³Hilda Aprilia Wisnuwardhani

^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116

email: ¹listia.mulyani01@gmail.com, ²anggiarumsari@yahoo.com, ³hilda.aprilia@gmail.com

Abstract. A research about melinjo seed flour as an alternative filler as well as an antibacterial for edible film has been done. Alginate was used as viscosity enhancer, and sorbitol was used as plasticizer. Edible film consists of four formulas with different variations of melinjo seed concentrations. Physical characterization test of film includes thickness, tensile strength, elongation and water content. An antibacterial activity test was also conducted on melinjo seed meal and suspension of edible film containing melinjo seed starch on *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* with different concentration variations using agar diffusion method. Edible film of the optimum formula produced has a thin yellowish white organoleptic character; tasteless and odorless; thickness of 0.083 – 0.13 mm; tensile strength of 90.7 – 169 g; elongation of 68,3 – 77.0% and water content of 22.1145 – 22.7643%. Test antibacterial activity of melinjo seed meal which was dissolved in 96% ethanol showed inhibition zone whereas melinjo seed flour which was dissolved in aquadest did not form inhibition zone and edible film suspension did not show the formation of inhibition zone on test microbes.

Keywords: Edible film, Melinjo seeds, Alginate, Sorbitol.

Abstrak. Telah dilakukan penelitian mengenai penggunaan tepung biji melinjo sebagai alternatif pengisi sekaligus sebagai antibakteri pada film penyalut makanan. Alginat digunakan sebagai bahan peningkat viskositas dan sorbitol digunakan sebagai *plasticizer*. Film penyalut makanan terdiri dari empat formula dengan variasi konsentrasi tepung biji melinjo yang berbeda. Uji karakterisasi film yang dilakukan meliputi organoleptis, ketebalan, kekuatan tarik, kemuluran dan kadar air. Dilakukan pula uji aktivitas antibakteri terhadap tepung biji melinjo dan suspensi film penyalut makanan yang terkandung tepung biji melinjo terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan variasi konsentrasi yang berbeda dengan menggunakan metode difusi agar. Film penyalut makanan dari formula optimal yang dihasilkan mempunyai karakter organoleptis lapisan tipis berwarna putih kekuningan; tidak berasa dan tidak berbau; ketebalan 0,083 – 0,13 mm; kuat tarik 90,7 – 169 g; kemuluran 68,3 – 77,0 % dan kadar air 22,1145 – 22,7643%. Uji aktivitas antibakteri tepung biji melinjo yang dilarutkan dalam etanol 96% menunjukkan zona hambat sedangkan tepung biji melinjo yang dilarutkan dalam aquadest tidak terbentuk zona hambat dan suspensi film penyalut makanan tidak memperlihatkan terbentuknya zona hambat terhadap mikroba uji.

Kata Kunci: Edible film, Biji melinjo, Alginat, Sorbitol.

A. Pendahuluan

Film penyalut (*edible film*) dapat diartikan sebagai lapisan tipis yang terbuat dari komponen yang dapat dimakan. Salah satunya biji melinjo biasanya digunakan sebagai bahan dasar pembuatan emping. Diketahui dalam 100 g biji melinjo mengandung sumber karbohidrat sebesar 50 g; kalori 66,00 kkal; protein 11 g; lemak 1,70 g; kalsium 163 mg; fosfor 75 mg; besi 2,8 mg; vitamin C 100 mg (Vehreiz & Sukendar, 1992:183). Karbohidrat yang terdapat dalam biji melinjo menjadi sumber dihasilkannya pati yang akan digunakan dalam pembuatan film penyalut. Selain memiliki kandungan itu seorang ilmuwan Jepang menemukan bahwa melinjo (*Gnetum gnemon L.*) bukan penyebab penyakit asam urat, melainkan melinjo yang asli Indonesia dan sangat populer di negara ini kaya akan komponen polifenol yang disebut resveratrol. Resveratrol ini memiliki aktivitas antibakteri. Sehingga dengan adanya aktivitas antibakteri pada melinjo ini

diharapkan dapat memberikan efek yang baik sebagai pengawet makanan (Lestari dkk, 2013:185).

Film penyalut (*edible film*) yang baik, selain mengandung polisakarida adalah mengandung bahan lain seperti antibakteri. Fungsi dari penambahan antibakteri pada pembuatan film penyalut adalah untuk meningkatkan daya simpan, menghambat bakteri pembusuk dan mengurangi risiko gangguan kesehatan (Winarti, dkk., 2012:87). Sehingga dalam penelitian ini digunakan biji melinjo selain memiliki kandungan pati yang cukup besar namun memiliki aktivitas antibakteri.

