

THE ACTIVITY ASSAY OF SURI CUCUMBER SEED NANOPARTICLES AS ANTIMICROBIAL AGAINST *CANDIDA ALBICANS* AND *STREPTOCOCCUS MUTANS*

Fania Putri Luhurningtyas*, Rissa Laila Vifta, Andi Pradana, Yurike Tatengkeng

Program Studi Farmasi, Universitas Ngudi Waluyo
Jl. Diponegoro No. 186, Ungaran, Semarang, Jawa Tengah, 50512, Indonesia

*Corresponding author: Fania Putri Luhurningtyas (faniaputri@unw.ac.id)

ARTICLE HISTORY

Received: 4 June 2021

Revised: 23 July 2021

Accepted: 27 July 2021

Abstract

Suri cucumber seeds contain active compounds which act as antibacterial and antifungal. Increased activity of secondary metabolites of cucumber suri seeds as antimicrobial was carried out by forming nanoparticles. Suri cucumber seeds were extracted using maceration method with ethanol solvent. Nanoparticle formation through ionic gelation method using chitosan and NaTPP polymers. Testing of antimicrobial activity against *Candida albicans* and *Staphylococcus mutans* was tested in vitro using the method of microdilution. The optimal comparison of chitosan with NaTPP is a ratio of 1: 5. The value of MIC and MBC nano chitosan-cucumber suri seed extract against *Candida albicans* fungi was 15,63 mg/mL and 62,5 mg/mL. The value of MIC and MBC nano chitosan-cucumber suri seed extract on *Streptococcus mutans* bacteria was 3,90 mg/mL and 125 mg/mL. The results of the study concluded that suri cucumber seed nanoparticles were more effective than the extract dosage forms.

Key words:, antimicroba, *Candida albicans*, cucumber seeds, nanoparticles, *Streptococcus mutans*

UJI AKTIVITAS NANOPARTIKEL BIJI TIMUN SURI SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP *CANDIDA ALBICANS* DAN *STREPTOCOCCUS MUTANS*

Abstrak

Biji timun suri mengandung alkaloid, flavonoid, dan tanin yang berperan sebagai antibakteri dan antifungi. Peningkatan aktivitas metabolit sekunder biji timun suri sebagai anti mikroba dilakukan dengan melakukan pembentukan nanopartikel. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi antimikroba dari nanopartikel yang didapatkan dari biosintesa menggunakan ekstrak biji timun suri. Sampel biji timun suri diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Pembentukan nanopartikel melalui metode gelasi ionik dengan menggunakan polimer kitosan dan natrium tripolifosfat (NaTPP). Pengujian aktivitas antimikroba terhadap *Candida albicans* dan *Staphylococcus mutans* diuji secara *in vitro* menggunakan metode

mikrodilusi. Perbandingan kitosan dengan NaTPP yang optimal adalah perbandingan 1:5. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) nano ekstrak kitosan-biji timun suri terhadap jamur *Candida albicans* adalah 15,63 mg/mL dan 62,50 mg/mL. Nilai KHM dan KBM nano ekstrak kitosan-biji timun suri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* adalah 3,90 mg/mL dan 125 mg/mL. Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa nanopartikel biji timun suri menghasilkan aktivitas yang lebih baik dibandingkan bentuk sediaan ekstraknya. Nanopartikel mampu memperbaiki bioavailabilitas dan meningkatkan sistem penghantaran bioaktif timun suri sehingga aktivitas antimikrobanya lebih efektif.

Kata kunci: antimikroba, biji timun suri, *Candida albicans*, nanopartikel, *Streptococcus mutans*

Pendahuluan

Rongga mulut adalah tempat bersarangnya bakteri, baik yang bersifat komersial maupun oportunistik, antara lain bakteri *Streptococcus mutans* dan jamur *Candida albicans*.¹ Kedua mikroba ini merupakan microflora normal rongga mulut yang dapat menjadi patogen, apabila terdapat faktor prediposisi dapat menyebabkan invasi ke jaringan tubuh manusia.²

Streptococcus mutans adalah bakteri yang menyebabkan terjadinya karies gigi dan menjadi masalah kesehatan gigi dan mulut yang sering terjadi di Indonesia. *Streptococcus mutans* berperan di dalam proses fermentasi karbohidrat sehingga menghasilkan asam yang akan menyebabkan terjadinya infeksi pada rongga mulut dan demineralisasi gigi.³ Jamur *Candida albicans* dapat menyebabkan sariawan oral. Jamur ini akan memproduksi enzim fosfolipase yang berfungsi menghidrolisis fosfolipid membran sel epitel. Selain itu jamur *Candida albicans* juga memproduksi enzim protease dan enzim lain yang bersifat keratolitik yang memudahkan penetrasi ke dalam bagian epidermis.^{1,4}

