

## PEMANFAATAN AKTIVITAS ANTIMIKROBA SAPONIN DAUN PEPAYA PADA KEMASAN KELOBOT JAGUNG

[Utilization of Antimicrobial Activity of Saponins from Papaya Leaves  
on Maize Husk Packaging]

Sri Wahyuningsih<sup>1)</sup>, Nugraha E. Suyatma<sup>2)</sup>, dan Harsi D. Kusumaningrum<sup>2,3)\*</sup>

- <sup>1)</sup> Program Studi Ilmu Pangan, Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor  
<sup>2)</sup> Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor  
<sup>3)</sup> Southeast Asian Food and Agricultural Science and Technology Center, Institut Pertanian Bogor, Bogor

Diterima 04 Januari 2016 / Disetujui 11 Mei 2016

### ABSTRACT

This study aimed to utilize saponins from papaya leaves as antifungal on maize husk packaging. Crude and semi-pure saponins were extracted from papaya leaves using Soxhlet and Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE) methods. The total saponin contents were determined using UV-Vis spectrophotometry. Their ability to inhibit *Aspergillus niger* was tested by macrodilution method. The extracts were also applied to maize husk by soaking it for 5 minutes at concentration of 10, 20 and 25 mg/mL. The parameters observed were physical and mechanical properties (tensile strength and elongation), water vapor transmission rate (WVTR), total plate count (TPC) and mold and yeast counts (MYC) after 25 days of storage at room temperature ( $\pm 28^\circ\text{C}$ ). Drying of young papaya leaves using cabinet dryer resulted in the highest yield of crude saponin ( $12.96 \pm 0.26\%$ ). Total saponin content in crude saponin extract was 115.43 mg/g, while in semi-pure saponin extract was 480.19 mg/g. Crude saponin and semi-pure saponin extract at concentration of 25 mg/mL could inhibit the growth of *A. niger* for 1.35 and 0.36 log CFU/mL, respectively after 24 hours. The WVTR test indicated that treatment with a concentration of 25 mg/mL of crude saponin extracts showed the lowest transmission. The addition of crude saponin and semi-pure saponin extract to the maize husk at the concentration of 10, 20 and 25 mg/mL was able to inhibit the microbial growth, represented by constant number in TPC and MYC for 25 days storage. This study showed that crude saponin and semi-pure saponin extract could improve the functional properties of maize husk as packaging materials.

**Keywords:** crude saponins, maize husk, papaya leaves, semi-pure saponins

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan memanfaatkan ekstrak saponin kasar dan semimurni dari daun pepaya sebagai antikapang pada kemasan kelobot jagung. Saponin kasar dan semimurni diekstraksi menggunakan metode kombinasi *soxhlet* dan *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE), dan total kandungan saponin pada ekstrak dideteksi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Daya hambat saponin kasar dan semimurni terhadap *A. niger* diuji dengan metode makrodilusi. Aplikasi saponin kasar dan semimurni pada kelobot jagung dilakukan dengan mencelupkannya pada konsentrasi 10, 20 dan 25 mg/mL. Parameter yang diukur pada kelobot adalah sifat fisik dan mekanis (kekuatan tarik dan elongasi), laju transmisi uap air, serta Angka Lempeng Total (ALT) dan Angka Kapang Khamir (AKK) setelah penyimpanan 25 hari pada suhu ruang. Pengeringan daun pepaya muda dengan menggunakan *cabinet dryer* menghasilkan rendemen ekstrak saponin kasar tertinggi yaitu sebanyak  $12,96 \pm 0,26\%$ . Kandungan saponin total pada ekstrak saponin kasar adalah 115,43 mg/g dan pada saponin semimurni adalah 480,19 mg/g. Paparan saponin kasar dengan konsentrasi 25 mg/mL selama 24 jam dapat menurunkan jumlah *A. niger* sebesar 1,35 log koloni/mL sedangkan saponin semimurni sebesar 0,36 log koloni/mL. Uji laju transmisi uap air menunjukkan bahwa perlakuan dengan konsentrasi 25 mg/mL saponin kasar menghasilkan transmisi yang paling rendah. Selanjutnya, penambahan saponin kasar dan semimurni pada kelobot jagung dengan konsentrasi 10, 20 dan 25 mg/mL mampu mempertahankan jumlah ALT dan AKK kelobot selama 25 hari. Penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan saponin kasar dan semi murni dari daun pepaya pada kelobot jagung dapat meningkatkan kualitas kemasan kelobot jagung.

**Kata kunci:** daun pepaya, kelobot jagung, saponin kasar, saponin semimurni

\*Penulis Korespondensi:  
E-mail: h\_kusumaningrum@ipb.ac.id

## PENDAHULUAN

Kelobot jagung merupakan bahan kemasan yang mudah didapat, murah dan bersifat *biodegradable*. Kelobot jagung di Indonesia banyak digunakan sebagai bahan kemasan makanan tradisional, diantaranya wajit Cililin khas Jawa Barat, dodol Bali khas Denpasar dan dodol Labusel khas Sumatra Barat. Lapisan terbaik yang digunakan sebagai kemasan dodol adalah lapisan tengah kelobot jagung (Setyowati *et al.*, 2007).

Kerusakan produk pangan dapat disebabkan oleh kontaminasi mikroba pada permukaan produk maupun bahan kemasannya. Aplikasi agen antimikroba pada bahan kemasan akan sangat berguna dalam mencegah pertumbuhan mikroba pada permukaan produk. Penambahan senyawa antimikroba pada bahan pengemas dapat dilakukan dengan sistem pencelupan (*dipping*) atau pelapisan senyawa antimikroba pada produk pangan (Mangalassary, 2012).

Penggunaan bahan antimikroba alami cenderung meningkat karena konsumen semakin peduli terhadap kesehatan dan potensi bahaya dari pengawet sintesis. Penggunaan komponen bioaktif, diantaranya saponin, alkaloid dan flavonoid dari tanaman dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Salah satu tanaman yang memiliki komponen bioaktif yang bersifat sebagai antimikroba adalah daun pepaya. Ekstrak daun pepaya menggunakan etanol efektif untuk menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus* dan *Candida tropicalis*, sedangkan ekstrak daun pepaya dengan pelarut etil asetat dan kloroform efektif menghambat pertumbuhan *Aspergillus flavus* (Baskaran *et al.*, 2012). Salah satu komponen bioaktif pada tanaman yang efektif menghambat pertumbuhan kapang adalah saponin (Barile *et al.*, 2007).

