

## PENGARUH FERMENTASI BAKTERI ASAM LAKTAT PADA EKSTRAKSI BUAH KERSEN TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DENGAN LAKTOSA DAN SUKROSA SEBAGAI STIMULAN

### *The Effect Lactic Acid Bacteria Fermentation On Kersen Extraction And Its Antioxidant Activity By Using Lactose And Sucrose As A Stimulant*

Rina Azkiyah<sup>1</sup>, Laelatul Husniyah<sup>2\*</sup>, Andi Tenri M<sup>3</sup>, Lulu Setiyabudi<sup>4</sup>

<sup>1,2,3</sup>Program Studi S1 Farmasi Universitas Al Irsyad Cilacap

\*e-mail: laelatulhusniy@gmail.com

#### Abstrak

Tanaman kersen (*Muntingia calabura* L.) merupakan salah satu tanaman yang sangat potensial karena memiliki beberapa kandungan bioaktif yang bermanfaat untuk kesehatan. Buah kersen memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena kandungan asam askorbat (vitamin C) yang tinggi, vitamin A dan juga mineral seperti kalsium dan fosfor. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder produk fermentasi BAL (Bakteri Asam Laktat) ekstrak buah kersendan serta menguji aktivitas antioksidannya. Sampel buah kersen difermentasi dengan menggunakan starter *L. plantarum* serta penambahan konsentrasi laktosa dan sukrosa yang berbebeda selama 72 jam. Uji skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif serta uji aktivitas antioksidan dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Hasil penapisan fitokimia menunjukkan ekstrak buah kersen mengandung senyawa flavonoid dan tanin. Aktivitas antioksidan ekstrak buah kersen yang difermentasi buah (13,787 mg AAE/g ekstrak); penambahan sukrosa 2%(12,237 mg AAE/g ekstrak); laktosa 2% (12,017 mg AAE/g ekstrak); sukrosa 1% dan laktosa 1% (12,197 mg AAE/g ekstrak). Ekstrak buah kersen yang difermentasi dengan penambahan laktosa dan sukrosa mengalami penurunan, sedangkan ekstrak buah kersen yang difermentasi tanpa penambahan laktosa dan sukrosa mengalami kenaikan.

**Kata kunci** : Kersen, fermentasi, antioksidan, sukrosa, laktosa

#### Abstract

*Kersen (M. calabura L.) is one of the most potential plants because it has several bioactive ingredients that are beneficial for health. Kersen fruit (M. calabura L.) has strong antioxidant activity due to its high content of ascorbic acid (vitamin C), vitamin A and minerals such as calcium and phosphorus. This study aims to determine the content of secondary metabolites of fermented LAB (Lactic Acid Bacteria) kersen fruit extract and to test its antioxidant activity. Kersen fruit samples were fermented using starter L. plantarum and the addition of different concentrations of lactose and sucrose for 72 hours. The phytochemical screening test was carried out qualitatively as well as antioxidant activity test using the FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) method. The results of phytochemical screening showed that cherry fruit extract contained flavonoid and tannin compounds. Antioxidant activity of fermented kersen fruit extract (13,787 mg AAE/g extract); addition of 2% sucrose(12,237 mg AAE/g extract); lactose 2% (12,017 mg AAE/g extract); sucrose 1% and lactose 1% (12.197 mg AAE/g extract). Kersen fruit extract fermented with the addition of lactose and sucrose decreased, while the kersen fruit extract fermented without the addition of lactose and sucrose increased.*

**Keyword** : *Muntingia calabura* L., fermentation, antioksidant, sucrose, lactose

## 1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu wilayah tropis yang memiliki keanekaragaman flora. Peluang pengembangan tanaman yang berkhasiat obat terus dilakukan. Salah satu kendala dalam pengembangan tanaman obat adalah ketersediaan bahan yang terbatas, serta budidaya yang dilakukan belum intensif. Salah satu tumbuhan yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai tanaman obat adalah tanaman kersen (*Muntingia calabura* Linn).

Tanaman kersen atau talok merupakan tanaman liar yang banyak ditemukan di pinggir jalan dan seringkali digunakan sebagai peneduh. Tanaman kersen dapat tumbuh dan berbuah sepanjang tahun. Pemanfaatan kersen sebagai bahan obat-obatan dan pangan sendiri di Indonesia masih belum optimal karena dianggap tidak memiliki nilai ekonomis dan minimnya pengetahuan tentang tumbuhan ini, padahal memiliki manfaat yang sangat tinggi (1).

Tanaman kersen merupakan salah satu tanaman yang sangat potensial untuk dimanfaatkan karena daun dan buah dari tanaman ini memiliki beberapa kandungan bioaktif yang bermanfaat untuk kesehatan. Buah kersen memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena kandungan asam askorbat (vitamin C) yang tinggi, vitamin A dan juga mineral seperti kalsium dan fosfor. Kandungan vitamin C buah kersen (379,75 mg) tiga kali lipat dari buah mengkudu (175 mg) (Preethi *et al.*, 2012). Hasil ekstrak polifenol buah kersen menunjukkan bahwa buah kersen mengandung antioksidan antara lain vitamin C (33,6 mg AAE/g ekstrak), vitamin E (14,7 mg TE/g ekstrak), total fenol (121,1 mg GAE/g ekstrak), flavonoid (173,2 mg RE/g ekstrak) dan antosianin (82,4 mg CGE/g ekstrak) (2).