Penggunaan bahan alam di dalam pengobatan semakin tinggi, karena mudah didapat dan efek samping yang kecil. Penelitian menunjukkan biji timun suri mempunyai aktivitas biologis sebagai anti bakteri dan anti fungi Hal ini diperkuat karena kandungan metabolit sekunder alkaloid, tannin dan flavonoid. Ekstrak biji buah timun suri mempunyai aktivitas terhadap jamur *Candida albicans* dengan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) sebesar 25%. Hasil konsentrasi hambat minimum yang dihasilkan masih terlalu besar, sehingga apabila dibuat sediaan formulasi, tentu menjadi kurang efektif di dalam penggunaannya.⁵

Bentuk dan ukuran partikel merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi efektivitas suatu obat, terutama di dalam proses kelarutan, absorpsi serta distribusi. Nanoteknologi adalah teknologi yang dapat menghasilkan bahan aktif obat dalam partikel dengan ukuran nano. Beberapa jenis pengembangan nanoteknologi yang dikembangkan di Indonesia terutama untuk herbal antara lain nanoemulsi, dan nanopartikel.⁶ Sistem nanopartikel memiliki ukuran partikel yang sangat kecil dibandingkan nano emulsi, yaitu 1-100 nm, sehingga memiliki karakteristik kimia, fisika, dan biologi yang unik. Semakin kecil ukuran nanopartikel, maka menyebabkan luas kontak permukaan dengan mikroba semakin tinggi, dan dapat meningkatkan sifat anti jamur dan antibakterinya. Aplikasi nanopartikel hasil biosintesa menggunakan ekstrak biji timun suri belum pernah dilaporkan, maka pada penelitian ini dilakukan uji potensi antimikroba nanopartikel ekstrak biji timun suri.

Pembuatan nanopartikel ekstrak biji timun suri menggunakan metode gelasi ionik, yaitu menambahkan Natrium Tripolifosfat (NaTPP) sebagai bahan pengikat silang dengan kitosan. Metode gelasi ionik merupakan metode sederhana di dalam pembuatan nanopartikel kitosan. Prinsip metode ini adalah adanya interaksi elektrostatis antara grup amina kitosan dan grup muatan negatif polianion Natrium Tripolifosfat (NaTPP). Keuntungan pembuatan nanopartikel dengan reaksi gelasi ionik yaitu reaksinya mudah dan tidak membutuhkan proses pemanasan, sehingga rusaknya senyawa aktif di dalam biji timun suri dapat dihindarkan.⁷

Kitosan merupakan bahan nanopolimer yang digunakan untuk meningkatkan sistem penghantaran zat aktif di dalam jaringan, sehingga efek zat aktif dapat maksimal. Penambahan Natrium Tripolifosfat (NaTPP) digunakan cross-linking agent, untuk menstabilkan polimer nanopartikel. Penggunaan kitosan menjadi bentuk nanopartikel diharapkan dapat merubah ukuran, sehingga mengoptimalkan kemampuan kitosan sebagai zat pembawa.⁷

Pada penelitian ini biji timun suri setelah dimaserasi, kemudian ekstrak dienkapsulasi dengan metode gelasi ionik.⁸ Untuk mengetahui aktivitas antimikroba nanopartikel ekstrak biji timun suri, dilakukan pengujian aktivitas anti bakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan anti jamur terhadap *Candida albicans*. Pengujian dilakukan secara in vitro, menggunakan metode mikrodilusi. Pengembangan obat bahan alam dengan sintesa nanopartikel ini diharapkan dapat menjadi sumber pengembangan obat herbal yang dapat digunakan sebagai terapi komplementer infeksi mikroba.

Metode

Alat

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat maserasi (toples kaca), *autoclave* (SMIC), oven (Memmert), blender (Maspion), batang pengaduk, kertas saring, erlenmeyer (Iwaki), gelas ukur (Iwaki), mikroplate U (Iwaki), mikro pipet (Socorex), inkubator (Memmert), spektrofotometer (Shimadzu), alat sentrifugasi (PLC Series), magnetic stirrer (Cimarec+), rotary evaporator (RE 100-Pro), beker glass (Herma), neraca analitik (Ohaus), cawan petri, jarum ose, corong buchner, labu hisap, penjepit, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet ukur 1 mL, pipet ukur 5 mL, pipet ukur 10 mL, pallus ball, kompor listrik, panci, lemari asam, pipa kapiler, chamber KLT, lampu UV-Vis, cawan porselen, tabung sentrifuge.

