

Biofarmasi

Journal of Natural Products Biochemistry

**VOLUME 7
NOMOR 2
AGUSTUS 2009
ISSN: 1693-2242**

PENERBIT:

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta

ALAMAT PENERBIT/REDAKSI:

Laboratorium Pusat MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta
Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126
Tel. & Fax. +62-271-663375
E-mail: unsjournals@yahoo.com
Online: <http://biosains.mipa.uns.ac.id/C/index.htm>

TERBIT PERTAMA TAHUN:

2003

ISSN:

1693-2242

PEMIMPIN REDAKSI/PENANGGUNGJAWAB:

S u t a r n o

SEKRETARIS REDAKSI:

Ahmad Dwi Setyawan

PENYUNTING PELAKSANA:

Djoko Santoso
Ratna Setyaningsih
Solichatun
Suratman
Tetri Widiyani

PENYUNTING AHLI:

Prof. Dr. Dayar Arbain – Universitas Andalas Padang
Prof. Dr. dr. Santosa, M.S. – Universitas Sebelas Maret Surakarta
Prof. Dr. Syamsul Arifin Achmad – Institut Teknologi Bandung
Prof. Drs. Suranto, M.Sc., Ph.D. – Universitas Sebelas Maret Surakarta
Dr. Chaerul, Apt. – Pusat Penelitian Biologi LIPI Bogor
Dr. C.J. Sugiharjo, Apt. – Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
Dr. Ir. Supriyadi, M.Sc. – Balai Penelitian Tanaman Obat dan Rempah Bogor

Biofarmasi, Journal of Natural Products Biochemistry

mempublikasikan tulisan ilmiah, baik hasil penelitian asli maupun telaah pustaka (*review*) dalam lingkup ilmu-ilmu farmasi dan biologi, dengan tema khusus biokimia bahan alam (*natural product biochemistry*). Setiap naskah yang dikirimkan akan ditelaah oleh redaktur pelaksana, redaktur ahli, dan redaktur tamu yang diundang secara khusus sesuai bidangnya. Dalam rangka menyongsong pasar bebas, penulis sangat dianjurkan menuliskan karyanya dalam Bahasa Inggris, meskipun tulisan dalam Bahasa Indonesia yang baik dan benar tetap sangat dihargai. Hingga nomor ini, jurnal dikirimkan kepada institusi-institusi yang meminta tanpa biaya pengganti, sebagai bentuk pertukaran pustaka demi mendorong penelitian, pengembangan, dan pemanfaatan bahan alam. Jurnal ini terbit dua kali setahun, setiap bulan Pebruari dan Agustus.

Isolasi dan karakterisasi natrium alginat dari rumput laut *Sargassum* sp. untuk pembuatan bakso ikan tenggiri (*Scomberomorus commerson*)

Isolation and characterization of sodium alginate from brown algae *Sargassum* sp. for making tenggiri (*Scomberomorus commerson*) meatballs

WIWIN DWI WARDANI, KAWIJI, GODRAS JATI MANUHARA

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 2 November 2008. Revisi disetujui: 11 Mei 2009.

Abstract. Wardani WD, Kawiji, Manuhara GJ. 2009. Isolation and characterization of sodium alginate from brown algae *Sargassum* sp. for making tenggiri (*Scomberomorus commerson*) meatballs. *Biofarmasi* 7: 59-67. Brown algae *Sargassum* sp. widespread in territorial of Indonesia. *Sargassum* sp. can be extracted for the yield compound of sodium alginate that can be applied in making the tenggiri meatballs to take care the emulsion stability and to repair the properties of rheology. This research used a Completely Randomized Design (CRD) with one factor that was a variation of sodium alginate addition, i.e. F₁ (0% alginate), F₂ (0.25% alginate), F₃ (0.5% alginate), F₄ (0.75% alginate) and F₅ (0.5% STPP). The result of research showed the characteristics of sodium alginate of seaweeds *Sargassum* sp. from the extraction result included: water rate [5.94% (wb)]; ash rate [19.62% (wb) and 20.86% (db)]; the pH value of condensation of sodium alginate 0.1% (9.07), the pH value of condensation of sodium alginate 0.2% (9.07), the pH value of condensation of sodium alginate 0.3% (9.06), water absorption (214.44%), and rendement (31.62%). The addition of sodium alginate in the making tenggiri meatballs improved the hardness and elasticity of meatballs. The highest hardness level of tenggiri meatballs was formula F₄ (0.75% alginate) and the highest elasticity level of tenggiri meatballs was with an addition of sodium alginate formula F₄. The result of organoleptic test indicated that an addition of sodium alginate tends to improve panelist pleasure to color, flavor, taste, elasticity and hardness of tenggiri meatballs. The tenggiri meatballs formula F₄ represented the formula which the most liked by the panelists. The chemical characteristic of tenggiri meatballs formula F₄ including: water rate (74.61%), ash rate (1.66%), protein rate (14.53%), fat rate (0.93%) and carbohydrate rate (8.26%).

Keywords: *Sargassum* sp., *Scomberomorus commerson*, sodium alginate, tenggiri meatballs

PENDAHULUAN

Indonesia telah dikenal luas sebagai negara kepulauan yang dua pertiga wilayahnya adalah lautan dan mempunyai garis pantai terpanjang di dunia yaitu 80.791,42 km. Di dalam lautan, terdapat bermacam-macam makhluk hidup, baik berupa tumbuhan air maupun hewan air. Salah satu makhluk hidup yang tumbuh dan berkembang di laut adalah alga atau rumput laut.

Sejauh ini, pemanfaatan rumput laut sebagai komoditas perdagangan atau bahan baku industri masih relatif kecil jika dibandingkan dengan keanekaragaman jenis rumput laut yang ada di Indonesia. Padahal, komponen kimiawi yang terdapat dalam rumput laut sangat bermanfaat bagi bahan baku industri makanan, kosmetik, farmasi, dan lain-lain (Putra 2006). Berbagai jenis rumput laut telah dikenal luas sebagai sumber makanan maupun untuk bahan baku industri, begitu juga dengan *Sargassum* yang mengandung senyawa alginat. Alginat merupakan konstituen dari dinding sel pada rumput laut yang banyak dijumpai pada alga cokelat (Phaeophycota). Kandungan alginat dalam rumput laut tergantung pada jenis rumput laut (Setiawan 2004).

Departemen Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia mencatat produksi rumput laut cokelat di

Indonesia pada tahun 2002 mencapai 400 ton. Rumput laut *Sargassum* sp. tersebar luas di perairan Indonesia. Di pasar lokal, *Sargassum* sp. lebih dikenal dengan nama 'Meranti'. Dalam penelitian ini dipilih rumput laut *Sargassum* sp. karena selain mudah didapat, rumput laut jenis ini juga mempunyai kandungan alginat yang lebih tinggi dibandingkan dengan jenis *Turbinaria* sp. (Nurjanah 2004).

Kegunaan alginat adalah sebagai bahan pengental, pengemulsi, penstabil suspensi, pelapis, pengikat, serta pembentuk gel dan film dalam berbagai industri. Alginat dapat diaplikasikan pada pembuatan bakso ikan tenggiri (*Scomberomorus commerson*) sebagai pengemulsi dan pengental. Dalam produk olahan daging, kandungan lemak dan airnya membentuk hubungan yang berlawanan. Untuk memelihara tekstur dan menurunkan kadar lemak dapat dilakukan dengan penambahan hidrokolloid yang akan mengikat air dalam sistem. Rahardiyana (2004) menyatakan bahwa lemak dapat digantikan dengan air dan bahan bukan daging seperti hidrokolloid (karagenan, pati, maltodekstrin, alginat) selama pengolahan produk-produk daging rendah lemak, yang dapat membantu menjaga stabilitas emulsi dan memperbaiki sifat rheologi.

Alginat memiliki beberapa kelebihan diantara bahan pengental lain, seperti boraks yang dilarang

penggunaannya maupun *sodium tripolyphosphate* yang lazim digunakan sebagai pengemulsi. Natrium alginat hasil ekstraksi rumput laut *Sargassum* sp. merupakan bahan alami yang mengandung serat yang tinggi, mengandung mineral penting, mudah dicerna, rasanya enak, dan aman dikonsumsi. Dengan demikian, natrium alginat dari rumput laut *Sargassum* sp. diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai bahan pengemulsi alternatif pada pembuatan bakso yang kaya nutrisi dan aman untuk dikonsumsi.

Meningkatkan potensi perikanan di Indonesia sangat besar, peluang pengembangan usaha perikanan yang cukup besar serta potensi budi daya tambak yang cukup berarti maka perlu dikembangkan upaya pemanfaatannya, salah satunya adalah dengan pengembangan hasil olahannya. Selain itu, potensi pasar bakso di Indonesia yang berpenduduk sangat besar ini memang sangat besar, sehingga untuk meningkatkan konsumsi ikan adalah dengan diversifikasi produk hasil perikanan (Wibowo 1995).

Produksi ikan tenggiri di perairan Jawa Tengah cukup tinggi. Produksi ikan tenggiri pada tahun 2005 mencapai 10.000 ton. Ikan tenggiri memiliki kandungan gizi yang tinggi serta mutu proteinnya setingkat dengan mutu protein daging. Ikan tenggiri memiliki warna daging yang putih serta memiliki kandungan aktin dan miosin cukup tinggi, sehingga bakso yang dihasilkan memiliki tekstur yang bagus.

Tujuan dari penelitian ini adalah: (i) Mengetahui karakteristik (kadar air, kadar abu, pH, daya serap air, dan rendemen) natrium alginat dari rumput laut *Sargassum* sp. (ii) Mengetahui pengaruh penambahan natrium alginat rumput laut *Sargassum* sp. terhadap tekstur (kekerasan dan kekenyalan) bakso ikan tenggiri. (iii) Mengetahui pengaruh penambahan natrium alginat rumput laut *Sargassum* sp. terhadap tingkat kesukaan panelis terhadap warna, aroma, rasa, kekenyalan, dan kekerasan bakso ikan tenggiri. (iv) Mengetahui formula bakso ikan tenggiri dengan penambahan natrium alginat rumput laut *Sargassum* sp. yang paling disukai. (v) Mengetahui karakteristik kimia (kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, dan kadar karbohidrat) bakso ikan tenggiri dengan penambahan natrium alginat dari rumput laut *Sargassum* sp. pada konsentrasi yang paling disukai panelis.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pangan dan Gizi, Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret Surakarta, Laboratorium Biologi Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret Surakarta, dan Laboratorium Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dalam jangka waktu 6 bulan, yaitu dari bulan Maret hingga Agustus 2008.

Alat dan bahan

Bahan utama yang digunakan untuk isolasi alginat adalah agar cokelat (*Phaeophyceae*) spesies *Sargassum* sp.

yang diperoleh dari Pantai Baron, Kabupaten Gunung Kidul, Yogyakarta. Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk isolasi alginat antara lain CaCl_2 1% dan 10%, HCl 2% dan 5%, Na_2CO_3 1% dan 4%, akuades, dan alkohol netral 95%. Bahan yang digunakan untuk pembuatan bakso ikan tenggiri adalah daging ikan tenggiri, garam dapur, bawang putih, es batu, tepung tapioka, dan natrium alginat. Bahan-bahan yang digunakan untuk uji sifat kimia bakso ikan yaitu: (i) protein, meliputi katalis N campuran $\text{Na}_2\text{SO}_4:\text{HgO}$, asam sulfat pekat, NaOH, asam borat 4%, indikator PP, HCl 0,02 N, dan sampel bakso, (ii) lemak, meliputi pelarut petroleum eter dan sampel bakso.

Alat yang digunakan dalam tahap preparasi bahan adalah blender kering dan ayakan 80 mesh. Alat yang digunakan untuk isolasi alginat adalah blender, *waterbath*, gelas beker, pH-meter, gelas ukur, labu takar, termometer, *cabinet dryer*, ayakan 80 mesh, dan kain saring. Alat yang digunakan untuk pembuatan bakso meliputi pisau, mesin penggiling daging, baskom, *mixer*, panci, dan kompor. Alat yang digunakan untuk: (i) uji kadar air, meliputi botol timbang, eksikator, oven, dan penjepit, (ii) uji kadar abu, meliputi *muffle*, kurs, oven, eksikator, tanur, neraca analitik, (iii) uji kadar lemak, meliputi alat ekstraksi *soxhlet*, eksikator, kertas saring bebas lemak, dan neraca analitik, (iv) uji protein, meliputi labu Kjeldahl, desikator, gelas ukur, pemanas listrik, buret, Erlenmeyer, dan (v) alat untuk uji sifat mekanik tekstur, berupa *Lloyd instruments*.

Rancangan penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan satu faktor yaitu variasi penambahan natrium alginat (0%; 0,25%; 0,5%; 0,75%). Ulangan perlakuan dilakukan sebanyak dua kali dengan masing-masing ulangan dilakukan dua kali analisis.

Cara kerja

Preparasi bahan

Sebelum dilakukan ekstraksi, terlebih dahulu dilakukan perlakuan pendahuluan. Rumput laut basah dicuci kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari (kurang lebih 7 jam/hari) selama 2 hari. Setelah rumput laut kering, dilakukan pemisahan antara bagian daun dan batang. Hal ini dilakukan karena alginat yang diisolasi dalam penelitian ini hanya alginat yang terkandung dalam daun rumput laut saja. Daun yang telah dipisahkan dari bagian batang kemudian dihaluskan dengan blender kering sehingga diperoleh serbuk rumput laut kering.

Pengecilan ukuran rumput laut *Sargassum* sp. pada tahap preparasi bertujuan untuk memperbesar luas permukaan total, karena semakin kecil ukuran bahan maka luas permukaan totalnya semakin besar. Untuk satuan berat yang sama dan dengan luas permukaan yang besar akan memperbanyak alginat yang terekstrak. Selain itu, dengan pengecilan ukuran dapat memperpendek jarak alginat untuk keluar dari jaringan, sehingga semakin mempermudah alginat terekstrak. Selain preparasi sampel rumput laut, dilakukan juga persiapan pembuatan larutan CaCl_2 1%, CaCl_2 10%, HCl 2%, HCl 5%, Na_2CO_3 1%, dan Na_2CO_3 4%.

Isolasi alginat

Proses ekstraksi alginat dari rumput laut *Sargassum* sp. dilakukan dengan metode *Le-Gloahec-Herter* (Nurjanah 2004) yang dimodifikasi. Serbuk rumput laut sebanyak 25 gram dicampur dengan akuades sebanyak 200 ml, selanjutnya direndam dalam CaCl_2 1% 200 ml selama 2 jam. Fungsi dari proses ini adalah untuk menghilangkan sebagian besar laminarin, manitol, garam, dan komponen ikutan karbohidrat yang lain yang terkandung di dalam rumput laut. Garam-garam tersebut beserta CaCl_2 selanjutnya dihilangkan melalui pencucian dengan air keran bersih, sedangkan kalsium alginat tetap tertinggal di dalam sel karena tidak larut dalam air. Pencucian ini dihentikan jika air cucian telah bersih. Selanjutnya dilakukan kembali perendaman dalam HCl 2% 200 ml selama 30 menit dengan tujuan untuk melarutkan sisa-sisa garam alkali tanah. Setelah itu dilakukan pencucian dengan air bersih sampai pH netral.

Tahap selanjutnya adalah ekstraksi dengan cara bubuk rumput laut diblender bersama 200 ml larutan Na_2CO_3 4% kemudian dipanaskan dalam *waterbath* 90°C selama 2 jam sambil dilakukan pengadukan secara periodik. Proses ini dilakukan hingga seluruh selulosa menjadi partikel halus dan dihasilkan pasta yang homogen. Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan menambahkan akuades dengan perbandingan volume Na_2CO_3 4% dan akuades adalah 3:7. Kemudian, larutan yang dihasilkan disaring dengan menggunakan kain saring sehingga diperoleh filtrat. Filtrat tersebut selanjutnya dipanaskan hingga suhu 40°C kemudian digumpalkan menggunakan larutan CaCl_2 10% dengan perbandingan CaCl_2 10% dan filtrat = 1:5 dan diaduk selama 15 menit hingga diperoleh gumpalan kalsium alginat. Filtrat sisa digumpalkan dengan larutan CaCl_2 5% dengan perbandingan CaCl_2 5% dan filtrat = 1:5 hingga diperoleh gumpalan kalsium alginat.

Kemudian kalsium alginat yang diperoleh diasamkan dengan HCl 5% sedikit demi sedikit hingga diperoleh pH kalsium alginat 2-3, kemudian dicuci dengan alkohol 95% dengan perbandingan alkohol 95% dan kalsium alginat = 1:1, dengan cara direndam sambil diaduk secara periodik selama 20 menit dan disaring. Setelah itu dilakukan *incorporation Na* menggunakan larutan Na_2CO_3 1% dengan perbandingan kalsium alginat dan Na_2CO_3 1% = 1:1,5 selama 1 jam sambil diaduk secara periodik. Kemudian dilakukan pencucian kembali menggunakan alkohol 95% sebanyak 2 kali.

Tahapan terakhir adalah pengeringan dengan suhu $70-75^\circ\text{C}$ selama 8 jam dalam *cabinet dryer*. Produk akhir yang diperoleh adalah natrium alginat kering. Setelah diperoleh natrium alginat kering, dilakukan pemblenderan dan pengayakan 80 mesh untuk mempermudah tahap penelitian selanjutnya.

Karakterisasi natrium alginat

Parameter yang diamati pada karakterisasi Na-alginat dari rumput laut *Sargassum* sp. meliputi kadar air Na-alginat dengan pengeringan (termogravimetri), kadar abu Na-alginat dengan pengabuan, derajat keasaman (pH) Na-alginat dengan pH-meter, dan daya serap air Na-alginat.

Derajat keasaman Na-alginat, Cara pengukurannya yaitu natrium alginat dilarutkan dalam akuades menjadi

larutan dengan konsentrasi 0,1%; 0,2%; dan 0,3%. Larutan natrium alginat dalam berbagai konsentrasi selanjutnya ditera pH-nya dengan pH-meter.

Daya serap air Na-alginat. Cara pengukurannya yaitu bahan yang akan diukur sebanyak 3 gram diletakkan di atas kertas saring, ditambahkan air hangat (suhu 40°C) sebanyak 13 gram, dan didiamkan selama 3 menit. Air yang keluar ditampung kemudian ditimbang. Daya serap air dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Daya serap air (\%)} = \frac{a - b}{c} \times 100\%$$

a = berat air mula-mula (gram)

b = berat air yang keluar (gram)

c = berat sampel (gram)



Gambar 1. Gumpalan asam alginat



Gambar 2. Natrium alginat kering

Tabel 1. Komposisi bakso ikan tenggiri

Formula	Ikan tenggiri (gram)	Es Batu (gram)	Tepung Tapioka (gram)	Garam (gram)	Bumbu (gram)	Pengental (gram)
F1	300	75	45	6	6	0
F2	300	75	45	6	6	0,1875 alginat
F3	300	75	45	6	6	0,3750 alginat
F4	300	75	45	6	6	0,5625 alginat
F5	300	75	45	6	6	0,3750 STPP

Rendemen natrium alginat selama proses isolasi.

Pengukuran rendemen hasil isolasi natrium alginat pada rumput laut *Sargassum* sp. meliputi rendemen rumput laut kering terhadap rumput laut basah, rendemen daun rumput laut kering terhadap rumput laut basah, rendemen serbuk daun rumput laut kering terhadap rumput laut basah, rendemen natrium alginat kering terhadap rumput laut basah, rendemen daun rumput laut kering terhadap rumput laut kering, rendemen serbuk daun rumput laut kering terhadap rumput laut kering, rendemen natrium alginat kering terhadap rumput laut kering, rendemen serbuk daun rumput laut kering terhadap daun rumput laut kering, rendemen natrium alginat kering terhadap daun rumput laut kering, dan rendemen natrium alginat kering terhadap serbuk daun rumput laut kering.

Pembuatan bakso ikan tenggiri

Pembuatan bakso ikan tenggiri diawali dengan pembuatan filet ikan terlebih dahulu. Filet ikan tenggiri seberat 300 gram selanjutnya digiling dengan terlebih dahulu daging ikan dipotong kecil-kecil setebal 0,5-0,7 cm dan ditambahkan es batu sebanyak 75 gram (25% berat daging).

