



## Hidrolisis minyak biji asam jawa (*tamarindus indica* linn) menjadi asam lemaknya dan uji aktivitas antibakteri

Arnanda Dhafin Rizky, Sutrisno\*, Parlan

Universitas Negeri Malang, Jl. Semarang No. 5 Malang, Jawa Timur, Indonesia

\*Penulis korespondensi, Surel: sutrisno.fmipa@um.ac.id

Paper received: Paper received: 01-02-2022; revised: 15-02-2022; accepted: 28-02-2022

### Abstract

Saponification tamarind seed oil used potassium hydroxide and acidification with hydrochloric acid is produced fatty acid in the form of soft white solid, has melting point 50-55 °C. The result of this hydrolysis positive test of unsaturation. It has an acid number of 115.36, saponification number of 114.80, and iodine number of 53.34. The success of hydrolysis of oil into fatty acid is characterized by identification of IR spectra showing O-H vibration with moderate intensity and widening, C=O vibration of carboxylic acid with strong intensity. Fatty acids of tamarind seed have the potential as antibacterial to test bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* with diameter respectively 7.31 mm and 7.58 mm.

**Keywords:** fatty acid; hydrolysis tamarind seeds oil; antibacterial

### Abstrak

Minyak biji asam jawa yang disaponifikasi menggunakan kalium hidroksida dan pengasaman dengan asam klorida dihasilkan asam lemak berupa padatan lunak berwarna putih, memiliki titik lebur 50-55 °C. hasil hidrolisis ini positif uji ketidakterjenuhan, bilangan asam 115,36, bilangan penyabunan 114,80, dan bilangan iod 53,34. Keberhasilan hidrolisis minyak menjadi asam lemak ditandai dari identifikasi spektrum IR yang menunjukkan vibrasi ulur O-H dengan intensitas sedang dan melebar serta vibrasi ulur C=O asam karboksilat dengan intensitas kuat. Asam lemak biji asam jawa berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan zona hambat masing-masing 7,31 mm dan 7,58 mm.

**Kata kunci:** asam lemak; hidrolisis minyak biji asam jawa; antibakteri

### 1. Pendahuluan

Tanaman asam jawa (*Tamarindus indica* Linn) memiliki beberapa bagian yang biasa digunakan untuk pengobatan antara lain daun, kulit batang, daging buah, dan biji. Tanaman asam jawa pada umumnya dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan pengobatan tradisional seperti pengobatan sakit perut, diare dan disentri, infeksi cacing, penyembuhan luka, malaria, demam, sembelit, peradangan, sitotoksitas sel, gonore, dan penyakit mata (Bhadoriya *et al*, 2011). Daun muda asam jawa digunakan masyarakat sebagai bahan baku pembuatan jamu sinom, untuk daging buahnya digunakan bahan baku pembuatan permen, dan daunnya biasanya digunakan sebagai sayur.

Biji asam jawa umumnya tidak dimanfaatkan karena masyarakat biasanya hanya memanfaatkan daging buahnya saja. Biji asam jawa digunakan sebagai bibit atau cenderung dibuang sehingga berpotensi menjadi bahan buang "limbah". Sebagai bagian dari tanaman, biji merupakan produk akhir metabolisme tanaman serta bagian yang penting untuk keberlangsungan regenerasinya. Oleh karena itu diduga dalam biji terkandung banyak senyawa-senyawa kimia yang unik dan perlu dilakukan penelitian tentang biji untuk mengetahui potensinya.

Daun asam jawa dapat digunakan untuk menyembuhkan berbagai penyakit seperti konstipasi, dispepsia, dan infeksi saluran cerna (Mun'im *dkk.* 2009). Buah asam jawa dapat digunakan sebagai obat diare (Kuru, 2014), selain itu, salah satu bagian yang kurang dimanfaatkan adalah biji asam jawa. Menurut Luzia & Jorge (2011) ekstrak etanol biji asam jawa dapat memiliki aktivitas sebagai antioksidan (75,93%) dan memiliki beberapa senyawa fenolik. Penelitian Ara & Islam (2009) menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji asam jawa mempunyai aktivitas antibakteri terhadap empat bakteri gram positif (*Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus aureus*, dan *Sarcina lutea*), dan empat bakteri gram negatif (*Shigella dysenteriae*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, dan *Salmonella paratyphi*), zona inhibisi terbesar terjadi pada *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*, masing-masing 18 mm dan 17,25 mm.