Bahan

Bahan yang digunakan antara lain biji timun suri, suspensi fungi *Candida albicans*, suspensi bakteri *Streptococcus mutans*, media *PGB*, media *SDA*, media *NA*, media *NB*, sitroborat, FeCl₃ 1%, pereaksi dragendorff, H₂SO₄ 10%, BaCl₂, H₂SO₄ pekat, NaCl 0,9%, n-heksan p.a, etil asetat p.a, etanol 96% p.a, etanol teknis, larutan Dimethylsulfoxide (DMSO 0,1%), Aquades (Bratachem), Natrium Tripolifosfat (NATPP) foodgrade, Kitosan.

Prosedur

a. Pengumpulan dan determinasi tanaman

Timun suri yang digunakan di dalam penelitian diperoleh dari Sukabumi, Jawa Barat. Determinasi dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematis Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang.

b. Pembuatan ekstrak

Ekstrak etanol biji timun suri dibuat dengan metode maserasi (perbandingan 1:8). Serbuk biji timun suri 1,5 kg direndam di dalam pelarut etanol 96% selama 24 jam. Kemudian dilanjutkan remaserasi sebanyak 1 kali selama 24 jam. Filtrat yang didapat, dikentalkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 80°C, kemudian dipekatkan di atas *waterbath* sampai bobot konstan.⁵

c. Identifikasi metabolit sekunder

Penapisan fitokimia dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat di dalam sampel. Fase gerak yang digunakan adalah n-heksana:etil asetat dengan perbandingan 8:2. Identifikasi senyawa dilakukan dengan menggunakan beberapa pereaksi semprot, yaitu identifikasi flavonoid (uji dengan H₂SO₄), identifikasi alkaloid (pereaksi *Dragendorff*), identifikasi tanin (uji dengan FeCl₃ 1%).⁸

d. Pembuatan nanopartikel

Pembuatan nanopartikel kitosan ekstrak biji timun suri ini menggunakan perbandingan larutan kitosan dengan larutan NATPP. Perbandingan yang dipilih adalah 5:1 (5 bagian larutan kitosan dengan 1 bagian larutan NATPP). Ekstrak biji timun suri sebanyak 1 mg dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a, ditunggu selama 20 menit selanjutnya dipisahkan antara endapan dan larutan. Larutan yang dihasilkan siap untuk dienkapsulasi. Selanjutnya ditimbang kitosan sebanyak 0,069 gram dilarutkan dalam 11 mL asam asetat glasial 2,5% pH 4. Larutan kitosan yang didapatkan ditambahkan dengan ekstrak biji timun suri. Optimasi penambahan ekstrak antara 5 mL. Langkah berikutnya, larutan distirrer dengan kecepatan 400 rpm selama 20 menit. Tahap selanjutnya, ditambahkan larutan NaTPP dengan konsentrasi 0.25% sebanyak 300µL dan distirrer dengan kecepatan 400 rpm selama 20 menit. Hasil formulasi yang didapatkan selanjutnya di sentrifuga dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Hasil formulasi yang tidak mengendap dilakukan analisis berikutnya, meliputi uji karakteristik dan uji aktivitas.⁹

e. Pembuatan Media, Media Kultur, dan Inokulum Uji

Sebanyak 65 gram serbuk media *Sabouroud's Dextrose Agar* (SDA) dicampurkan dengan 1 liter aquades, dipanaskan selama 20 menit sambil diaduk hingga homogen. Sebanyak 20 gram serbuk media *Peptone Glucose Broth* (PGB) dicampurkan dengan 500 mL aquades, dipanaskan selama 20 menit sambil diaduk hingga homogen. Nutrient agar dibuat dengan cara mencampur 23 g nutrient agar dengan 1 liter air suling dan dididihkan sampai melarut sempurna, Sebanyak 8 gram serbuk NB ditambahkan 1 liter aquades dipanaskan sampai homogen. Kemudian, media di sterilisasi di dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit.¹⁰

Satu ose biakan jamur *Candida albicans* dimasukkan dalam 1 mL media SDA. Kemudian, jamur diinkubasi pada suhu 28±2°C selama 18-24 jam. Satu ose biakan bakteri *Streptococcus mutans* dimasukkan dalam 1 mL media NA. Kemudian bakteri diinkubasi pada suhu 35±2°C selama 18-24 jam.