Selanjutnya ditambahkan 6 gram garam (2% berat daging) dan bumbu (1 gram merica, 5 gram bawang putih) ke dalam adonan untuk diblender kembali. Kemudian setelah tercampur merata, ke dalam adonan daging ditambahkan sedikit demi sedikit tepung tapioka sebanyak 45 gram (15% berat daging) sambil diaduk dan dilumatkan hingga diperoleh adonan yang homogen. Selanjutnya ditambahkan serbuk natrium alginat sebanyak 0%; 0,25%; 0,5%; dan 0,75% dari berat es batu yang ditambahkan yaitu sebanyak 0 gram; 0,1875 gram; 0,375 gram; dan 0,5625 gram ke dalam adonan dan diaduk agar merata. Komposisi bakso ikan tenggiri untuk masing-masing formula dapat dilihat pada Tabel 1. Variasi penambahan natrium alginat ini dimaksudkan untuk mengetahui pengaruh penambahannya terhadap sifat fisik, kimia, dan organoleptis bakso ikan tenggiri yang dihasilkan.

Adonan yang telah homogen dicetak menjadi bola-bola bakso yang siap direbus. Bola-bola bakso direbus dalam air mendidih selama 10-15 menit hingga matang (Wibowo 1995). Selain itu, dilakukan juga pembuatan bakso ikan tenggiri dengan formula yang sama, dengan penambahan *sodium tripolyphosphate* (STPP) sebanyak 0,375 gram (0,5%) sebagai pembanding.

Karakterisasi bakso ikan tenggiri

Parameter yang diukur meliputi tekstur bakso ikan tenggiri dengan *Lloyd instruments* dan uji organoleptis. Uji organoleptik bakso ikan tenggiri dengan penambahan natrium alginat dari rumput laut *Sargassum* sp. dilakukan dengan mengujikan bakso ikan kepada para panelis. Parameter yang dinilai oleh para panelis meliputi warna, aroma, rasa, kekenyalan, kekerasan, dan *overall*.

Analisis proksimat bakso

Analisis proksimat dilakukan untuk formula bakso yang paling disukai panelis. Untuk analisis proksimat dilakukan pengukuran pada parameter kadar air bakso ikan tenggiri

dengan termogravimetri, kadar abu bakso dengan pengabuan, kadar protein bakso dengan metode Kjeldahl, kadar lemak bakso dengan metode Soxhlet, dan kadar karbohidrat bakso dengan metode *by difference*.

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan ANOVA untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar perlakuan pada tingkat signifikansi $\alpha=0,05$. Kemudian dilanjutkan dengan DMRT pada tingkat signifikansi (α) yang sama.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik natrium alginat rumput laut *Sargassum* sp.

Pada penelitian ini dilakukan karakterisasi natrium alginat rumput laut *Sargassum* sp. yang meliputi penentuan kadar air, kadar abu, pH larutan natrium alginat, dan daya serap air. Karakteristik natrium alginat dapat dilihat pada Tabel 2.

Dari penelitian ini diperoleh kadar air natrium alginat rumput laut *Sargassum* sp. sebesar 5,94% (wb). Nilai tersebut telah memenuhi persyaratan dari Ekstra Farmakope Indonesia, yaitu kadar air alginat tidak lebih dari 15% (wb) (Nurjanah 2004). Kadar air pada penelitian ini juga lebih rendah dibandingkan dengan kadar air natrium alginat pada penelitian Nurjanah (2004), yaitu sebesar 7,48%. Besarnya kadar air alginat dipengaruhi oleh suhu dan kelembapan relatif ruang penyimpanan. Menurut Nurjanah (2004), suhu dapat mempengaruhi kemampuan mengikat air dari suatu garam alginat. Pada suhu sedang sampai suhu dingin, kemampuan mengikat air dari suatu garam alginat sangat besar. Selain itu, kadar air alginat juga dipengaruhi oleh RH lingkungan sekitar (Cottrel dan Kovacks 1980), semakin tinggi RH lingkungan maka kadar air dalam bahan akan meningkat.

Kadar abu natrium alginat pada penelitian ini sebesar 20,85% (db). Nilai kadar abu tersebut telah memenuhi persyaratan dari Ekstra Farmakope Indonesia, yaitu tidak boleh lebih dari 21% (db). Kadar abu natrium alginat pada penelitian ini lebih kecil dibanding dengan kadar abu hasil penelitian sebelumnya yaitu sebesar 24,82% (db) (Nurjanah 2004). Kadar abu berhubungan dengan kandungan mineral suatu bahan. Kandungan mineral yang terdapat pada suatu bahan dapat berupa garam organik dan anorganik. Salah satu garam anorganik adalah garam karbonat. Selain garam organik dan anorganik, mineral juga ditemukan dalam bentuk senyawa kompleks yang bersifat organik. Penentuan kadar abu dalam bentuk aslinya sangat sulit dilakukan, sehingga penentuan kadar abu pada umumnya dilakukan dengan cara menentukan sisa-sisa hasil pembakaran suatu garam mineral atau dikenal dengan istilah pengabuan (Winarno 1990a). Besarnya kadar abu alginat dipengaruhi oleh banyaknya penambahan larutan Na_2CO_3 pada saat ekstraksi. Na_2CO_3 yang terdapat dalam sampel merupakan mineral garam organik, sehingga semakin besar kandungannya dalam suatu bahan akan meningkatkan kadar abu natrium alginat.

Besarnya pH larutan natrium alginat pada konsentrasi 0,1%; 0,2%; dan 0,3% tidak berbeda nyata, yaitu berkisar antara 9,06-9,07. Penambahan Na_2CO_3 pada saat ekstraksi menyebabkan pH asam alginat semakin meningkat. Hal ini dikarenakan Na_2CO_3 merupakan garam yang bersifat basa. Nilai pH natrium alginat yang merupakan basa tersebut berpengaruh terhadap tekstur bakso yang dihasilkan pada pembuatan bakso ikan tenggiri. Daya serap air natrium alginat pada penelitian ini sebesar 214,44%. Nilai tersebut cukup besar, karena natrium alginat sangat mudah menyerap air. Asam alginat tidak larut dalam air panas maupun dingin, tetapi asam alginat memiliki kemampuan menyerap air yang luar biasa (Nurjanah 2004).

Kandungan kimia yang terkandung dalam alginat mempengaruhi kemurnian alginat dan sifat gel yang dihasilkan. Dari hasil penelitian Nurjanah (2004) dalam mengekstrak alginat dari rumput laut *Sargassum* sp. dengan 107% natrium alginat relatif kecil. Besarnya kadar protein dan lemak dari suatu garam alginat berpengaruh terhadap kualitas gel yang dihasilkan. Semakin tinggi kadar protein dan lemak dalam alginat menyebabkan kualitas gel yang terbentuk semakin rendah. Lemak yang tinggi akan menghambat pengikatan air oleh alginat. Hal ini menyebabkan kekuatan gel alginat berkurang dan diduga berdampak pada sifat fisik bakso ikan yang dihasilkan.

Rendemen hasil isolasi alginat rumput laut *Sargassum* sp.

Rendemen hasil isolasi alginat pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3. Dari hasil penelitian diperoleh rendemen natrium alginat hasil ekstraksi daun rumput laut *Sargassum* sp. sebesar 31,62%. Rendemen hasil isolasi pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian sebelumnya, yaitu sebesar 26% (Nurjanah 2004).

Rendemen natrium alginat pada penelitian yang dilakukan oleh Utami (2007) tentang pengaruh perendaman rumput laut *Sargassum* sp. dalam HCl terhadap ekstraksi natrium alginat, lebih tinggi dibandingkan pada penelitian ini, yaitu sebesar 34%. Perbedaan rendemen dapat disebabkan karena adanya perbedaan metode ekstraksi dan fraksi rumput laut yang diisolasi. Menurut Winarno (1990b), kadar alginat pada dasarnya merupakan kandungan asam alginat yang dikandung dalam suatu spesies. Kandungan terbesar alginat (30-40%) dapat diperoleh dari jenis *Laminariales* (Putra 2006).

Sifat fisik bakso ikan tenggiri dengan penambahan natrium alginat

Sifat fisik suatu produk sangat menentukan tingkat penerimaan konsumen terhadap produk tersebut. Sifat fisik suatu produk juga berpengaruh terhadap kualitas produk dan harga produk. Pembuatan bakso ikan tenggiri dengan berbagai variasi penambahan natrium alginat diduga dapat menyebabkan perubahan sifat fisik bakso ikan tenggiri selama proses pengolahan.

Karakteristik natrium alginat rumput laut *Sargassum* sp. meliputi kadar air sebesar 5,94% (wb); kadar abu sebesar 19,62% (wb) dan 20,86% (db); pH larutan natrium alginat 0,1% sebesar 9,07; pH larutan natrium alginat 0,2% sebesar 9,07; pH larutan natrium alginat 0,3% sebesar 9,06; dan daya serap air natrium alginat sebesar 214,44%.

Tabel 2. Karakteristik natrium alginat hasil isolasi

Karakteristik	Na-alginat
% kadar air (wb)	5,94
% kadar abu	(wb) 19,62 (db) 20,85
pH larutan	0,1% 9,07 0,2% 9,07 0,3% 9,06
Daya serap air (%)	214,44

Tabel 3. Rendemen hasil isolasi alginat rumput laut *Sargassum* sp.

Bahan	Berat (gram)	Rendemen (%)			
		RL basah	RL kering	RL daun RL kering	Serbuk RL kering
Rumput laut basah	1000	-	-	-	-
Rumput laut kering	248	24,80	-	-	-
Daun rumput laut	199,28	19,93	80,35	-	-
Serbuk rumput laut	198,06	19,81	79,86	99,39	-
Na-alginat kering	62,63	6,26	25,25	31,43	31,62

Keterangan: Penghitungan berdasarkan berat basah (wb), RL = rumput laut

Rendemen natrium alginat hasil ekstraksi adalah 31,62%. Penambahan natrium alginat pada pembuatan bakso ikan tenggiri meningkatkan tingkat kekerasan bakso yang dihasilkan. Tingkat kekerasan bakso ikan tenggiri tertinggi adalah bakso formula F_4 (0,75% alginat). Penambahan natrium alginat pada pembuatan bakso ikan tenggiri meningkatkan tingkat kekenyalan bakso yang dihasilkan. Selain itu, tingkat kekenyalan tertinggi bakso ikan tenggiri dengan penambahan alginat juga diperoleh dari bakso formula F_4 (0,75% alginat).

Hasil uji organoleptis menunjukkan bahwa penambahan natrium alginat cenderung meningkatkan tingkat kesukaan panelis terhadap warna, aroma, rasa, kekenyalan, dan tingkat kekerasan bakso ikan tenggiri yang dihasilkan. Bakso ikan tenggiri formula F_4 (0,75% alginat) dengan komposisi: 300 gram daging ikan tenggiri; 75 gram es batu; 6 gram garam; 1 gram merica; 5 gram bawang putih; 45 gram tepung tapioka; dan 0,5625 gram alginat, merupakan formula bakso yang paling disukai panelis (Tabel 4).

Karakteristik kimia bakso ikan tenggiri pada formula F_4 (0,75% alginat) meliputi kadar air (74,61%), kadar abu (1,66%), kadar protein (14,53%), kadar lemak (0,93%), dan kadar karbohidrat (8,26%) (Tabel 5). Karakteristik kimia bakso ikan tenggiri dengan penambahan natrium alginat rumput laut *Sargassum* sp. pada formula F_4 (0,75% alginat) telah sesuai dengan persyaratan Standar Nasional Indonesia untuk produk bakso ikan. Pengujian tingkat kekerasan bakso ikan tenggiri dilakukan dengan *Lloyd Instrument*. Teknik tersebut pengujian dilakukan dengan menentukan gaya maksimum yang diperlukan untuk memecah (*shear force*) produk bakso ikan tenggiri yang telah masak. Gaya maksimum (N) dalam hal ini merupakan gaya maksimum

yang diperlukan untuk memberikan deformasi pada bakso. Artinya, semakin tinggi gaya yang dibutuhkan untuk memecah bakso dengan tingkat kerusakan yang sama, menunjukkan produk tersebut semakin keras.

Tingkat kekerasan

Dari Gambar 3 dapat diketahui bahwa tingkat kekerasan antar formula bakso ikan tenggiri dengan variasi penambahan natrium alginat F₁ (0% alginat), F₂ (0,25% alginat), F₃ (0,5% alginat), dan F₅ (0,5% STPP) tidak berbeda nyata. Akan tetapi, tingkat kekerasan pada formula F₄ (0,75% alginat) berbeda nyata dengan keempat formula yang lain. Bakso ikan tenggiri F₄ (0,75% alginat) memiliki tingkat kekerasan tertinggi. Pada produk bakso, terjadi gelasi polimer protein dari daging ikan dan karbohidrat yang berasal dari tepung tapioka yang disebabkan adanya pemanasan yang mengakibatkan tekstur bakso menjadi keras. Protein berperan dalam meningkatkan tingkat kekerasan bakso. Protein terdiri atas miosin dan aktomiosin, dimana miosin mempunyai kemampuan membentuk gel dengan baik (Rahardiyani 2004).

Perbedaan tingkat kekerasan bakso ikan tenggiri dipengaruhi oleh perbedaan konsentrasi penambahan natrium alginat. Hidayati (2002) juga menyebutkan bahwa dalam penelitiannya mengenai pengaruh STPP dan natrium alginat terhadap sifat rheologi bakso, tingkat kekerasan bakso meningkat antara 24,237-59,410 N.

Tingkat kekenyalan

Tingkat kekenyalan diukur berdasarkan kemampuan suatu bahan melakukan deformasi elastis. Sifat kenyal ini dimiliki oleh gel, termasuk bakso ikan, dan tingkat kekenyalan bakso ditentukan oleh jenis daging dan interaksi pati-pati dan pati-protein. Tingkat kekenyalan bakso ikan tenggiri dapat dilihat pada Gambar 4.

Gambar 4 menunjukkan bahwa variasi penambahan natrium alginat pada bakso ikan tenggiri berpengaruh terhadap tingkat kekenyalan bakso yang dihasilkan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penambahan natrium alginat hasil ekstraksi pada penelitian ini sebanyak 0,25% (F₂) dan 0,5% (F₃) belum berpengaruh terhadap tingkat kekenyalan bakso ikan tenggiri yang dihasilkan. Peningkatan tingkat kekenyalan bakso ikan tenggiri terlihat pada formula F₄ (0,75% alginat) yang lebih besar dibanding dengan formula kontrol F₁ (0% alginat), serta tidak berbeda nyata dengan F₅ (0,5% STPP).

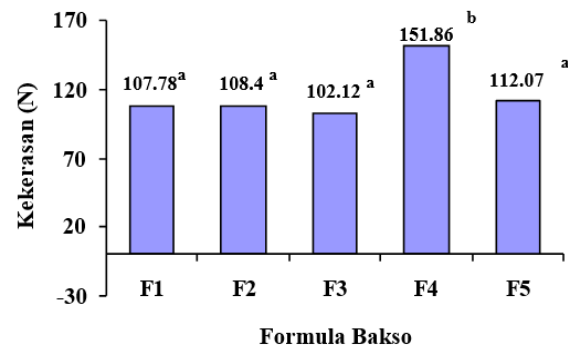
Perbedaan tingkat kekenyalan bakso dapat disebabkan karena perbedaan penambahan bahan pengental, sehingga berpengaruh juga terhadap kadar air, kadar protein, serta bahan-bahan lain yang ditambahkan, berkaitan dengan pembentukan gel. Tekstur bakso dipengaruhi oleh jenis pati dan hidrokoloid yang ditambahkan. Hidrokoloid seperti alginat dan pati memungkinkan terjadinya interaksi sinergis untuk meningkatkan sifat-sifat tekstural dari produk daging rendah lemak (Chin et al. 1998). Haryadi (1993) menyatakan bahwa pati yang digunakan bersama-sama dengan bahan tambahan makanan yang bersifat basa, apabila dilakukan pemanasan dapat memperbaiki tekstur suatu produk gel. Pada pH di atas 4,5, viskositas karbohidratnya meningkat dan pada pH alkali, protein

globulin dapat terekstrak. Akibatnya, pada pH alkali tersebut terjadi interaksi antara karbohidrat dan protein, sehingga apabila dilakukan pemanasan akan menghasilkan gel yang lebih kenyal (Lineback dan Inglett 1983).

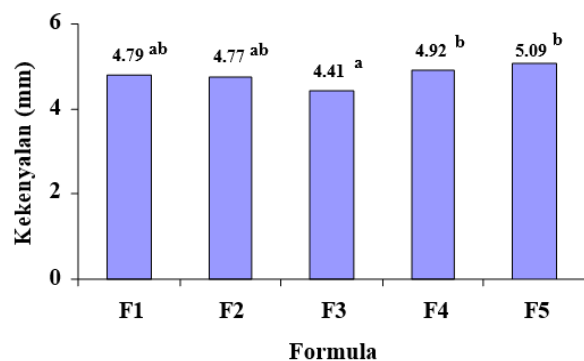
Penambahan hidrokoloid dan pati juga dapat menyebabkan pengurangan lemak, disamping memelihara sifat fisik dan organoleptis melalui sifat gel dan interaksinya dengan protein pada suatu emulsi daging restukturisasi (Chin et al. 1998). Rahardiyani (2004) juga menyebutkan bahwa hidrokoloid dalam produk emulsi daging berperan sebagai faktor yang mampu menjaga sifat asli bakso selama penyimpanan. Dari hasil penelitian Hidayati dalam Rahardiyani (2004), STPP dan alginat mampu meningkatkan tingkat kekenyalan bakso daging sapi.

Sifat organoleptis bakso ikan tenggiri dengan penambahan natrium alginat

Uji organoleptis dilakukan untuk mengetahui tingkat penerimaan konsumen terhadap produk yang dibuat. Pembuatan bakso ikan tenggiri dengan penambahan natrium alginat merupakan hal baru, untuk itu perlu dilakukan uji organoleptis untuk mengetahui tingkat kesukaan konsumen terhadap produk bakso (Gambar 5).



Gambar 3. Tingkat kekerasan (N) bakso ikan tenggiri



Gambar 4. Tingkat kekenyalan bakso ikan tenggiri

Hasil uji organoleptis menunjukkan bahwa untuk parameter warna bakso ikan tenggiri formula F₁ (0% alginat), F₂ (0,25% alginat), dan F₃ (0,5% alginat) berbeda nyata dengan bakso formula F₄ (0,75% alginat). Penambahan natrium alginat tidak berpengaruh terhadap warna bakso ikan tenggiri yang dihasilkan untuk konsentrasi 0,25% dan 0,5%. Panelis lebih menyukai warna bakso ikan tenggiri formula F₄ (0,75% alginat).

Dari hasil uji organoleptis, untuk aroma bakso ikan tenggiri, antara bakso ikan tenggiri formula F₁ (0% alginat) dan F₂ (0,25% alginat) berbeda nyata dengan formula F₄ (0,75% alginat) dan F₅ (0,5% STPP), dengan kecenderungan panelis lebih menyukai aroma bakso formula F₄ (0,75% alginat). Variasi penambahan natrium alginat pada pembuatan bakso ikan tenggiri tidak berpengaruh nyata terhadap aroma bakso yang dihasilkan untuk konsentrasi 0,25% dan 0,5%. Aroma "fishy" daging ikan tenggiri cenderung lebih dominan dibandingkan dengan bahan-bahan lain yang ditambahkan pada pembuatan bakso.

Rasa bakso ikan tenggiri terdapat perbedaan yang nyata antara formula F₁ (0% alginat) dengan F₃ (0,5% alginat) dan F₅ (0,5% STPP), sedangkan F₃ (0,5% alginat) berbeda nyata dengan F₄ (0,75% alginat). Pembuatan bakso ikan tenggiri dengan variasi penambahan natrium alginat memberikan pengaruh terhadap rasa bakso. Rasa bakso ikan tenggiri yang paling disukai panelis adalah formula F₄ (0,75% alginat).

Variasi penambahan natrium alginat pada bakso ikan tenggiri memberikan pengaruh yang nyata terhadap tingkat

kekenyalan bakso yang dihasilkan. Hasil uji organoleptis menunjukkan bahwa tingkat kekenyalan pada bakso formula F₁ (0% alginat) dan F₂ (0,25% alginat) berbeda nyata dengan F₃ (0,5% alginat) dan F₅ (0,5% STPP), serta berbeda nyata dengan F₄ (0,75% alginat). Bakso formula F₄ (0,75% alginat) merupakan bakso yang paling disukai panelis dari segi tingkat kekenyalan. Berdasarkan hasil pengukuran menggunakan *Llyoid instrument*, bakso formula F₄ (0,75% alginat) merupakan formula yang memiliki tingkat kekenyalan tertinggi di antara formula-formula bakso yang lain dengan penambahan alginat dan tidak berbeda nyata dengan bakso yang mendapat penambahan STPP. Hal ini menunjukkan bahwa panelis cenderung lebih menyukai bakso ikan tenggiri dengan tingkat kekenyalan yang tinggi. Selain itu, hasil tersebut juga menunjukkan bahwa penambahan natrium alginat dengan konsentrasi 0,75% mampu memberikan tingkat kekenyalan cenderung lebih baik dibandingkan dengan perlakuan penambahan STPP ditinjau dari segi organoleptis.