Komponen saponin merupakan metabolit sekunder pada tumbuhan. Secara kimia saponin terdiri dari inti hidrofobik (*sapogenin*) yang memiliki rantai gula yang bersifat hidrofilik terikat. Ada dua jenis struktur dari sapogenin yaitu *triterpenic* dan *steroidal* saponin yang merupakan *triterpene* dan *steroid*. Saponin *Maesa lanceolata* efektif menghambat pertumbuhan kapang *Aspergillus fumigatus*, *Cryptococcus neoformans* dan *Candida albicans* (Chapagain *et al.*, 2007). Saponin dapat berikatan dengan sterol yang merusak membran kapang dan menyebabkan hilangnya integritas membran karena adanya pembentukan pori-pori pada membran sel (Stuardo dan Ricardo, 2008).

Aplikasi kemasan antimikroba banyak digunakan pada produk pangan karena mampu memperlambat pertumbuhan mikroba patogen pada makanan dan bahan kemasan (Winarti *et al.*, 2012). Kemasan antimikroba adalah suatu opsi untuk pengemasan aktif yang dapat memperpanjang umur

simpan produk pangan. Pemilihan ekstrak antimikroba untuk aplikasi kemasan antimikroba menjadi penting, karena ekstrak antimikroba dapat bermigrasi ke dalam pangan, sehingga membuat produk pangan lebih awet (Lantano *et al.*, 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan komponen bioaktif saponin daun pepaya sebagai anti kapang pada kelobot jagung. Parameter yang diuji adalah kandungan total saponin, aktivitas penghambatan ekstrak saponin kasar dan semimurni terhadap *Aspergillus niger*, laju transmisi uap air, elongasi dan *tensile strength*. Selain itu, dilakukan pengujian mutu mikrobiologi kemasan kelobot jagung yang ditambah ekstrak saponin kasar dan semimurni dan disimpan pada suhu ruang selama 25 hari dengan uji angka kapang khamir (AKK) dan angka lempeng total (ALT).

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan utama yang digunakan adalah daun tua dan muda *Carica papaya* varietas Calina (IPB 9) yang diperoleh dari Pusat Kajian Hortikultura Tropika (PKHT) Institut Pertanian Bogor. Daun muda merupakan daun pepaya yang berada pada 3 lapis pertama dari pucuk daun, sedangkan daun tua merupakan daun yang berada pada 5-6 lapis pertama dari pucuk daun. Kelobot jagung yang digunakan adalah kelobot jagung *pioneer* P27 varietas Gajah dengan umur panen 95 hari yang diperoleh dari kebun Cikaban, Departemen Agromoni dan hortikultura IPB. Kelobot jagung yang digunakan adalah kelobot jagung lapisan tengah yaitu lapisan kelima dari lapisan terluar (Setyowati *et al.*, 2007).

### Ekstraksi saponin daun pepaya

Daun pepaya Calina segar dikeringkan menggunakan *cabinet dryer* suhu 50°C selama 20 jam. Daun pepaya kering dihaluskan hingga diperoleh serbuk daun dengan menggunakan blender dan disimpan pada wadah tertutup. Kadar air dari serbuk daun pepaya diukur dengan metode oven (AOAC, 2005). Ekstraksi saponin mengacu pada metode Ribeiro *et al.* (2013) dengan sedikit modifikasi. Pada ekstraksi saponin kasar, serbuk daun tidak di-*defatting*, sedangkan untuk ekstraksi saponin semimurni, serbuk daun pepaya muda dan tua di-*defatting* terlebih dahulu menggunakan *soxhlet* (Electromantle ME, UK) selama 6 jam dengan pelarut n-heksana (Merck & Co., New Jersey, USA). Selanjutnya 25 g serbuk daun pepaya tua dan daun muda diekstraksi dengan pelarut etanol (Merck & Co., New Jersey, USA): aquades (v/v, 1:1, 200 mL) dengan metode *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE) menggunakan alat *Ultrasonic bath* (Branson

Ultrasonic Cleaner model 8510E MTH, Branson Ultrasonic Corporation, Connecticut, USA) pada suhu 60°C selama 30 menit. Setelah itu, ekstrak disaring dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* (Butchi Rotavapor R-210, BÜCHI Labortechnik, Flawil, Switzerland), dengan pompa vakum (Buchi B-169 vacuum system, Switzerland) pada suhu 50°C sampai 2/3 volume awal, dan ekstrak dicuci dua kali dengan 20 mL kloroform (Merck & Co., New Jersey, USA). Selanjutnya ekstrak dipartisi 1x dengan 20 mL n-butanol (Merck & Co., New Jersey, USA) untuk mendapatkan ekstrak saponin kasar. Selain itu, untuk mendapatkan ekstrak saponin semimurni, partisi dilakukan dengan n-butanol sebanyak 3x kemudian dicuci dengan 20 mL NaOH 1% (Merck, Germany) untuk memisahkan komponen fenolik. Pelarut ekstrak saponin kasar dan semimurni yang tersisa kemudian diuapkan sampai kering menggunakan *rotary evaporator*. Selanjutnya, ditambahkan akuades sebanyak 1-2 mL dan dikeringbekukan menggunakan *freeze dryer* (Martin Christ Gamma 2-16 LSC) selama 2 x 24 jam. Saponin kasar dan semimurni yang telah berbentuk serbuk, kemudian dihitung rendemennya.

#### Pengukuran kandungan saponin

Pengukuran kandungan saponin mengacu pada metode Madland (2013). Larutan standar dipersiapkan dengan melarutkan 4,0 mg standar saponin (saponin *weiß rein*, Merck, Germany) dalam etanol volume 20 mL, kemudian dibuat pengenceran 1,0; 1,4; 1,8; 2,2; 2,6; 3,0 mL. Sampel saponin kasar dan semimurni (masing-masing 50 µL) dan larutan standar selanjutnya diuapkan sampai kering, dan ditambahkan 0,2 mL vanilin-asam asetat (5% b/v) (Merck KgaA, Darmstadt, Germany) dan 0,8 mL asam perklorat (Merck KgaA, Darmstadt, Germany). Sampel kemudian dipanaskan menggunakan *water-bath incubator* (Gesellschaft Fur Labortechnik MbH (GFL) D-30938 Burgwedel, Germany) pada suhu 70°C selama 15 menit. Selanjutnya, larutan sampel didinginkan di atas es selama 20 detik dan ditambahkan 5 mL asam asetat glasial (Merck & Co., New Jersey, USA). Larutan sampel kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV/VIS (Spectrophotometer U-2900 Hitachi, Japan) pada panjang gelombang 550 nm.