Pada penelitian sebelumnya Perdana (2016) melakukan ekstraksi biji asam jawa menggunakan aseton, dilanjutkan fraksinasi menggunakan heksana didapatkan minyak biji asam jawa yang tidak aktif antibakteri terhadap bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Menurut (Davidson *et al.* 2015:332) trigliserida tidak memiliki aktivitas antibakteri kecuali trigliserida dengan asam lemak penyusunnya memiliki jumlah karbon kurang dari 8, karena molekul trigliserida dengan struktur molekul yang besar tidak dapat menembus dinding sel dari bakteri yang menyebabkan trigliserida tersebut tidak aktif sebagai antibakteri. Oleh karena itu, perlu dilakukannya transformasi trigliserida menjadi bentuk yang lebih sederhana yaitu asam lemaknya.

Asam lemak biji asam jawa dapat diperoleh dengan menghidrolisis minyak biji asam jawa. Hidrolisis dapat dilakukan menggunakan katalis basa atau asam. Pada penelitian ini dilakukan dengan katalis basa yaitu kalium hidroksida dan dilakukan pengasaman untuk didapat asam lemak bebasnya.

Pada penelitian Perdana (2016: 47) diketahui beberapa komponen asam-asam lemak penyusunnya yang memiliki aktivitas antibakteri. Menurut Desbois & Smith (2010) Aktivitas biologi asam lemak memiliki peran dalam melawan potensi mikroorganisme patogen atau oportunistik karena asam lemak dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh langsung bakteri. Asam laurat memiliki aktivitas antibakteri tertinggi, kedua asam linoleat, dan ketiga asam palmitat. Aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh banyaknya karbon dan ikatan ganda dalam asam lemak tersebut (Shilalahi *et al.* 2015).

Uji aktivitas antibakteri terhadap asam-asam lemak hasil hidrolisis minyak biji asam jawa belum pernah diteliti sebelumnya. Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi karakter campuran asam-asam lemak hasil hidrolisis minyak biji asam jawa dan menentukan aktivitasnya sebagai antibakteri. Hidrolisis minyak biji asam jawa untuk memperoleh campuran asam-asam lemaknya yang lebih potensial aktivitas antibakterinya. Oleh karena itu, maka perlu penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan komponen aktif dalam biji asam jawa dan uji aktivitasnya sebagai antibakteri.

## 2. Metode

Penelitian ini dilakukan secara eksperimen di laboratorium. Rancangan penelitian ini adalah deskriptif laboratorik yang terdiri dari 6 tahap yang dilakukan pada penelitian ini adalah, 1) preparasi sampel; 2) isolasi biji asam jawa dengan heksana; 3) uji karakterisasi isolat biji asam jawa; 4) saponifikasi minyak biji asam jawa; 5) pengasaman hasil saponifikasi; 6) uji aktivitas antibakteri.

ekstraksi biji asam jawa dengan pelarut heksana yaitu, (1) serbuk halus biji asam jawa bagian dalam diekstraksi dengan maserasi menggunakan pelarut heksana selama 3×24jam; (2) ekstrak heksana dievaporasi untuk menghilangkan pelarut; (3) ekstrak pekat ditimbang.

Uji karakterisasi ekstrak biji asam jawa yaitu, 1) analisis wujud dan warna; (2) massa jenis; (3) indeks bias; (4) viskositas; (5) uji ketidakhayunan dengan direaksikan cairan brom dalam CCl<sub>4</sub>; (6) uji penyabunan dengan direaksikan dengan KOH alkoholis (7) bilangan asam; (8) bilangan penyabunan, (9) bilangan iod; dan interpretasi spektrum IR.

Saponifikasi dan pengasaman minyak biji asam jawa yaitu, (1) 10 gram minyak biji asam jawa dimasukkan ke dalam labu leher tiga dan dirangkai refluks; (2) ditambahkan KOH 2,898 gram dalam 23 mL aquades; (3) diaduk menggunakan *magnetic stirrer*; (4) dipanaskan hingga suhu mencapai ±80°C; (5) dipanaskan hingga perubahan konstan; (6) ditambahkan HCl 1M tetes demi tetes hingga menjadi suasana asam (merubah kertas lakmus biru); (7) karakterisasi dan interpretasi spektrum IR