Tabel 5. Karakteristik kimia bakso ikan tenggiri

Parameter	SNI (1995)	Bakso Formula F ₄ (0,75% alginat)
Kadar air (%)	Maksimal 80%	74,61
Kadar abu (%)	Maksimal 3%	1,66
Protein (%)	Minimal 9%	14,53
Lemak (%)	Minimal 1%	0,93

Keterangan: Penghitungan berdasarkan berat basah (wb).



Gambar 5. Bakso ikan tenggiri. Dari kiri ke kanan, perlakuan: F₁ (0% alginat), F₂ (0,25% alginat), dan F₃ (0,5% alginat), F₄ (0,75% alginat), F₅ 0,5% STPP

Tabel 4. Hasil uji organoleptis bakso ikan tenggiri

Formula	Parameter					
	Warna	Aroma	Rasa	Kekenyalan	Kekerasan	Keseluruhan
F ₁	3,30 ^a	3,27 ^a	3,17 ^a	2,80 ^a	2,97 ^a	2,93 ^a
F ₂	3,33 ^a	3,27 ^a	3,37 ^{ab}	2,93 ^a	3,30 ^b	3,07 ^a
F ₃	3,47 ^a	3,50 ^{ab}	3,63 ^b	3,60 ^b	3,70 ^c	3,63 ^b
F ₄	3,87 ^b	3,77 ^b	4,07 ^c	4,30 ^c	4,23 ^d	4,27 ^c
F ₅	3,60 ^{ab}	3,67 ^b	3,73 ^{bc}	3,77 ^b	3,43 ^{bc}	3,67 ^b

Berdasarkan hasil uji organoleptis, tingkat kekerasan bakso ikan tenggiri formula F₁ (0% alginat) berbeda nyata dengan F₂ (0,25% alginat) dan F₅ (0,5% STPP), berbeda nyata dengan F₃ (0,5% alginat), serta berbeda nyata dengan F₄ (0,75% alginat). Pembuatan bakso ikan tenggiri dengan variasi penambahan natrium alginat berpengaruh nyata terhadap tingkat kekerasan bakso yang dihasilkan. Panelis lebih menyukai tingkat kekerasan bakso ikan tenggiri formula F₄ (0,75% alginat) dibandingkan dengan formula yang lain. Bakso ikan tenggiri formula F₄ (0,75% alginat) merupakan bakso dengan tingkat kekerasan tertinggi di antara seluruh formula berdasarkan pengukuran menggunakan *Lloyd instrument*. Hal ini menunjukkan bahwa panelis cenderung menyukai bakso yang bertekstur keras.

Secara keseluruhan dari hasil uji organoleptis, bakso ikan tenggiri formula F₄ (0,75% alginat) merupakan formula yang paling disukai panelis. Hal ini terlihat dari seluruh parameter yang diujikan bahwa panelis cenderung menyukai bakso formula F₄ (0,75% alginat). Berdasarkan hasil uji organoleptis, panelis cenderung lebih menyukai bakso ikan tenggiri dengan penambahan alginat dibandingkan dengan penambahan STPP. STPP merupakan bahan tambahan makanan yang berfungsi sebagai emulsifier yang lazim digunakan dan aman dikonsumsi. Alginat memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan bahan emulsifier yang lain. Alginat merupakan emulsifier yang berasal dari ekstrak bahan alami rumput laut cokelat yang kaya akan serat dan mampu memperbaiki sistem pencernaan. Alginat telah terbukti berfungsi untuk memperkuat *mucus*, perlindungan alamiah terhadap dinding usus, dapat memperlambat proses pencernaan, dan pelepasan gizi di dalam tubuh. Alginat dapat digunakan untuk menambah kandungan serat pada *cakes*, *burger*, dan berbagai *junk food* serta makanan atau camilan lain yang umumnya banyak mengandung lemak jenuh dan kurang mengandung nutrisi yang menyehatkan.

Karakteristik kimia bakso ikan tenggiri dengan penambahan natrium alginat

Dalam penelitian ini dilakukan analisis kimia terhadap bakso ikan tenggiri formula F₄ (0,75% alginat) yang merupakan formula bakso yang paling disukai panelis pada uji organoleptis yang meliputi kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, dan kadar karbohidrat. Hasil analisis kimia bakso ikan tenggiri dapat dilihat pada Tabel 5.

Kadar abu bakso ikan tenggiri dipengaruhi oleh banyaknya penambahan natrium alginat, karena ion Na⁺ pada natrium alginat merupakan mineral dan terhitung sebagai abu. Kadar abu bakso ikan tenggiri formula F₄ (0,75% alginat) sebesar 1,66% dan telah sesuai dengan Standar Nasional Indonesia, yaitu dengan kadar abu bakso ikan maksimal adalah 3% (SNI 1995).

Kadar protein bakso formula F₄ (0,75% alginat) sebesar 14,53%. Kadar protein bakso dipengaruhi oleh kandungan protein daging ikan yang digunakan (Khasanah et al. 2006). Ikan tenggiri merupakan jenis ikan laut yang memiliki kandungan protein tinggi. Kadar protein bakso ikan tenggiri telah memenuhi Standar Nasional Indonesia, yaitu

dengan kadar protein bakso ikan minimal sebesar 9% (SNI 1995).

Kadar lemak bakso ikan tenggiri formula F₄ sebesar 0,93%. Kadar lemak bakso ikan tenggiri dipengaruhi oleh kandungan lemak jenis daging ikan yang digunakan serta bahan-bahan lain (bumbu) yang ditambahkan. Kadar lemak bakso ikan tenggiri telah sesuai dengan Standar Nasional Indonesia, yaitu tidak lebih dari 1% (SNI 1995).

Kadar karbohidrat bakso ikan tenggiri ditentukan dengan metode *by difference*. Dari hasil perhitungan diperoleh kadar karbohidrat bakso ikan tenggiri formula F₄ sebesar 8,26%. Kadar karbohidrat bakso formula F₄ (0,75% alginat) dipengaruhi penambahan natrium alginat. Natrium alginat rumput laut *Sargassum* sp. merupakan bahan yang kaya akan serat, dimana serat terhitung sebagai karbohidrat.

KESIMPULAN

Karakteristik natrium alginat rumput laut *Sargassum* sp. meliputi kadar air sebesar 5,94% (wb); kadar abu sebesar 19,62% (wb) dan 20,86% (db); pH larutan natrium alginat 0,1% sebesar 9,07; pH larutan natrium alginat 0,2% sebesar 9,07; pH larutan natrium alginat 0,3% sebesar 9,06; dan daya serap air natrium alginat sebesar 214,44%. Rendemen natrium alginat hasil ekstraksi sebesar 31,62%. Penambahan natrium alginat pada pembuatan bakso ikan tenggiri meningkatkan kekerasan bakso yang dihasilkan. Tingkat kekerasan bakso ikan tenggiri tertinggi adalah bakso formula F₄ (0,75% alginat). Penambahan natrium alginat pada pembuatan bakso ikan tenggiri meningkatkan kekenyalan bakso yang dihasilkan. Tingkat kekenyalan tertinggi bakso ikan tenggiri dengan penambahan alginat adalah bakso formula F₄ (0,75% alginat).

Hasil uji organoleptis menunjukkan bahwa penambahan natrium alginat cenderung meningkatkan tingkat kesukaan panelis terhadap warna, aroma, rasa, kekenyalan, dan kekerasan bakso ikan tenggiri yang dihasilkan. Bakso ikan tenggiri formula F₄ dengan komposisi: 300 gram daging ikan tenggiri; 75 gram es batu; 6 gram garam; 1 gram merica; 5 gram bawang putih; 45 gram tepung tapioka; dan 0,5625 gram alginat, merupakan formula bakso yang paling disukai panelis. Karakteristik kimia bakso ikan tenggiri formula F₄ meliputi kadar air (74,61%), kadar abu (1,66%), kadar protein (14,53%), kadar lemak (0,93%), dan kadar karbohidrat (8,26%). Karakteristik kimia bakso ikan tenggiri dengan penambahan natrium alginat rumput laut *Sargassum* sp. formula F₄ telah sesuai dengan persyaratan Standar Nasional Indonesia untuk produk bakso ikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Chin KB, Keeton JT, Longnecker MT et al. 1998. Functional, textural, and microtextural properties of low-fat bologna with a konjac blend. *J Food Sci* 63: 801-807.
- Cottrel LW, Kovacks P. 1980. Alginates. In: Davidson R (ed). *Handbook of Water Soluble Gums and Resins*. McGraw-Hill, New York.

- Haryadi. 1993. Dasar-dasar dan pemanfaatan ilmu dan teknologi pati. *Agritech* 13(3): 37-42.
- Hidayati L. 2002. Pengaruh Penggunaan Sodium Alginat dan Sodium Tripoliphospat Terhadap Tekstur dan Sifat Organoleptis Bakso Daging Sapi. [Skripsi]. Universitas Brawijaya, Malang.
- Khasanah U, Amir H, Nurfitri E. 2006. Kajian kualitas bakso ikan yang dibuat dari beberapa jenis ikan. Makalah Prosiding. faperta.ugm.ac.id. [2 Maret 2008].
- Lineback DR, Inglett GE. 1983. *Food carbohydrates*. AVI Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut.
- Nurjanah W. 2004. Isolasi dan Karakterisasi Alginat dari Rumput Laut *Sargassum* sp. untuk Pembuatan *Biodegradable Film*. [Skripsi]. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Putra SE. 2006. Alga laut sebagai biotarget industri. www.energi.lipi.go.id. [2 Maret 2008].
- Rahardiyan D. 2004. Bakso (Traditional Indonesian Meatball) Properties with Postmortem Conditions and Frozen Storage. [Thesis]. The Interdepartmental Program of Animal and Dairy Sciences, Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College.
- Setiawan A. 2004. Potensi pemanfaatan alga laut sebagai penunjang perkembangan sektor industri. Makalah Ilmiah Ketua Jurusan Kimia. Universitas Lampung, Lampung. www.energi.lipi.go.id. [2 Maret 2008].
- SNI [Standar Nasional Indonesia]. 1995. Bakso ikan. Badan Standarisasi Nasional Indonesia. sisni.bsn.go.id. [2 Maret 2008].
- Wibowo S. 1995. Industri pengolahan bakso ikan dan bakso daging. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Winarno FG. 1990. *Kimia pangan dan gizi*. PT Gramedia, Jakarta.
- Winarno FG. 1990. *Teknologi pengolahan rumput laut*. Pustaka Sinar Harapan, Jakarta.

Pengaruh penambahan ekstrak berbagai jenis ubi jalar (*Ipomea batatas*) terhadap jumlah sel dan aktivitas antioksidan yogurt

The influence of addition of various sweet potatoes (*Ipomea batatas*) extract to total count of cells and antioxidant activity in yogurt

RETNATI, M.A.M. ANDRIANI, GUSTI FAUZA

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 1 Agustus 2009. Revisi disetujui: 29 Agustus 2009.

Abstract. Retnati, Andriani MAM, Fauza G. 2009. The influence of addition of various sweet potatoes (*Ipomea batatas*) extract to total count of cells and antioxidant activity in yogurt. *Biofarmasi* 7: 68-76. The aim of this research was to determine the influence of addition of various sweet potatoes extract to the total count of cells and the antioxidant activity in yogurt. Yogurt was made from fresh milk, skim milk, white sweet potato, orange sweet potato, purple sweet potato, and pure culture of *Streptococcus thermophilus* 0040 and *Lactobacillus bulgaricus* 0041 in straight MRS agar. Fresh milk, skim milk powder (5%, b/v), and sweet potato extract (10%, v/v) was pasteurized at 90°C for 15 minutes, cooled to the temperature between 40-45°C, inoculated with 2.5% *S. thermophilus* and *L. bulgaricus* with a proportion of 1.4:1, and then incubated at a temperature of 40°C for 15 hours. Yogurt without an addition of sweet potato extract was used as control. The parameters measured in this experiment were the total count of cells with TPC (Total Plate Count) method and the antioxidant activity with DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. Samples were taken at one hour interval to examine the total count of cells, while the antioxidant activity was collected at three hours interval. The result of each analysis was plotted into graphics which describing the relation of total bacteria and antioxidant activity with fermentation time. ANOVA was employed to analyze the data. If there was a significant difference, it should be followed by Duncan Multiple Range Test (DMRT) at a significance level $\alpha=0.05$. The result of this research showed that the addition of various sweet potatoes extracts increased the total count of cells and the antioxidant activity in yogurt. The total count of cells showed no significant different for each sample, it meant that the different colors in sweet potato did not influence the total count of cells. However, yogurt with orange and purple sweet potato extract addition had a significant difference on the antioxidant activity with control and yogurt with white sweet potato extract. In conclusion, the difference colors in sweet potato influenced in the antioxidant activity in yogurt significantly. Sweet potato is potential for milk substitute in yogurt production due to oligosaccharide content and antioxidant activity.

Keywords: Antioxidant activity, sweet potato extract, total count of cell, yogurt

PENDAHULUAN

Produk susu fermentasi sebagai pangan fungsional yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh manusia dewasa ini berkembang pesat, baik dari segi kualitas maupun kuantitasnya. Hal ini dikarenakan semakin meningkatnya kesadaran dan pemahaman masyarakat akan makanan dan minuman yang menyehatkan. Salah satu produk susu fermentasi yang dikenal oleh masyarakat Indonesia adalah yogurt. Hadiwiyoto (1982) menyatakan bahwa yogurt merupakan produk fermentasi susu yang mempunyai cita rasa spesifik sebagai hasil formulasi oleh bakteri asam laktat seperti *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*.

Bahan utama yang digunakan sebagai substrat dalam fermentasi yogurt adalah susu. Susu memiliki kandungan gizi yang cukup lengkap. Akan tetapi, komposisi gizi susu akan lebih lengkap lagi apabila ditambahkan bahan lain yang mengandung oligosakarida dan antioksidan alami, sehingga jumlah sel dan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam produk susu fermentasi (yogurt) diharapkan akan meningkat. Salah satu bahan yang

berpotensi untuk digunakan sebagai bahan substitusi susu dalam pembuatan yogurt adalah ubi jalar.

Ubi jalar (*Ipomoea batatas*) merupakan tanaman palawija penting di Indonesia dan mempunyai potensi untuk terus dikembangkan, baik sebagai bahan pangan, pakan, maupun bahan industri. Selama ini, penggunaan ubi jalar sebagai bahan pangan masih terbatas dalam bentuk makanan tradisional, seperti ubi rebus, ubi goreng, kolak, getuk, timus, dan keripik, sehingga citranya rendah. Menurut hasil survei Badan Pusat Statistik (2006), rata-rata produksi ubi jalar di Indonesia dari tahun 2001-2005 sebesar 1,850 juta ton dan sebagian besar produksi tersebut (89%) digunakan sebagai bahan pangan. Hasyim dan Yusuf (2008) menyatakan bahwa produktivitas ubi jalar cukup tinggi apabila dibandingkan dengan beras maupun ubi kayu.

Ubi jalar yang daging buahnya berwarna oranye disebabkan oleh adanya kandungan betakaroten, sedangkan ubi jalar berwarna ungu cenderung dikarenakan oleh adanya pigmen antosianin. Ubi jalar putih mengandung 260 µg (869 SI) betakaroten/100 g, ubi merah yang berwarna kuning emas mengandung betakaroten 2.900 µg

(9.675 SI), dan ubi merah yang berwarna jingga mengandung betakaroten 9.900 μg (32.967 SI). Apabila dibandingkan dengan bayam dan kangkung, kandungan vitamin A pada ubi jalar merah masih setingkat lebih tinggi (Sutomo 2006).

Kandungan antosianin pada ubi jalar ungu lebih tinggi daripada ubi jalar yang berwarna putih, kuning, dan jingga (Suardi 2005). Hal ini diperkuat oleh hasil penelitian Suprpta (2006) bahwa kandungan antosianin dalam ubi jalar putih sebesar 0,06 mg/100 g, ubi jalar kuning 4,56 mg/100 g, dan ubi jalar ungu 110,51 mg/100 g. Nilai total antosianin pada ubi jalar ungu tersebut lebih tinggi dari *blueberry*. Hasil penelitian Kobori (2003) menunjukkan bahwa ekstrak ubi jalar berpengaruh terhadap penekanan pertumbuhan HL60 sel leukemia pada manusia antara 35-55% dibanding kontrol.

Kandungan beta-karoten dan antosianin yang tinggi pada ubi jalar dapat memberi manfaat yang baik bagi kesehatan karena dapat berfungsi sebagai antioksidan. Selain beta-karoten, warna jingga pada ubi jalar juga mengindikasikan akan tingginya kandungan senyawa *lutein* dan *zeaxanthin*, antioksidan karotenoid yang memiliki peran penting dalam menghalangi proses perusakan sel.

Selain mengandung antioksidan, ubi jalar juga mengandung serat alami. Oligosakarida dalam ubi jalar merupakan komponen nongizi yang tidak tercerna, tetapi bermanfaat bagi pertumbuhan bakteri probiotik, sehingga ubi jalar dapat berfungsi sebagai prebiotik. Yogurt termasuk produk probiotik karena mengandung kultur aktif. Menurut Tensiska (2008), probiotik adalah suplemen makanan berupa bakteri hidup yang bersifat nonpatogen, tidak toksik, tahan terhadap asam lambung, serta dapat berkoloni pada usus besar.

Dengan memperhatikan beberapa aspek yang terkait dengan ubi jalar ditinjau dari segi produktivitas, kandungan gizi, kandungan antioksidan (beta-karoten dan antosianin), serta kandungan oligosakarida yang berperan sebagai prebiotik maka penelitian mengenai pengaruh penambahan ekstrak berbagai jenis ubi jalar (ubi jalar putih, oranye, dan ungu) perlu dilakukan dan diaplikasikan dalam produk susu fermentasi. Dengan adanya kandungan beta-karoten dan antosianin pada ubi jalar diharapkan dapat meningkatkan kandungan antioksidan yogurt yang dihasilkan, sedangkan oligosakarida dalam ubi jalar diharapkan dapat digunakan sebagai substrat bagi pertumbuhan bakteri asam laktat (BAL) yang pada akhirnya dapat mempengaruhi jumlah sel yang dihasilkan.

Tujuan penelitian ini adalah: (i) Mengetahui pengaruh penambahan ekstrak berbagai jenis ubi jalar terhadap jumlah sel dan aktivitas antioksidan pada yogurt; (ii) Mengetahui potensi ubi jalar sebagai bahan substitusi susu dalam pembuatan yogurt; (iii) Memberikan informasi ilmiah yang bermanfaat bagi pengembangan ilmu dan teknologi pangan, khususnya mengenai jumlah sel dan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam yogurt dengan penambahan ekstrak ubi jalar; serta (iv) Memberikan alternatif bagi produsen yogurt untuk menggunakan ubi jalar sebagai bahan substitusi susu.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Rekayasa Proses Pengolahan Pangan dan Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret Surakarta pada bulan Maret sampai Mei 2009.

Bahan dan alat

Bahan utama yang digunakan untuk membuat yogurt dalam penelitian ini adalah susu segar dari peternak di Boyolali, susu skim dari toko Ramajaya Surakarta, ubi jalar putih, ubi jalar oranye, dan ubi jalar ungu yang diperoleh dari pasar lokal di Surakarta, serta kultur murni Bakteri Asam Laktat (BAL) yaitu *Streptococcus thermophilus* 0040 dan *Lactobacillus bulgaricus* 0041 yang diperoleh dari FNCC (*Food Nutrition and Culture Colection*) Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta yang berupa biakan murni dalam agar tegak.

Bahan yang digunakan dalam analisis jumlah sel adalah media MRS (*de Man, Rogosa and Sharpe*) untuk menumbuhkan *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* serta akuades steril. Adapun bahan yang digunakan untuk analisis aktivitas antioksidan adalah metanol pro-analisis dan larutan DPPH 0,1 mM.

Sementara itu, alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, telenan, *juicer*, gelas beker, erlenmeyer, botol sebagai tempat yogurt, pipet ukur, mikropipet, pro-pipet, *vortex mixer*, tabung reaksi, petridish, lampu Bunsen, timbangan analitik, *autoclave*, oven, inkubator, termometer, dan spektrofotometer UV-Vis.

Rancangan percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan. Masing-masing perlakuan dilakukan 3 kali ulangan analisis. Adapun perlakuan tersebut adalah yogurt dengan penambahan ekstrak ubi jalar putih, ubi jalar oranye, dan ubi jalar ungu. Sebagai kontrol, digunakan yogurt tanpa penambahan ubi jalar.