Antioksidan adalah molekul yang dapat berinteraksi dengan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai sebelum kerusakan sel (Gulcin & Beydemir, 2013). Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas dengan cara menyumbangkan elektronnya pada senyawa radikal bebas. Penggunaan senyawa antioksidan saat ini semakin meluas seiring dengan semakin besarnya pemahaman masyarakat tentang peranannya dalam menghambat penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, arteriosklerosis, kanker, serta gejala penuaan (3).

Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) adalah metode yang digunakan untuk menguji antioksidan dalam tumbuh-tumbuhan. Kelebihan dari metode FRAP yaitu metodenya murah, cepat, dan reagen yang digunakan cukup sederhana serta tidak menggunakan alat khusus untuk menghitung total antioksidan (4).

Menurut Hur *et al.*, (5), fermentasi dapat meningkatkan kandungan senyawa fenolik bioaktif sehingga terjadi peningkatan aktivitas antioksidan. Fermentasi adalah suatu proses terjadinya perubahan struktur kimia pada suatu substrat organik dengan memanfaatkan aktivitas enzim sebagai biokatalis. Dalam industri pangan, bakteri asam laktat telah digunakan untuk berbagai ragam fermentasi daging, sayuran, susu, roti, atau produk bakteri (6).

Bakteri Asam Laktat (BAL) memiliki karakteristik yang unik, biasanya sedikit lebih besar dari bakteri lain, dan bentuk mikroskopis yang lonjong, berbentuk batang, bulat atau koma. Seluruh BAL termasuk bakteri gam positif, artinya memiliki dinding peptidoglikan yang tersusun dari peptida (7). Ciri yang membedakan BAL dari kelompok bakteri penghasil asam yang lain adalah kemampuan BAL yang secara cepat mampu mengonversi sumber gula, utamanya laktosa, menjadi asam laktat. BAL secara biologis dapat bertahan hidup dengan memproduksi enzim yang mampu memecah berbagai jenis substrat. misalnya *Lactobacillus casei*, dapat tumbuh pada produk olahan cempedak tanpa penambahan media stimulan seperti laktosa ataupun gula sederhana (6).

Dari uraian diatas dapat diamati kandungan senyawa metabolit sekunder produk fermentasi bakteri asam laktat ekstrak buah kersen serta aktivitas antioksidannya dengan menggunakan metode FRAP (*ferric reducing antioxidant power*).

## **2. METODE PENELITIAN**

### **2.1 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu blender, botol kaca, saringan, *colony counter*, *autoclave*, *inkubator*, lemari pendingin, timbangan analitik, alat-alat gelas, mikro pipet, *sentrifuge*, lampu spiritus, *stopwatch*, *waterbath*, *laminar air flow*, dan Spektrofotometer UV-Vis.

### **2.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain akuades, asam askorbat, asam trikloroasetat 10% (*Brataco*),  $\text{FeCl}_3$  0,1 %, dapar fosfat (0,2 M pH 6,6), kalium ferrisianida ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ) 1%,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , HCl, Asam Oksalat 1%, natrium hidroksida (NaOH), kalium hidrogen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), buah kersen, *Lactiplantibacillus plantarum* dan MRSB (*De Man Rogosa Sharpe Broth*), laktosa dan sukrosa.

## **2.3 Prosedur Penelitian**

### **Pengambilan Sampel**

Sampel buah kersen diperoleh dari Desa Majapura, Kecamatan Bobotsari, Kabupaten Purbalingga. Sampel buah kersen dipetik pada tanggal 19 September 2021 pada sore hari.

### **Determinasi Sampel**

Determinasi sampel buah kersen dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Determinasi bertujuan untuk memastikan kebenaran akan sampel yang digunakan adalah buah kersen.

### **Preparasi sampel**

Preparasi sampel buah kersen dilakukan dengan memisahkan tangkai buah dari buah kersen, setelah itu dicuci bersih dengan air mengalir kemudian dibilas menggunakan akuades steril, dan ditiriskan sampai kering. Sampel yang sudah kering kemudian ditimbang sebanyak 50 g ditambahkan air 200 mL, kemudian dihaluskan dengan blender. Sampel buah kersen yang sudah dihaluskan kemudian ditambahkan laktosa dan sukrosa sebagai perangsang bakteri

### **Pembuatan Kultur Stok**

Pembuatan kultur stok dilakukan dengan cara menginokulasikan 20µl kultur *L. plantarum* ke dalam 50 mL MRSB (*De Man Rogosa Sharpe Broth*). Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam.