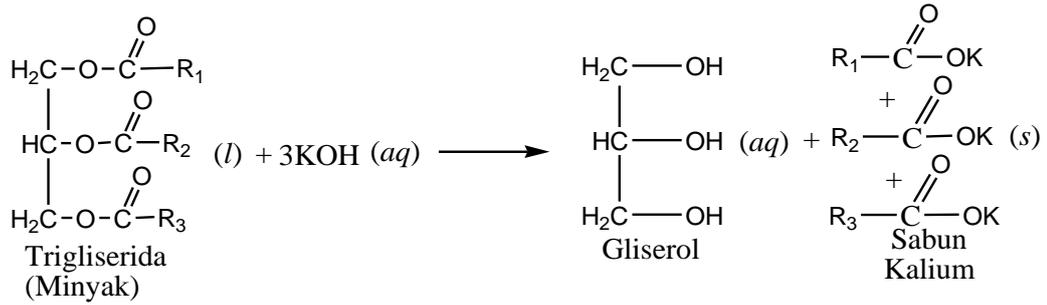
Uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Malang yaitu, (1) membuat media Nutrien Cair (NC) dan Nutrien Agar (NA); (2) sterilisasi media media NA dan NC melalui sterilisasi uap panas; (3) Persiapan biakan murni *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*; (4) uji aktivitas antibakteri melalui kertas cakram dan diukur diameter zona bening pertumbuhan bakteri uji dengan jangka sorong.

### 3. Hasil dan Pembahasan

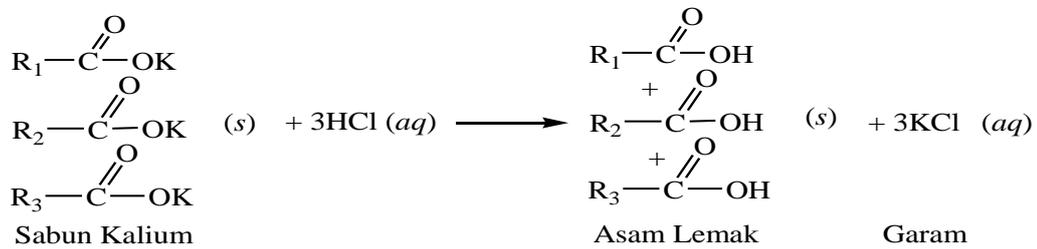
Biji asam jawa dicuci dengan air lalu dikeringkan berikutnya digiling kasar untuk memisahkan isi biji dan kulit luar biji. Isi biji selanjutnya digiling halus untuk memperlebar luas permukaan biji asam jawa. Serbuk halus biji asam jawa bagian dalam sebanyak 700 gram diekstraksi dengan maserasi menggunakan pelarut *n*-heksana dan menghasilkan residu dan maserat setelah disaring. Residu diberi perlakuan yang sama seperti sebelumnya yaitu diremaserasi lagi hingga maserat yang didapat warnanya pudar yang menandakan senyawa-senyawa yang dapat terekstrak dengan pelarut *n*-heksana sudah berhasil terekstrak semua, pada penelitian ini dilakukan 3×24 jam. Maserat larutan berwarna kuning dan residu berwarna putih. Maserat dievaporasi dengan rotavapor untuk menguapkan pelarutnya dan didapatkan ekstrak kental berwarna kuning muda seberat 39,75 gram. Rendemen yang diperoleh adalah sebesar 5,7% dapat dilihat di bagian analisis data.

Ekstrak ini berwujud cairan seperti minyak berwarna kuning, memiliki massa jenis 0,849 g.mL<sup>-1</sup>, indeks bias 1,464 (25°C), dan viskositas 11,159 cSt. Ekstrak ini positif terhadap uji penyabunan dan uji ketidakhayunan, memiliki bilangan asam 3,36, bilangan penyabunan 280,53, dan bilangan iod 111,76.

Saponifikasi maserat kental digunakan 10 gram dimasukkan dalam leher tiga yang telah dirangkai alat refluks, ditambahkan KOH 3,931 gram dalam 23,4 mL aquades terbentuk dua lapisan, lapisan atas berwarna kuning dan lapisan bawah berwarna kuning muda keruh, dan dipanaskan hingga suhu ±80°C, diaduk dengan *magnetic stirrer*, diamati terjadinya perubahan menjadi padatan lunak berwarna kuning atau campuran homogen yang diduga sabun kalium. Pada proses saponifikasi digunakan perbandingan minyak dengan KOH sebesar 1:6 agar dapat terjadi penyabunan sempurna dengan penambahan KOH yang berlebih. Persamaan reaksi saponifikasi sebagai berikut:



Setelah itu, dilakukan penambahan asam yaitu asam klorida untuk memperoleh asam lemak, didapatkan gumpalan putih dan larutan keruh yang diuji dengan kertas lakmus dihasilkan memerah kertas lakmus biru setelah itu dipisahkan dengan penyaringan didapatkan padatan putih dan filtrat. Berikut reaksi penambahan asamnya.



