



AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI TEPUNG KACANG GUDE (*Cajanus cajan*) SEBAGAI BAHAN PEMBUATAN BIOENKAPSULASI *Lactobacillus casei*

*Antioxidant and Antibacterial Activity of Gude Bean (*Cajanus cajan*) Flour as Bioencapsulation Materials of *Lactobacillus casei**

Lina Oktavia Rahayu^{1*}, Ambar Fidyasari²

¹Prodi Farmasi, Politeknik Kesehatan Putra Indonesia Malang

² Prodi Analis Farmasi dan Makanan, Politeknik Kesehatan Putra Indonesia Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: *Lactobacillus casei* merupakan salah satu jenis bakteri yang berfungsi sebagai bakteri probiotik. Idealnya probiotik harus mampu bertahan dan memiliki kemampuan berkembang biak dalam saluran pencernaan. Cara yang perlu dilakukan adalah penambahan prebiotik dan perlindungan probiotik dengan cara bioenkapsulasi. Salah satu jenis bahan alami yang dapat digunakan sebagai prebiotik sekaligus bahan bioenkapsulasi adalah tepung kacang gude (*Cajanus cajan*), karena mengandung antioksidan dan berfungsi sebagai antibakteri. **Tujuan:** Untuk mengetahui aktivitas antioksidan tepung kacang gude dan kemampuan biokapsul tepung kacang gude dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. **Metode:** Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan yaitu pembuatan tepung kacang gude, ekstraksi tepung kacang gude dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, pembuatan biokapsul, dan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi sumuran terhadap *E. coli*. **Hasil:** Ekstrak tepung kacang gude memiliki nilai IC₅₀ sebesar 850,47 ppm. Ekstrak tepung kacang gude dan biokapsul tepung kacang gude dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan diameter zona bening sebesar 11,01 ± 1,84 mm dan 13,68 ± 2,25 mm. **Kesimpulan:** Tepung kacang gude memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori yang lemah, namun berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan bioenkapsulasi bakteri probiotik karena kemampuannya dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Kata Kunci: Tepung kacang gude, Biokapsul, Antioksidan, Antibakteri

ABSTRACT

Introduction: *Lactobacillus casei* is one type of bacteria that functions as probiotic bacteria. Ideally probiotics should be able to survive and have the ability to multiply in the digestive tract. The way that needs to be done is the addition of prebiotics and probiotic protection by means of bioencapsulation. One type of natural material that can be used as a prebiotic as well as a bioencapsulation material is gude bean flour (*Cajanus cajan*), because it contains antioxidants and functions as an antibacterial. **Objective:** To determine the antioxidant activity of gude flour and the ability of gude flour biocapsules to inhibiting the growth of pathogenic bacteria. **Method:** This study consisted of several stages, making of gude bean flour, extraction of gude flour by maceration method with 96% ethanol solvent, testing of antioxidant activity by DPPH method, making of biocapsules, and testing of antibacterial activity by well diffusion method against *E. coli*. **Result:** Gude bean flour extract has an IC₅₀ value of 850.47 ppm. Gude bean flour extract and gude bean flour biocapsules could inhibit the growth of *E. coli* with clear zone diameters of 11.01 ± 1.84 mm and 13.68 ± 2.25 mm, respectively. **Conclusion:** Gude bean flour has a weak category of antioxidant activity, but has the potential to be used as a bioencapsulation material for probiotic bacteria because of its ability to inhibit the growth of pathogenic bacteria.

Keywords: Gude bean flour, Biocapsules, Antioxidant, Antibacterial

Alamat Korespondensi:

Lina Oktavia Rahayu: Politeknik Kesehatan Putra Indonesia Malang, Jalan Barito No. 5 Malang.
081334736747. linaoktavia85@gmail.com

PENDAHULUAN

Lactobacillus casei adalah salah satu jenis golongan bakteri asam laktat yang banyak digunakan sebagai agen probiotik. Bakteri probiotik dapat difungsikan sebagai pangan fungsional dan produk farmaseutikal. Bakteri ini berperan dalam mendukung dan menjaga kesehatan saluran pencernaan manusia. Bakteri probiotik harus mampu hidup dengan jumlah yang stabil selama terjadi proses produksi, hingga dikonsumsi dan masuk ke dalam saluran pencernaan (1). Salah satu cara untuk menjaga viabilitas bakteri probiotik tersebut adalah dengan penambahan prebiotik dan perlindungan probiotik dengan cara bioenkapsulasi.