Cara kerja

Pembiakan bakteri

Biakan murni *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* diperbanyak dengan memindahkan kultur bakteri tersebut ke dalam beberapa tabung reaksi yang berisi media cair MRS. Tahapan ini dilakukan dengan cara mengambil 1 ose kultur bakteri secara aseptis kemudian diinokulasikan dalam tabung reaksi yang berisi 5 mL MRS *broth*.

Pembuatan starter induk

Susu segar dan susu skim (5%, b/v) dipasteurisasi pada suhu 90°C selama 10-15 menit kemudian didinginkan hingga mencapai suhu 40-45°C. Setelah itu, susu diinokulasi dengan 2% kultur hasil pembiakan dalam media MRS dan diinkubasi pada suhu 40-45°C selama 24 jam.

Pembuatan starter siap pakai

Susu segar dan susu skim (5%, b/v) dipasteurisasi pada suhu 90°C selama 10-15 menit kemudian didinginkan hingga mencapai suhu 40-45°C dan diinokulasi dengan starter induk 2%. Selanjutnya, susu diinkubasi pada suhu 40-45°C selama 24 jam.

Pembuatan ekstrak ubi jalar

Sebanyak 1 kg ubi jalar dikupas dan dicuci sampai bersih. Setelah itu, ubi jalar diiris kecil-kecil sebesar dadu lalu dimasukkan dalam *juicer*. Pada proses ekstraksi menggunakan *juicer*, tidak dilakukan penambahan air sebagai bahan pelarut. Oleh karena itu, serat larut yang terkandung dalam ubi jalar akan dilarutkan oleh air yang terdapat dalam ubi jalar tersebut, bukan oleh air yang ditambahkan dari luar. Bubur ubi jalar lalu dituang ke dalam gelas beker 500 mL menggunakan corong yang dilapisi dengan kain saring, hal ini dimaksudkan untuk memisahkan filtrat dan ampas yang masih terikat. Selanjutnya, bubur didiamkan selama 30 menit, kemudian filtratnya diambil. Filtrat tersebut merupakan ekstrak ubi jalar yang siap digunakan untuk membuat yogurt.

Pembuatan yogurt

Susu segar, susu skim (5%, b/v), dan ekstrak ubi jalar (10%, v/v) dipasteurisasi pada suhu 90°C selama 15 menit kemudian didinginkan hingga mencapai suhu 40-45°C. Selanjutnya, campuran bahan-bahan tersebut diinokulasi dengan starter *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* dengan perbandingan 1:1 yang dilakukan secara aseptis pada suhu 40-45°C sebanyak 2,5% (v/v), kemudian digojok hingga homogen. Susu dan ekstrak ubi jalar yang telah diinokulasi dengan starter tersebut lalu dimasukkan ke dalam botol-botol steril kemudian diinkubasi selama 15 jam pada suhu 40-45°C hingga dihasilkan yogurt.

Analisis jumlah sel dan aktivitas antioksidan

Penentuan jumlah sel dalam yogurt secara kuantitatif dilakukan dengan perhitungan bakteri secara tidak langsung menggunakan metode hitungan cawan atau *Total Plate Count*. Pada penentuan jumlah sel dengan metode hitungan cawan tersebut dilakukan seri pengenceran bertingkat dari 10^{-1} sampai 10^{-7} . Suspensi yang ditumbuhkan pada media MRS agar adalah pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} sebanyak 0,1 mL dengan cara taburan permukaan (*surface plate method*).

Pengujian aktivitas antioksidan yogurt dilakukan dengan metode DPPH atau *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (Rohman dan Sugeng 2005). Pelarut yang digunakan adalah metanol pro-analisis dan larutan DPPH 0,1 mM sebagai radikal sintetik. Peneraan nilai absorbansi sampel dilakukan pada panjang gelombang 517 nm.

Pengujian jumlah sel dilakukan setiap 1 jam sekali selama proses fermentasi berlangsung, terhitung mulai jam ke-0 sampai jam ke-15, sedangkan pengujian aktivitas antioksidan dilakukan setiap 3 jam sekali. Hasil pengamatan selanjutnya dibuat grafik yang menunjukkan hubungan antara jumlah bakteri dan aktivitas antioksidan dengan waktu fermentasi.

Analisis data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian selanjutnya dianalisis dengan ANOVA dan apabila terdapat perbedaan antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji beda nyata menggunakan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf signifikansi $\alpha=0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian jumlah sel starter

Tujuan dari pengujian starter adalah untuk mengetahui secara kuantitatif jumlah sel yang terkandung dalam tiap mililiter starter yang akan digunakan dalam fermentasi yogurt. Adapun starter yang digunakan adalah kombinasi dari dua starter yaitu *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus*. Arlistiya (2008) menyatakan bahwa starter kombinasi merupakan starter yang paling efektif untuk fermentasi yogurt ditinjau dari hasil parameter-parameter kinetika fermentasi yang diperoleh. Tabel 1 menunjukkan hasil pengujian jumlah sel untuk starter *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus*.

Menurut Wahyudi (2006), perbandingan starter *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* dalam fermentasi yogurt adalah 1:1. Dalam penelitian ini, starter yang digunakan juga menggunakan perbandingan 1:1 (v/v). Secara volumetrik, perbandingan jumlah starter yang digunakan sama yaitu 1:1 (v/v), akan tetapi setelah dilakukan pengujian dengan metode hitungan cawan (*Total Plate Count*), ternyata jumlah sel yang terkandung dalam tiap mililiter starter menunjukkan hasil yang berbeda. Pada Tabel 6 terlihat bahwa jumlah bakteri hidup dalam starter *S. thermophilus* adalah $2,01 \times 10^8$ cfu/mL, sedangkan untuk *L. bulgaricus* adalah $1,41 \times 10^8$ cfu/mL. Hal ini berarti jumlah sel yang terkandung dalam starter *S. thermophilus* lebih besar daripada *L. bulgaricus*, sehingga perbandingan starter yang digunakan untuk penelitian ini berdasarkan hasil pengujian adalah 1,4:1.

Menurut Widowati dan Misgiyarta (2002), bakteri yang digunakan pada proses fermentasi mencapai fase log apabila kerapatan sel kultur yang digunakan pada fermentasi tersebut mencapai 10^7 - 10^8 sel/mL. Starter yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kerapatan sel 10^8 sel/mL (Tabel 1), sehingga starter tersebut telah mencapai fase log pada saat proses pembiakan selama 24 jam.

Pengujian aktivitas antioksidan ubi jalar segar

Ubi jalar yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari tiga jenis, yaitu ubi jalar putih, ubi jalar oranye, dan ubi jalar ungu. Pengujian aktivitas antioksidan dimaksudkan untuk mengetahui nilai aktivitas antioksidan pada masing-masing ubi jalar yang akan digunakan sebagai bahan substitusi susu dalam fermentasi yogurt. Sofia (2007) mendefinisikan antioksidan sebagai inhibitor yang bekerja dengan cara menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tidak reaktif yang relatif stabil. Nilai aktivitas antioksidan pada ubi jalar segar dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 2 dapat diketahui bahwa tiga jenis ubi jalar segar yang diuji memiliki aktivitas antioksidan

yang berbeda nyata. Aktivitas antioksidan paling tinggi terdapat pada ubi jalar ungu yaitu sebesar 61,07% dan aktivitas antioksidan paling rendah adalah ubi jalar putih yaitu sebesar 1,17%. Sementara itu, ubi jalar oranye memiliki aktivitas antioksidan sebesar 8,38%. Hasil penelitian Widjanarko (2008) menunjukkan bahwa ubi jalar segar oranye varietas MSU 01015-07 dan varietas MSU 01015-02 masing-masing memiliki aktivitas antioksidan sebesar 10,95% dan 2,26%. Jadi, aktivitas antioksidan ubi jalar segar oranye yang digunakan dalam penelitian ini (8,38%) mendekati aktivitas antioksidan ubi jalar oranye varietas MSU 01015-07 (10,95%).

Widjanarko (2008) menambahkan bahwa pada ubi jalar segar ungu varietas MSU 03028-10 dan varietas Ayamurasaki memiliki aktivitas antioksidan masing-masing sebesar 89,06% dan 61,24%. Dengan demikian, aktivitas antioksidan yang terkandung dalam ubi jalar segar ungu untuk penelitian ini (61,07%) mendekati aktivitas antioksidan ubi jalar ungu varietas Ayamurasaki (61,24%). Perbedaan nilai aktivitas antioksidan tersebut dikarenakan oleh *individual variability* yang meliputi sifat genetis bahan, daerah tempat tumbuh, iklim, teknik budi daya, maupun tingkat kesuburan tanah.

Aktivitas antioksidan yang terdapat dalam ubi jalar disebabkan oleh adanya vitamin C, vitamin E, seng, serta pigmen alami beta-karoten dan antosianin yang terkandung di dalamnya. Menurut Suardi (2005), kandungan antosianin pada ubi jalar ungu lebih tinggi daripada ubi jalar yang berwarna putih, kuning, dan jingga. Widjanarko (2008) menyatakan bahwa meskipun berwarna ungu ternyata kandungan betakaroten pada ubi jalar ungu jauh lebih tinggi (923,65 mg/100 g) daripada ubi jalar oranye (52,10 mg/100 g). Hasil pengujian aktivitas antioksidan ubi jalar segar dalam penelitian ini senada dengan pernyataan Suardi (2005) dan Widjanarko (2008), sehingga ubi jalar ungu memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi apabila dibandingkan dengan ubi jalar putih maupun oranye.

Selain beta karoten, warna jingga pada ubi jalar juga mengindikasikan tingginya kandungan senyawa *lutein* dan *zeaxanthin* yang merupakan senyawa antioksidan karotenoid. Keduanya termasuk pigmen warna sejenis klorofil yang merupakan pembentuk vitamin A. *Lutein* dan *zeaxanthin* adalah senyawa aktif seperti halnya betakaroten dan antosianin yang berperan penting sebagai antioksidan dalam menghalangi laju perusakan sel oleh radikal bebas.

Pengaruh penambahan ekstrak berbagai jenis ubi jalar terhadap jumlah sel yogurt

Penentuan jumlah sel yogurt secara kuantitatif dilakukan dengan metode hitungan cawan atau *Total Plate Count*. Prinsip dari metode hitungan cawan adalah jika suspensi sel mikroba yang masih hidup ditumbuhkan pada medium dan lingkungan yang sesuai maka sel mikroba tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat dengan mata tanpa menggunakan mikroskop (Fardiaz 1993). Koloni yang tumbuh kemudian dihitung dan merupakan perkiraan atau dugaan dari jumlah mikroorganisme dalam suspensi tersebut. Menurut Djide (2005), koloni yang tumbuh tidak selalu berasal dari satu sel mikroorganisme, karena beberapa mikroorganisme

tertentu cenderung membentuk kelompok atau berantai. Oleh karena itu, jumlah mikroorganisme hidup yang terdapat dalam sampel yang diuji dinyatakan dengan satuan *colony forming unit* (cfu)/mL.

Pada penentuan jumlah sel dengan metode hitungan cawan dilakukan seri pengenceran bertingkat dari 10^{-1} sampai 10^{-7} . Suspensi yang ditumbuhkan pada media MRS agar adalah pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} masing-masing sebanyak 0,1 mL dengan cara taburan permukaan (*surface plate method*). Setelah diinkubasi pada suhu 40°C selama 48 jam, jumlah koloni yang tumbuh pada tiap cawan dihitung. Menurut Dwidjoseputro (1998), untuk memenuhi persyaratan statistik maka cawan yang dipilih dan dihitung adalah cawan yang mengandung jumlah koloni antara 30-300 serta tidak terjadi *spreader*. Jumlah sel yang terkandung dalam tiap mililiter sampel selanjutnya dapat ditentukan.

Pengujian jumlah sel yang terkandung dalam yogurt dilakukan tiap satu jam sekali mulai jam ke-0 sampai jam ke-15. Jumlah sel yogurt pada berbagai jam pengamatan untuk tiap jenis sampel disajikan dalam Tabel 3, sedangkan grafik yang menggambarkan hubungan waktu fermentasi dengan log jumlah sel disajikan dalam Gambar 1. Grafik tersebut menggambarkan fase pertumbuhan sel selama proses fermentasi berlangsung.

Pengujian jumlah sel pada jam ke-0 menunjukkan bahwa keempat sampel yogurt yang diuji memiliki jumlah sel yang berbeda. Akan tetapi, perbedaannya tidak signifikan (Tabel 3) sehingga dapat diasumsikan bahwa jumlah sel dalam keempat sampel tersebut hampir sama. Hal ini dikarenakan pada jam ke-0, belum ada pertumbuhan bakteri asam laktat, sehingga jumlah bakteri yang terdapat dalam sampel sebanding dengan jumlah bakteri yang terkandung dalam *starter* yang ditambahkan. *Starter* mula-mula yang ditambahkan pada masing-masing sampel sama yaitu sebesar 2,5% (v/v).

Berdasarkan Tabel 3 dapat diketahui bahwa selama fermentasi berlangsung (15 jam), terjadi peningkatan jumlah sel pada keempat sampel yogurt yang diuji. Peningkatan jumlah sel dimulai dari jam ke-0 sampai jam ke-8 dan pada jam ke-9 terjadi penurunan jumlah sel. Jumlah sel maksimum untuk keempat sampel yogurt dicapai pada jam yang sama, yaitu pada jam ke-8. Pola liku pertumbuhan sel BAL pada tiap jam pengamatan disajikan pada Gambar 1.

Berdasarkan Gambar 1, terlihat bahwa pertumbuhan sel *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* terdiri dari empat fase pertumbuhan, yaitu fase lag, fase log, fase stasioner, dan fase kematian. Fase lag terjadi pada jam ke-0 sampai jam ke-1. Pada awal waktu fermentasi atau fase lag, jumlah bakteri masih cukup rendah (Tabel 3) dan pertumbuhan sel cukup lambat (Gambar 1). Hal ini dikarenakan bakteri asam laktat sedang menyesuaikan diri dengan lingkungan hidupnya yang baru. Menurut Pangestuti dan Sitoresmi (1996), dalam proses penyesuaian diri tersebut beberapa bakteri akan mati, sedangkan bakteri yang kuat akan mampu bertahan hidup dan memperbanyak diri.

Peningkatan jumlah sel bakteri secara drastis pada keempat sampel yogurt terjadi pada jam ke-1 sampai jam ke-7, karena pada kondisi tersebut sel mengalami fase

logaritmik. Buckle et al. (1985) mendefinisikan bahwa fase logaritmik sebagai fase pada saat sel tumbuh dan membelah diri secara eksponensial sampai jumlah maksimum. Pada fase tersebut, kecepatan pertumbuhan sel sangat dipengaruhi oleh kondisi media tempat tumbuh, seperti pH dan suplemen zat gizi atau nutrisi. Selain itu, kecepatan pertumbuhan sel juga dipengaruhi faktor lingkungan, seperti suhu, ketersediaan oksigen, dan kelembapan udara (Fardiaz 1993). Machfud et al. (1989) dalam Purwitasari et al. (2004) menyatakan bahwa peningkatan jumlah sel dan massa sel menandai adanya pertumbuhan mikroorganisme. Semakin tinggi kecepatan pertumbuhan maka jumlah sel semakin banyak (Fardiaz 1993).

Peningkatan jumlah sel selama fermentasi yogurt terjadi akibat adanya pertumbuhan bakteri asam laktat. Ketersediaan nutrisi yang memadai dalam substrat akan dimanfaatkan oleh BAL untuk tumbuh dan berkembang. Molekul-molekul kompleks dari zat organik, seperti karbohidrat, protein, dan lemak, harus dipecahkan terlebih dahulu menjadi unit yang lebih sederhana sebelum zat tersebut masuk ke dalam sel untuk dipergunakan sebagai substrat metabolisme dalam sintesis komponen sel. Buckle et al. (1985) menyatakan bahwa nutrisi yang mengandung gula akan memberikan energi bagi proses metabolisme. Pemecahan gula dalam sel BAL akan menghasilkan energi untuk aktivitas BAL, sehingga dihasilkan asam laktat. Asam laktat kemudian disekresikan keluar sel dan akan terakumulasi dalam cairan fermentasi, sehingga menyebabkan penurunan pH yogurt dan peningkatan keasaman produk (Widowati dan Misgiyarta 2002).

Dalam fermentasi yogurt dengan penambahan ekstrak ubi jalar pada penelitian ini, terdapat dua jenis gula yang digunakan sebagai sumber energi untuk pertumbuhan sel yaitu laktosa dan glukosa. Laktosa merupakan karbohidrat utama yang terdapat dalam susu, sedangkan glukosa berasal dari ekstrak ubi jalar yang ditambahkan. Menurut Fardiaz (1993), semakin baik nutrisi dalam substrat maka pertumbuhan sel akan semakin cepat dan semakin tinggi kecepatan pertumbuhan. Dengan demikian, jumlah sel BAL yang dihasilkan semakin banyak, sehingga akan terjadi peningkatan jumlah sel.

Secara umum, faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan sel antara lain nutrisi yang mengandung unsur karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, magnesium, zat besi, serta sejumlah logam lainnya, pH, suhu, aktivitas air, dan ketersediaan oksigen.

Waktu fermentasi selama 8 jam menunjukkan jumlah sel maksimum untuk semua sampel yogurt yang diuji (Tabel 3), karena pada waktu tersebut laju pertumbuhan memasuki akhir fase logaritmik dan merupakan awal fase stasioner, sehingga setelah jam ke-8 tidak terjadi peningkatan jumlah sel lagi. Pada kondisi tersebut, jumlah sel yogurt kontrol adalah $1,44 \times 10^9$ cfu/mL, yogurt ubi jalar putih $1,54 \times 10^9$ cfu/mL, yogurt ubi jalar oranye $3,17 \times 10^9$ cfu/mL, dan yogurt ubi jalar ungu $3,95 \times 10^9$ cfu/mL. Untuk mengetahui ada tidaknya beda nyata antar perlakuan pada saat jumlah sel mencapai maksimum sebelum terjadi penurunan (jam ke-8) maka dilakukan analisis varian. Tabel 4 menunjukkan perbandingan jumlah sel yogurt pada jam ke-8.

Penambahan ekstrak ubi jalar akan meningkatkan jumlah sel yogurt. Peningkatan jumlah sel tersebut dikarenakan ubi jalar mengandung karbohidrat, gula reduksi, protein, serat, dan vitamin yang akan digunakan sebagai nutrisi bagi pertumbuhan bakteri. Berdasarkan hasil analisis statistik pada Tabel 4 dapat diketahui bahwa yogurt dengan penambahan ekstrak ubi jalar putih, oranye, dan ungu memiliki jumlah sel yang tidak berbeda nyata. Hal ini berarti adanya perbedaan warna pada berbagai jenis ubi jalar tidak mempengaruhi jumlah sel yang dihasilkan.

Yogurt dengan penambahan ekstrak ubi jalar ungu memiliki jumlah sel yang lebih tinggi apabila dibandingkan dengan sampel lainnya meskipun perbedaannya tidak signifikan. Hal ini disebabkan oleh adanya zat-zat gizi (nutrisi) yang terkandung dalam ubi jalar tersebut. Buckle et al. (1985) menyatakan bahwa beberapa mikroorganisme, seperti *Lactobacillus*, sangat membutuhkan zat-zat gizi dan perlu ditambahkan beberapa vitamin dalam media pertumbuhannya.

Kandungan gizi pada ubi jalar ungu yang ditonjolkan sebagai nutrisi pertumbuhan sel adalah kadar gula reduksi, beta-karoten, dan serat. Menurut Jumrianti (2008), kadar gula reduksi ubi jalar putih sebesar 0,4%, ubi jalar oranye 0,3%, dan ubi jalar ungu 0,4%. Kandungan beta-karoten pada ubi jalar putih sebesar 31,20 mg/100 g (Jumrianti 2008), ubi jalar oranye 52,10 mg/100 g, dan ubi jalar ungu 923,65 mg/100 g (Widjanarko 2008), sedangkan kandungan serat kasar ubi jalar putih sebesar 2,5%, ubi jalar oranye 2,79%, dan ubi jalar ungu 3,0% (Suprpta 2006).