Koloni *Candida albicans* yang berumur 18-24 jam diambil menggunakan jarum ose steril, kemudian dimasukkan kedalam 10 mL larutan NaCl 0,9% steril. Koloni bakteri *Streptococcus mutans* yang berumur 18-24 jam diambil menggunakan jarum ose steril, kemudian dimasukkan kedalam 10 mL larutan NaCl 0,9% steril. Kekeruhan didapat lalu disetarakan dengan standar larutan *Mc Farland* 0,5, yaitu setara dengan jumlah pertumbuhan 1-2x10⁸ CFU/mL.¹⁰

f. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Aktivitas antibakteri dan antijamur nanoekstrak biji timun suri dengan metode mikrodilusi, menggunakan microplate menurut metode *Clinical and Laboratory Standard Institute*(11). *Microplate* terdiri dari 96 sumur, terdiri dari 12 kolom dan 8 baris. Baris pertama digunakan sebagai kontrol negative, diisi 100 μ L media pertumbuhan (PGB atau NB). Baris kedua digunakan sebagai kontrol positif, diisi 50 μ L media pertumbuhan dan 50 μ L suspensi mikroba uji. Selanjutnya, semua sisa well diisi dengan 100 μ L media pertumbuhan.

Pada baris kelima ditambahkan 100 μ L nano biji timun suri atau kontrol pembanding (ekstrak biji timun suri) dengan konsentrasi yang terbesar. Dari kolom kedua belas diambil 100 μ L campuran dan dipindahkan kedalam kolom sebelas. Pengenceran terus dilakukan hingga kolom pertama yang akan memiliki konsentrasi terkecil. Konsentrasi nano ekstrak dan kontrol pembanding yang digunakan adalah 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,63, 7,82, 3,91, 1,96, 0,98, 0,49, dan 0,25 mg/mL. Semua proses dilakukan secara triplo untuk nano ekstrak dan kontrol pembanding.

Langkah selanjutnya *Microwell-plate* diinkubasi pada suhu 28 \pm 2 $^{\circ}$ C untuk uji jamur dan diinkubasi suhu 35 \pm 2 $^{\circ}$ C untuk uji bakteri selama 24 jam. Selanjutnya diamati bagian yang jernih (tidak ada pertumbuhan jamur) dan ditetapkan sebagai KHM (Kadar Hambat Minimum). KHM (Kadar Hambat Minimum) ditentukan dengan membandingkan warna atau kejernihan larutan uji dan kontrol setelah diinkubasi selama 24 jam. Konsentrasi terendah yang tidak keruh ditetapkan sebagai konsentrasi hambat minimum. Terbentuknya koloni dalam larutan (tidak keruh) pada mikroplate U setelah diinkubasi menandakan adanya pertumbuhan jamur.¹⁰

g. Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Dibuat 10 mL media agar steril, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril, dibiarkan memadat. Sebanyak 5 μ L aliquot diambil menggunakan jarum ose dari setiap bagian jernih pada plat mikrodilusi yang menunjukkan nilai KHM serta seluruh sumur yang berada di atas nilai KHM.¹⁰

Larutan tersebut digoreskan dalam media pertumbuhan yang sudah disiapkan. Cawan petri diinkubasi pada suhu 28 \pm 2 $^{\circ}$ C untuk mikroba jamur dan diinkubasi suhu 35 \pm 2 $^{\circ}$ C untuk mikroba bakteri selama 24 jam. Konsentrasi terendah dimana tidak terlihat adanya pertumbuhan jamur dan secara visual terlihat jernih ditetapkan sebagai KBM (Kadar Bunuh Minimum).¹⁰