Prebiotik merupakan bahan pangan yang mampu memicu pertumbuhan bakteri probiotik dan juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen (2). Salah satu bahan pangan yang dapat digunakan sebagai prebiotik dan bahan bioenkapsulasi adalah kacang gude (*Cajanus cajan*). Kacang gude (*Cajanus cajan*) diketahui mengandung protein, karbohidrat, lemak dan sumber serat yang baik (3).

Selain dapat berfungsi sebagai prebiotik dan bahan bioenkapsulasi, kacang gude termasuk dalam golongan

kacang-kacangan, dimana kacang-kacangan adalah sumber dari senyawa fenolik dan berperan sebagai metabolit reaktif yang terkait dengan aktivitas antioksidan. Senyawa fenolik yang terkandung dalam kacang-kacangan memiliki banyak manfaat bagi kesehatan diantaranya sebagai antioksidan, antimikroba, antikarsinogenik, dan sebagainya (4). Kacang gude (*Cajanus cajan*) diketahui juga mengandung antocyanin dan senyawa fenolik yang berperan sebagai metabolit reaktif dan berkaitan dengan aktivitas antioksidan (5).

Kacang gude (*Cajanus cajan*) yang diolah menjadi tepung akan memiliki kelebihan dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama, mudah diolah, dapat menghilangkan senyawa anti gizi di dalamnya (6), mudah dicampur dengan tepung lain dan diperkaya zat gizi melalui proses fortifikasi (7).

Berdasarkan uraian diatas, kacang gude diketahui berfungsi sebagai antioksidan dan antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimanakah aktivitas antioksidan kacang gude yang diolah menjadi tepung kemudian dibuat menjadi biokapsul tepung kacang gude dalam

menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Sehingga diharapkan dari penelitian ini dapat memberikan informasi kemampuan tepung kacang gude sebagai bahan bioenkapsulasi yang dapat menunjang pengembangan pangan fungsional dan produk farmaseutikal.

METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang pada bulan Juli - Oktober 2022.

Alat

Ayakan mesh 100, *rotary evaporator* (IKA RV8), *waterbath* (Thermostat Waterbath HH-6), spektrofotometer UV-Vis (Genesys), *Laminar Air Flow* (Mascotte Model LH-M), inkubator (Memmert), dan jangka sorong.

Bahan

Kacang gude hitam dari Bali, etanol 96% (Merck), larutan DPPH (Merck), media MRSB (*de man Rogosa Sharpe Broth*) (Merck), media MHA (*Mueller Hinton Agar*) (Merck), sodium alginat, tween 20, CaCl₂.2H₂O (Merck), *Lactobacillus casei* dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran

Universitas Brawijaya, dan aquades steril.

Sampel

Sampel yang digunakan adalah kacang gude hitam (*Cajanus cajan*) dari Bali.

Pembuatan Tepung Kacang Gude

Kacang gude yang baik dikeringkan pada suhu 55 °C, digiling menjadi tepung kemudian diayak hingga didapatkan ukuran 100 mesh (8).

Pengujian Kimia Tepung Kacang Gude

Pengujian kimia tepung kacang gude meliputi kadar protein, kadar lemak, kadar air, kadar abu, karbohidrat dan serat kasar dianalisa di Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang.

Ekstraksi Tepung Kacang Gude

Tepung kacang gude sebanyak 100 g ditambahkan 1 L pelarut etanol 96% dan direndam selama 2x24 jam pada suhu ruang sambil sesekali diaduk. Hasil perendaman disaring hingga didapatkan filtrat. Filtrat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak cair. Ekstrak cair diuapkan kembali menggunakan *waterbath* sehingga didapatkan ekstrak kental (9).

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tepung Kacang Gude

Ekstrak tepung kacang gude dilarutkan hingga mencapai lima konsentrasi yang berbeda yaitu antara 50 mg/L sampai dengan 1.000 mg/L ditambahkan dengan larutan DPPH. Kocok campuran hingga homogen dan dibiarkan selama 30 menit dalam kondisi gelap. Absorbansinya diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH yaitu 525 nm. Aktivitas antioksidan sampel diketahui dari besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH (10,11).