#### Penentuan aktivitas antimikroba saponin kasar dan semimurni dari daun pepaya

Penentuan aktivitas antimikroba dilakukan menggunakan metode pengenceran makro (macro-dilution). Isolat *A. niger* ATCC 6275 yang ditumbuhkan pada media *Potatoes Dextrose Agar* (PDA) (Oxoid Ltd, Hampshire, UK) selama 5 hari pada suhu 25°C, dipanen sehingga didapatkan konsentrasi kapang berkisar  $10^4$ - $10^5$  koloni/mL. Sebanyak 100 µL suspensi *A. niger* diinokulasikan ke dalam 1

mL media *Potatoe Dextrose Broth* (PDB) (Oxoid Ltd, Hampshire, UK) yang sudah ditambah 1 mL saponin kasar atau semimurni sehingga diperoleh seri konsentrasi 0 (kontrol); 6,25; 12,5; 25; 50 dan 100 mg/mL. Suspensi kemudian diinkubasi pada 27-28°C selama 24 jam. Selanjutnya, dilakukan penghitungan total kapang dengan metode sebar pada media PDA yang kemudian diinkubasi pada 27°C selama 2-5 hari (Mazzola *et al.*, 2009). Konsentrasi hambat minimum (KHM) ditentukan dengan memilih konsentrasi yang menunjukkan penurunan angka kapang sebesar 1 log/mL.

#### Aplikasi saponin kasar dan semimurni pada kelobot jagung

Kelobot jagung dicuci dan dikeringkan dengan menggunakan *cabinet dryer* selama 4 jam suhu 50°C. Pengukuran kadar air dilakukan dengan metode oven (AOAC, 2005). Kelobot jagung selanjutnya dicelupkan ke dalam larutan saponin kasar dan semimurni yang telah dipanaskan pada suhu 60°C selama 5 menit, dengan konsentrasi 10; 20 dan 25 mg/mL. Kelobot kemudian ditiriskan dan dibiarkan pada suhu ruang sehingga ekstraknya terserap pada permukaan kelobot jagung, lalu dikeringkan pada suhu 50°C menggunakan *cabinet dryer* selama 4 jam.

#### Pengukuran karakteristik kelobot jagung

Ketebalan kelobot jagung diukur dengan menggunakan mikrometer dengan akurasi 0,01 mm. Pengukuran dilakukan 3 kali pada tempat yang berbeda dan rata-rata pengukuran dihitung sebagai ketebalan kelobot jagung. Sifat mekanis kemasan diukur berdasarkan metode uji standar dari ASTM D-8-82-88 (Kanmani dan Rhim, 2014). Transmisi uap air diukur berdasarkan metode pada ASTM E96-95 dengan sedikit modifikasi pada tahap pengambilan data yaitu setiap 2 jam sekali, selama 3 kali pengukuran.

#### Pengujian ALT kelobot jagung selama 25 hari penyimpanan (USFDA, 2001)

Kelobot jagung yang dicelup larutan saponin kasar dan semimurni dengan konsentrasi 10;20 dan 25 mg/mL disimpan selama 25 hari pada suhu ruang (27-28°C). Lapisan kelobot yang digunakan adalah lapisan tengah yaitu 5-7 lembar dari lapisan luar.

Sampel kelobot ditimbang 1 g, dimasukkan ke dalam botol pengencer yang berisi 9 mL *Buffer Peptone Water* (BPW) 0,1% (Oxoid Ltd, Hampshire, UK), divorteks (Vortex Genie 2, Scientific Industries Inc, USA) dan dibuat pengenceran lanjut sehingga diperoleh pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-4}$ . Satu (1) mL sampel kelobot dimasukkan ke dalam cawan, kemudian sebanyak 15 mL media *Plate Count Agar* (PCA) (Oxoid Ltd, Hampshire, UK) steril dituang ke dalam cawan petri dan diratakan. Cawan diinkubasi

pada suhu 37°C selama 24-48 jam dengan posisi cawan terbalik. Jumlah koloni mikroba dihitung dengan standar 25-250.

#### Pengujian AKK selama 25 hari penyimpanan kelobot jagung (USFDA, 2001)

Sampel kelobot ditimbang 1 g, dimasukkan ke dalam botol pengencer yang berisi BPW 0,1% sebanyak 9 mL, divorteks dan dibuat pengenceran lanjut sehingga diperoleh pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-4}$ . Satu (1) mL sampel kelobot kemudian dimasukkan ke dalam cawan, dan 15 mL media PDA yang ditambah dengan 0,02 g kloramfenikol dituang ke dalam cawan petri serta diratakan. Cawan diinkubasi pada suhu 25-27°C selama 2-5 hari. Jumlah koloni mikroba dihitung dengan standar 15-150 untuk koloni kapang.

#### Pengujian angka *Aspergillus flavus-parasiticus*

Sampel kelobot ditimbang seberat 1 g, dan dimasukkan ke dalam botol pengencer yang berisi BPW 0,1% sebanyak 9 mL. Selanjutnya, sampel divorteks dan dilakukan pengenceran berseri dari  $10^{-1}$  sampai  $10^{-4}$ . Satu mL sampel kelobot dipipetkan ke dalam cawan, kemudian ditambahkan 15 mL media AFPA (Oxoid Ltd, Hampshire, England) yang mengandung 0,02 g kloramfenikol. Cawan diinkubasi pada suhu 25-27°C selama 2-5 hari. Jumlah koloni *A. flavus* didapat dengan cara menghitung koloni yang berwarna oranye spesifik pada bagian bawah cawan petri.

#### Analisa data

Hasil pengukuran dan uji terhadap kemasakan kelobot jagung dan saponin dianalisis secara statistika menggunakan perangkat lunak SPSS versi 22. ANOVA dan uji lanjut Duncan pada taraf kepercayaan 5% digunakan untuk membandingkan nilai rata-rata dari semua uji yang dilakukan terhadap kelobot jagung yang ditambahkan ekstrak daun pepaya. Setiap perlakuan dilakukan dengan tiga ulangan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Saponin kasar dan semimurni dari daun pepaya

Daun pepaya Calina muda segar memiliki kadar air yang lebih tinggi dibandingkan dengan daun pepaya tua yang segar. Rendemen bubuk daun pepaya tua lebih besar dibandingkan daun muda (Tabel 1). Menurut Anibijuwon dan Udeze (2009), perbedaan kadar air dan rendemen bubuk daun dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu lokasi tumbuhnya tanaman, jenis varietas pepaya, musim, cuaca dan waktu pemanenan. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE menggunakan gelombang ultrasonik (20kHz-

100MHz) dapat mengakibatkan terjadinya peronggaan sel dan mempercepat pelepasan isi sel sehingga komponen bioaktifnya keluar (Azmir *et al.*, 2013).