Hasil hidrolisis ini berupa padatan lunak yang berwarna putih, memiliki titik lebur 50-55 °C. Hasil hidrolisis ini positif uji ketidakkenuhan. Memiliki bilangan asam 115,36, bilangan penyabunan 114,80, dan bilangan iod 53,34. spektrum IR pada minyak biji asam jawa muncul vibrasi ulur O-H dengan intensitas lemah dan pada hasil hidrolisis terdapat vibrasi ulur O-H dengan intensitas sedang dan melebar. Pada spektrum minyak biji asam jawa muncul vibrasi ulur C=O ester dan asam karboksilat. Namun, pada spektrum hasil hidrolisis tidak muncul vibrasi ulur C=O ester hanya C=O asam karboksilat yang muncul. Perbandingan spektrum tersebut menunjukkan bahwa ester yang terdapat pada minyak biji asam jawa tersebut sudah berhasil dihidrolisis menjadi asam karboksilat dengan munculnya gugus fungsional -O-H dengan intensitas sedang dan melebar. Hasil spektrum IR menandakan terbentuknya asam lemak dari minyak biji asam jawa. Hasil uji antibakteri terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan zona hambat rata-ratanya yaitu 7,31 mm dan 7,58 mm. Hasil zona hambat rata-rata dapat disimpulkan bahwa asam-asam lemak hasil hidrolisis minyak biji asam jawa aktif sebagai antibakteri dengan kategori sedang karena diameter zona hambatnya lebih besar dari 6 mm dan kurang dari 11 mm.

## 4. Simpulan

### 4.1. Kesimpulan

Hidrolisis minyak biji asam jawa menggunakan katalis kalium hidroksida dilanjutkan pengasaman dengan asam klorida diperoleh padatan lunak berwarna putih. Zat ini disebut asam lemak biji asam jawa. Asam lemak biji asam jawa memiliki titik lebur 50-55 °C, positif uji ketidakkenuhan, bilangan asam 115,36, bilangan penyabunan 114,8, dan bilangan iod 53,34. Asam lemak biji asam jawa ini aktif sebagai antibakteri terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan zona hambatnya 7,31 mm dan 7,58 mm.

## 4.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, penulis memberikan saran bahwa diperlukan penelitian lebih lanjut uji aktivitas antibakteri selain bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, seperti *Salmonella typhi* dan *Lactobacillus plantarum*.

### Daftar Rujukan

- Ara, N. A. Z. N. I. N., & Islam, M. (2009). Phytochemical screening and invitro antibacterial activity of tamarindus indica seeds ethanolic extract. *Pakistan Journal of Pharmacology*, 26(1), 19-32.
- Bhadoriya, S. S., Ganeshpurkar, A., Narwaria, J., Rai, G., & Jain, A. P. (2011). *Tamarindus indica: Extent of explored potential*. *Pharmacognosy reviews*, 5(9), 73.
- Conner, D. E., & Beuchat, L. R. (1984). Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. *Journal of food science*, 49(2), 429-434.
- Davidson, P. M., Sofos, J. N., & Branen, A. L. (2005). *Antimicrobials in food*. CRC press.
- Desbois, P.A. & Smith, J.V. (2011). *Antibacterial free fatty acids: activities, mechanism of action and biotechnological potential*. *Appl. Microbiol. biotechnol.* 85: 1629-1642.
- Kuru, P. (2014). Tamarindus indica and its health related effects. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(9), 676-681.
- Luzia, D. M. M., & Jorge, N. (2011). *Antioxidant activity, fatty acid profile and tocopherols of Tamarindus indica L. seeds*. *Food Science and Technology*, 31, 497-501.
- Nurika, I., Mulyanto, A. R., & Afshari, K. (2007). Pemanfaatan biji asam jawa (*tamarindus indica*) sebagai koagulan pada proses koagulasi limbah cair tahu (kajian konsentrasi serbuk biji asam jawa dan lama pengadukan. Malang: Universitas Brawijaya.
- Perdana, R. P. P. (2016). Isolasi, karakterisasi, dan uji aktivitas antibakteri dari fraksi n-Heksana ekstrak aseton biji asam jawa (*Tamarindus indica* Linn) (Doctoral dissertation, Universitas Negeri Malang).
- Rasheed, S. (2014). Antibacterial activity of tamarindus indica seeds extract and study the effect of extract on adherence and biofilm production of some bacteria. *International Journal of Biological & Pharmaceutical Research*. 5(1): 42-47.
- Reis, P. M. C. L., Dariva, C., Vieira, G. Â. B., & Hense, H. (2016). Extraction and evaluation of antioxidant potential of the extracts obtained from tamarind seeds (*Tamarindus indica*), sweet variety. *Journal of Food Engineering*, 173, 116-123.
- Shilalahi, J., Manurung, R., & Sitompul, E. (2015). Antibacterial activity of hydrolyzed oils of different fatty acid composition against *Salmonella Thypi* and *Lactobacillus Plantarum*. *International Journal of PharmTech Research*. 7(2): 233-237.