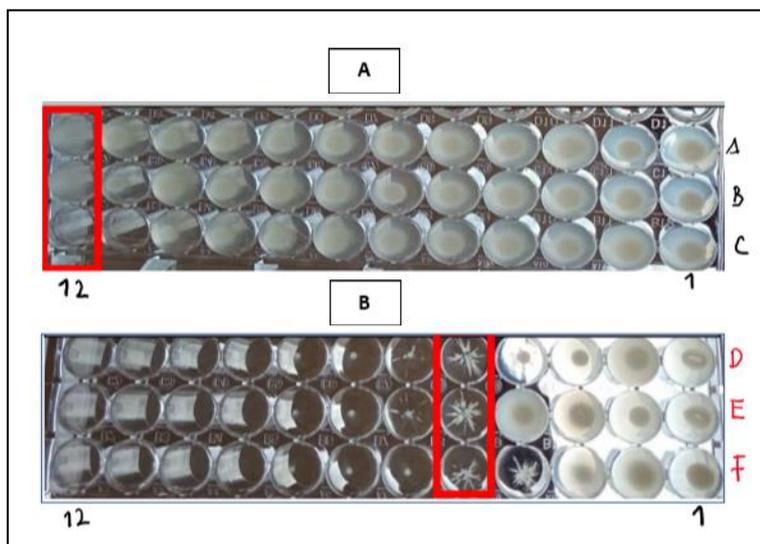
Hasil

Tabel 1. Identifikasi Metabolit Sekunder Biji Timun Suri Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Fase Gerak N-Heksana:Etil Asetat (8:2)

Golongan	Pereaksi identifikasi	Visual	UV 254 nm	UV 366 nm	Hasil
Alkaloid	Dragendorff	Putih kekuningan	Coklat kekuningan	Kuning	0,9
Flavonoid	Sitroborat	Kuning	Coklat	Hijau	0,7
Tanin	FeCl ₃ 1%	Putih kekuningan	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman	0,4

Tabel 2. Hasil Penentuan KHM dan KBM Ekstrak Dan Nano Ekstrak Biji Timun Suri Terhadap Bakteri *Staphylococcus mutans*

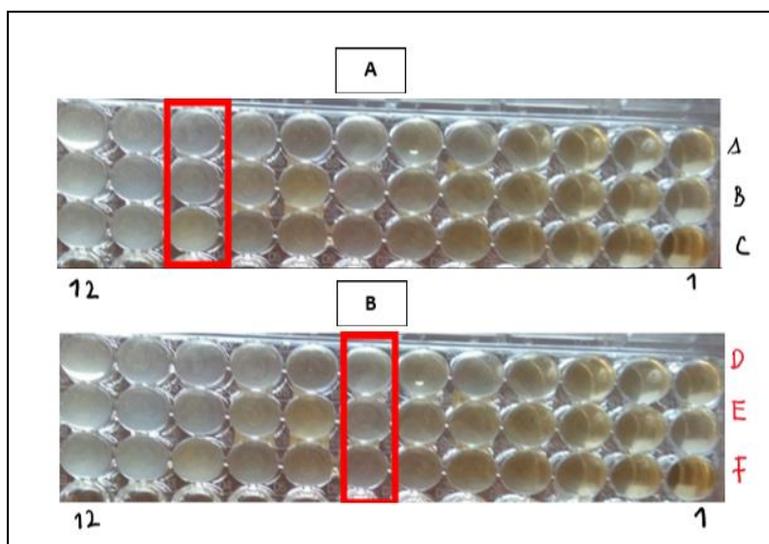
No.	Sampel	Sumur	KHM(mg/mL)	KBM (mg/mL)
1	Ekstrak	12 A-C	500	>500
2	Nano ekstrak	5 D-F	3,9	125



Gambar 1. Hasil Mikrodilusi Penentuan KHM Ekstrak dan Nano Ekstrak Biji Timun Suri Terhadap Bakteri *Staphylococcus Mutans*. A. Pengujian Antibakteri Ekstrak B. Pengujian Antibakteri Nano Ekstrak

Tabel 3. Hasil Penentuan KHM dan KBM Ekstrak Dan Nano Ekstrak Biji Timun Suri Terhadap Jamur *Candida Albicans*

No	Sampel	Sumur	KHM (mg/mL)	KBM (mg/mL)
1	Ekstrak	10 A-C	125	>500
2	Nano ekstrak	7 D-F	15,63	62,50



Gambar 2. Hasil Mikrodilusi Penentuan KHM Ekstrak dan Nano Ekstrak Biji Timun Suri Terhadap Jamur *Candida Albicans*. A. Pengujian Antijamur Ekstrak B. Pengujian Antijamur Nano Ekstrak

Pembahasan

Determinasi tanaman

Telah dilakukan pengujian aktivitas antimikroba nanoekstrak biji timun suri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan jamur *Candida albicans*. Sampel timun suri dilakukan determinasi terlebih dahulu untuk mengetahui jenis tanaman secara spesifik. Hasil determinasi biji timun suri (*Cucumis melo* L. var) adalah sebagai berikut : kingdom Plantae, kelas Magnoliopsida, ordo Cucurbitales, kingdom Plantae, divisi Magnoliophyta, kelas Magnoliopsida, ordo Cucurbitales, family Cucurbitaceae, genus Cucumis, spesies *Cucumis melo* L. var dan nama daerah Timun Suri. Determinasi menunjukkan bahwa sampel yang diperiksa benar merupakan tanaman timun suri (*Cucumis melo* L. var).