Pembuatan Biokapsul *Lactobacillus casei* dengan Tepung Kacang Gude

Suspensi *Lactobacillus casei* yang telah diinkubasi selama 48 jam dipanen dengan cara disentrifugasi. Biomassa (pellet) yang dihasilkan, ditambahkan dengan sodium alginat : tepung kacang gude (1:2) dan 25% (v/v) tween 20 (12). Campuran ini kemudian digranulkan dan direndam pada larutan 5%

$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ hingga terbentuk biokapsul. Biokapsul yang diperoleh kemudian dikeringkan pada suhu 37 °C selama 20 jam dilanjutkan pengeringan pada suhu kamar.

Uji Aktivitas Antibakteri Biokapsul Tepung Kacang Gude

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumuran dengan bakteri uji yang digunakan adalah *Escherichia coli*. Suspensi *Escherichia coli* sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam cawan petri kemudian dengan metode pour plate ditambahkan media MHA (*Mueller Hinton Agar*). Pada sumuran dimasukkan biokapsul tepung kacang gude konsentrasi 100% (13).

Analisa Data

Analisa data diolah secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tepung kacang gude yang diperoleh juga dilakukan pengujian kimia, dengan memberikan hasil yang disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Kimia Tepung Kacang Gude

Parameter Uji	Kadar (%)
Protein	19,36
Lemak	1,30
Kadar Air	12,66
Kadar Abu	3,43
Karbohidrat	63,25
Serat Kasar	6,49%

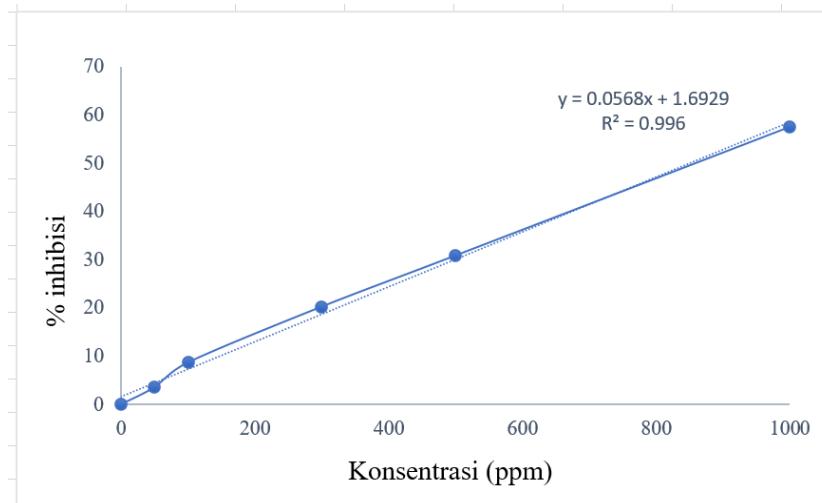
Hasil ini sesuai dengan data dari *Food and Agricultural Organization*, kacang gude mengandung 20-22% protein, 65% karbohidrat, 1,2% lemak. Kacang gude juga merupakan sumber serat kasar yang baik, dan juga mengandung mineral penting (14). Selain itu juga mengandung asam lemak tak jenuh yang dapat digunakan sebagai campuran bahan makanan (9).

Hasil dari proses ekstraksi tepung kacang gude adalah ekstrak kental yang selanjutnya digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan. Kadar antioksidan tepung kacang gude ditandai dengan nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi larutan sampel yang digunakan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Nilai IC₅₀ suatu bahan uji berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin kuat aktivitas antioksidannya (15).

Dari persamaan grafik (Gambar 1) maka dapat ditentukan nilai IC₅₀ dari ekstrak tepung kacang gude adalah 850,47 ppm. Suatu sampel dapat dikatakan memiliki antioksidan yang sangat kuat, jika memiliki nilai IC₅₀ di bawah 50 ppm. Antioksidan kuat jika memiliki nilai IC₅₀ 50-100 ppm, antioksidan sedang jika memiliki nilai IC₅₀ 101-150 ppm, dan antioksidan

lemah jika memiliki nilai IC₅₀ diantara 150-200 ppm (15). Berdasarkan kategori tersebut, tepung kacang gude memiliki aktivitas antioksidan yang lemah.