Berdasarkan uraian-uraian diatas dikemukakan beberapa perumusan masalah yaitu bagaimana pembuatan film penyalut dari tepung biji melinjo, bagaimana karakterisasi dan aktivitas antibakteri dari film penyalut yang dihasilkan terhadap bakteri gram positif dan bakteri gram negatif.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan agar menghasilkan formula yang baik dalam pembuatan film penyalut dari tepung biji melinjo, serta mengetahui karakterisasi dan aktivitas antibakteri film penyalut dari tepung biji melinjo terhadap bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat mengurangi penggunaan bahan pengemas sintesis yang sulit diuraikan dan mengetahui potensi tepung biji melinjo sebagai antibakteri pada pengemas makanan.

B. Landasan Teori

Film penyalut adalah lapisan tipis yang terbuat dari bahan yang dapat dimakan, digunakan sebagai pelapis permukaan komponen makanan yang berfungsi untuk menghambat migrasi kelembaban, oksigen, karbondioksida, aroma, lipid (Krochta dan Johnston, 1992).

Film penyalut dapat diproduksi dari bahan yang memiliki kemampuan untuk membentuk lapisan tipis (*film forming ability*). Dalam proses pembuatannya bahan pembuat film harus terlarut dan terdispersi dalam suatu pelarut seperti air, alkohol, campuran air-alkohol, atau campuran pelarut lainnya. Pemplastis (*plasticizer*), zat antimikroba, zat warna, dan zat perasa dapat ditambahkan dalam proses pembuatannya. Dalam pengaplikasiannya pada makanan, larutan ini dapat digunakan dengan beberapa metode seperti pencelupan, penyemprotan, dan penyepuhan yang diikuti dengan pengeringan. Komponen yang digunakan untuk membuat film penyalut terbagi kedalam tiga kategori yaitu: hidrokoloid (seperti protein, polisakarida dan alginat), lemak (seperti asam lemak *acylglycerol*, dan lilin), dan komposit (Bourtoom, 2008:237).

Prinsip pembentukan *edible film*, melalui tahap-tahap sebagai berikut :

1. Pensuspensian bahan ke dalam pelarut.
Pembentukan larutan *film* dimulai dengan mensuspensikan bahan ke dalam pelarut, pelarut disini menggunakan air yang dipanaskan.
2. Pengaturan suhu.
Pengaturan suhu mempunyai tujuan untuk mencapai suhu gelatinisasi pati, sehingga pati dapat tergelatinisasi sempurna dan diperoleh *film* yang homogen serta utuh. Gelatinisasi merupakan peristiwa pembentukan gel yang dimulai dengan hidrasi pati, yaitu penyerapan molekul-molekul air oleh molekul-molekul pati. Apabila tanpa adanya pemanasan, kemungkinan terjalin interaksi intermolekuler sangat kecil, sehingga pada saat dikeringkan *film* menjadi retak. Gelatinisasi dapat terjadi apabila air melarutkan pati yang dipanaskan sampai suhu gelatinisasinya.
3. Penambahan *plasticizer*.
Plasticizer merupakan substansi *non volatile* yang ditambahkan ke dalam suatu bahan untuk memperbaiki sifat fisik dan atau sifat mekanik bahan tersebut.

Plasticizer yang digunakan pada penelitian ini sorbitol.

4. Pengeringan.

Pengeringan bertujuan untuk menguapkan pelarut, sehingga akan diperoleh *edible film*. Suhu akan mempengaruhi waktu pengeringan dan kenampakan *edible film* yang dihasilkan.

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Pembuatan Tepung Biji Melinjo

Biji melinjo diperoleh dari pekarangan rumah di desa Jiput, Kecamatan Jiput, Pandeglang-Banten dilakukan proses penepungan. Hasil penepungan biji melinjo yang dihasilkan mempunyai karakterisasi bentuk dengan warna kekuningan dan berbau khas dari melinjo. Hasil jumlah tepung biji melinjo yang didapatkan 380 gram dari total 1 kg biji melinjo atau rendemen yang dihasilkan adalah 38%.

Skrining Fitokimia Tepung Biji Melinjo

Polifenolat

Hasil penapisan polifenol pada tepung biji melinjo adalah positif yang ditunjukkan dengan adanya perubahan warna hijau kehitaman setelah ditambahkan larutan FeCl_3 (Farnsworth, 1966:266).