Identifikasi metabolit sekunder biji timun suri

Hasil penapisan fitokimia menunjukkan biji timun suri positif mengandung alkaloid, flavonoid, dan tannin (Tabel 1). Berdasarkan pengujian menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), ekstrak biji timun suri yang direaksikan dengan pereaksi identitas Dragendorff didapatkan bercak berwarna coklat kekuningan hijau pada UV 254 nm dan bercak berwarna biru pada UV 366 nm yang menunjukkan adanya kandungan alkaloid.

Identifikasi menggunakan pereaksi sitroborat didapatkan bercak berwarna coklat pada UV 254 nm dan bercak berwarna hijau pada UV 366 nm yang menunjukkan adanya kandungan flavonoid. Ekstrak biji timun suri juga positif terdapat tannin, didapatkan bercak berwarna hijau kehitaman pada UV 254 nm dan hijau kehitaman pada UV 366 nm, setelah disemprot dengan pereaksi FeCl₃ 1%.

Karakterisasi nanopartikel ekstrak biji timun suri

Ekstrak biji timun suri yang telah didapat, dilakukan enkapsulasi menggunakan metode gelasi ionik. Pembentukan nanopartikel menggunakan metode gelasi ionik, yaitu mengenkapsulasi ekstrak biji timun suri yang sudah kental dengan perbandingan kitosan dan NaTPP yang sudah dioptimasi. Metode gelasi ionik didasarkan adanya proses ikatan sambung silang antara kitosan dengan natrium tripolifosfat (NaTPP) sehingga partikel yang terbentuk kestabilannya dapat meningkat. Perbandingan komposisi kitosan dan NaTPP mempengaruhi karakteristik ukuran partikel sampel yang disintesa.¹² Pada penelitian ini menggunakan ratio kitosan : NaTPP dengan perbandingan 1:5, hasil menunjukkan nanopartikel yang didapatkan mempunyai ukuran yang lebih kecil dan persen transmiteman yang besar.

Hasil ukuran rata-rata distribusi partikel nano ekstrak biji timun suri adalah 378.8 nm, dengan frekuensi intensitas 85,3%. Sehingga berdasarkan analisa PSA, ukuran yang didapatkan belum didapatkan ukuran partikel dalam bentuk nanometer (1-100 nm). Faktor yang mempengaruhi hal tersebut dimungkinkan karena perbandingan pengambilan NaTPP dan kitosan yang belum optimal, waktu sentrifuge yang kurang lama sehingga menyebabkan partikel berukuran masih besar.¹³

Hasil pengujian aktivitas antimikroba

Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan menggunakan metode mikrodilusi, karena metode ini memiliki tingkat sensibilitas yang lebih tinggi dibandingkan metode

uji lainnya.¹⁴ Nano ekstrak biji timun suri dan kontrol ekstrak biji timun suri diuji aktivitas antimikroba terhadap bakteri *S.mutans* dan *C.albicans*. Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minimal yang dibutuhkan, yang masih mampu menghambat pertumbuhan mikroba. Di dalam metode mikro dilusi, tidak adanya kekeruhan menunjukkan aktivitas antimikroba. Hasil penetapan nilai KHM ekstrak dan nano ekstrak biji timun suri terhadap bakteri *S.mutans* dan *C. albicans* dapat dilihat pada tabel 2 dan tabel 3.

Nilai KHM nanopartikel biji timun suri terhadap *C.albicans* dan *S. mutans* berturut-turut yaitu 15,63 dan 3,9 mg/mL. Nanopartikel biji timun suri mempunyai aktivitas anti mikroba yang lebih baik dibandingkan ekstraknya, ditunjukkan dengan nilai KHM nanopartikel timun suri lebih kecil dibandingkan dari sediaan ekstrak. Pada pengujian aktivitas antimikroba menggunakan mikrodilusi (Gambar 1 dan Gambar 2), semakin kecil nilai konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan mikroba, maka semakin poten senyawa tersebut.