Sebagian besar serat ubi jalar ungu merupakan serat larut. Kandungan serat yang tinggi pada ubi jalar ungu baik untuk mencegah kanker saluran pencernaan dan mengikat zat karsinogen penyebab kanker di dalam tubuh (Sutomo 2006). Serat alami oligosakarida yang tersimpan dalam ubi jalar berfungsi sebagai prebiotik yang akan digunakan oleh BAL sebagai nutrisi dalam pertumbuhannya. Ruberfroid (2000) dalam Ahmad (2005) mendefinisikan prebiotik sebagai bahan makanan yang tidak tercerna, akan tetapi memberikan keuntungan pada inang melalui simulasi yang selektif terhadap pertumbuhan bakteri yang terdapat dalam kolon. Dengan adanya serat alami oligosakarida tersebut, pertumbuhan bakteri asam laktat dalam yogurt dengan penambahan ekstrak ubi jalar lebih tinggi daripada kontrol. Hasil penelitian Indratiningsih et al. (2004) tentang pengaruh penambahan bubuk shitake pada yogurt menunjukkan adanya peningkatan laju pertumbuhan sel yang disebabkan oleh adanya serat larut yang terkandung dalam bubuk shitake.

Pada jam ke-9 waktu fermentasi, pertumbuhan sel mulai menurun dan penurunan jumlah sel secara drastis terjadi pada jam ke-10 sampai jam ke-13. Menurut Purwitasari (2004), nutrisi dalam medium yang tidak mencukupi serta kondisi pH yang tidak sesuai akibat terakumulasinya senyawa metabolit akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Saripah (1983) menyebutkan bahwa aktivitas bakteri asam laktat menurun karena terhambat oleh keasaman yang dihasilkan. Satria (2005) menambahkan bahwa derajat keasaman (pH) yang optimum bagi aktivitas bakteri asam laktat berkisar antara pH 3-8.

Tabel 1. Hasil pengujian jumlah sel *starter*

Jenis <i>starter</i>	Ulangan	Jumlah sel (cfu/mL)	Jumlah sel rata-rata (cfu/mL)
<i>S. thermophilus</i>	1	2,23x10 ⁸	2,01x10 ⁸
	2	1,79x10 ⁸	
<i>L. bulgaricus</i>	1	1,87x10 ⁸	1,41x10 ⁸
	2	9,70x10 ⁷	

Tabel 2. Aktivitas antioksidan ubi jalar segar

Jenis ubi	Aktivitas antiosidan (%)
Ubi jalar putih	1,17 ^a
Ubi jalar oranye	8,38 ^b
Ubi jalar ungu	61,07 ^c

Keterangan: Angka yang diikuti dengan notasi huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$.

Tabel 3. Jumlah sel yogurt dengan penambahan ekstrak berbagai jenis ubi jalar selama fermentasi

Pengamatan pada jam ke-	Jumlah Sel (cfu/mL)			
	Kontrol	Ubi Jalar Putih	Ubi Jalar Oranye	Ubi Jalar Ungu
0	4,20x10 ⁷	4,50x10 ⁷	4,03x10 ⁷	4,57x10 ⁷
1	7,43x10 ⁷	6,60x10 ⁷	7,17x10 ⁷	9,67x10 ⁷
2	1,65x10 ⁸	1,61x10 ⁸	1,33x10 ⁸	3,13x10 ⁸
3	3,12x10 ⁸	3,66x10 ⁸	3,82x10 ⁸	6,20x10 ⁸
4	4,24x10 ⁸	4,60x10 ⁸	5,29x10 ⁸	8,23x10 ⁸
5	6,20x10 ⁸	5,50x10 ⁸	8,47x10 ⁸	1,56x10 ⁹
6	8,50x10 ⁸	9,50x10 ⁸	1,85x10 ⁹	1,93x10 ⁹
7	1,30x10 ⁹	1,45x10 ⁹	2,94x10 ⁹	3,60x10 ⁹
8	1,44x10 ⁹	1,54x10 ⁹	3,17x10 ⁹	3,95x10 ⁹
9	1,28x10 ⁹	1,32x10 ⁹	3,04x10 ⁹	3,13x10 ⁹
10	9,83x10 ⁸	1,11x10 ⁹	1,51x10 ⁹	1,91x10 ⁹
11	4,91x10 ⁸	5,93x10 ⁸	5,30x10 ⁸	6,07x10 ⁸
12	3,34x10 ⁸	3,12x10 ⁸	3,45x10 ⁸	2,97x10 ⁸
13	1,31x10 ⁸	1,83x10 ⁸	2,10x10 ⁸	1,84x10 ⁸
14	1,03x10 ⁸	1,13x10 ⁸	8,70x10 ⁷	1,67x10 ⁸
15	8,26x10 ⁷	6,37x10 ⁷	8,63x10 ⁹	9,90x10 ⁷

Keterangan: Angka yang diikuti dengan notasi huruf yang sama dalam satu baris menunjukkan tidak berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$.

Tabel 4. Jumlah sel yogurt pada jam ke-8

Jenis ubi	Jumlah sel (cfu/mL)
Kontrol	1,44x10 ⁹ ^a
Ubi jalar putih	1,54x10 ⁹ ^a
Ubi jalar oranye	3,17x10 ⁹ ^a
Ubi jalar ungu	3,95x10 ⁹ ^a

Keterangan: Angka yang diikuti dengan notasi huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$.

Tabel 5. Aktivitas antioksidan yogurt dengan penambahan ekstrak berbagai jenis ubi jalar

Sampel	Aktivitas antioksidan (%) pada pengamatan jam ke-					
	0	3	6	9	12	15
Kontrol	1,45 ^a	3,88 ^a	5,09 ^a	7,07 ^a	5,20 ^a	4,32 ^{ab}
Ubi jalar putih	1,98 ^a	3,73 ^a	4,93 ^a	7,25 ^{ab}	4,20 ^a	2,07 ^{ab}
Ubi jalar oranye	2,69 ^{ab}	5,42 ^a	6,73 ^{ab}	8,13 ^{ab}	5,41 ^a	4,63 ^{ab}
Ubi jalar ungu	5,42 ^b	7,31 ^a	8,48 ^b	10,30 ^b	8,26 ^b	6,40 ^b

Pada fase kematian yang dipercepat, kecepatan kematian sel terus meningkat, sedangkan kecepatan pembelahan sel nol. Meskipun demikian, penurunan jumlah sel hidup tersebut tidak sampai nol. Dalam jumlah minimum tertentu, sel mikrobial akan tetap bertahan dalam medium tersebut. Jumlah sel pada jam ke-15 dalam yogurt kontrol adalah 8,26x10⁷ cfu/mL, yogurt ubi jalar putih 6,37x10⁷ cfu/mL, yogurt ubi jalar oranye 8,63x10⁷ cfu/mL, dan yogurt ubi jalar ungu 9,90x10⁷ cfu/mL. Jumlah sel pada akhir fermentasi pada keempat jenis yogurt yang diuji masih memenuhi syarat sebagai minuman probiotik. Menurut *International Dairy Federation* yang disitasi oleh Indratiningsih et al. (2004), jumlah minimal sel probiotik hidup untuk dapat berperan sebagai agensia pemacu kesehatan adalah 10⁶ sel/mL.

Pengaruh penambahan ekstrak berbagai jenis ubi jalar terhadap aktivitas antioksidan yogurt

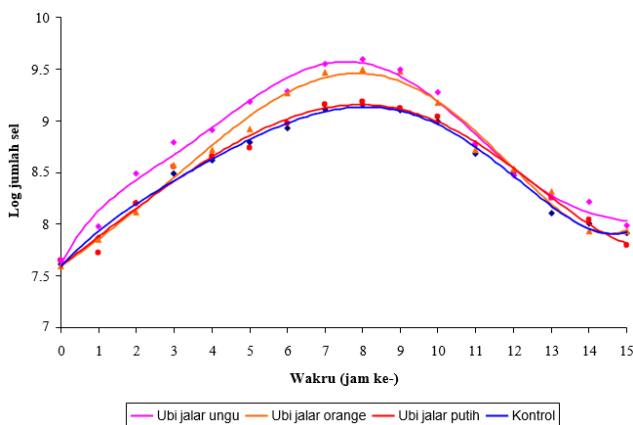
Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH atau *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*. DPPH merupakan radikal sintetik yang larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol (Rohman dan Sugeng 2005). Metode DPPH dipilih karena sederhana, efektif, mudah, cepat, peka, dan hanya membutuhkan sedikit sampel. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning yang diukur pada panjang gelombang 517 nm (Blois 1958 dalam Hanani et al. 2005). Semakin pudar warna yang dihasilkan maka nilai absorbansi sampel semakin rendah dan aktivitas antioksidannya akan semakin tinggi.

Ekstrak ubi jalar yang ditambahkan dalam pembuatan yogurt sebesar 10% dari volume susu (v/v). Pengujian aktivitas antioksidan yogurt yang ditambah dengan ekstrak ubi jalar dilakukan setiap tiga jam sekali mulai jam ke-0 sampai jam ke-15. Nilai aktivitas antioksidan pada berbagai jam pengamatan untuk tiap jenis sampel disajikan dalam Tabel 5.

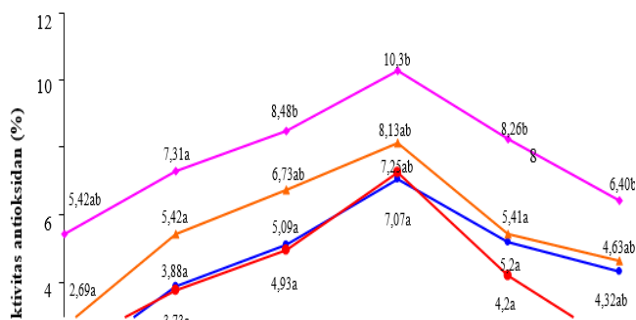
Hasil pengujian aktivitas antioksidan pada jam ke-0 menunjukkan bahwa yogurt yang ditambah dengan ekstrak ubi jalar ungu memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi sebesar 5,42%. Tingginya nilai aktivitas antioksidan tersebut diduga disebabkan oleh aktivitas antioksidan mula-mula yang terkandung dalam bahan. Ubi jalar segar ungu memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi yaitu sebesar 61,07%, sedangkan ubi jalar segar putih dan oranye memiliki aktivitas antioksidan masing-masing sebesar 1,17% dan 8,38% (Tabel 2). Oleh karena itu, pada saat ditambahkan ke dalam susu, aktivitas antioksidan yogurt ubi jalar ungu paling tinggi apabila dibandingkan dengan tiga sampel lainnya. Berdasarkan hasil analisis varian diketahui bahwa aktivitas antioksidan yogurt dengan penambahan ekstrak ubi jalar ungu pada jam ke-0 tidak berbeda nyata dengan ubi jalar oranye, tetapi berbeda nyata dengan kontrol dan yogurt yang ditambah dengan ekstrak ubi jalar putih. Berdasarkan Tabel 5 dapat diketahui bahwa selama proses fermentasi berlangsung, terjadi peningkatan aktivitas antioksidan pada keempat sampel yogurt yang diuji. Peningkatan aktivitas antioksidan dimulai dari jam

ke-0 sampai jam ke-9 dan pada jam ke-12 terjadi penurunan aktivitas antioksidan. Nilai aktivitas antioksidan maksimum dicapai pada jam ke-9 waktu fermentasi. Secara lebih jelas, grafik perubahan aktivitas antioksidan selama fermentasi yogurt berlangsung disajikan dalam Gambar 2.

Peningkatan aktivitas antioksidan selama fermentasi berlangsung terjadi seiring dengan pertumbuhan bakteri asam laktat. Artinya, peningkatan populasi bakteri akan diikuti oleh peningkatan aktivitas antioksidan. Grafik pertumbuhan sel dan aktivitas antioksidan menunjukkan karakter yang sama. Semakin lama waktu fermentasi maka jumlah sel dan aktivitas antioksidan akan semakin meningkat meskipun pada titik tertentu akan mengalami penurunan (Gambar 1 dan 2). Oleh karena itu, peningkatan aktivitas antioksidan selama proses fermentasi yogurt tersebut disebabkan oleh adanya aktivitas BAL yang akan menghasilkan senyawa yang berperan sebagai antioksidan. Yogurt mengandung antioksidan yang dapat menghambat laju pertumbuhan kanker akibat radikal bebas.



Gambar 1. Hubungan waktu fermentasi dengan log jumlah sel pada berbagai sampel yogurt



Gambar 2. Aktivitas antioksidan yogurt dengan penambahan ekstrak berbagai jenis ubi jalar selama fermentasi berlangsung. Angka yang diikuti dengan notasi huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$.

Pato (2003) menambahkan bahwa BAL dapat berfungsi sebagai antimutagenik dan antikanker. Harsono et al. (1990) dalam Pato (2003) menyatakan bahwa BAL dalam dadih telah dilaporkan mempunyai efek antimutagenik terhadap berbagai jenis mutagen seperti *N-nitrosodimethylamine*, *N-nitrosopyrrolidine*, dan *N-nitrosopiperidine*. Mutagen dan karsinogen akan diikat oleh peptidoglikan yang terdapat pada dinding sel BAL, sehingga melalui mekanisme ini BAL dapat mencegah terjadinya penyakit kanker (Sreekumar dan Hosono 1998 dalam Pato 2003).

Hasil penelitian Pato (2003) menyebutkan bahwa efek antikanker dari BAL juga disebabkan oleh penghambatan aktivitas enzim *β -glucuronidase*, *azoreductase*, dan *nitroreductase* serta penghambatan pertumbuhan bakteri penghasil enzim-enzim yang mengonversi senyawa-senyawa prokarsinogen menjadi karsinogen. Senyawa-senyawa polisakarida ekstraseluler yang diproduksi oleh BAL selama pertumbuhannya juga mempunyai efek antimutagenik dan antikanker.

Antioksidan yang terkandung dalam yogurt ini merupakan antioksidan alami yang berasal dari hasil dekomposisi oleh bakteri asam laktat selama proses fermentasi berlangsung. Halliwell dan Gutteridge (2000) menyatakan bahwa antioksidan alami biasa digunakan sebagai suplemen dalam bentuk makanan maupun pengawet bahan pangan.

Penambahan ekstrak berbagai jenis ubi jalar akan meningkatkan aktivitas antioksidan yogurt yang dihasilkan. Berdasarkan hasil analisis statistik yang dilanjutkan dengan uji beda nyata menggunakan DMRT (Gambar 2) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yogurt dengan penambahan ekstrak ubi jalar oranye dan ungu berbeda nyata dengan kontrol dan yogurt yang ditambah dengan ekstrak ubi jalar putih. Hal ini berarti adanya perbedaan warna pada berbagai jenis ubi jalar berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan yogurt.

Gambar 2 menunjukkan aktivitas antioksidan yogurt selama fermentasi 15 jam. Aktivitas antioksidan yogurt kontrol adalah 1,45-7,07%, yogurt ubi jalar putih 1,98-7,25%, yogurt ubi jalar oranye 2,69-8,13%, dan yogurt ubi jalar ungu 5,42-10,30%. Yogurt yang ditambah dengan ekstrak ubi jalar oranye dan ungu secara umum memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi apabila dibandingkan dengan kontrol dan ubi jalar putih. Hal ini dikarenakan ubi jalar oranye dan ungu mengandung beta-karoten dan antosianin yang lebih tinggi daripada ubi jalar putih (Widjanarko 2008; Suprpta 2006).

Nilai aktivitas antioksidan pada akhir waktu fermentasi (jam ke-15) cenderung lebih tinggi apabila dibandingkan dengan awal fermentasi (jam ke-0). Akan tetapi, aktivitas antioksidan maksimum untuk semua sampel dicapai pada saat jam ke-9 waktu fermentasi. Pada kondisi tersebut, yogurt kontrol memiliki aktivitas antioksidan sebesar 7,07%, yogurt ubi jalar putih 7,25%, yogurt ubi jalar oranye 8,13%, dan yogurt ubi jalar ungu 10,3%. Fermentasi yogurt selama sembilan jam akan menghasilkan aktivitas antioksidan yang paling tinggi, hal ini dikarenakan pada jam ke-9 pertumbuhan bakteri asam laktat cukup optimal

yang ditandai dengan tingginya jumlah sel yang dihasilkan sebelum terjadi fase kematian (Tabel 3).

Adanya pertumbuhan BAL akan mendorong terjadinya sintesis senyawa yang berperan sebagai antioksidan, sehingga aktivitas antioksidan dalam sampel akan semakin meningkat. Asam laktat ($\text{CH}_3\text{-CHOH-COOH}$) yang diproduksi oleh BAL berperan sebagai donor atom hidrogen bagi molekul atau atom yang memiliki elektron tidak berpasangan pada orbit terluarnya (radikal bebas). Terjadinya peluruhan warna larutan DPPH pada pengujian aktivitas antioksidan disebabkan oleh adanya donasi atom hidrogen pada elektron yang tidak berpasangan dari gugus N dalam struktur DPPH. Semakin kuat aktivitas antioksidan maka penurunan intensitas warna ungu semakin besar. Penurunan aktivitas antioksidan pada jam ke-12 sampai jam ke-15 terjadi karena populasi BAL yang dihasilkan semakin menurun, sehingga berakibat pada penurunan aktivitas antioksidan.

Aktivitas antioksidan yogurt ubi jalar ungu pada jam ke-9 paling tinggi di antara ketiga sampel lainnya. Hal ini dikarenakan jumlah bakteri dalam yogurt ubi jalar ungu pada jam ke-9 juga paling tinggi (Tabel 3), sehingga kemampuan BAL untuk menghasilkan antioksidan juga semakin besar. Selain itu, dalam ubi jalar ungu juga terkandung beta-karoten dan antosianin. Kandungan beta-karoten pada ubi jalar putih sebesar 31,20 mg/100 g (Jumrianti 2008), ubi jalar oranye 52,10 mg/100 g, dan ubi jalar ungu 923,65 mg/100 g (Widjanarko 2008), sedangkan kadar antosianin pada ubi jalar putih sebesar 0,06 mg/100 g, ubi jalar oranye 4,56 mg/100 g, dan ubi jalar ungu 110 mg/100 g (Suprpta 2006).

Apabila dibandingkan dengan aktivitas antioksidan pada jam ke-0, fermentasi yogurt selama 9 jam menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan yang cukup signifikan, sehingga fermentasi yogurt dengan penambahan ekstrak ubi jalar sangat menguntungkan bagi pengayaan nutrisi dalam yogurt. Menurut Collins dan Walter (1982), komponen bioaktif dalam ubi jalar yang memiliki fungsi sebagai antioksidan adalah vitamin C, tokoferol, seng, asam folat, antosianin, dan beta-karoten. Antosianin adalah senyawa fenolik yang termasuk dalam kelompok flavonoid yaitu turunan polifenol dalam tumbuhan yang memiliki kemampuan antioksidan dan antikanker, sedangkan beta-karoten adalah jenis karotenoid yang merupakan kelompok pigmen alami dengan warna kuning, oranye, dan merah oranye (Winarno et al. 1980). Selain beta-karoten, warna jingga pada ubi jalar juga mengindikasikan akan tingginya kandungan senyawa *lutein* dan *zeaxanthin* yang merupakan antioksidan karotenoid.

Sekelompok antioksidan yang tersimpan dalam yogurt dengan penambahan ekstrak ubi jalar pada penelitian ini dapat menghalangi laju kerusakan sel oleh radikal bebas. Beberapa studi epidemiologi menunjukkan bahwa peningkatan konsumsi antioksidan fenolik alami yang terdapat dalam buah, sayur, dan tanaman serta produk-produknya mempunyai manfaat besar terhadap kesehatan, yaitu dapat mengurangi risiko terjadinya penyakit jantung koroner (Ghiselli et al. 1998). Hal ini disebabkan karena adanya kandungan beberapa vitamin (A, C, dan E), folat,

serat, dan kandungan kimia lain seperti polifenol yang mampu menangkap radikal bebas (Gill et al. 2002).

Pada jam ke-12 waktu fermentasi, aktivitas antioksidan yogurt mengalami penurunan. Hal ini dikarenakan nutrisi yang tersedia dalam substrat sudah tidak mencukupi untuk pertumbuhan BAL. Akibatnya, BAL mengalami fase kematian dan jumlah BAL menurun, sehingga kemampuan BAL dalam produksi antioksidan juga semakin menurun.