Pembuatan Film Penyalut

Tepung biji melinjo digunakan sebagai bahan baku dari pembuatan film penyalut makanan dengan penambahan natrium alginat sebagai bahan peningkat viskositas, sorbitol sebagai *plasticizer* dan aquadest sebagai pelarut. Komposisi formula dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Formulasi Film Penyalut

Nama Bahan	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV
Tepung Biji Melinjo	0,2 gram	0,3 gram	0,4 gram	0,5 gram
Sorbitol	3 gram	3 gram	3 gram	3 gram
Na-alginat	1,5 gram	1,5 gram	1,5 gram	1,5 gram
Aquadest ad	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL

Biji melinjo mengandung polisakarida yang cukup besar sekitar 58 – 80% (Kato, 2008). Selain mengandung polisakarida yang cukup besar biji melinjo memiliki senyawa resveratrol (polifenol) dimana senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri (Lestari dkk, 2013:185). Film penyalut dibuat dengan beberapa formulasi yang dibedakan pada jumlah tepung biji melinjo. Perbedaan ini untuk mencari tahu pengaruh perbedaan jumlah tepung biji melinjo terhadap karakterisasi film penyalut serta aktivitas antibakteri.

Karakterisasi Film Penyalut

Organoleptik

Pada hasil pengamatan dari bentuk, warna, rasa dan bau dari setiap formula mempunyai hasil yang sama karena konsentrasi tepung biji melinjo yang digunakan dalam formula film penyalut tidak jauh berbeda sehingga menghasilkan bentuk, warna, rasa dan bau yang sama.

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan secara Organoleptik

Parameter	Film Penyalut			
	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV
Bentuk	Lapisan tipis	Lapisan tipis	Lapisan tipis	Lapisan tipis
Warna	Putih kekuningan	Putih kekuningan	Putih kekuningan	Putih kekuningan
Rasa	Tidak berasa	Tidak berasa	Tidak berasa	Tidak berasa
Bau	Tidak berbau	Tidak berbau	Tidak berbau	Tidak berbau

Ketebalan

Kemampuan mekanik dan karakteristik dari film penyalut seperti kuat tarik dan persen kemuluran dapat dipengaruhi oleh ketebalannya. Biasanya ketebalannya kurang dari 0,3mm (Embuscado dan Huber, 2009). Dari hasil yang diperoleh adanya peningkatan ketebalan dari film penyalut seiring dengan meningkatnya konsentrasi tepung biji melinjo yang digunakan, walaupun kenaikan ukuran ketebalan hanya berbeda sedikit. Hal ini disebabkan karena peningkatan jumlah penyusun film akan meningkatkan total padatan yang terlarut dalam larutan film sehingga ketebalan dari film semakin besar. Grafik uji ketebalan film penyalut dapat dilihat pada **Gambar 1**.

Kekuatan Tarik (*Tensile strength*)

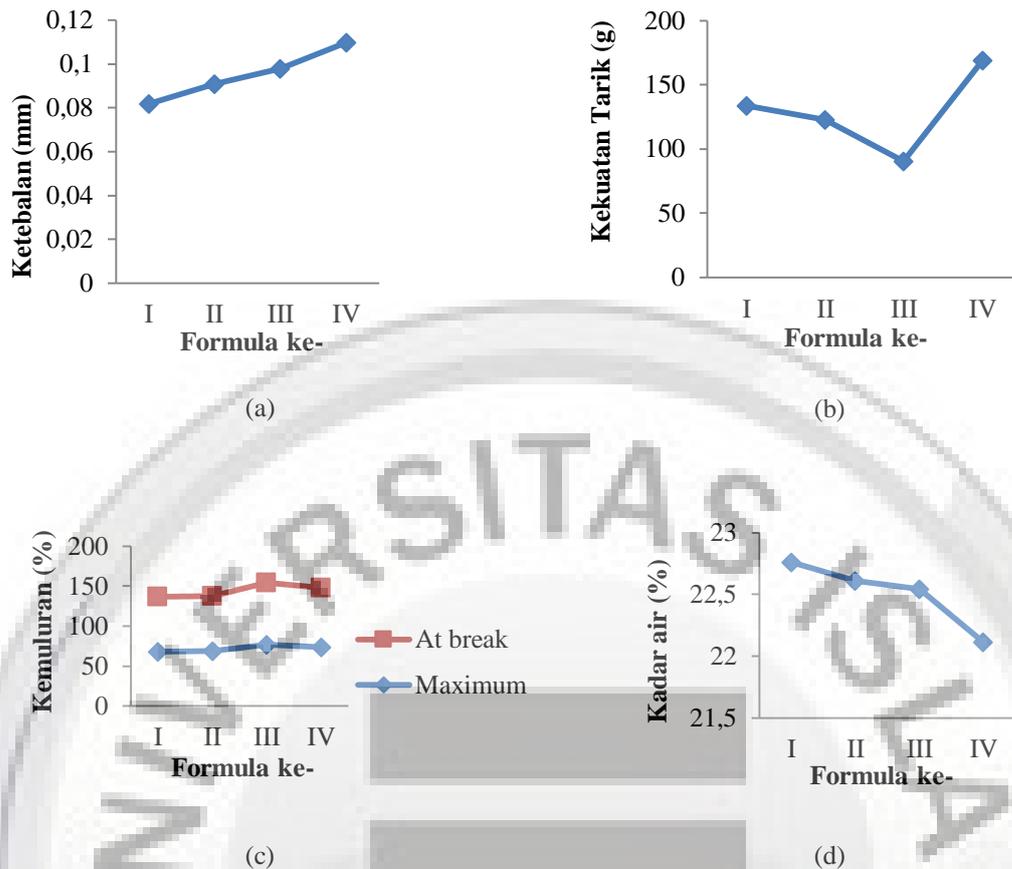
Hasil kekuatan tarik yang di dapat formula I, formula II dan formula III menunjukan hasil yang menurun, sedangkan pada formula IV menunjukan hasil yang meningkat. Hasil tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi *plasticizer* tidak berpengaruh terhadap kekuatan tarik film penyalut dengan perbedaan konsentrasi tepung biji melinjo. Grafik uji kekuatan tarik film penyalut dapat dilihat pada **Gambar 1**.