Tabel 1. Kadar air, rendemen bubuk daun serta rendemen saponin kasar dan semimurni

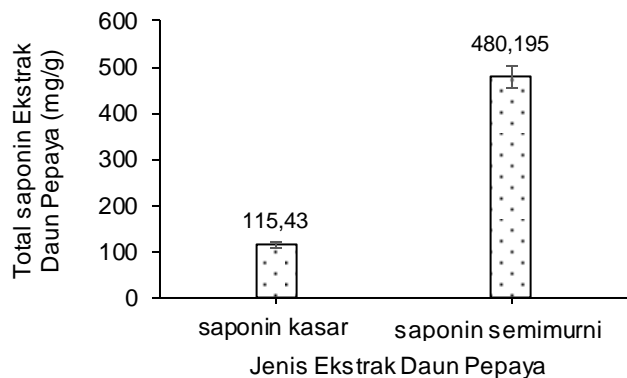
Parameter	Daun Pepaya	
	Daun Muda	Daun Tua
Kadar air daun segar (%)	85,38±2,77	81,78±0,62
Kadar air bubuk daun kering (%)	6,70±0,05	6,62±0,24
Rendemen bubuk daun kering (%)	16,17±0,68	21,08±1,09
Rendemen saponin semimurni (%)	3,18±0,09	1,42±0,08
Rendemen saponin kasar (%)	12,96±0,26	7,20±0,29

Rendemen saponin kasar dan semimurni daun pepaya muda lebih banyak dibandingkan daun tua (Tabel 1). Selain itu, diperoleh rendemen saponin kasar yang lebih besar dibandingkan dengan saponin semimurni. Perbedaan rendemen saponin kasar dan semimurni diduga dipengaruhi oleh jenis pelarut lanjutan yaitu butanol yang berfungsi untuk memisahkan air dan gula dan NaOH 1% yang berfungsi menghilangkan komponen fenolik. Hasil penelitian Sherwani *et al.* (2013) menunjukkan ekstrak daun pepaya mengandung komponen bioaktif yaitu karbohidrat, protein, antrakuinon, flavonoid, saponin, glikosida dan alkaloid.

#### Kandungan saponin pada ekstrak saponin kasar dan semimurni

Kandungan saponin pada ekstrak saponin kasar dan semimurni dari daun pepaya diukur secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV/Vis. Kandungan total saponin yang terdapat pada ekstrak saponin kasar adalah 115,43 mg saponin/g, sedangkan pada ekstrak saponin semimurni adalah 480,19 mg saponin/g (Gambar 1). Perbedaan ini diduga disebabkan karena komponen yang terekstrak pada ekstrak saponin kasar lebih banyak jenisnya sehingga kadar saponinnya lebih sedikit. Menurut Ribeiro *et al.* (2013), ekstraksi komponen saponin dengan menggunakan pelarut kloroform, butanol 3x partisi dan NaOH 1% menghasilkan ekstrak kaya saponin. Ekstraksi menggunakan pelarut kloroform dan butanol 1x partisi menghasilkan saponin kasar yang mengandung banyak komponen bioaktif. Berdasarkan uji fitokimia, pada ekstrak saponin semimurni hanya ditemukan komponen steroid dan saponin, sedangkan pada ekstrak saponin kasar ditemukan komponen saponin, fenol, triterpenoid, tanin dan alkaloid (data tidak ditampilkan). Menurut Ribeiro *et al.* (2013), saponin kasar yang diekstraksi pada tanaman *Agave sisalana* mengandung komponen glikosida,

saponin dan flavonoid, sedangkan ekstrak saponin semimurni hanya mengandung komponen saponin. Menurut penelitian Vuong *et al.* (2015), ekstraksi komponen saponin kasar pada daun pepaya dengan menggunakan pelarut etanol 80% menghasilkan total saponin sekitar 368 mg ASE g<sup>-1</sup>.



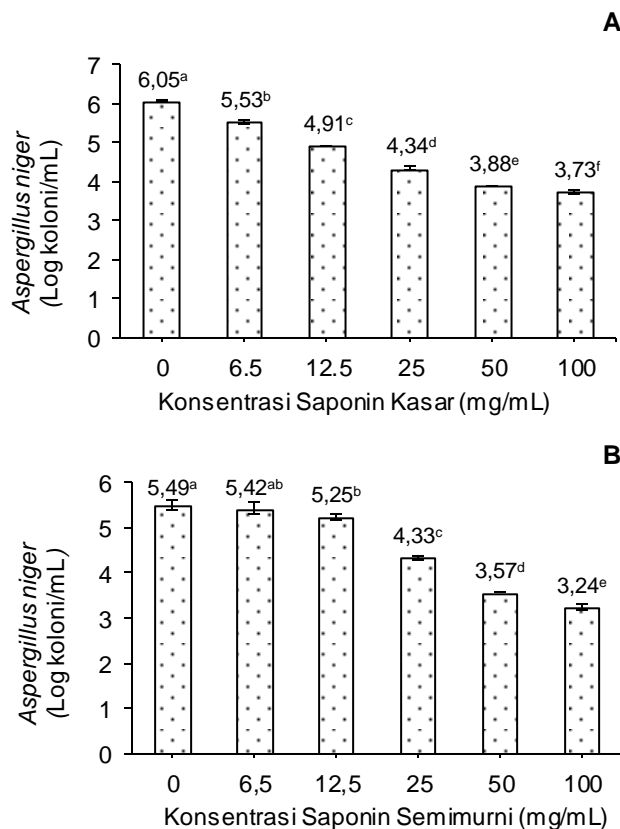
Gambar 1. Kandungan total saponin pada ekstrak saponin kasar dan saponin semimurni daun pepaya.

#### Potensi antikapang saponin kasar dan semimurni terhadap *A. niger*

Pengaruh berbagai konsentrasi saponin kasar daun pepaya terhadap *A. niger* ATCC 6275 dengan inokulum awal kapang berkisar 5,69 log koloni/mL dapat dilihat pada Gambar 2A. Nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) yang diperoleh adalah 25 mg/mL, dengan jumlah total kapang akhir setelah pemaparan 24 jam sebesar 4,43 log koloni/mL. Pemaparan saponin kasar daun pepaya dengan konsentrasi yang tinggi, yaitu 100 mg/mL secara signifikan mampu mereduksi pertumbuhan spora *A. niger* sebesar 1,96 log koloni/mL.