### **Pembuatan Fermentasi Buah Kersen (*M. calabura* L.)**

Pembuatan ekstrak buah kersen dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi enzimatis yaitu dengan penambahan kultur bakteri asam laktat sebagai penghasil enzim. Metode ekstraksi dengan bantuan enzim atau *Enzyme Assisted-Extraction* (EAE) merupakan salah satu metode ekstraksi non-konvensional untuk mengekstrak suatu senyawa aktif dengan bantuan enzim. Menurut Wirajana *et al.*, (8), enzim memiliki kemampuan untuk mendegradasi atau mengganggu dinding sel dan membran sehingga memungkinkan pelepasan senyawa aktif lebih baik dan efisien.

Sampel buah kersen yang telah dipreparasi kemudian dimasukkan dalam botol kaca setelah itu ditambahkan bakteri *L. plantarum* 1 mL ke setiap sampel, setelah itu dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 72 jam.

### **Skrining Fitokimia**

#### **Uji Flavonoid**

Ekstrak buah kersen sebanyak 2 mL ditambahkan dengan 20 mL air panas, dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring. Lalu 5 mL filtrat ditambahkan 0,05 g serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok kuat-kuat. Positif mengandung flavonoid apabila terbentuknya endapan warna merah, kuning atau jingga (9).

#### **Uji Saponin**

Sebanyak 3 mL ekstrak buah kersen ditambahkan 10 mL air panas lalu didinginkan, setelah dingin langsung dikocok kuat selama 10 detik, jika terbentuk adanya buih yang stabil selama 10 menit setinggi 1-10 cm dan setelah ditambahkan 1 tetes HCl 2 N buihnya tidak hilang, maka menunjukkan adanya senyawa saponin (9).

#### **Uji Tanin**

Sebanyak 2 mL ekstrak buah kersen ditambahkan ke dalam 2 mL akuades. Selanjutnya, larutan ekstrak tersebut ditetesi dengan satu atau dua tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 1%. Adanya kandungan tanin ditandai dengan timbulnya warna hijau gelap atau hijau kebiruan (10).

#### **Uji Triterpenoid**

Ekstrak buah kersen sebanyak 2 tetes ditambah asam asetat glasial 10 tetes dan asam sulfat pekat sebanyak 2 tetes. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Positif mengandung steroid apabila terbentuk warna biru atau hijau, sedangkan triterpenoid terbentuk warna merah atau ungu (9).

#### **Uji Aktivitas Antioksidan Metode FRAP**

Dibuat deret standar asam askorbat dengan konsentrasi 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; dan 10 ppm dari larutan induk vitamin C 100 ppm dengan cara dipipet 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; dan 1 mL dan sebanyak 1 mL ekstrak buah kersen ditambahkan 1 mL buffer fosfat dan 1 mL kalium ferisianida kemudian diinkubasi selama 20 menit pada suhu 50°C. ditambahkan asam trikloroasetat 1 mL kemudian disentrifugasi pada 3000 rpm selama 10

menit. Lapisan atas diambil 1 mL ditambahkan 1 mL akuades dan  $\text{FeCl}_3$  1 % 0,5 mL kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimal

### **Teknik Pengumpulan Data**

Pengumpulan data dilakukan dengan mencari literatur-literatur yang berhubungan dengan penelitian untuk dipahami dan dijadikan sumber acuan penelitian, dan mencatat hasil pengamatan yang dilakukan.

### **Analisis Data**

Data hasil uji antioksidan dan nilai FRAP dinyatakan dalam mg equivalen asam askorbat/ g ekstrak (AAE). Kandungan vitamin C pada masing-masing replikasi dinyatakan sebagai ekuivalen asam askorbat atau *Ascorbic Acid Equivalent* (AAE). AAE merupakan acuan umum untuk mengukur sejumlah vitamin C yang terdapat dalam suatu bahan. Hasil regresi linier dari konsentrasi (x) dengan nilai absorbansi (y) larutan pembanding asam askorbat, menggunakan program *microsoft excel*, metode analisis data menggunakan analisis deskriptif.

## **3. Pembahasan**

### **Determinasi**

Determinasi adalah membandingkan suatu tumbuhan dengan satu tumbuhan lain yang sudah dikenal sebelumnya (dicocokkan atau dipersamakan), sehingga dapat menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan yang akan diteliti. Buah kersen (*Muntingia calabura* L.) yang digunakan dalam penelitian ini dideterminasi di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Hasil dari determinasi menunjukkan buah kersen yang digunakan dalam penelitian dapat dipastikan merupakan dari jenis *Muntingia calabura* L. dan suku tiliaceae. bera

### **Preparasi Sampel**

Buah kersen yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Desa Majapura, Kecamatan Bobotsari, Kabupaten Purbalingga. Buah kersen yang dipilih adalah yang matang dan diharapkan mempunyai kandungan senyawa kimia yang optimal. Berdasarkan Penelitian yang dilakukan Kubola *et al.*, (11) menggunakan buah kersen matang didapatkan kadar flavonoid  $24,60 \pm 0,27$  mg ME/g dan aktivitas antioksidan  $95,03 \pm 1,06$  % penghambatan DPPH lebih tinggi dibandingkan dengan buah kersen mentah.