Kemuluran (*Elongation*)

Hasil kemuluran yang di dapat menunjukkan bahwa konsentrasi *plasticizer* tidak berpengaruh terhadap kekuatan tarik film penyalut makanan dengan perbedaan konsentrasi tepung biji melinjo. Terjadi penurunan pada formula IV karena penambahan tepung biji melinjo yang tinggi dengan konsentrasi sorbitol yang sama, mengakibatkan sifat plastis film penyalut makanan semakin rendah dan persen pemanjangan semakin turun. Peningkatan konsentrasi tepung biji melinjo menyebabkan film penyalut makanan menjadi kuat dan menyebabkan penurunan rasio sorbitol sebagai *plasticizer*, sehingga menyebabkan penurunan kemuluran film apabila terkena gaya, yang kemudian menyebabkan film mudah putus. Grafik uji kemuluran film penyalut dapat dilihat pada **Gambar 1**.

Kadar Air

Hasil kadar air film penyalut cenderung menurun dengan meningkatnya jumlah tepung melinjo. Peningkatan konsentrasi tepung akan meningkatkan jumlah polimer dan viskositas yang menyusun matrik film. Semakin besar polimer yang menyusun matrik film akan meningkatkan jumlah padatan sehingga jumlah air dalam film penyalut semakin rendah. Hal tersebut didukung oleh pernyataan semakin besar polimer yang menyusun matrik film menyebabkan jumlah air yang tertinggal dalam jaringan film semakin rendah dan dengan bertambahnya viskositas akan berpengaruh terhadap peningkatan ketebalan film penyalut sehingga kadar air akan turun (Amaliya, 2014:46). Grafik uji kadar air film penyalut dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. (a) Grafik Ketebalan Film (b) Grafik Kekuatan Tarik (c) Grafik Kemuluran (d) Grafik Kadar Air

Uji Aktivitas Antibakteri

Identifikasi Mikroba

Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Teknik yang dilakukan dalam identifikasi bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yaitu pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram atau metode Gram untuk membedakan spesies bakteri menjadi dua kelompok besar, yakni Gram positif dan Gram negatif, berdasarkan sifat kimia dan fisik dinding sel mereka.

Bakteri *Escherichia coli* mempunyai daya mengikat zat warna utama (kristal ungu) tidak kuat sehingga dapat dilunturkan oleh peluntur dan dapat diwarnai oleh zat warna lawan (fuchsin). Hasil identifikasi *Escherichia coli* berbentuk batang pendek (basil), koloninya tersusun seperti rantai memanjang, tidak membentuk spora maupun kapsula. Pewarnaan Gram pada bakteri Gram negatif idealnya berwarna merah, karena bakteri memiliki kadar peptidoglikan rendah sehingga tidak dapat mempertahankan warna ungu.