Gambar 2B menunjukkan pengaruh berbagai konsentrasi saponin semimurni terhadap *A. niger* ATCC 6275 dengan inokulum awal 4,69 log koloni/mL. Nilai KHM yang diperoleh adalah 50 mg/mL. Pemaparan saponin dengan konsentrasi yang tinggi, yaitu 100 mg/mL, secara signifikan mampu menghambat pertumbuhan *A. niger* sebesar 1,44 log koloni/mL. Kemampuan saponin menghambat pertumbuhan *A. niger* diduga dikarenakan saponin merupakan salah satu komponen bioaktif yang dapat merusak membran kapang.

Menurut Stuardo dan Ricardo (2008), mekanisme aktivitas antikapang dari saponin dapat berikatan dengan sterol yang merusak membran kapang dan menyebabkan hilangnya integritas membran karena adanya pembentukan pori-pori pada membran sel.



Gambar 2. Pengaruh berbagai konsentrasi (A) ekstrak saponin kasar dan (B) ekstrak saponin semimurni, terhadap *A. niger* ATCC 6275 dengan inokulum awal (A) 5,69 log koloni/mL dan (B) 4,69 log koloni/mL, setelah pemaparan selama 24 jam pada suhu 27-28°C dengan metode pengenceran makro. Huruf *superscript* yang berbeda pada setiap faktor perlakuan menunjukkan perbedaan nyata pada taraf uji  $p=0,05$

Beberapa penelitian menunjukkan efektivitas saponin kasar dan saponin semimurni dari berbagai sumber memiliki kemampuan sebagai antikapang. Saponin kasar dari *Achillea fragrantissima* dengan konsentrasi 6,25 mg/mL mampu menghambat pertumbuhan *Aspergillus sp.* dan memberikan efek fungisidal pada konsentrasi 15,0 mg/mL (Hazem *et al.*, 2012). Penelitian yang dilakukan Ribeiro *et al.* (2013) menunjukkan bahwa saponin dan turunannya dengan konsentrasi 312,5 µg/mL (dari tanaman *Ziziphus joazeiro*) dan konsentrasi >12,500 µg/mL (dari tanaman *Agave sisalana*) memiliki efek penghambatan pada *Aspergillus niger* ATCC 16404. Penelitian Sherwani *et al.* (2013) menyatakan bahwa ekstrak kasar daun pepaya pada konsentrasi 120-160 mg/mL mampu menghambat pertumbuhan *A. flavus* dan *A. niger* sedangkan ekstrak akuades daun pepaya pada konsentrasi 160-220 mg/mL

mampu menghambat pertumbuhan kapang *A. flavus* dan *A. niger*. Sama halnya dengan penelitian Alabi *et al.* (2012), ekstrak segar daun pepaya menggunakan pelarut akuades pada konsentrasi 100 mg/mL mampu menghambat pertumbuhan *A. flavus*, *Trichopyton metagrophtes* dan *Candida albicans*.

### Ketebalan dan sifat mekanis

Tebal kelobot *pioneer* P27 varietas Gajah tanpa dan dengan perlakuan pencelupan dalam ekstrak saponin dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Tebal kelobot jagung setelah dicelupkan dalam larutan saponin kasar dan semimurni daun pepaya

Konsentrasi Ekstrak (mg/mL)	Tebal Kelobot Jagung setelah Pencelupan dengan Ekstrak Saponin Daun Pepaya (mm)	
	Kasar	Semimurni
0	0,19±0,14	0,19±0,14
10	0,20±0,06	0,27±0,04
20	0,19±0,05	0,20±0,05
25	0,18±0,03	0,26±0,05

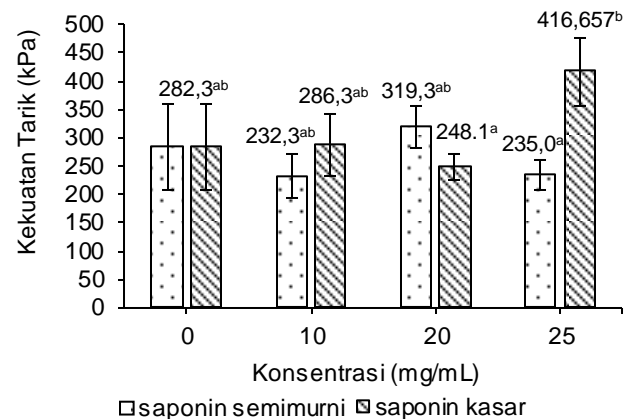
Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa kelobot jagung dengan penambahan saponin kasar dan semimurni dari daun pepaya tidak berpengaruh nyata terhadap ketebalan kelobot jagung. Perbedaan tebal kelobot antar lapisan, diduga disebabkan perbedaan tebal sel kelobot pada lapisan-lapisan tersebut dan perbedaan kandungan airnya. Perbedaan varietas tanaman juga menentukan tebal bagian tanaman, diantaranya tebal daun (Pantastico, 1986). Hasil pengukuran kekuatan tarik dan pemanjangan kelobot jagung yang ditambahkan saponin kasar dan saponin semimurni daun pepaya dapat dilihat pada Gambar 3 dan 4.

Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa kelobot jagung dengan penambahan ekstrak kasar saponin dan saponin semimurni daun pepaya tidak berpengaruh nyata terhadap kekuatan tarik. Hal ini diduga penambahan saponin kasar dan saponin tidak mempengaruhi serat yang tebal dan kaku yang dimiliki oleh kelobot jagung. Walaupun demikian, penambahan ekstrak saponin semimurni (10 dan 20 mg/mL) menunjukkan pengaruh nyata pada pemanjangan kelobot jagung. Menurut Setyowati *et al.* (2007), lapisan kelobot jagung memiliki serat yang tebal dan kaku sehingga akan cepat putus dan menyebabkan nilai pemanjangan yang rendah. Kandungan lignin yang tinggi menyebabkan bahan lignoselulosik lebih kaku dibandingkan dengan yang memiliki bahan yang sama tetapi kandungan ligninnya lebih rendah.

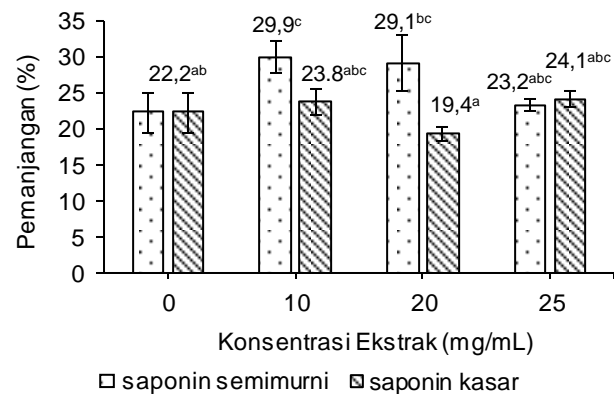
### Laju transmisi uap air

Laju transmisi uap air pada masing-masing perlakuan dengan pencelupan ekstrak saponin

kasar dan saponin semimurni dengan konsentrasi 0; 10; 20 dan 25 mg/mL dapat dilihat pada Gambar 5.