Sampel buah kersen yang didapat kemudian dipisahkan antara tangkai dan buah. Setelah itu buah kersen dicuci bersih dengan air mengalir kemudian dibilas menggunakan akuades steril. Pencucian dilakukan dengan air bersih yang mengalir bertujuan untuk menghilangkan pengotor yang melekat pada buah. Setelah proses pencucian sampel buah kersen kemudian ditiriskan agar tidak mudah rusak dan dapat disimpan dalam waktu yang lama. Selanjutnya dihaluskan dengan menggunakan blender agar permukaan kontak dengan pelarutnya semakin tinggi sehingga meningkatkan efektivitas saat ekstraksi.

### Fermentasi Ekstrak Buah Kersen

Fermentasi dilakukan menggunakan Bakteri Asam Laktat (BAL) dengan tujuan agar senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada suatu tanaman akan terdegradasi lebih sederhana dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain seperti bakteri pembusuk dan bakteri patogen pada produk pangan serta produk fermentasi lainnya (Nuraida, 2015). Pemilihan Bakteri Asam Laktat menggunakan *Lactobacillus plantarum* dalam proses fermentasi dikarenakan BAL menghasilkan senyawa metabolit lain yang berfungsi sebagai anti mikrobia seperti asam asetat, hidrogen peroksida, dan bakteriosin, sedangkan pada proses fermentasi menggunakan ragi atau *yeast* menghasilkan produk etanol/bioetanol (12). Buah kersen telah dipreparasi kemudian diekstrak menjadi 8 perlakuan sebagaimana tabel 1.

**Tabel 1. Komposisi Ekstrak Buah Kersen**

No	Jenis	Kode	Buah Kersen (g)	Waktu (jam)	Laktosa (g)	Sukrosa (g)	Akuades (mL)	BAL (mL)
1	Kontrol	K01	50	72	-	-	200	-
2		K02	50	72	-	5	200	-
3		K03	50	72	5	-	200	-
4		K04	50	72	2,5	2,5	200	-
5	Sampel	S01	50	72	-	-	200	1
6		S02	50	72	-	5	200	1
7		S03	50	72	5	-	200	1
8		S04	50	72	2,5	2,5	200	1

Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses fermentasi adalah nutrisi media, konsentrasi gula, pH dan suhu. Dalam penelitian ini konsentrasi gula yang ditambahkan dalam setiap perlakuan berbeda-beda, yaitu : sukrosa 2%; laktosa 2%; sukrosa 1% dan laktosa 1%.

Pemberian kadar gula yang berbeda di setiap perlakuan bertujuan untuk mencari konsentrasi yang optimal dalam pembuatan fermentasi ekstrak buah kersen.

Penambahan gula bertujuan sebagai nutrisi bagi bakteri asam laktat untuk tumbuh, memecah senyawa kompleks, memanfaatkan nutrisi, dan memproduksi metabolit. Selama proses fermentasi, bakteri asam laktat mampu memecah glukosa, maupun gula lainnya seperti laktosa, galaktosa, fruktosa, sukrosa, dan maltosa menjadi asam laktat (13). Penambahan sukrosa dan laktosa yang bervariasi dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan sukrosa dan laktosa pada masing-masing sampel. Beberapa penelitian telah melaporkan penambahan sumber karbon optimum untuk produksi bakteorisin. Diantaranya adalah laktosa 4%, optimum untuk *Lactobacillus lactis* (Chatterjee *et al.*, 2018); glukosa 2% optimum untuk *Lactobacillus plantarum* (Ooi *et al.*, 2015); laktosa 1% untuk optimum untuk *Lactobacillus sp* (Iyapparaj *et al.*, 2013); sukrosa 2% optimum untuk *Pediococcus pentosaceus* (Suganthi & Mohanasrinivasan, 2015); dan kombinasi glukosa dan sukrosa 1% optimum untuk *Pediococcus pentosaceus* (De Azevedo *et al.*, 2018).

### Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengkonfirmasi dari penelitian sebelumnya tentang jenis senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam buah kersen. Metode skrining fitokimia dalam penelitian ini yaitu secara kualitatif melalui reaksi warna dengan menggunakan suatu pereaksi tertentu.