KESIMPULAN

Penambahan ekstrak berbagai jenis ubi jalar akan meningkatkan jumlah sel dan aktivitas antioksidan yogurt yang dihasilkan. Yogurt dengan penambahan ekstrak ubi jalar putih, oranye, dan ungu memiliki jumlah sel yang tidak berbeda nyata. Hal ini berarti adanya perbedaan warna pada berbagai jenis ubi jalar tidak mempengaruhi jumlah sel yang dihasilkan. Aktivitas antioksidan yogurt dengan penambahan ekstrak ubi jalar oranye dan ungu berbeda nyata dengan kontrol dan yogurt yang ditambah ekstrak ubi jalar putih. Hal ini berarti adanya perbedaan warna pada berbagai jenis ubi jalar berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan yogurt. Ubi jalar berpotensi sebagai bahan substitusi susu dalam pembuatan yogurt karena akan memberikan nilai lebih dengan adanya oligosakarida dan aktivitas antioksidan yang terkandung didalamnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad RZ. 2005. Pemanfaatan khamir *Saccharomyces cerevisiae* untuk ternak. *Wartazona* 15 (1): 1-7.
- Arlistiya A. 2008. Pengaruh Jenis Starter (*S. thermophilus*, *L. bulgaricus* dan Kombinasi Keduanya) terhadap Laju Kinetika Fermentasi Selama Pembuatan Yogurt. [Skripsi]. Fakultas Pertanian UNS, Surakarta.
- Buckle KA, RA Edward, GH Fleet et al. 1985. Ilmu pangan. UI Press, Jakarta.
- Collins WW, Walter WM. 1982. Potential for increasing nutritional value of sweet potato in sweet potato. In: Villareal RL, Griggs TD (eds). *Proceeding of the First International Symposium*. AVRDC, Shanhua, Taiwan.
- Djide N. 2005. Mikrobiologi farmasi dasar. Jurusan Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makasar.
- Dwidjoseputro. 1998. Dasar-dasar mikrobiologi. Djambatan, Jakarta.
- Fardiaz S. 1993. Analisis Mikrobiologi pangan. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Ghiselli A, Nardini M, Baldi A et al. 1998. Antioxidant activity of different phenolics fractions separated from an Italian red wine. *J Agric Food Chem* (46): 361-367.
- Gill MI, Tomas FAB, Pierce BH et al. 2002. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *J Agric Food Chem* 50: 4976-4982.
- Hadiwiyo. 1982. Teknik uji mutu susu dan olahannya. Liberty, Yogyakarta.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 2000. *Free radical in Biology and medicine*. Oxford University Press, New York.
- Hanani E, Mun'im A, Sekarini R. 2005. Identifikasi senyawa antioksidan dalam spons *Callyspongia* sp. dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2 (3): 127-133.
- Hasyim A, Yusuf M. 2008. Diversifikasi produk ubi jalar sebagai bahan pangan substitusi beras. *Badan Litbang Pertanian, Malang*. *Tabloid Sinar Tani*, 30 Juli 2008.
- Indratiningsih W, Isrima S, Wahyuni E. 2004. Produksi yogurt shitate (yoshitake) sebagai pangan kesehatan berbasis susu. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 25 (1): 54-60.

- Jumrianti R. 2008. Ubi jalar, saatnya menjadi pilihan. www.beritaipetek.com. [24 Juli 2009].
- Kobori M. 2003. In vitro screening for cancer suppressive effect of food components. *JARQ* 37 (3): 159-165.
- Pangestuti HP, Sitoesmi T. 1996. Analisis mikrobiologi: Proses pembuatan tempe kedelai. *Cermin Dunia Kedokteran* 109: 1-4.
- Pato U. 2003. Potensi bakteri asam laktat yang diisolasi dari dadih untuk menurunkan penyakit kanker. *Jurnal Natur Indonesia* 5 (2): 162-166.
- Purwitasari E, Artini P, Ratna S. 2004. Pengaruh media tumbuh terhadap kadar protein *Saccharomyces cerevisiae* dalam pembuatan protein sel tunggal. *Bioteknologi* 1 (2): 37-42.
- Rohman A, Sugeng R. 2005. Daya antioksidan ekstrak etanol daun kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) secara in vitro. *Majalah Farmasi Indonesia* 16 (3): 136-140.
- Saripah S. 1983. Dasar-dasar pengawetan II. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Jakarta.
- Satria, Hasrul N. 2005. Pembentukan asam organik oleh isolat bakteri asam laktat pada media ekstrak daging buah durian (*Durio zibethinus* Murr.). *Bioscientiae* 2 (1): 15-24.
- Sofia D. 2007. Antioksidan dan radikal bebas. www.chem-is-try.org. [8 Desember 2008].
- Suardi D. 2005. Potensi beras merah untuk peningkatan mutu pangan. *Jurnal Litbang Pertanian* 24 (3): 93-100.
- Suprapta DN. 2006. Ubi jalar ungu mengandung antioksidan tinggi. www.cybertokoh.com. [3 Desember 2008].
- Sutomo B. 2006. Kandungan gizi ubi jalar merah, vitamin A-nya mencapai 2310 Mcg. budiboga.blogspot.com. [3 Desember 2008].
- Tensiska. 2008. Probiotik dan prebiotik sebagai pangan fungsional. Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Universitas Padjajaran, Bandung.
- Wahyudi M. 2006. Proses pembuatan dan analisis mutu yogurt. *Buletin Teknik Pertanian* 11 (1): 12-16.
- Widjanarko S. 2008. Efek pengolahan terhadap komposisi kimia dan fisik ubi jalar ungu dan kuning. simonbwidjanarko.wordpress.com. [3 Januari 2008].
- Widowati S, Misgiyarta. 2002. Efektivitas Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam pembuatan produk fermentasi berbasis protein/susu nabati. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor.
- Winarno FG, Srikandi F, Dedi F. 1980. Pengantar teknologi pangan. Gramedia, Jakarta.

Aktivitas antioksidan, kadar fenolat dan flavonoid ekstrak buah pare belut (*Trichosanthes anguina*)

Antioxidant activity, phenolic and flavonoid contents of snake gourd (*Trichosanthes anguina*) extract

YUANA RIKHA MARSETYA, MUDJIJONO, SRI HASTUTI

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 3 Juni 2009. Revisi disetujui: 22 Agustus 2009.

Abstract. Marsetya YR, Mudjijono, Hastuti S. 2009. *Antioxidant activity, phenolic and flavonoid contents of snake gourd (Trichosanthes anguina) extract.* Biofarmasi 7: 77-86. This research was carried out to evaluate the antioxidant activity and the relationship between antioxidant activity with phenolic and flavonoid contents in snake gourd extract. The extract was prepared by a maceration using methanol, and then continued by an extraction using solvent with increasing polarity. Extract obtained was analyzed to determine the antioxidant activity, and they were compared to the synthetic antioxidant, BHT (*Butylated Hydroxytoluene*) and PG (*Propyl Gallate*). The antioxidant activity was determined using the modification of β -carotene-linoleic acid emulsion system. Phenolic content was measured by Folin-Ciocalteu method and the flavonoid content was determined using $AlCl_3$ reagent. The result of this research showed that the antioxidant activity of methanol extract (29.566%) was higher than BHT (16.268%), and it was not significantly different from PG (29.452%). Chloroform extract had the highest antioxidant activity (36.384%), followed by water, hexane, butanol, and ethyl acetate extract, respectively. Phenolic contents of each extract (methanol, chloroform, ethyl acetate, butanol, and water) were 1.904, 3.547, 2.553, 3.114, and 1.776 g GAE (*Gallic Acid Equivalent*)/100 g extract, and the flavonoid contents were 4.072, 4.162, 1.751, 2.944, and 1.392 g QE (*Quercetin Equivalent*)/100 g extract, respectively. A positive relationship was found in this research, the chloroform extract that had the highest antioxidant activity contained the highest amount of phenolic and flavonoid. This study showed that snake gourd could be used as a source of natural antioxidant.

Keywords: Antioxidant, flavonoid, phenolic, snake gourd, *Trichosanthes anguina*

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya, yang menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif (Soeatmaji 1998). Radikal bebas yang bersifat reaktif tersebut dapat menimbulkan perubahan kimiawi dan merusak berbagai komponen sel hidup. Dalam tubuh manusia, radikal bebas dianggap berperan dalam proses terjadinya kanker, penyakit radiovaskuler, neurodegeneratif, diabetes, dan katarak. Penelitian di bidang gizi membuktikan bahwa antioksidan dapat melindungi jaringan tubuh dari efek negatif radikal bebas (Karyadi 1997). Antioksidan juga berperan penting dalam mempertahankan mutu produk pangan. Menurut Trilaksani (2003), berbagai kerusakan akibat reaksi oksidasi, seperti ketengikan, perubahan nilai gizi, dan perubahan warna pada lipid dan bahan pangan yang mengandung lipid, dapat dihambat dengan penambahan antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Antioksidan juga mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas. Akibatnya, kerusakan sel dapat dihambat (Winarsi 2007). Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Penggunaan

antioksidan sintetik dalam jangka waktu lama dan dosis yang berlebihan dapat merugikan kesehatan karena bersifat karsinogen. Senyawa fenol sintetik merupakan salah satu contoh antioksidan sintetik yang tidak baik bagi kesehatan, karena pada paparan yang lama diketahui dapat mempengaruhi genetika sel-sel tubuh (Amarowitz et al. 2000). Pemakaian antioksidan buatan dalam bahan pangan harus dilakukan secara hati-hati, karena banyak diantaranya yang dapat menyebabkan keracunan pada penggunaan dosis yang berlebihan (Ketaren 1986). Hal ini mendorong berbagai penelitian untuk mendapatkan antioksidan yang lebih aman dari sumber bahan alami yang banyak ditemukan dalam sayuran, buah-buahan, biji-bijian, serta kacang-kacangan.

Tumbuhan menghasilkan sejumlah senyawa kimia kompleks yang biasanya merupakan bagian dari sel yang disebut metabolit sekunder, dimana kandungannya bukan merupakan bahan dasar biokimia untuk hidup, tetapi sebagai bagian sel yang berinteraksi dengan lingkungan. Bahan kimia dari tumbuhan yang mempunyai efek biologi yang efektif sebagai antioksidan, diantaranya adalah golongan senyawa fenolat. Menurut Andayani et al. (2008), dari sejumlah penelitian pada tanaman obat dilaporkan bahwa banyak tanaman obat yang mengandung antioksidan dalam jumlah besar. Efek antioksidan tersebut terutama disebabkan karena adanya senyawa fenol seperti flavonoid dan asam fenolat. Secara *in vitro*, buah

mengkudu, daun teh, gandum, dan daun dewandaru diketahui memiliki aktivitas antioksidan seiring dengan tingginya kandungan golongan senyawa fenolat (Rohman et al. 2006; Kumar et al. 2008; Emmons dan Peterson 1999; Utami et al. 2005). Flavonoid, tanin, dan polifenol merupakan golongan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan (Wangesteen et al. 2004), selain itu vitamin C, vitamin E, dan karotenoid juga berpotensi sebagai antioksidan (Winarsi 2007).

Golongan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan tersebut dapat ditemukan dalam berbagai jenis tumbuhan. Salah satu ragam tumbuhan yang banyak terdapat di Indonesia yaitu famili Cucurbitaceae. Famili ini mencakup sekitar 800 jenis yang terbagi dalam ± 100 marga, terutama di daerah-daerah beriklim panas. Famili Cucurbitaceae merupakan salah satu famili tanaman yang banyak dimanfaatkan sebagai sayuran dan obat-obatan (Tjitrosoepomo 1989).

Beberapa penelitian mengenai aktivitas antioksidan pada famili Cucurbitaceae telah dilakukan. Salah satunya yaitu penelitian yang dilakukan oleh Soury et al. (2008), hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa dengan metode TBA ekstrak metanol biji mentimun (*Cucumis sativus* L.) terbukti memiliki aktivitas antioksidan dengan IC₅₀ $1,25 \pm 0,03$ $\mu\text{g/ml}$ dan mengandung kadar fenolat total sebesar $27,79 \pm 0,89$ mg/100 g bahan kering. Penelitian yang lain dilakukan oleh Kumar et al. (2008), yaitu bahwa ekstrak metanol *Curullus colocynthis* (L.) terbukti mampu menghambat radikal bebas dan ekstrak tersebut mengandung fenolat sebagai asam galat sebesar 0,74% (m/m) dan flavonoid sebagai katekin sebesar 0,13% (m/m). Uji aktivitas antioksidan telah dilakukan pada daun dan akar labu siam dengan menggunakan metode pemucatan β -karoten-asam linoleat yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun serta ekstrak air daun dan akar labu siam memiliki aktivitas antioksidan lebih besar dari 90% penghambatan (Ordonez et al. 2005).

Pare belut (*Trichosanthes anguina* L.) merupakan salah satu jenis tanaman dari famili Cucurbitaceae. Menurut Kristinawati (2004), identifikasi dengan penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah pare belut mengandung alkaloid, tanin, polifenol, saponin, kardenolin/bufadienol, dan flavonoid. Literatur lain menyebutkan bahwa buah pare belut mengandung sejumlah vitamin, yaitu vitamin C ($18,9 \pm 0,05$ mg/100 ml) dan vitamin A ($347 \pm 0,02$ $\mu\text{g}/100$ ml) (Ojiako dan Igwe 2008).

Berdasarkan kandungan senyawa yang dimiliki, seperti yang telah dilaporkan oleh Kristinawati (2004) serta Ojiako dan Igwe (2008), buah pare belut mempunyai potensi sebagai antioksidan, sehingga buah pare belut juga dapat menjadi sumber antioksidan alami. Pelarut metanol dapat digunakan untuk menarik komponen dengan berbagai tingkat kepolaran, sehingga komponen kimia dengan kepolaran yang rendah sampai yang tertinggi dapat terekstrak semua. Potensi antioksidan buah pare belut dapat meningkatkan manfaat buah pare belut sebagai bahan pangan fungsional, tetapi sampai sekarang belum ada keterangan ilmiah mengenai aktivitas antioksidan dan golongan senyawa dalam buah pare belut yang berpotensi

sebagai antioksidan. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian untuk mengetahui aktivitas antioksidan terhadap bahan aktif antioksidan dalam buah pare belut dengan menggunakan pelarut awal metanol.

Tujuan penelitian ini adalah: (i) Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak metanol buah pare belut, (ii) Mengetahui kadar fenolat dan flavonoid dalam ekstrak buah pare belut, serta (iii) Mengetahui hubungan antara ekstrak buah pare belut yang mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi dengan kadar fenolat dan flavonoid.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Dasar dan Sub-Laboratorium Pusat Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta, dari bulan Januari 2008 sampai Februari 2009.

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi seperangkat alat maserasi, seperangkat alat gelas, *rotary evaporator* Bibby RE200, *vortex mixer* VM-300, spektrofotometer UV-Vis Mini-1240 (Shimadzu), spektrofotometer UV-Vis *Double Beam* (Labomed, Inc.), oven (Memmert), *batch oven*, *tray dryer* 90%, penggiling *Disk Mill* model FFD, inkubator *Selecta* (40-60°C), neraca analitik tipe *Scout Pro* OHAUS maksimal 400 g, neraca analitik TL-603 D maksimal 1 = 110 g dan maksimal 2 = 610 g, serta mikropipet 20-200 μl dan 100-1000 μl .

Sementara itu, bahan-bahan yang digunakan meliputi daging buah pare belut yang diperoleh dari Sukoharjo, metanol (Brataco Chemika), heksana (Brataco Chemika), kloroform (Aldrich), etil asetat (Aldrich), butanol (Aldrich), HCl (E. Merck), FeCl₃ (E. Merck), AlCl₃ (E. Merck), KI (E. Merck), I₂ (E. Merck), NaCl, SbCl₃, β -karoten (E. Merck), asam oleat (E. Merck), vitamin C (E. Merck), Tween 80 (E. Merck), BHT (Aldrich), propil galat (E. Merck), reagen Folin-Ciocalteu (E. Merck), Na₂CO₃ (E. Merck), gelatin (E. Merck), NaNO₂ (E. Merck), NaOH (E. Merck), asam galat (E. Merck), kuersetin (E. Merck), amilum (E. Merck), akuabides, akuades, tip mikropipet (Eppendorf), dan kertas saring.

Metode penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan menggunakan sampel buah pare belut. Buah pare belut diambil dari Sukoharjo. Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan memilih salah satu petani secara acak dari 5 orang petani. Buah pare belut yang diperoleh dari petani tersebut dianggap mempunyai probabilitas yang sama, yang berarti mempunyai komponen kimia yang sama. Semua buah pare belut yang diperoleh dibuat sampel untuk analisis selanjutnya. Buah pare belut dibuat simplisia dan dimaserasi dengan pelarut metanol dan dilanjutkan dengan ekstraksi bertahap dengan pelarut heksana, kloroform, etil asetat, dan butanol. Pengujian aktivitas antioksidan

dilakukan dengan menggunakan metode sistem emulsi β -karoten-asam linoleat (Kumaran dan Karunakaran 2006) yang dimodifikasi, penapisan fitokimia menggunakan metode uji warna atau endapan, analisis fenolat menggunakan reagen Folin-Ciocalteu (Song dan Barlow 2004), analisis flavonoid menggunakan metode pewarnaan $AlCl_3$ (Rohman et al. 2006), dan analisis vitamin C dengan menggunakan metode titrasi iodium (Sudarmadji et al. 1989).

Cara kerja

Determinasi dan preparasi sampel

Determinasi sampel buah pare belut yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Fakultas Biologi, UGM Yogyakarta. Determinasi dilakukan berdasarkan pengamatan ciri fisiologis tumbuhan.

Persiapan simplisia

Buah pare belut sebanyak 24 kg dikupas kulitnya, dipotong tipis-tipis dengan tebal irisan ± 1 mm untuk menghindari kerusakan pada proses pengeringan, diangin-anginkan selama ± 24 jam, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu $55^\circ C$ selama ± 72 jam, dimana pada suhu yang tidak terlalu tinggi tersebut bertujuan untuk menghindari perubahan-perubahan komponen kimia yang terkandung di dalam buah pare belut. Selanjutnya, daging buah pare belut yang sudah kering digiling sampai berbentuk serbuk dengan ukuran 40 mesh, dan diperoleh serbuk simplisia sebanyak 1 kg.

Ekstraksi simplisia dengan pelarut metanol

Serbuk simplisia buah pare belut sebanyak 1 kg diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Metode ini dipilih karena tidak menggunakan pemanasan, sehingga perubahan terhadap senyawa-senyawa maupun vitamin yang berperan sebagai antioksidan dalam sampel dapat dihindarkan. Di samping itu, sampel yang digunakan banyak dan untuk mempercepat proses ekstraksi hanya memungkinkan dilakukan dengan metode maserasi. Proses maserasi sangat menguntungkan untuk isolasi senyawa bahan alami (Lenny 2006).

Maserasi pertama dilakukan selama 48 jam dan volume metanol yang ditambahkan sebanyak 2.200 ml. Maserasi kedua dilakukan selama 24 jam dan volume metanol yang ditambahkan sebanyak 850 ml. Maserasi ketiga dilakukan selama 24 jam dan volume metanol yang ditambahkan sebanyak 750 ml. Maserasi dilakukan dengan pengadukan setiap 1 jam, hal ini bertujuan untuk menghindari memadatnya serbuk simplisia, sehingga pelarut kesulitan untuk menembus bahan dan mengambil komponen kimia aktif, karena serbuk simplisia yang digunakan relatif banyak. Filtrat yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* pada suhu $40^\circ C$ dan kecepatan putar 4 rpm sampai tidak terdapat pelarut yang menetes lagi dan diperoleh ekstrak metanol sebesar 204 g dan berwarna hitam kehijauan dengan bau seperti kopi. Ekstrak metanol yang diperoleh ditentukan berat konstan.

Penentuan berat konstan

Botol kosong volume 10 ml ditimbang dan dioven pada suhu $70^\circ C$ selama 1 jam, kemudian dimasukkan ke dalam eksikator selama 1 jam, selanjutnya dilakukan penimbangan kembali. Langkah tersebut diulang sampai diperoleh berat botol yang sama pada dua kali penimbangan berturut-turut.

Botol kosong yang beratnya telah konstan diisi dengan ekstrak buah pare belut sampai penuh, kemudian ditimbang berat awalnya dan dibuat konstan dengan cara yang sama seperti pada botol kosong.

Pengujian aktivitas antioksidan

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan pada buah pare belut adalah sistem emulsi β -karoten-asam linoleat termodifikasi, yaitu mengganti asam linoleat dengan asam oleat. Penggunaan asam oleat dikarenakan ketersediaan asam linoleat di alam sangat sedikit sehingga digunakan asam oleat. Menurut Ketaren (1986), asam oleat terdapat pada sebagian besar minyak dan lemak, sedangkan asam linoleat hanya terdapat dalam minyak biji *lin* dan *poppy*. Perbedaan struktur asam oleat dan linoleat adalah jumlah ikatan rangkapnya, dimana asam oleat mempunyai satu ikatan rangkap, sedangkan asam linoleat mempunyai dua ikatan rangkap. Ikatan rangkap pada asam lemak mempunyai peran aktif dalam proses oksidasi, semakin banyak ikatan rangkap maka semakin besar tingkat oksidasinya (Joedibrot dan Hadiwidjono 1988).