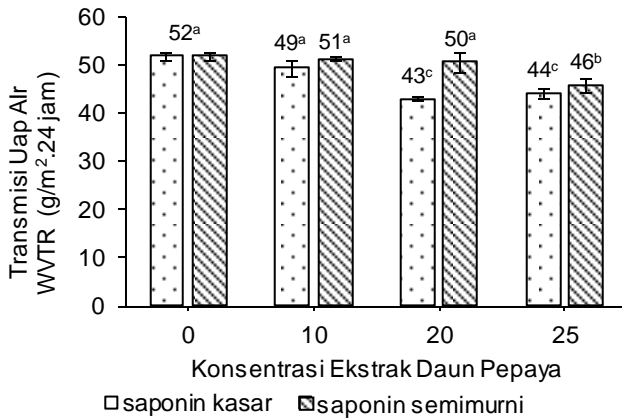
Gambar 3. Kekuatan tarik kelobot jagung yang dicelup dengan saponin kasar dan saponin semimurni daun pepaya. Huruf *superscript* yang berbeda pada setiap faktor perlakuan menunjukkan perbedaan nyata pada taraf uji  $p=0,05$



Gambar 4. Pemanjangan kelobot jagung yang diaplikasikan pada saponin kasar dan saponin semimurni daun pepaya. Huruf *superscript* yang berbeda pada setiap faktor perlakuan menunjukkan perbedaan nyata pada taraf uji  $p=0,05$

Hasil uji laju transmisi uap air menunjukkan bahwa perlakuan pencelupan dalam larutan 25 mg/mL saponin kasar memiliki nilai transmisi uap air yang paling rendah, meskipun tidak berbeda nyata dengan pencelupan dalam larutan 20 mg/mL saponin kasar. Hasil pengujian laju transmisi uap air menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak yang ditambahkan pada kelobot jagung maka semakin rendah nilai laju transmisi uap airnya. Penurunan laju transmisi uap air kelobot jagung dengan penambahan saponin kasar dan saponin semimurni daun pepaya diduga karena adanya komponen non polar atau semipolar yang terlarut

dan tidak terlarut yang melekat pada permukaan kelobot jagung. komponen yang bersifat non polar, dapat menghambat masuknya uap air yang menyebabkan nilai laju transmisi kelobot jagung lebih rendah. Kelobot jagung dengan penambahan saponin kasar dan saponin semimurni dapat menahan laju uap air menjadi lebih efisien.



Gambar 5. Laju transmisi uap air kelobot jagung yang dicelup dalam larutan ekstrak saponin daun pepaya pada hari ke 5 penyimpanan pada suhu ruang. Huruf *superscript* yang berbeda pada setiap faktor perlakuan menunjukkan perbedaan nyata pada taraf uji  $p=0,05$

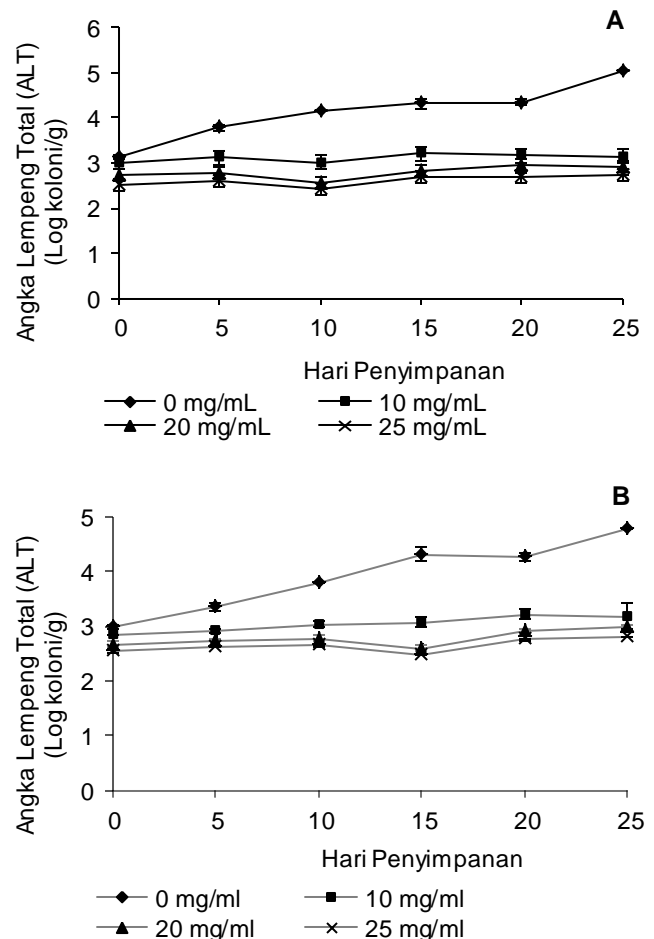
Menurut Robertson (2012), nilai laju transmisi uap air bahan kemasan, dipengaruhi oleh ketebalan bahan kemasan, tingkat kepolaran dan juga dipengaruhi oleh kerapatan bahan. Diduga kelobot jagung *pioneer* yang ditambah ekstrak kasar daun pepaya yang melekat pada permukaan kelobot, mengandung komponen yang bersifat nonpolar berupa lipid yang baik untuk menghambat laju transmisi pada suatu bahan kemasan. Penelitian Setyowati *et al.* (2007), menunjukkan bahwa kelobot jagung basah varietas *pioneer* dan varietas *super sweet* memiliki laju transmisi uap air yang sangat tinggi (570,80-665,49  $\text{g/m}^2 \cdot 24 \text{ jam}$ ) dibandingkan dengan daun pisang kering yang memiliki nilai laju transmisi uap air sebesar 43,44  $\text{g/m}^2 \cdot 24 \text{ jam}$ .