Berdasarkan penelitian Meutia Zahara (14) Buah Kersen yang mengandung flavonoid, tanin, triterpenoid, dan polifenol. Menurut Penelitian Kuncoro Hadi dan Intan Permatasari (2019) hasil skrining fitokimia buah kersen mengandung metabolit sekunder yaitu flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Hasil skrining fitokimia fermentasi ekstrak buah kersen dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2. Hasil Analisis Fitokimia**

Kode	Senyawa Fitokimia			
	Flavonoid	Saponin	Tanin	Triterpenoid
K01	+	-	++	-
K02	+++	-	++	-
K03	+++	-	++	-
K04	++	-	++	-
S01	+++	-	++	-

Keterangan  
Tidak ada : (-)

---

aktivitas	S02	+	-	++	-	(+)
Aktivitas	S03	++	-	++	-	
rendah	S04	++	-	++	-	

---

(++)

Aktivitas sedang (+++) Aktivitas tinggi

Berdasarkan tabel 2, hasil skrining fitokimia ekstrak buah kersen yang melalui tahapan fermentasi maupun tanpa melalui tahapan fermentasi mengandung senyawa flavonoid dan tanin. Sedangkan senyawa saponin dan triterpenoid tidak terekstrak pada saat fermentasi. Hal penting yang mempengaruhi dalam proses skrining fitokimia adalah pemilihan pelarut dan metode ekstraksi. Pelarut yang tidak sesuai memungkinkan senyawa aktif yang diinginkan tidak dapat tertarik secara baik dan sempurna (Kristianti *et al.*, 2008). Pelarut adalah zat yang digunakan sebagai media untuk melarutkan zat lain. Sifat pelarut yang baik untuk ekstraksi yaitu toksisitas dari pelarut yang rendah, mudah menguap pada suhu rendah, dapat mengekstraksi komponen senyawa dengan cepat, dapat mengawetkan dan tidak menyebabkan ekstrak teroksidasi (22).

Penambahan air bertujuan sebagai media untuk melarutkan senyawa aktif yang terkandung dalam tumbuhan yang diekstraksi. Ketersediaan air dalam bentuk bebas penting bagi pertumbuhan mikroba dalam proses fermentasi. Air digunakan oleh mikroba sebagai medium transportasi nutrisi ke dalam sel, membuang metabolit ke luar sel, tempat berlangsungnya reaksi enzimatik, medium sintesis komponen seluler, dan berperan membantu proses biokimia seperti hidrolisis polimer menjadi monomer (2).

### **Skrining Fitokimia**

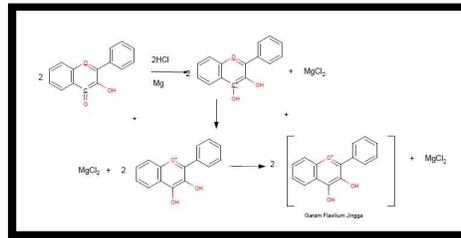
#### **Flavonoid**

Hasil yang didapat pada proses skrining fitokimia ekstrak fermentasi buah kersen menunjukkan terbentuknya warna kuning pada ekstrak, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (23) adanya senyawa flavonoid terdapat perubahan warna kuning pada ekstrak dan tujuan penambahan logam Mg dan HCl adalah untuk mereduksi inti benzopiron.

Flavonoid merupakan senyawa yang mengandung dua cincin aromatik dengan gugus hidroksil lebih dari satu. Hal ini menjelaskan bahwa senyawa fenol dengan gugus hidroksil semakin banyak memiliki tingkat kelarutan dalam air semakin besar atau bersifat polar, sehingga dapat terekstrak pada senyawa-senyawa polar (23).

Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi G6-C3-C6, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus

C6 (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Tiang-Yang *et al.*, 2018).



**Gambar 3. Uji Kualitatif Flavonoid 16}E**

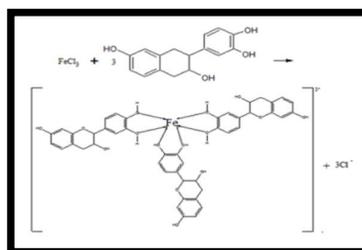
Flavonoid merupakan metabolit sekunder dari polifenol, ditemukan secara luas pada tanaman serta makanan dan memiliki berbagai efek bioaktif termasuk anti virus, anti inflamasi, kardioprotektif, anti diabetes, anti kanker, anti penuaan, dan antioksidan yang mempunyai kemampuan mencegah luka akibat radikal bebas (17).

### Tanin

Ekstrak buah kersen sebanyak 1-2 tetes ditambah dengan larutan  $\text{FeCl}_3$  1% sebanyak 3 tetes. Adanya senyawa tanin ditandai dengan terbentuknya endapan warna biru kehijauan atau hijau tua. Hasil uji tanin yang diperoleh dari fermentasi buah kersen dengan penambahan bakteri asam laktat dan tanpa bakteri asam laktat menunjukkan warna hijau tua. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (18). Wahyuni *et al.* (2014) menyebutkan bahwa tanin merupakan senyawa antunutrisi yang memiliki gugus fenol dan bersifat koloid. Tanin dapat digolongkan menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Taninn terhidrolisis merupakan polimer gallic atau ellagic acid yang berikatan ester dengan sebuah molekul gula, sedangkan tanin terkondensasi merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon (15).

Tanin adalah suatu senyawa fenolik yang memberikan rasa pahit dan sepat/kelat, dapat berekasi dan menggumpalkan protein atau senyawa organik lainnya yang mengandung asam amino dan alkaloid (2).

Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan yang dapat mengikat radikal beass sehingga tubuh dapat terhindar dari kerusakan sel dan mencegah timbulnya berbagai penyakit (Subagio, 2013).