Prinsip dari metode sistem emulsi β -karoten-asam oleat yaitu pemucatan warna yang merupakan parameter terjadinya reaksi oksidasi pada sistem emulsi tersebut. Semakin tajam penurunan absorbansinya, semakin tinggi tingkat oksidasi lemak yang terjadi. Kemampuan ekstrak dalam menghambat reaksi oksidasi dapat diketahui dari perubahan warna sistem emulsi β -karoten-asam oleat dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Panjang gelombang yang digunakan yaitu panjang gelombang maksimum dari β -karoten.

Penentuan panjang gelombang (λ) maksimum β -karoten

Sebanyak 1 mg β -karoten dilarutkan dalam 5 ml kloroform, divorteks, dan selanjutnya diambil 0,1 ml dan diencerkan sampai volume 10 ml, kemudian ditera absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-550 nm.

Pembuatan larutan sampel

Ekstrak, BHT, dan PG ditimbang masing-masing sebanyak 2 mg, kemudian diencerkan dengan akuabides dalam labu ukur 10 ml.

Pembuatan emulsi β -karoten-asam oleat

Sebanyak 1 mg β -karoten dilarutkan dalam 5 ml kloroform, kemudian divorteks. Sebanyak 3 ml larutan β -karoten dievaporasi pada suhu $40^\circ C$ untuk menghilangkan kloroform. Selanjutnya ke dalam sampel ditambahkan 60 mg asam oleat, 600 mg Tween 80, dan 150 ml akuabides

kemudian dikocok, sehingga diperoleh emulsi β -karoten-asam oleat yang digunakan untuk analisis antioksidan.

Pengujian aktivitas antioksidan

Sebanyak 0,2 ml larutan sampel ditambah dengan 5 ml emulsi β -karoten-asam oleat, divorteks, dan ditera absorbansinya pada panjang gelombang maksimum, kemudian diinkubasi pada suhu 50°C dan ditera kembali pada menit ke-120. Sebagai kontrol negatif, emulsi sebanyak 5 ml ditambah dengan 0,2 ml akuabides, sedangkan sebagai blangko yaitu emulsi dari 60 mg asam oleat, 600 mg Tween 80, dan 150 ml akuabides (Kumaran dan Karunakaran 2006).

Perhitungan aktivitas antioksidan

Data yang diperoleh pada pengujian aktivitas antioksidan adalah absorbansi pada menit ke-0 dan ke-120. Dari data tersebut dapat digunakan untuk mengukur kecepatan degradasi dengan menggunakan persamaan 1.

$$\ln \left| \frac{a}{b} \right| \frac{1}{t} = \text{kecepatan degradasi sampel} \dots\dots\dots (1)$$

Dimana:

- a = absorbansi awal pada menit ke-0
- b = absorbansi pada menit ke-120
- t = waktu (menit)

Aktivitas antioksidan (AA) dinyatakan dalam persentase penghambatan, seperti yang dinyatakan dalam persamaan 2.

$$\Delta \Delta = \frac{Vk - Vs}{Vk} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

Dimana:

- Vk = kecepatan degradasi kontrol negatif
- Vs = kecepatan degradasi sampel

Penapisan fitokimia ekstrak metanol

Golongan senyawa yang diuji antara lain fenolat, flavonoid, tanin, dan polifenol serta karotenoid. Golongan senyawa tersebut dipilih karena golongan senyawa fenolat, flavonoid, tanin, dan polifenol terbukti memiliki aktivitas antioksidan (Wangesteen et al. 2004), demikian juga karotenoid merupakan suatu golongan senyawa kimia yang memiliki aktivitas antioksidan (Ismail et al. 2004). Penapisan fitokimia dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan uji warna atau pengendapan dengan beberapa pereaksi.

Pengujian kandungan fenolat

Ekstrak ditambah dengan larutan besi (III) klorida 1% dalam akuades. Fenolat positif jika terjadi perubahan warna hijau, merah ungu, atau biru/hitam (Padmawinata dan Soediro 1996).

Pengujian kandungan flavonoid

Pengujian kandungan flavonoid dilakukan dengan metode Bate-Smith dan Metcalf. Ekstrak ditambah dengan heksana kemudian diaduk, fase heksana dibuang, dan prosedur diulangi hingga larutan heksana tidak berwarna.

Residu dilarutkan dengan alkohol 80% kemudian dibagi dalam 2 tabung. Tabung 1 digunakan sebagai blangko. Adapun tabung 2 ditambah dengan 3 tetes HCl pekat, diamati perubahan warna yang terjadi, dibandingkan dengan larutan blangko, kemudian larutan dihangatkan di atas penangas air selama 15 menit dan diamati perubahan warna yang terjadi.

Pengujian kandungan tanin dan polifenol

Ekstrak ditambah dengan 3 ml akuades panas, diaduk, dan didinginkan. Setelah itu, ekstrak ditambah dengan 5 tetes NaCl 10% dan disaring. Filtrat dibagi menjadi 3 bagian, yaitu A, B, dan C. Filtrat A digunakan sebagai blangko, ke dalam filtrat B ditambah dengan 3 tetes pereaksi FeCl₃, dan ke dalam filtrat C ditambahkan garam gelatin. Kemudian diamati perubahan warna yang terjadi.

Pengujian karotenoid

Pengujian karotenoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi Carr Price. Ekstrak ditambah dengan 2-3 tetes larutan jenuh SbCl₃ dalam kloroform. Ekstrak mula-mula berwarna biru kemudian berubah menjadi merah (Puspitasari et al. 2007).

Ekstraksi dengan kepolaran pelarut bertingkat pada ekstrak metanol

Ekstraksi bertingkat dilakukan terhadap ekstrak metanol dengan menggunakan pelarut-pelarut organik dengan kepolaran yang semakin meningkat secara berurutan, dimulai dengan pelarut heksana, kloroform, etil asetat, dan butanol. Hal ini dilakukan untuk memisahkan golongan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran (Diasuti et al. 2003). Proses ekstraksi ini dilakukan dengan menggunakan corong pisah.

Campuran akuabides : metanol (1:4) sebanyak 200 ml ditambahkan ke dalam ekstrak metanol 150 g. Tujuan penambahan campuran akuabides dengan metanol yaitu untuk membuat larutan encer sehingga mudah diekstraksi, dan interaksi komponen kimia dengan pelarut dalam larutan encer akan terjadi lebih mudah, sehingga komponen-komponen kimia yang ada dapat dipisahkan berdasarkan kepolarannya. Hasilnya berupa larutan dengan volume total 300 ml. Larutan kemudian dibagi ke dalam enam corong pisah, kemudian ditambah dengan heksana 50 ml untuk masing-masing corong pisah dan digojog. Proses penggojogan untuk semua ekstrak dilakukan selama 20 menit dan proses pendiaman sebelum kedua lapisan dipisahkan dilakukan selama 2 jam. Adapun proses penguapan (evaporasi) dilakukan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C dan kecepatan putar 4 rpm.

Lapisan heksana (bagian atas) diambil, kemudian dievaporasi dan diperoleh ekstrak heksana. Lapisan bawah ditambah dengan kloroform 50 ml untuk masing-masing corong pisah kemudian digojog. Lapisan kloroform (bagian bawah) diambil, kemudian dievaporasi dan diperoleh ekstrak kloroform. Lapisan atas ditambah dengan etil asetat 50 ml untuk masing-masing corong pisah. Lapisan etil asetat (bagian atas) diambil, kemudian dievaporasi dan diperoleh ekstrak etil asetat. Lapisan bawah sebanyak 125

ml dibagi ke dalam 2 corong pisah (60 ml dan 65 ml) dan ditambah butanol dengan perbandingan larutan : butanol = 1:1. Lapisan butanol (bagian atas) diambil, kemudian dievaporasi dan diperoleh ekstrak butanol, sedangkan lapisan air (bagian bawah) dievaporasi dan diperoleh ekstrak air.

Penentuan berat konstan terhadap ekstrak

Masing-masing ekstrak hasil ekstraksi dengan kepolaran pelarut bertingkat ditentukan berat konstannya menggunakan tahapan-tahapan kerja seperti pada penentuan berat konstan ekstrak metanol.

Pengujian aktivitas antioksidan terhadap ekstrak

Pada masing-masing ekstrak hasil ekstraksi dengan kepolaran pelarut bertingkat dilakukan pengujian antioksidan menggunakan tahapan kerja seperti pada pengujian ekstrak metanol.

Penapisan fitokimia terhadap ekstrak

Pada masing-masing ekstrak hasil ekstraksi dengan kepolaran pelarut bertingkat dilakukan penapisan fitokimia menggunakan tahapan kerja seperti pada ekstrak metanol.

Analisis kadar fenolat

Kadar fenolat dianalisis dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Reagen tersebut digunakan karena merupakan pereaksi yang khas untuk senyawa fenolat. Standar yang digunakan dalam penelitian ini adalah asam galat. Asam galat merupakan suatu asam hidroksi benzoat alami yang banyak ditemukan dalam tumbuhan, terutama sebagai penyusun senyawa-senyawa tanin (Koensoemardiyah 1992). Asam galat merupakan standar baku senyawa fenol yang telah direkomendasikan (Prior dan Schaich 2005). Analisis kadar fenolat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang telah diukur.

Penentuan panjang gelombang (λ) maksimum asam galat

Sebanyak 1,6 ml (2 mg/10 ml) larutan asam galat diencerkan dengan akuabides dalam labu ukur 10 ml, selanjutnya diambil 30 μ l dan ditambah dengan reagen Folin-Ciocalteu yang telah diencerkan dengan akuabides dengan perbandingan 1:10. Lima menit kemudian sampel ditambah dengan 1,2 ml Na_2CO_3 15% (pengenceran dengan akuabides) dan didiamkan selama 90 menit. Setelah itu, larutan ditera absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 500-900 nm.

Pembuatan larutan standar

Sebanyak 5 mg asam galat (standar) dilarutkan dengan akuabides dan diencerkan dalam labu ukur 50 ml. Larutan standar kemudian diencerkan kembali dengan akuabides menjadi konsentrasi 8, 16, 32, 64, dan 128 mg/L. Variasi konsentrasi dibuat dengan menggunakan rumus:

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2.$$

Dimana:

V_1 = volume larutan induk yang diambil

M_1 = konsentrasi larutan induk (200 mg/L)

V_2 = volume larutan yang akan dibuat (10 ml)

M_2 = konsentrasi larutan yang akan dibuat

Pembuatan larutan ekstrak

Sebanyak 6 mg ekstrak dilarutkan dengan akuabides dan diencerkan dalam labu ukur 10 ml.

Pengukuran absorbansi larutan standar dan ekstrak

Larutan yang diukur yaitu larutan standar dan ekstrak, masing-masing diambil sebanyak 30 μ l dan ditambah dengan reagen Folin-Ciocalteu yang diencerkan dengan akuabides dengan perbandingan 1:10, didiamkan selama 5 menit, kemudian ditambah dengan 1,2 ml Na_2CO_3 15% (pengenceran dengan akuabides), dan didiamkan lagi selama 90 menit. Setelah itu, masing-masing larutan ditera absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Sebagai blangko digunakan larutan tanpa larutan standar ataupun ekstrak. Penentuan konsentrasi fenolat pada ekstrak dilakukan dengan mengplotkan pada kurva standar asam galat (Song dan Barlow 2004).

Penghitungan kadar fenolat

Data yang diperoleh dalam analisis kadar fenolat adalah absorbansi asam galat dan sampel. Hasil dari absorbansi tersebut dimasukkan dalam persamaan: $y = bx + a$ (y = absorbansi dan x = kadar fenolat, ekuivalen dalam mg.%), dimana persamaan ini diperoleh dari kurva standar senyawa fenolat dari asam galat standar. Kadar ekstrak yang digunakan dapat dihitung dengan menggunakan persamaan 3. Dari data kadar fenolat dalam larutan sampel dan kadar fenolat dalam ekstrak dapat digunakan untuk menghitung kadar fenolat menggunakan persamaan 4.

$$\text{Kadar ekstrak} = \frac{m}{V_p} \times V \times 100\% \dots\dots\dots (3)$$

$$\text{Kadar fenolat (g GAE/100 g ekstrak)} = \frac{\text{kadar fenolat}}{\text{Kadar ekstrak}} \times 100\% \dots\dots (4)$$

Dimana:

m = massa ekstrak (mg)

V_p = volume pengenceran ekstrak (ml)

V = volume ekstrak yang diukur (ml)

Analisis kadar flavonoid

Kadar flavonoid dianalisis dengan menggunakan reagen AlCl_3 dengan standar kuersetin. Kuersetin merupakan golongan flavonoid jenis flavonol dan flavon yang berpotensi sebagai antioksidan. Kuersetin dan kuersetin glikosida merupakan flavonoid yang terkandung pada buah dan sayur (Boyer et al. 2004). Hal ini yang menjadi dasar penggunaan standar baku kuersetin. Analisis flavonoid dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum kuersetin yang telah diukur.

Penentuan panjang gelombang (λ) maksimum kuersetin

Sebanyak 7 mg kuersetin diencerkan dengan akuabides dalam labu ukur 25 ml, selanjutnya diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml yang telah berisi

4 ml akuabides, kemudian ditambah dengan 0,3 ml NaNO₂ 5%. Setelah itu, sampel didiamkan selama 6 menit kemudian ditambah dengan 0,3 ml AlCl₃ 10% dan didiamkan selama 6 menit. Selanjutnya, sampel didiamkan selama 5 menit dan ditera absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-550 nm.

Pembuatan larutan standar

Sebanyak 7 mg kuersetin (standar) dilarutkan dengan akuabides dan diencerkan dalam labu ukur 25 ml. Larutan standar kemudian diencerkan kembali dengan akuabides menjadi konsentrasi 6, 32, 64, 128, dan 256 mg/L. Variasi konsentrasi dibuat dengan menggunakan rumus: $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$, seperti pada pembuatan larutan standar asam galat.

Pembuatan larutan ekstrak

Sebanyak 15 mg ekstrak dilarutkan dengan akuabides dan diencerkan dalam labu ukur 10 ml.

Pengukuran absorbansi larutan standar dan sampel

Larutan yang diukur yaitu larutan standar dan ekstrak, masing-masing diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml yang berisi 4 ml akuabides, kemudian ditambah dengan 0,3 ml NaNO₂ 5%. Selanjutnya, masing-masing larutan didiamkan selama 6 menit, kemudian ditambah dengan 0,3 ml AlCl₃ 10% dan didiamkan selama 6 menit. Setelah itu, masing-masing larutan ditambah dengan 2 ml NaOH 4% dan diencerkan dengan akuabides. Selanjutnya, masing-masing larutan didiamkan selama 5 menit dan ditera absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Penentuan konsentrasi flavonoid ekstrak dilakukan dengan mengplotkan pada kurva standar kuersetin (Rohman et al. 2006).

Penghitungan kadar flavonoid

Data yang diperoleh dalam analisis kadar flavonoid adalah absorbansi kuersetin dan sampel. Hasil dari absorbansi tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam persamaan: $y = bx + a$ (y = absorbansi dan x = kadar flavonoid, ekuivalen dalam mg.%), dimana persamaan ini diperoleh dari kurva standar senyawa flavonoid dari kuersetin standar. Kadar ekstrak yang digunakan dapat dihitung menggunakan persamaan 5. Dari data kadar flavonoid dalam larutan sampel dan kadar flavonoid dalam ekstrak dapat digunakan untuk menghitung kadar flavonoid dengan menggunakan persamaan 6.

$$\text{Kadar ekstrak} = \frac{m}{V_p} \times V \times 100\% \dots\dots\dots (5)$$

$$\text{Kadar flavonoid (g QE/100 g ekstrak)} = \frac{\text{kadar flavonoid}}{\text{kadar ekstrak}} \times 100\% \dots\dots (6)$$

Analisis kadar vitamin C

Vitamin C (asam askorbat) dalam penelitian ini dianalisis dengan metode titrasi langsung (iodimetri). Dasar dari metode ini adalah sifat mereduksi dari vitamin C dan titrasi dengan larutan baku iodium.

Standarisasi iodium

Vitamin C murni sebanyak 24 mg dilarutkan dalam 25 ml akuabides, kemudian ditambah dengan 1 ml amilum 1% dan dititrasi dengan iodium (1,26 gram I₂ dan 2 gram KI dilarutkan dalam 1 L akuabides) hingga warna berubah menjadi biru.

Penentuan kadar vitamin C

Ekstrak sampel ditimbang sebanyak 1 gram, dilarutkan dan diencerkan dengan akuabides dalam labu ukur 50 ml. Selanjutnya diambil sebanyak 25 ml larutan, kemudian ditambah dengan 2 ml amilum 1%. Setelah itu, sampel dititrasi dengan iodium yang sudah distandarisasi (Sudarmadji et al. 1989).

Perhitungan analisis kadar vitamin C

Data yang diperoleh pada standarisasi iodium adalah volume yang digunakan untuk mentitrasi vitamin C standar. Data tersebut selanjutnya digunakan untuk menghitung normalitas iodium dengan menggunakan persamaan 7.

$$N_{iod} = \frac{m \times e}{M_r \times V_{iod}} \dots\dots\dots (7)$$

Dimana:

- m = massa vitamin C yang dititrasi (g)
- V_{iod} = volume iodium untuk titrasi (L)
- N_{iod} = normalitas iodium (N)
- M_r = berat molekul vitamin C (g/mol)
- e = valensi vitamin C

Data yang diperoleh pada pengukuran vitamin C ekstrak adalah volume iodium yang diperlukan untuk titrasi ekstrak. Data tersebut digunakan untuk menghitung massa vitamin C dengan menggunakan persamaan 8. Selanjutnya, data tersebut dapat digunakan untuk menghitung kadar vitamin C dengan menggunakan persamaan 9.

$$m \text{ vitamin C} = V_{iod} \times N_{iod} \times \frac{M_r}{e} \times FP \dots\dots\dots (8)$$

$$\% \text{ vitamin C} = \frac{m \text{ vit C}}{M} \times 100\% \dots\dots\dots (9)$$

Dimana:

- FP = faktor pengenceran
- M = massa ekstrak (g)

Pengumpulan data

Variabel untuk hipotesis a

Variabel X = ekstrak, variabel Y = aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai persentase penghambatan relatif proses oksidasi dari β -karoten-asam oleat oleh ekstrak buah pare belut terhadap kontrol negatif (sistem emulsi β -karoten-asam oleat tanpa ekstrak antioksidan).

Variabel untuk hipotesis b

Variabel X = ekstrak, variabel Y₁ = kadar fenolat [kadar fenolat dalam ekstrak dinyatakan dalam gram asam galat per 100 gram ekstrak (GAE)], dan variabel Y₂ =

kadar flavonoid [kadar flavonoid dalam ekstrak dinyatakan dalam gram kuersetin per 100 gram ekstrak (QE)].

Variabel untuk hipotesis c

Variabel X = ekstrak, variabel Y_1 = aktivitas antioksidan, variabel Y_2 = kadar fenolat, dan variabel Y_3 = kadar flavonoid.

X	Y_1	Y_2	Y_3
Ekstrak kloroform			
Ekstrak etil asetat			
Ekstrak butanol			
Ekstrak air			

Analisis data

Ekstrak metanol buah pare belut dinyatakan mempunyai aktivitas antioksidan jika memiliki aktivitas antioksidan dengan persentase penghambatan rata-rata $\geq 2,5$ eror, dimana eror adalah dua kali standar deviasinya (SD). Jika tidak, kesimpulan dapat diambil, yaitu bahwa hasil penelitian ini *outlier analysis*, yang berarti ekstrak metanol tidak mempunyai aktivitas antioksidan secara bermakna.

Ekstrak buah pare belut dinyatakan mempunyai kadar fenolat dan flavonoid jika positif fenolat dan flavonoid berdasarkan hasil penapisan fitokimia. Hubungan dinyatakan positif jika Y_1 , Y_2 , dan Y_3 maksimum pada X yang sama, sedangkan untuk Y_1 , Y_2 , dan Y_3 minimum tidak diperhitungkan, karena dipengaruhi oleh adanya vitamin C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi sampel

Hasil determinasi sampel yang dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Fakultas Biologi, UGM Yogyakarta menyatakan bahwa sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah benar *Trichosanthes anguina* atau pare belut.

Aktivitas antioksidan dalam ekstrak metanol

Metode yang digunakan dalam uji aktivitas antioksidan dalam ekstrak metanol yaitu sistem emulsi β -karoten-asam linoleat termodifikasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol 2 mg/10 ml mengalami penurunan absorbansi paling lambat, diikuti oleh PG dan BHT, sedangkan absorbansi kontrol negatif menurun dalam waktu relatif lebih cepat dibanding ekstrak lainnya. Hasil uji aktivitas antioksidan dalam ekstrak metanol dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa ekstrak metanol lebih tinggi dibandingkan BHT dan PG. Ekstrak metanol mempunyai aktivitas antioksidan dengan persentase penghambatan sebesar $29,566 \geq 2,5$ eror. Jadi, dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol buah pare belut mempunyai aktivitas antioksidan secara bermakna.