#### Perubahan mutu mikrobiologi kelobot jagung dengan penambahan saponin kasar dan semimurni selama penyimpanan 25 hari

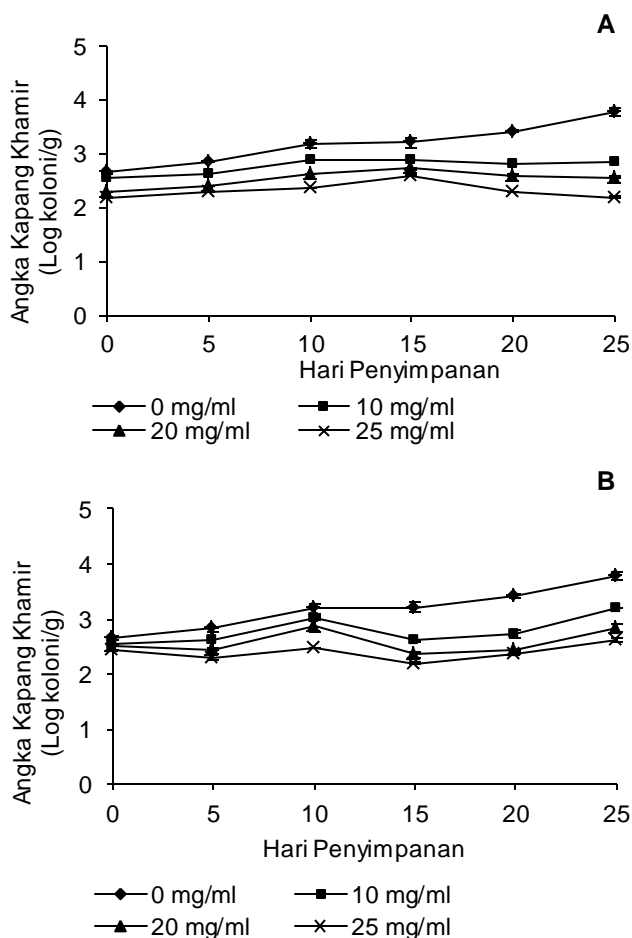
Kadar air kelobot jagung (kering) pascapanen yang berasal dari kebun Cikabayan IPB adalah 42,92%. Kadar air kelobot jagung yang telah dicelup dengan larutan ekstrak saponin dan dikeringkan kembali adalah 13,83%. Angka Lempeng Total (ALT) kelobot jagung pasca panen adalah 6,34 log koloni/mL, sedangkan Angka Kapang Khamir (AKK) adalah 5,47 log koloni/mL dan Angka *Aspergillus flavus-parasiticus* (AFPA) adalah 4,29 log koloni/mL.

Kapang yang umumnya mengontaminasi jagung dan kelobot jagung adalah *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus parasiticus*. Kedua kapang ini dapat menghasilkan produk metabolit sekunder yang bersifat toksik bagi manusia. Cemaran aflatoxin pada jagung bergantung pada kondisi lingkungan dan perlakuan pascapanen. Kapang ini banyak menyerang produk pertanian salah satunya adalah jagung. Menurut Rahayu (2006). Kapang yang banyak mengontaminasi jagung dan tongkol jagung adalah kapang *A. flavus*, *A. parasiticus*, *Fusarium moniliforme*.

Pencelupan kelobot jagung dalam larutan saponin kasar dan saponin semimurni pada dengan konsentrasi 10; 20 dan 25 mg/mL, selama penyimpanan 25 hari mampu mempertahankan nilai ALT (Gambar 6A dan 6B) dan AKK (Gambar 7A dan 7B).



Gambar 6. ALT kelobot jagung dengan perlakuan pencelupan (A) saponin kasar dan (B) saponin semimurni selama penyimpanan 25 hari pada suhu ruang (27-28°C)



Gambar 7. AKK kelobot jagung dengan perlakuan pencelupan (A) saponin kasar dan (B) saponin semimurni selama penyimpanan 25 hari pada suhu ruang (27-28°C)

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada kelobot jagung yang diberi perlakuan ekstrak saponin semimurni memiliki cemaran 2,55-2,80 log koloni/g, sedangkan dengan perlakuan saponin kasar memiliki ALT 2,51-2,75 log koloni/g selama penyimpanan sampai 25 hari. Nilai ini lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan kelobot kontrol. Selain itu, hasil pengujian AKK kelobot jagung yang diberi perlakuan saponin kasar dan semi murni daun pepaya juga memiliki angka yang relative tidak berubah, yaitu memiliki cemaran 2,2-2,2 log koloni/g dengan perlakuan saponin semimurni dan 2,44-2,62 log koloni/g dengan perlakuan saponin kasar selama penyimpanan sampai 25 hari. Untuk aplikasi kemasan kelobot jagung pada produk semi basah, perlu dilakukan pembersihan atau pengeringan di awal pascapanen agar dapat mengurangi jumlah awal cemaran mikroba pada kelobot jagung. Jumlah AKK awal kelobot jagung diharapkan sebesar 1 log koloni/g atau maksimum  $2 \times 10^2$  koloni/g, agar kelobot jagung

aman sebagai pengemas produk semi basah. Kelobot jagung banyak digunakan untuk mengemas produk semi basah seperti dodol wajik (Jawa) atau wajit (Sunda). Produk semi basah yang memiliki  $a_w$  rendah (0,70-0,85%), kadar air (20-50%) dan kadar gula tinggi berisiko ditumbuhi kapang jika tidak dikemas dengan baik.

Hasil analisis ANOVA dengan uji lanjut Duncan menunjukkan aplikasi ekstrak yang terbaik untuk menghambat ALT selama penyimpanan 25 hari adalah dengan pencelupan dalam larutan saponin kasar 25 mg/mL. Walaupun demikian, hasil uji AKK menunjukkan bahwa perlakuan dengan penambahan saponin semimurni konsentrasi 25 mg/mL memberikan nilai AKK yang lebih rendah dibandingkan perlakuan dengan saponin kasar. Penelitian ini menunjukkan bahwa larutan saponin semimurni 25 mg/mL mampu menghambat pertumbuhan kapang khamir yang mengkontaminasi kelobot jagung, tetapi untuk menghambat pertumbuhan *A. niger* diperlukan konsentrasi saponin semimurni yang lebih besar, yaitu konsentrasi 50 mg/mL.

Menurut Vuong *et al.* (2015), ekstrak daun pepaya mengandung komponen bioaktif yaitu flavonoid, alkaloid dan saponin yang mampu bekerja sebagai komponen antimikroba dan antikapang. Saponin kasar dan saponin semimurni daun pepaya yang terdapat pada kelobot jagung mampu membantu mencegah terjadinya kontaminasi mikroba. Adanya kerja dari komponen antimikroba menyebabkan bakteri dan kapang sulit tumbuh akibat pada kelobot jagung. Menurut Ribeiro *et al.* (2013), saponin kasar dan saponin semimurni pada tanaman *Agave sisalana* dan *Ziziphus joazeiro* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella* dan bakteri yang mengkontaminasi produk pangan.