**Gambar 4. Uji Kualitatif Tanin (Ergina et al., 2014) Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)**

Uji aktivitas antioksidan dilakukan untuk mengetahui kandungan antioksidan yang ada dalam ekstrak fermentasi buah kersen. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Aktivitas antioksidan dapat dilihat dari senyawa yang direduksi yaitu Kalium Ferri Sianida ( $K_3Fe(CN)_6$ ). Daya reduksi diukur dari kemampuan suatu antioksidan untuk mengubah  $Fe^{3+}$  menjadi  $Fe^{2+}$  dengan perubahan warna hijau menjadi hijau kebiruan. Senyawa yang mempunyai daya reduksi berperan sebagai antioksidan karena dapat menstabilkan radikal dengan mendonorkan elektron atau atom hidrogen sehingga senyawa radikal berubah menjadi stabil (19).

Vitamin C termasuk golongan antioksidan sekunder yang mampu menangkal berbagai radikal bebas ekstraseluler. Hal itu dikarenakan vitamin C mempunyai gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas dan jika mempunyai gugus polihidroksi akan meningkatkan aktivitas antioksidan (Kim, 2005). Asam askorbat digunakan sebagai larutan standar (pembanding) karena berfungsi sebagai antioksidan sekunder yaitu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai.

Hasil penentuan kurva baku asam askorbat menunjukkan bahwa konsentrasi berbanding lurus dengan nilai absorbansi, semakin besar konsentrasi larutan baku standar asam askorbat maka semakin tinggi pula nilai absorbansi yang dihasilkan.

Hasil regresi dari konsentrasi (x) dengan nilai absorbansi (y) larutan pembanding asam askorbat diperoleh persamaan yaitu  $y = 0,0016x + 0,1861$  dengan nilai  $R^2 = 0,9969$ . Nilai  $R^2$  yang diperoleh mendekati angka 1 menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier, sehingga dapat dikatakan bahwa absorbansi dan konsentrasi memiliki korelasi yang kuat (Asmorowati, H. and Lindawati, 2019). Untuk menghitung nilai aktivitas antioksidan dimasukkan nilai absorbansi sampel kedalam persamaan regresi linier. Nilai FRAP dinyatakan dalam mg ekuivalen asam askorbat/gr ekstrak (AAE). Kandungan vitamin C pada masing-masing replikasi dinyatakan dalam ekuivalen asam askorbat atau *Ascorbit Acid Equivalent* (AAE). AAE merupakan acuan umum untuk mengukur sejumlah vitamin C yang terdapat pada suatu bahan.

**Tabel 3. Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Kersen**

No	Kode	Ekstrak	Aktivitas Antioksidan (mgAAE/g ekstrak)
1	K01	Buah Kersen	13,037
2	K02	Buah Kersen + 2% Sukrosa	12,397
3	K03	Buah Kersen + 2% Laktosa	13,057
4	K04	Buah Kersen + 1% Sukrosa + 1% Laktosa	13,307
5	S01	Buah Kersen + BAL	13,787
6	S02	Buah Kersen + 2% Sukrosa + BAL	12,237
7	S03	Buah Kersen + 2% Laktosa + BAL	12,017
8	S04	Buah Kersen + 1% Sukrosa + 1% Laktosa + BAL	12,197

Setelah dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak buah kersen diketahui bahwa aktivitas antioksidan ekstrak buah kersen yang difermentasi dengan BAL yaitu buah (13,787 mg AAE/g ekstrak); penambahan sukrosa 2% (12,237 mg AAE/g ekstrak); laktosa 2% (12,017 mg AAE/g ekstrak); sukrosa 1% dan laktosa 1% (12,197 mg AAE/g ekstrak). Ekstrak fermentasi buah kersen tanpa penambahan gula memiliki aktivitas paling besar yaitu sebesar 13,787 mg AAE/g ekstrak, sedangkan dengan adanya penambahan gula mengalami penurunan aktivitas. Hal ini disebabkan karena buah kersen mengalami proses fermentasi, dimana BAL mengambil sumber makanan dari buah kersen yang memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi (20). Selama proses fermentasi bakteri asam laktat akan memanfaatkan nutrisi seperti karbohidrat, protein dan serat pangan sebagai sumber energi untuk pertumbuhan, pembentukan sel dan biosintesis produk-produk metabolit (2). Menurut Hur *et al.*, (2014), fermentasi dapat meningkatkan kandungan senyawa fenolik bioaktif sehingga terjadi peningkatan aktivitas antioksidan.

Ekstrak fermentasi buah kersen dengan penambahan laktosa dan sukrosa mengalami penurunan aktivitas. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan gula dapat mempengaruhi aktivitas BAL. Kandungan gula dalam buah kersen yang tinggi dan dengan penambahan gula dalam proses fermentasi menyebabkan konsentrasi gula dalam ekstrak terlalu tinggi dapat menghambat pertumbuhan BAL.