Kadar Bunuh Minimum (KBM) bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minimal yang mampu membunuh seluruh pertumbuhan mikroba, dan ditetapkan pada konsentrasi yang mampu memberikan zona jernih tanpa pertumbuhan mikroba pada media agar dengan pengamatan secara visual. Aktivitas anti mikroba dapat ditingkatkan dari bakteristatik/fungistatik menjadi bakteriosida/fungsidal, dengan meningkatkan konsentrasi sampel uji diatas nilai KHM

Nilai KBM nano ekstrak biji timun suri *C.albicans* dan *S.mutans* adalah 62,50 dan 125 mg/mL, ditunjukkan dengan tidak ada adanya pertumbuhan mikroba pada media. Nano ekstrak biji timun suri mempunyai aktivitas sebagai bakteriosidal dan fungsidal, walaupun konsentrasi bunuh minimal yang dibutuhkan masih terlalu besar. Hasil pengamatan aktivitas antibakteri dan antijamur berdasarkan nilai KHM dan KBM, menunjukkan nano ekstrak biji timun suri mempunyai aktivitas biologis yang lebih baik dibandingkan ekstraknya. Ekstrak biji timun suri yang dienkapsulasi dengan kitosan mampu menurunkan konsentrasi penggunaan dan dapat mengurangi resiko terjadinya toksisitas, tanpa mengurangi efektifitas dari zat aktifnya.

Metabolit sekunder yang berperan sebagai antibakteri dan antifungi pada biji timun suri yaitu alkaloid, flavonoid, dan tannin. Zat aktif tersebut bioavailabilitasnya rendah dan sulit diabsorpsi, maka diformulasikan dalam bentuk nanopartikel. Pembuatan nanopartikel bertujuan untuk memperbaiki bioavailabilitas dan mengatasi kelarutan zat aktif yang sukar larut, sehingga sistem penghantaran nano ekstrak biji timun suri dapat lebih maksimal untuk pengujian aktivitas anti bakteri dan antifungi.¹⁵ Sistem nanopartikel menyebabkan luas kontak permukaan partikel menjadi lebih besar sehingga meningkatkan jumlah metabolit sekunder, dan dapat dengan mudah masuk ke dalam sel mikroba. Kitosan sebagai matriks pembawa zat aktif berperan penting mengantarkan zat aktif dapat menembus membrane mikroba.¹⁶Kitosan sebagai polimer enkapsulasi meningkatkan adsorpsi zat aktif menembus membran mikroba.¹⁷

Mekanisme antibakteri pada biji timun suri disebabkan karena adanya kandungan senyawa kimia golongan alkaloid, tannin dan flavonoid. Alkaloid dan tanin diduga dapat menginaktifkan adhesin sel mikroba, enzim serta mengganggu transport protein sel, sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna.¹⁸ Flavonoid akan berinteraksi dengan muatan negatif pada dinding mikroba, dan menyebabkan perubahan permeabilitas dinding sel serta tekanan sel menjadi tidak seimbang. Sehingga terjadi pengeluaran elektrolit intraselular dalam jumlah banyak, yang akan menyebabkan sel mikroba lisis, kemudian mati.¹² Pada organisme jamur, ekstrak biji timun suri yang telah dienkapsulasi dengan kitosan menghambat pertumbuhan jamur dengan mengganggu membrane sel. Pada sel jamur, dinding sel mempunyai fungsi sebagai pelindung, pemberi bentuk atau morfologi sel, dan proses metabolisme nutrisi.¹³

Kesimpulan

Hasil uji aktivitas antimikroba nanopartikel biji timun suri terhadap *C.albicans* dan *S.mutans* menunjukkan nilai KHM berturut-turut adalah 15,63 dan 3,90 mg/mL. Pengujian dilanjutkan dengan mengetahui daya bunuh nanopartikel, dengan nilai KBM terhadap *C.albicans* dan *S.mutans* berturut-turut yaitu 62,5 dan 125 mg/mL. Enkapsulasi ekstrak biji timun suri dengan kitosan menunjukkan aktivitas antimikroba yang lebih baik daripada ekstrak etanol 96% biji timun suri.

Ucapan Terima Kasih

LPPM Universitas Ngudi Waluyo melalui pendanaan hibah penelitian internal tahun 2018 berserta rekan mahasiswa tim penelitian nanopartikel ekstrak biji timun suri.