## KESIMPULAN

Kandungan total saponin pada ekstrak saponin kasar daun pepaya adalah 115,43 mg/g sedangkan pada ekstrak saponin semimurni adalah 480,19 mg/g. Nilai kandungan total saponin pada ekstrak saponin semimurni lebih besar hampir 5 kali dibanding ekstrak saponin kasar. Perlakuan dengan larutan saponin semimurni daun pepaya tidak memberikan pengaruh terhadap tebal kelobot dan kekuatan tarik, tetapi berpengaruh terhadap pamanjangan kelobot jagung. Selain itu, Perlakuan dengan larutan saponin semimurni juga mampu mengurangi laju transmisi uap air. Penambahan ekstrak kasar dan saponin semimurni daun pepaya pada kelobot jagung mampu memperbaiki mutu kelobot jagung sebagai pengemas pangan tradisional. Aplikasi ekstrak yang terbaik untuk menghambat total mikroba dan kapang-khamir AKK pada kelobot jagung selama penyimpanan 25 hari adalah larutan saponin semimurni dengan konsentrasi 25 mg/mL.



## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kemenristek-Dikti yang telah membiayai penelitian ini melalui penelitian unggulan perguruan tinggi tahun 2015.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alabi OA, Haruna MT, Anokwuru CP, Jegede T, Abia H, Okegbe VU, Esan BE. 2012. Comparative studies on antimicrobial properties of extracts of fresh and dried leaves of *Carica papaya* (L) on clinical bacterial and fungi isolates. *Adv Appl Sci Res* 3: 3107-3114.
- Anibijuwon II, Udeze AO. 2009. Antimicrobial activity of *Carica papaya* (paw-paw leaf) on some pathogenic organism of clinical origin from South-Western Nigeria. *Ethnobot Leaflets* 13: 850-864.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemistry. 2005. Official Method of Analysis. Association of Official Analytical Chemistry. Washington DC (US): AOAC.
- Azmir J, Zaidul ISM, Rahman MM, Shafir KM, Mahmoed A, Sahena F, Jahurul MHA, Ghafoor K, Norulaini NAN, Omar AKM. 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. *J Food Eng* 117: 426-436. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014.
- Barile E, Bonanomi G, Antignani V, Zolfaghari B, Sajjadi SE, Scala F, Lanzotti V. 2007. Saponins from *Allium minutiflorum* with antifungal activity. *Phytochemistry* 68: 596-603. DOI: 10.1016/j.phytochem.2006.10.009.
- Baskaran C, Ratha VB, Velu S, Kumaran K. 2012. The efficacy of *Carica papaya* leaf extract on some bacterial and a fungal strain by well diffusion method. *Asian Pac J Trop Dis*: 658-662. DOI: 10.1016/S2222-1808(12)60239-4.
- Chapagain BP, Wiesman Z, Tsror L. 2007. In vitro of the antifungal activity of saponin-rich extracts against prevalent phytopathogenic fungi. *Ind Crop Prod* 26: 109-115. DOI: 10.1016/j.indcrop.2007.02.005.
- Hazem A, Charchafchi A, Fawzia, Ghazzawi, Dina. 2012. Biochemical, antibacterial and antifungal activity of extracts from *Achillea Fragrantissima* and evaluation of volatile oil composition. *Der Pharmacia Sinica* 3: 349-356.
- Kanmani P, Rhim JW. 2014. Properties and characterization of bionanocomposite films prepared with various biopolymers and ZnO nanoparticles. *Carbohydr Polym* 106: 190-199. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.02.007.
- Lantano C, Alfieri I, Cavazza A, Corradini C, Lorenzi A, Nicola Z, Montenero A. 2014. Natamycin based sol-gel antimicrobial coatings on poly-lactic acid films for food packaging. *Food Chem* 165: 342-347. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.05.066.
- Madland E. 2013. Extraction, Isolation and Structure Elucidation of Saponins from *Herniaria incana* [Thesis]. Faculty of Natural Sciences and Technology. Norwegian University of Science and Technology.
- Mangalassary S. 2012. Antimicrobial food packaging to enhance food safety: current developments and future challenges. *J Food Process Technol* 5: 1-2. DOI: 10.4172/2157-7110.1000e103.
- Mazzola PG, Jozala AF, Novaes LCDL, Moriel P, Penna TCV. 2009. Minimal inhibitory concentration (MIC) determination of disinfectant and/or sterilizing agents. *Braz J Pharm Sci* 45: 241-248. DOI: 10.1590/S1984-82502009000200008.
- Pantastico ERB. 1986. Fisiologi Pasca Panen. Penanganan dan Pemanfaatan Buah-buahan dan Sayur-sayuran Tropika dan Subtropika. 902. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Rahayu ES. 2006. Hasil-hasil Penelitian Aflatoksin. Makalah Disampaikan dalam Pertemuan Forum Aflatoksin Indonesia, Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 24 Februari 2006.
- Ribeiro BD, Alviano DS, Barreto DW, Coelho MAZ. 2013. Functional properties of saponins from sisal (*Agave sisalana*) and jua (*Ziziphus joazeiro*): Critical micellar concentration, antioxidant and antimicrobial activities. *Colloids Surface A* 436: 736-743. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2013.08.007.
- Robertson GL. 2012. Food Packaging: Principle and Practice. 126-127. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Setyowati K, Adnan AA, Sugiarto. 2007. Karakterisasi sifat fisiko kimia dan mekanis kelobot sebagai bahan kemasan. *J Teknol Industri Pertanian* 16: 119-124.

- Sherwani SK, Bokhari TZ, Nazim K, Gilani A, Kazmi SU. 2013. Qualitative phytochemical screening and antifungal activity of carica papaya leaf extract against human and plant pathogenic fungi. *Int Res J Pharm* 4: 83-86. DOI: 10.7897/2230-8407.04718.
- Stuardo M, Martin RS. 2008. Antifungal properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) alkali treated saponins against *Botrytis cinerea*. *Ind Crop Prod* 27: 296-302. DOI: 10.1016/j.indcrop.2007.11.003.
- [USFDA] United State Food and Drug Administration. 2001. BAM: Aerobic Plate Count & Yeasts, Molds, and Mycotoxins. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071435.htm>. [05 Mei 2015].
- Vuong QV, Hirun S, Chuen TLK, Goldsmith CD, Murchie S, Bowyer MC, Philips PA, Scarlett CJ. 2015. Antioxidant and anticancer capacity of saponin-enriched *Carica papaya* leaf extracts. *International J Food Sci Tech* 50: 169-177. DOI: 10.1111/ijfs.12618.
- Winarti C, Miskiyah, Widaningrum. 2012. Teknologi produksi dan aplikasi pengemas edible antimikroba berbasis pati. *J Litbang Pert* 31: 85-93.