Pada penelitian sebelumnya, diketahui kadar antioksidan ekstrak kacang gude memiliki kandungan antioksidan lebih tinggi dibandingkan kandungan antioksidan pada daun dan akar (9). Oleh karena itu, kacang gude juga dapat dimanfaatkan sebagai salah satu sumber pangan fungsional. Pada pengujian dengan metode DPPH, ekstrak biji kacang gude memiliki nilai IC₅₀ sebesar 844 ppm, pada ekstrak akar memiliki nilai IC₅₀ sebesar 1.184 ppm, dan ekstrak daun memiliki nilai IC₅₀ sebesar 1.407 ppm (16). Sedangkan pada hasil penelitian yang lain disebutkan ekstrak alkalin dari biji kacang gude memiliki aktivitas antioksidan lebih dari 1.000 ppm (17). Persamaan grafik nilai IC₅₀ antara % inhibisi dengan konsentrasi (ppm) dapat dilihat pada gambar 1 di bawah ini, dengan nilai persamaan regresi $y = 0.0568x + 1.6929$ dan nilai $R^2 = 0.996$ yang artinya dengan ketentuan semakin mendekati angka satu berarti semakin baik.

**Gambar 1. Grafik Nilai IC₅₀**

Proses pengolahan kacang gude menjadi tepung dapat juga berpengaruh terhadap kadar antioksidannya. Proses pengolahan seperti penggilingan, penghilangan kulit ari, pemanasan kering, dapat memberikan efek terhadap kandungan antioksidan pada jenis kacang-kacangan (4).

Ekstrak tepung kacang gude dan biokapsul tepung kacang gude juga dilakukan pengujian antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hal ini untuk mengetahui kemampuan penghambatan biokapsul tepung kacang gude terhadap bakteri patogen. Hasil dari pengujian ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengujian Antibakteri

Sampel Uji	Diameter Zona Bening (mm)
Ekstrak Tepung Kacang Gude	11,01 ± 1,84
Biokapsul Tepung Kacang Gude	13,68 ± 2,25

Tabel 2 menunjukkan bahwa biokapsul tepung kacang gude dapat menghambat bakteri patogen sebesar $13,68 \pm 2,25$ mm, lebih besar penghambatannya dibandingkan ekstrak tepung kacang gude tanpa adanya enkapsulasi dengan bakteri probiotik.

Ekstrak tepung kacang gude sendiri diketahui dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri *S. aureus*, *E.*

coli, dan *P. aeruginosa* (13). Artinya tepung kacang gude terbukti memiliki sifat sebagai antibakteri. Ketika tepung kacang gude dijadikan bahan bioenkapsulasi dengan *Lactobacillus casei* tentunya aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen menjadi lebih besar. Hal ini disebabkan karena *Lactobacillus casei* sebagai bakteri asam laktat dapat menghasilkan

bakteriosin yang sifatnya dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain. Bakteriosin adalah senyawa protein yang memiliki efek bakterisida terhadap mikroorganisme lain, berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan patogen (18).

Mekanisme penghambatan ini juga disebabkan karena bakteri asam laktat selain memproduksi bakteriosin, juga memproduksi beberapa metabolit seperti asam organik (asam laktat, asam asetat, dan asam format), hidrogen peroksida, dan diasetil (19,20).

Hal ini membuktikan bahwa tepung kacang gude dapat dijadikan sebagai bahan untuk enkapsulasi bakteri probiotik dan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen.

KESIMPULAN

Tepung kacang gude memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori yang lemah, namun berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan bioenkapsulasi bakteri probiotik karena kemampuannya dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan

Teknologi yang telah mendanai penelitian melalui skema Hibah Penelitian Dosen Pemula.

DAFTAR PUSTAKA

1. Agriopoulou S, Tarapoulouzi M, Varzakas T, Jafari SM. Application of Encapsulation Strategies for Probiotics: From Individual Loading to Co-Encapsulation. *Microorganisms*. 2023;11(12):1–25.
2. Mariana E, Susanti H. Pengaruh Suplementasi Tepung Terigu terhadap Pertumbuhan dan Laju Pengemasan Probiotik *Lactobacillus acidophilus*. *J Teknol dan Ind Pertan Indones*. 2012;4(3):14–9.
3. Maulidina K. Studi Eksperimen Pemanfaatan Tepung Kacang Gude / Undis (*Cajanus cajan*) Menjadi Kue Iwel Khas Bali. *J Kuliner*. 2021;1(1):25–36.
4. Diniyah N, Lee S-H. Komposisi Senyawa Fenol dan Potensi Antioksidan dari Kacang-Kacangan: Review. *J Agroteknologi*. 2020;14(1):91.
5. Widnyani IAPA, Rabani RS IGAY. Formulation of Gude Bean Flour (*Cajanus cajan*), with