Laktosa dan sukrosa merupakan sumber karbon disakarida dimana laktosa akan terurai menjadi glukosa dan galaktosa, sedangkan sukrosa akan terurai menjadi glukosa dan fruktosa. Laktosa merupakan gula yang dapat mereduksi sedangkan sukrosa bukan gula

pereduksi. Laktosa dan glukosa yang memiliki sifat yang sama dengan antioksidan yaitu mereduksi Kalium Ferri Sianida  $K_3Fe(CN)_6$ . Daya reduksi diukur dari kemampuan suatu antioksidan untuk mengubah  $Fe^{3+}$  menjadi  $Fe^{2+}$ .

Laktosa atau gula susu adalah gula yang diperoleh dari susu. Laktosa tidak berbau dan rasanya agak manis. Laktosa stabil di udara, tetapi mudah menyerap bau, larut dalam air, sedikit larut dalam etanol dan tidak larut dalam kloroform. Laktosa memiliki rumus molekul  $C_{12}H_{22}O_{11}$ , merupakan gula yang mereduksi, mampu membentuk osazon, terdapat dalam bentuk alfa dan beta serta mengalami mutarotasi. Laktosa juga berbeda dengan gula lain karena laktosa sangat mudah mengalami fermentasi membentuk asam laktat dan asam butirat. Laktosa juga mudah diubah menjadi asam laktat oleh *Lactobacillus bulgaricus* dan ini pulalah antara lain yang menyebabkan susu bisa berasa asam (20)

Glukosa adalah gula yang biasanya diperoleh dengan hidrolisis dari amilum. Glukosa mengandung satu molekul air atau anhidrat dengan rumus molekul  $C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$ . Glukosa berupa kristal monohidrat. Glukosa larut dalam air dan rasa manisnya lebih rendah 25% dibandingkan dengan gula sukrosa (gula pasir). Glukosa digunakan sebagai energi bagi tubuh, pemasok karbon dalam sintesis protein dalam tubuh, penghambat kristalisasi. Glukosa juga merupakan bahan penting dalam industri fermentasi (20).

Sukrosa juga disebut saccharum atau gula dan tersebar luas dalam tanaman. Sukrosa berupa kristal berbentuk kubus, tidak berwarna, tidak berbau, rasa manis, stabil di udara, bereaksi netral terhadap lakmus, mudah larut dalam air, dan agak sukar larut dalam alkohol. Sukrosa juga mampu menambah kelarutan beberapa senyawa yang sukar larut dalam air (24).

#### 4. KESIMPULAN

Profil metabolit sekunder fermentasi bakteri asam laktat pada ekstrak buah kersen (*Muntingia calabura* L.) menunjukkan bahwa buah kersen mengandung senyawa flavonoid dan tanin. Produk fermentasi BAL (*Bakteri asam laktat*) ekstrak buah kersen (*Muntingia calabura* L.) tanpa penambahan stimulan memiliki aktivitas paling besar yaitu sebesar 13,787 mg AAE/g ekstrak, sedangkan dengan adanya penambahan stimulan mengalami penurunan aktivitas.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Pramono, V. J., & Santoso, R. (2014). Pengaruh Ekstrak Buah Kersen ( *Muntingia calabura* ) terhadap Kadar Gula Darah Tikus Putih ( *Rattus novergicus* ) yang Diinduksi Streptozotocin ( STZ ). *Jurnal Sain Veteriner*, 32(2), 218–223.
2. Gomathi, R., Anusuya, N., & Manian, S. (2013). A dietary antioxidant supplementation of Jamaican cherries (*Muntingia calabura* L.) attenuates inflammatory related disorders. *Food Science and Biotechnology*, 22(3), 787–794.
3. Zuhud. *Antioksidan Nabati Ramuan dan Aplikasi*. Penebar Swadaya: Jakarta.2011.
- 4 Tahir, M., Heluth, A. C., & Widiastuti, H. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan Buah Semangka (*Citrullus Lanatus*) Dengan Metode Frap. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 8(1), 31–38.
5. Nurholis, N., & Saleh, I. (2019). Hubungan Karakteristik Morfofisiologi Tanaman Kersen (*Muntingia Calabura*). *Agovigor: Jurnal Agoekoteknologi*, 12(2), 47–52.
6. Rahmadi, A. (2019). *Bakteri Asam Laktat dan Mandai Cempedak*. *Mulawan Univesity Press*, 1, 1–203.
7. Zoumpopoulou, G., Tzouvanou, A., Mavrogonatou, E., Alexandraki, V., Georgalaki, M., Anastasiou, R., Papadelli, M., Manolopoulou, E., Kazou, M., Kletsas, D., Papadimitriou, K., & Tsakalidou, E. (2018). Probiotic Features of Lactic Acid Bacteria Isolated from a Diverse Pool of Traditional Geek Dairy Products Regarding Specific Strain-Host Interactions. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 10(2), 313–322.
8. Wirajana, I. N., Juliasari, N. M. T., Laksmiwati, A. A. I. A. M., & Bogoriani, N. W. (2019). Suhu Dan Waktu Optimum Proses Ekstraksi Antosianin Dalam Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas* L.) Dengan  $\alpha$ -L-Arabinofuranosidase. *Jurnal Kimia*, 13(1), 88.
9. Gulcin, I., & Beydemir, S. (2013). Phenolic Compounds as Antioxidants: Carbonic Anhydrase Isoenzymes Inhibitors. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 13(3), 408–430.
10. Hadi, K., & Permatasari, I. (2019). Uji Fitokimia Kersen (*Muntingia calabura* .L) dan Pemanfaatannya Sebagai Alternatif Penyembuhan Luka. *Prosiding Sains TeKes*, 1, 2231.
11. King, T., Dykes, G., & Kristianti, R. (2008). Comparative evaluation of methods commonly used to determine antimicrobial susceptibility to plant extracts and phenolic compounds. *Journal of AOAC International*, 91(6), 1423–1429.
12. Naghmouchi, K., Belguesmia, Y., Bendali, F., Spano, G., Seal, B. S., & Drider, D. (2019). *Lactobacillus fermentum*: a bacterial species with potential for food preservation and biomedical applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 0(0), 1–13.
13. Sen, S., Chakraborty R. (2011). The role of antioxidant in human health. *ACS Symposium Series1083*, 1-37.