Daftar Pustaka

1. Metwalli KH, Khan SA, Krom BP, Jabra-Rizk MA. Streptococcus Mutans, Candida Albicans, and the human mouth: a sticky situation. Plos Pathog. 2013;9(10):10–4.
2. Bachtiar EW, Bachtiar BM, Zainal-Abidin Z. Relationship Between Candida Albicans And Streptococcus Mutans in early childhood caries, evaluated by quantitative pcr open peer review Version 1 , National. 2018;(0):1–15.
3. Sullivan R, Santarpia P, Lavender S, Gittins E, Liu Z, Anderson Mh, Et Al. Clinical efficacy of a specifically targeted antimicrobial peptide mouth rinse: targeted elimination of streptococcus mutans and prevention of demineralization. Caries Res. 2011;45(5):415–28.
4. Mayer L, Wilson D, Hube B. Candida Albicans pathogenicity. Virulence. 2013;4(2):119–28.
5. Vifta RI, Khotimah SK, Luhurningtyas FP. Uji aktivitas antifungi ekstrak etanol biji timun suri (Cucumis Melo L.) terhadap pertumbuhan candida albicans secara in vitro. Indones J Pharm Nat Prod. 2018;01(1):1.
6. Martien R, Adhyatmika, Irianto LDK, Farida V, Sari DP. Perkembangan teknologi nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat. Farm Univ Gadjah Mada. 2012;
7. Abdassah M. Nanopartikel Dengan Gelasi Ionik. J Farmaka. 2017;15(1):45–52.
8. Sutomo, Kiptiah M, Nurmaidah, Arnida. Identifikasi Potensi senyawa antioksidan dari fraksi etil asetat daun mundar (Garcinia Forbesii King .) Asal Kalimantan Selatan. Pros Semin Nas Lingkung Lahan Basah. 2021;6(3).
9. Ayumi D, Sumaiyah S, Masfria M. Pembuatan dan karakterisasi nanopartikel ekstrak etanol daun ekor naga (Rhaphidophora Pinnata (L.F.) Schott) menggunakan metode gelasi ionik. Talent Conf Ser Trop Med. 2018;1(3):029–33.
10. Suryana S, Nuraeni YYA, Rostinawati T. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol dari lima tanaman terhadap bakteri Staphylococcus epidermidis dengan metode mikrodilusi M7 – A6clsi. Indones J Pharm Sci Technol. 2017;4(1):1.
11. Clsi. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; clinical and laboratory standards institute. 2013.
12. Choiri Z, Martien R, Dono ND, Zuprizal Z. Biosintesis dan karakterisasi nano-enkapsulasi ekstrak buah mengkudu (Morinda citrifolia) dengan kitosan-sodium tripolifosfat sebagai kandidat antioksidan alami. Prosiding Simposium Nasional, Penelitian dan Pengembangan Peternakan Tropik Tahun, 2016, 22-28.
13. Kurniasari D, Atun S. Pembuatan dan karakterisasi nanopartikel ekstrak etanol temu kunci (Boesenbergia Pandurata) pada berbagai variasi komposisi kitosan. J Sains Dasar. 2017;6(1):31.
14. Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial

- activity: a review. *J Pharm Anal* [Internet]. 2016;6(2):71–9. Available From: [Http://Dx.Doi.Org/10.1016/J.Jpha.2015.11.005](http://Dx.Doi.Org/10.1016/J.Jpha.2015.11.005)
15. Subekti S, Molek, Sim M. Kadar hambat minimum (khm) dan kadar bunuh minimum (Kbm) ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L*) terhadap bakteri *Streptococcus Mitis*. *Dk*. 2018;1(1).
 16. Ningsih N, Yasni S, Yuliani S. Sifat fungsional produk enkapsulasinya [nanoparticle of red mangosteen peel extract synthesis and the functional characteristics of its encapsulated products]. *J Teknol Dan Ind Pangan*. 2017;
 17. Nagpal K, Singh Sk, Mishra Dn. Chitosan nanoparticles: a promising system in novel drug delivery. *Chem Pharm Bull*. 2010;58(11):1423–30.
 18. Yaghoubi A, Ghojazadeh M, Abolhasani S, Alikhah H, Khaki-Khatibi F. correlation of serum levels of vitronectin, malondialdehyde and hs-crp with disease severity in coronary artery disease. *J Cardiovasc Thorac Res* [Internet]. 2015;7(3):113–7. Available From: [Http://Dx.Doi.Org/10.15171/Jcvtr.2015.24](http://Dx.Doi.Org/10.15171/Jcvtr.2015.24)
 19. Othman L, Sleiman A, Abdel-Massih Rm. Antimicrobial activity of polyphenols and alkaloids in middle eastern plants. *Front Microbiol*. 2019;10(May).