- Kratok Bean (*Phaseolus lunatus*) and Red Bean (*Phaseolus vulgaris*) in Making of Functional Snack Bar. *Int J Chem Mater Sci.* 2021;4(1):20–6.
6. Augustyn GH, Moniharapon E, Resimere S. Analisa Kandungan Gizi Tepung Kacang Gude Hitam (*Cajanus cajan*) dengan Beberapa Perlakuan Pendahuluan. *J Teknol Pertan.* 2017;6(1):27.
7. Sianturi RE, Permana IDGM, Ina PT. Pengaruh Perbandingan Tempe dan Puree Daun Kelor (*Moringa Oleifera L.*) terhadap Karakteristik Nugget. *J Ilmu dan Teknol Pangan.* 2022;11(2):216–25.
8. Sun Q, Yin S, He Y, Cao Y. Biomaterials and Encapsulation Techniques for Probiotics: Current Status and Future Prospects in Biomedical Applications. *Nanomaterials.* 2023;13(15):1–29.
9. Yang SE, Vo TLT, Chen CL, Yang NC, Chen CI, Song TY. Nutritional Composition, Bioactive Compounds and Functional Evaluation of Various Parts of *Cajanus cajan* (L.) Millsp. *Agric.* 2020;10(11):1–13.
10. Ersam T, Fatmawati S, Fauzia DN. New Prenylated Stilbenes and Antioxidant Activities of *Cajanus cajan* (L.) Millsp. (Pigeon pea). *Indones J Chem.* 2018;16(2):151.
11. Putri OK, Rahayu LO, Hadiwibowo GF, Dianiar Manggarani R. Pengaruh Metode Preparasi Ekstrak Daun Waru (*Hisbicus tiliaceus*) sebagai Antioksidan terhadap Kadar Flavonoid dan Fenolik Total. *Akta Kim Indones.* 2021;6(2):162–73.
12. Widodo S, Wahyuni E. Organoleptic and Dietary Fiber Quality of Black Pigeon Pea Flour as Bioencapsulation Material. *J Inov Penelit.* 2022;3(4):5911–8.
13. Pratima H, Mathad Pratima. In Vitro Antibacterial Activities of Different Solvent Extracts of *Cajanus cajan* L. Seed Coat and Cotyledon. *Asian J Pharm Clin Res.* 2018;11(5):325–8.
14. Wida Nurhalisaa, Lumbessya SYDPL. Tingkat Kecernaan Pakan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan Penambahan Tepung Kacang Gude (*Cajanus*

- cajan). Aquat Sci J. 2022;9(1):12–21.
15. Antari NWS, Damayanti IAM, Wulansari NT. Antioxidant Activity, Carbohydrates and Protein in Sorgum (Sorghum bicolor L. Moench) Plants as a Development of Economic Functional Food Materials During the COVID-19 Pandemic. Int J Chem Mater Sci Mater Sci. 2021;4(1):33–6.
16. Devi RR, Premalatha R, Kayathri R. Evaluation of Total Phenols, Total Flavonoids and In vitro Antioxidant Activity in the Ethanolic Leaf, Seed and Root Extract of *Cajanus cajan* (L.) Mill sp. Int J Curr Microbiol Appl Sci. 2016;5(10):688–97.
17. Vo TLT, Yang NC, Yang SE, Chen CL, Wu CH, Song TY. Effects of *Cajanus cajan* (L.) Millsp. Roots Extracts on the Antioxidant and Anti-inflammatory Activities. Chin J Physiol. 2020;63(3):137–48.
18. Sine Y, Pardosi L. Perubahan Kandungan Antioksidan Kacang Gude (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) pada Proses Fermentasi Tempe Gude. J Pendidik Biol Undiksha. 2021;8(1):1–6.
19. Desniar, Rusmana I, Suwanto A, Mubarik NR. Penapisan Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat Asal Bekasam. J Has Perikan Indones. 2011;14(2):124–33.
20. Purwijantiningssih E. Pengaruh Jenis Prebiotik terhadap Kualitas Yogurt. Biota. 2007;12(3):177–85.