14. Mbaoji, F., Ezike, A., Nworu, C., Onyeto, C., Nwabunike, I., OKOLI, I., & Akah, P. (2016). Antioxidant and hepatoprotective potentials of *Stemonocoleus micranthus* harms (Fabaceae) stem bark extract. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8, 47–51
15. Julianto, T. S. (2019). Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9).
- 16 Harbone, J. B. (1987). Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Sudiro. Terbitan kedua. Bandung: ITB.
17. Hur, S. J., Lee, S. Y., Kim, Y. C., Choi, I., & Kim, G. B. (2014). Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food Chemistry*, 160, 346–356.
18. Idris, N. (2011). *Penentuan aktivitas antioksidan dari buah melon (Cucumis Melo Linn .) secara spektrofotometri UV-Vis.*
19. Ilkafah, I. (2018). Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Sebagai Alternatif Terapi Pada Penderita Gout Arthritis. *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)*, 1(1).
20. Illing, I., Safiitri, W., & Erfiana. (2017). Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. *Dinamika*, 08(1), 66–84.
21. Kosasih, E., Supriatna, N., Ana, E. (2013). Informasi singkat benih kersen/talok (*Muntingia calabura* L.). Balai pembenihan Tanaman Hutan Jawa dan Madura.
22. Krabi, R. E., Assamoi, A. A., Ayawovi Ehon, F., & Niamke, S. L. (2015). Screening of Lactic Acid Bacteria As Potential Starter for the Production of Attiéké, a Fermented Cassava Food. *Journal of Faculty of Food Engineering, XIV*(1), 21–29.
23. Nugaha, A. (2017). Profil Senyawa Dan Aktifitas Antioksidan Daun Yakon (*Smallanthus Sonchifolius*) Dengan Metode Dpph Dan Cuprac. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 13(1), 15–18.
24. Preethi, K., Premasudha, P., & Keerthana, K. (2012). Anti-inflammatory activity of *Muntingia calabura* fruits. *Pharmacognosy Journal*, 4(30), 51–56.
25. Rosandari, T., Thayib, H. M., & Krisdiawati, N. (2010). Variasi Penambahan Gula Dan Lama Inkubasi Pada Proses Fermentasi Cider Kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta, Vol 08*(3), 1–11.
- 26 Sukenda, Hadi, P., & Harris, E. (2006). Pengaruh Pemberian Sukrosa Sebagai Sumber Karbon Dan Probiotik Terhadap Dinamika Populasi Bakteri Dan Kualitas Air Media Budidaya Udang Vaname, *Litopenaeus vannamei*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 2(1), 179–190.
27. Tjitrosoepomo, G. (2006). *Morfologi Tumbuhan*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta

28. Tristantini, D., Ismawati, A., Tegar Pradana, B., & Gabriel Jonathan, J. (2016). Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan” Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (Mimusops elengi L). *Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan*.
29. Vinarova, L., Vinarov, Z., Atanasov, V., Pantcheva, I., Tcholakova, S., Denkov, N., & Stoyanov, S. (2015). Lowering of cholesterol bioaccessibility and serum concentrations by saponins: In vitro and in vivo studies. *Food and Function*, 6(2), 501–512
30. Yefrida, Ashikin, N., Ashikin, N., -, R., & -, R. (2015). Validasi Metoda Frap Modifikasi Pada Penentuan Kandungan Antioksidan Total Dalam Sampel Mangga Dan Rambutan. *Jurnal Riset Kimia*, 8(2), 170.
31. Zago, M., Fornasari, M. E., Carminati, D., Burns, P., Suàrez, V., Vinderola, G., Reinheimer, J., & Giraffa, G. (2011). Characterization and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from cheeses. *Food Microbiology*, 28(5), 1033–1040.
32. Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., O’toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G., & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782–2858.