Bakteri *Staphylococcus aureus* mempunyai daya mengikat zat warna utama (kristal ungu) tetap bertahan, dengan demikian warna bakteri tampak ungu tua. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* berbentuk kokus (lingkaran). Koloninya seperti buah anggur, dan memiliki endospora yang terletak pada sentral. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif idealnya memberikan warna ungu tua, karena bakteri dapat mempertahankan warna ungu dari kristal violet.



Gambar 2. (a) Bakteri *Escherichia coli* (b) Bakteri *Staphylococcus aureus*

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian diameter hambat dilakukan untuk mengetahui apakah bahan yang digunakan dengan konsentrasi tertentu, dalam hal ini adalah tepung melinjo mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil analisis aktivitas antimikroba tepung biji melinjo dalam beberapa konsentrasi dengan metode difusi agar terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Tepung biji melinjo yang dilarutkan dalam etanol 96% menunjukkan zona hambat. Sementara tepung biji melinjo yang dilarutkan dengan aquadest tidak terbentuk zona hambat pada analisis terhadap kedua bakteri. Hal tersebut karena pelarut air tidak seperti pelarut yang mempunyai banyak komponen dan dapat berinteraksi secara antagonistik dalam mengikat bahan aktif.

Tabel 3. Diameter Hambat Tepung Biji Melinjo terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Bakteri	Sampel	Zona Hambat (cm)				
		Konsentrasi Tepung (%)				
		0,02	0,04	0,06	0,08	0,1
<i>Escherichia coli</i>	Tepung biji melinjo + Aquadest	-	-	-	-	-
	Tepung biji melinjo + Etanol 96%	-	-	0,68	0,939	1,006
<i>Staphylococcus aureus</i>	Tepung biji melinjo + Aquadest	-	-	-	-	-
	Tepung biji melinjo + Etanol 96%	0,685	0,879	0,941	0,976	1,039

Ket : - (tidak ada zona hambat)

Dilakukan pula uji aktivitas antibakteri pada suspensi film penyalut dimana tidak menunjukkan adanya diameter hambat. Hal ini terjadi dikarenakan banyak komponen matriks dalam larutan film penyalut sehingga tepung biji melinjo dengan konsentrasi tinggi tidak mampu digunakan sebagai antibakteri.

D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tepung biji melinjo dapat digunakan sebagai basis film penyalut. Tetapi tepung biji melinjo yang digunakan dalam penelitian ini tidak dapat digunakan sekaligus sebagai antibakteri.

E. Saran

Perlu dilakukan optimasi terhadap prosedur pembuatan film penyalut agar seluruh komponen tepung biji melinjo dapat homogen dan memberikan hasil yang lebih baik. Selain itu, perlu penambahan antibakteri lain yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri pada film penyalut dan dapat digunakan sebagai penyalut makanan untuk memperpanjang masa penyimpanan yang lebih lama.

Daftar Pustaka

- Amaliya, dkk. (2014). Karakterisasi Edible Film Dari Pati Jagung Dengan Penambahan Filtrat Kunyit Putih Sebagai Antibakteri, *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, Juli, Vol.2, No.3.
- Bourtoom, T. (2008). 'Edible Film and Coatings; Characteristics and Properties', *Int.Food Res. J.*, Vol. 15, No. 3.
- Embuscado, Milda E., Kerry C. Huber. (2009). *Edible Films and Coatings for Food Applications*, Springer Science and Business Media, New York.
- Farnsworth, N.R. (1966). Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. Vol.55, No.3, Chicago: Reheis, Chemical Company.
- Kato H, Samizo M, Kawabata R, Takano F, & Ohta T, (2011). Stilbenoids from the melinjo (*Gnetum gnemon* L.) fruit modulate cytokine production in murine peyer's patch cells ex vivo. *Planta Med.* 77(10):1027-1034.
- Krochta and De Mulder Johnston. (1992). Edible and Biodegradable Polymers Film: Challenges & Opportunities. *Food Technology*, 51(2):61-74
- Lestari, S, Malaka, R, Garantjang, S. (2013). Pengawetan Telur dengan Perendaman Ekstrak Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.). *Journal Sains & Teknologi*, Agustus, Vol.2. No.2, 184-189
- Winarti, Christina., Miskiyah., dan Widaningrum. (2012). 'Teknologi Produksi dan Aplikasi Pengemas Edible Film Antimikroba Berbasis Pati', *J. Litbang Pert*, September 2012, Vol. 31, No. 3.
- Verheij, E.W.M & Sukendar. (1992) *Gnetum gnemon* L. In: Verheij, E.W.M. & Coronel, R.E. (eds.) : *Plants Resources of South East-Asia No.2 Edible Fruits and Nuts. Prosea Foundation*, Bogor, Indonesia.