Keberadaan antioksidan mampu menghalangi terjadinya pemutusan β -karoten melalui netralisasi radikal bebas asam linoleat dan radikal lainnya yang terbentuk dalam sistem

(Kumaran dan Karunakaran 2006). Antioksidan mampu mencegah reaksi oksidasi berantai radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen dari gugus hidroksil fenol dan membentuk produk akhir yang stabil, yang tidak memulai ataupun memperbanyak reaksi oksidasi selanjutnya (Sherwin 1978).

Hasil penelitian pada antioksidan alami yang lain juga menunjukkan bahwa antioksidan alami memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan antioksidan sintetik. Penelitian yang dilakukan oleh Zin et al. (2002) menghasilkan bahwa ekstrak etil asetat dari akar, buah, dan daun mengkudu memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan BHT.

Kendala yang dihadapi dalam uji aktivitas antioksidan terutama disebabkan oleh pembuatan cuplikan emulsi untuk pengujian aktivitas antioksidan. Emulsi sangat tidak stabil atau cepat rusak dalam hitungan detik. Oleh karena itu, untuk penanganan cuplikan tersebut diperlukan kecepatan kerja yang tinggi.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa buah pare belut terbukti memiliki aktivitas antioksidan. Selanjutnya dilakukan penapisan fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa kimia antioksidan dalam ekstrak metanol.

Penapisan fitokimia ekstrak metanol

Hasil pengamatan pada Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak metanol mengandung semua golongan senyawa yang diuji yaitu fenolat, flavonoid, tanin, polifenol, karotenoid. Adanya flavonoid, tanin, dan polifenol pada ekstrak pare belut juga dinyatakan dalam Kristinawati (2004) bahwa ekstrak etanol pare belut yang diidentifikasi dengan penapisan fitokimia uji warna menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, kardenolin/bufadienol, tanin terkondensasi, dan polifenol.

Aktivitas antioksidan dalam ekstrak

Aktivitas antioksidan dari masing-masing ekstrak hasil ekstraksi dengan kepolaran pelarut bertingkat dapat diketahui dengan menghitung data yang diperoleh, hasilnya dinyatakan dalam persentase penghambatan. Grafik aktivitas antioksidan ekstrak dan pembanding (BHT dan PG) ditampilkan pada Gambar 1.

Gambar 1 menunjukkan bahwa ekstrak kloroform memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dan lebih tinggi dibandingkan BHT dan PG. Aktivitas antioksidan selanjutnya adalah PG>ekstrak air>ekstrak heksana>ekstrak butanol>ekstrak etil asetat>BHT. Kekuatan aktivitas antioksidan ekstrak tergantung pada jenis pelarut yang digunakan untuk mengisolasi, dimana pada kepolaran yang berbeda memiliki potensial komponen kimia antioksidan yang berbeda (Julkunen-Tito 1985; Marinova dan Yanishlieva 1997). Pelarut dengan perbedaan kepolaran akan menarik komponen kimia yang sesuai dan spesifik, sehingga masing-masing ekstrak akan memiliki komponen kimia yang belum tentu sama. Untuk itu, langkah selanjutnya adalah dengan melakukan penapisan fitokimia pada masing-masing ekstrak untuk mengetahui golongan senyawa yang mempengaruhi aktivitas antioksidan.

Penapisan fitokimia ekstrak

Hasil pengamatan pada Tabel 3 menunjukkan bahwa semua ekstrak positif fenolat, kecuali ekstrak heksana. Hal ini dikarenakan pelarut heksana bersifat nonpolar, sedangkan fenolat lebih bersifat polar, sehingga golongan senyawa fenolat tidak terekstrak pada pelarut heksana. Flavonoid yang merupakan golongan terbesar dari senyawa fenolat merupakan golongan senyawa yang bersifat polar, sehingga akan larut dalam pelarut polar. Pada ekstrak kloroform diduga flavonoid yang terekstrak adalah isoflavon, flavanon, flavon, serta flavonol, hal ini dikarenakan jenis-jenis flavonoid tersebut merupakan aglikon yang kurang polar dan mudah larut dalam pelarut kloroform (Markham 1988).

Karotenoid adalah golongan senyawa selain fenolat yang diduga berperan sebagai antioksidan yang terkandung dalam ekstrak nonpolar, yaitu pada ekstrak n-heksana. Sembilan puluh persen karotenoid tersusun dari β -karoten dan α -karoten (Silalahi 2006). Beta-karoten merupakan kelompok karotenoid yang paling umum ditemukan dalam tumbuhan (Padmawinata dan Soediro 1996). Beta-karoten adalah salah satu antioksidan yang bersifat alami (Rahardjo 1996) dan merupakan macam vitamin yang telah terbukti mempengaruhi tingginya aktivitas antioksidan (Ismail et al. 2004).

Analisis fenolat

Pada semua ekstrak dianalisis kadar fenolatnya, kecuali ekstrak heksana, hal ini dikarenakan hasil penapisan fitokimia terhadap ekstrak heksana menunjukkan hasil yang negatif. Berdasarkan hasil yang diperoleh, reaksi positif untuk analisis fenolat ditunjukkan oleh semua ekstrak. Kadar fenolat dalam ekstrak disajikan dalam Gambar 2.

Berdasarkan Gambar 2 terlihat bahwa kadar fenolat tertinggi dimiliki oleh ekstrak kloroform, diikuti oleh ekstrak butanol, ekstrak etil asetat, ekstrak metanol, dan yang paling rendah yaitu ekstrak air. Golongan senyawa fenolat merupakan senyawa yang mengandung cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil, dan flavonoid merupakan salah satu golongan senyawa fenolat yang paling banyak ditemukan pada tanaman.

Analisis flavonoid

Jenis ekstrak yang dianalisis kadar flavonoid sama dengan jenis yang dianalisis kadar fenolatnya yaitu semua ekstrak, kecuali ekstrak heksana. Berdasarkan hasil yang diperoleh, semua ekstrak menunjukkan reaksi positif untuk kadar flavonoid. Kadar flavonoid dalam ekstrak dapat dilihat pada Gambar 3.

Pengamatan pada Gambar 3 menunjukkan bahwa kadar flavonoid tertinggi dimiliki oleh ekstrak kloroform, diikuti oleh ekstrak metanol, butanol, ekstrak etil asetat, dan yang paling rendah yaitu ekstrak air. Ekstrak kloroform memiliki kadar flavonoid paling tinggi. Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kloroform diduga merupakan flavonoid jenis isoflavon, flavon, dan flavonol, karena menurut Markham (1988), aglikon flavonoid yang kurang polar, seperti jenis flavonoid yang telah disebutkan, akan lebih mudah larut dalam pelarut kloroform.

Analisis kadar vitamin C

Hasil pengamatan pada Gambar 4 menunjukkan bahwa ekstrak metanol mengandung vitamin C lebih tinggi dibandingkan ekstrak air. Hal ini dikarenakan untuk mendapatkan ekstrak air melalui perlakuan yang lebih banyak dan proses yang lebih lama dibandingkan ekstrak metanol. Jadi, urutan untuk mendapatkan ekstrak metanol lebih awal dibandingkan ekstrak air, dimana ekstrak air merupakan ekstrak residu atau ekstrak yang terakhir, sehingga hanya mengandung sebagian vitamin C yang diambil dari ekstrak metanol. Alasan inilah yang menyebabkan kadar vitamin C lebih banyak pada ekstrak metanol dibandingkan dengan ekstrak air, dimana seharusnya vitamin C lebih larut di dalam pelarut polar.

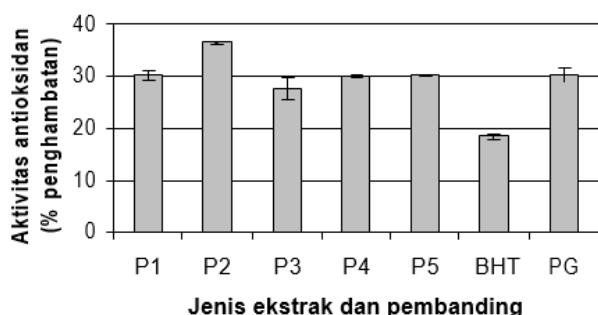
Hubungan aktivitas antioksidan dengan kadar fenolat dan kadar flavonoid

Ekstrak heksana tidak memiliki golongan senyawa fenolat dan flavonoid berdasarkan pada hasil penapisan fitokimia, sehingga tidak dilakukan analisis kadar fenolat dan flavonoid. Ekstrak heksana yang tidak memiliki golongan fenolat yang bersifat antioksidan aktif, tetapi mempunyai aktivitas antioksidan disebabkan oleh adanya golongan senyawa karotenoid yang telah diidentifikasi dengan penapisan fitokimia. Karotenoid terbesar dalam tumbuhan adalah β -karoten (Padmawinata et al. 1996), dimana β -karoten merupakan faktor yang mempengaruhi tingginya aktivitas antioksidan (Ismail et al. 2004).

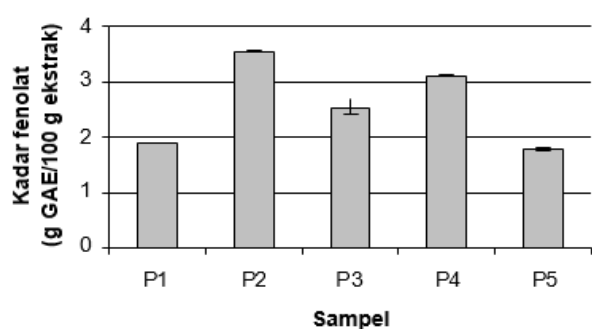
Ekstrak kloroform mempunyai aktivitas antioksidan paling tinggi dibandingkan dengan pembanding sintetik dan ekstrak yang lain. Kondisi tersebut selain dipengaruhi oleh kandungan fenolat dan flavonoid, juga dipengaruhi oleh golongan senyawa karotenoid, sedangkan pada ekstrak air selain dipengaruhi oleh kandungan fenolat dan flavonoid, juga dipengaruhi oleh kandungan vitamin C yang mengakibatkan aktivitas antioksidannya cukup tinggi. Hasil penelitian Tee et al. (1996) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan kubis dan bayam dipengaruhi oleh tingginya kandungan karotenoid dan asam askorbat (vitamin C) dalam sayuran tersebut.

Hasil pada Tabel 4 menunjukkan bahwa Y_1 , Y_2 , dan Y_3 maksimum pada X yang sama, yaitu pada ekstrak kloroform. Jadi, dapat disimpulkan bahwa hubungan aktivitas antioksidan dengan kadar fenolat dan kadar flavonoid dinyatakan positif. Ekstrak kloroform mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi dan ternyata kandungan fenolat dan flavonoidnya juga tertinggi.

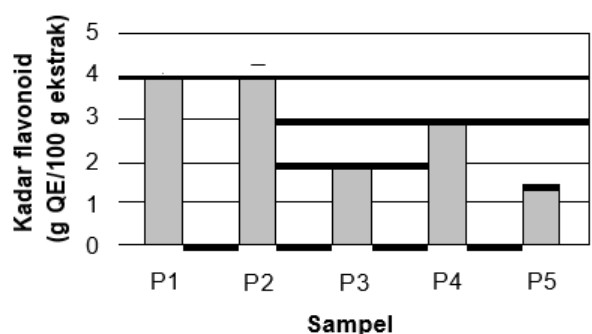
Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kloroform buah pare belut yang mengandung kadar tertinggi untuk fenolat dan flavonoid, paling tinggi aktivitas antioksidannya. Hasil yang sama juga ditunjukkan oleh penelitian Kumar et al. (2008), yang meneliti aktivitas antioksidan, kandungan fenolat dan flavonoid pada beberapa jenis tanaman obat. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun teh (*Camellia sinensis*) yang mengandung kadar fenolat dan flavonoid paling tinggi, mempunyai aktivitas antioksidan yang paling tinggi.



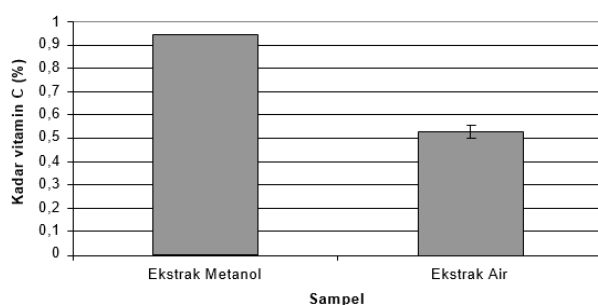
Gambar 1. Perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak (P1: metanol, P2: kloroform, P3: etil asetat, P4: butanol, dan P5: air) dengan pembandingnya (BHT: butil hidoksi toluen dan PG: propil galat).



Gambar 2. Perbandingan kadar fenolat ekstrak: metanol, kloroform, etil asetat, butanol, dan air. Kadar senyawa fenolat paling tinggi terdapat dalam ekstrak kloroform.



Gambar 3. Perbandingan kadar flavonoid ekstrak: P1: metanol, P2: kloroform, P3: etil asetat, P4: butanol, dan P5: air. Kadar senyawa flavonoid paling tinggi terdapat dalam ekstrak kloroform



Gambar 4. Perbandingan kadar vitamin C dalam ekstrak metanol dan ekstrak air. Kadar vitamin C ekstrak metanol lebih besar dibandingkan ekstrak air

Tabel 1. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol, BHT, dan PG

X (Ekstraktan)	Y (Aktivitas Antioksidan)	Standar Deviasi (SD)
BHT	16,268	0,902
PG	29,452	0,107
Ekstrak metanol	29,566	0,751

Tabel 2. Hasil penapisan fitokimia ekstrak metanol

Golongan Senyawa	Hasil
Fenolat	+
Flavonoid	+
Tanin* dan polifenol	+
Karotenoid	+

Keterangan: + = Mengandung golongan senyawa yang dimaksud, *Tanin terkondensasi

Tabel 3. Hasil penapisan fitokimia ekstrak: Heksana, kloroform, etil asetat, butanol, dan air

Golongan senyawa	Hasil				
	Ekstrak heksana	Ekstrak kloroform	Ekstrak etil asetat	Ekstrak butanol	Ekstrak air
Fenolat	-	+	+	+	+
Flavonoid	-	+	+	+	+
Tanin* dan polifenol	-	+	+	+	+
Karotenoid	+	+	-	Tidak dilakukan	

Keterangan: - = Tidak mengandung senyawa yang dimaksud, + = mengandung senyawa yang dimaksud, *Tanin terkondensasi

Tabel 4. Hubungan ekstraktan dengan kadar fenolat dan flavonoid

X (Ekstraktan)	Y ₁ (Aktivitas Antioksidan)	Y ₂ (Kadar Fenolat)	Y ₃ (Kadar Flavonoid)
Ekstrak kloroform	36,384±0,004	3,547±0,014	4,162±0,109
Ekstrak etil asetat	27,684±2,096	2,553±0,111	1,751±0,145
Ekstrak butanol	29,986±0,224	3,114±0,014	2,944±0,163
Ekstrak air	30,254±0,120	1,776±0,042	1,392±0,072

Ekstrak kloroform mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi, tetapi aktivitasnya tidak terlalu jauh dengan keempat ekstrak yang lainnya. Aktivitas antioksidan dari kelima ekstrak, yaitu ekstrak heksana, kloroform, etil asetat, butanol, dan air mempunyai rata-rata sebesar 30,911% penghambatan dengan SD=3,244. Berdasarkan rata-rata tersebut maka dapat dikatakan bahwa kelima ekstrak tersebut tidak berbeda nyata. Seluruh ekstrak yang digunakan menghasilkan aktivitas antioksidan yang tinggi, hal ini juga telah dibuktikan dengan membandingkan aktivitasnya dengan pembanding sintetik. Oleh karena itu, buah pare belut sangat potensial untuk digunakan sebagai sumber antioksidan alami.

KESIMPULAN

Ekstrak metanol buah pare belut mempunyai aktivitas antioksidan sebesar 29,566%, lebih tinggi dibandingkan BHT (16,268%) dan relatif sama dengan PG (29,452%). Ekstrak metanol, kloroform, etil asetat, butanol, dan air masing-masing mengandung fenolat sebesar 1,904; 3,547; 2,553; 3,114; dan 1,776 g GAE/100 g ekstrak dan flavonoid sebesar 4,072; 4,162; 1,751; 2,944; dan 1,392 g QE/100 g ekstrak. Aktivitas antioksidan ekstrak kloroform memiliki hubungan yang positif terhadap kadar fenolat dan flavonoid, yaitu ekstrak kloroform yang mempunyai aktivitas tertinggi dengan kadar fenolat dan flavonoid tertinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Amarowicz R, Naczek M, Zadernowski R, Shahid F. 2000. Antioxidant activity of condensed tannins of beach pea, canola hulls, evening primrose, and faba bean. *J Food Lipids* 7: 195-205.
- Andayani R, Lisawati Y, Maimunah. 2008. Penentuan aktivitas antioksidan, kadar fenolat total dan likopen pada buah tomat (*Solanum lycopersicum* L.). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi* 13 (1): 31-37.
- Boyer J, Brown D, Liu R. 2004. Uptake of quercetin and quercetin-3-glucoside from whole onions and apple peels by Caco-2 cell monolayers. *J Agric Food Chem* 52: 7172-7179.
- Diastuti H, Achmad S, Ratnaningsih E. 2003. Fraksinasi dan uji aktivitas ekstrak akar *Piper sarmentosum* Roxb. ex Hunter terhadap jamur *Candida albicans*. *Majalah Farmasi Indonesia* 15 (2): 57-61.
- Emmons CL, Peterson DM. 1999. Antioxidant activity and phenolic contents of oat groats and hulls. *Cereal Chem* 76 (6): 902-906.
- Ismail A, Marjan ZM, Foong CW. 2004. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food Chem* 87: 581-586.
- Joedibrotro R, Hadiwidjono SWP. 1988. *Kimia organik* 2. ITB, Bandung.
- Julkunen-Tiito, R. 1985. Phenolic constituents in the leaves of northern willows, methods for the analysis of certain phenolics. *J Agric Food Chem* 33: 213-217.
- Karyadi E. 1997. Antioksidan, resep sehat dan umur panjang. www.indonesia.com. [29 Maret 2009].
- Ketaren S. 1986. *Pengantar teknologi lemak dan minyak pangan*. UI Press, Jakarta.
- Koensoemardiyah. 1992. *Biosintesis produk alami*. Edisi ke-1. IKIP Semarang Press, Semarang.
- Kristinawati D. 2004. *Isolasi dan Identifikasi Komponen Kimia Pare Belut (Trichosanthes anguina L.) dalam Ekstrak Etanol*. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Kumar AS, Mazumder A, Vanitha J et al. 2008. Evaluation of antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Indian medicinal plants. *Pharmacogn Mag* 4 (13): 143-147.
- Kumaran A, Karunakaran RJ. 2006. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chem* 97 (1): 109-114.
- Lenny S. 2006. *Senyawa flavonoida, fenil propanoida dan alkaloida*. library.usu.ac.id/download/fmipa/06003489.pdf. [29 Maret 2009].
- Marinova EM, Yanishlieva NVI. 1997. Antioxidative activity of extracts from selected species of the family Lamiaceae in sunflower oil. *Food Chem* 58: 245-248.
- Markham KR. 1988. *Cara mengidentifikasi flavonoid*. ITB Press, Bandung.
- Ojiako OA, Igwe CU. 2008. The nutritive, anti-nutritive and hepatotoxic properties of *Trichosanthes anguina* (snake tomato) fruits from Nigeria. *Pakistan Journal of Nutrition* 7 (1): 85-89.
- Ordonez L, Gomez D, Vattuone A et al. 2005. Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. *Food Chem* 97: 452-458.
- Padmawinata K, Soediro I. 1996. *Metode fitokimia, penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Edisi ke-2. ITB Press, Bandung.
- Prior RL, Schaich K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem* 53 (10): 4290-4302.
- Puspitasari A, Gunawan D, Soegihardjo C et al. 2007. *Petunjuk praktikum kimia produk alami*. Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Rahardjo S. 1996. *Antioksidan dalam makanan dan minuman fungsional*. *Kursus Singkat Makanan Fungsional PAU Pangan dan Gizi*. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Rohman A, Riyanto S, Utari D. 2006. Aktivitas antioksidan, kandungan fenolik total, dan kandungan flavonoid total ekstrak etil asetat buah mengkudu serta fraksi-fraksinya. *Majalah Farmasi Indonesia* 17 (3): 136-142.
- Sherwin ER. 1978. Oxidation and antioxidants in fat and oil processing. *J Am Oil Chem Soc* 55: 809-814.
- Silalahi J. 2006. *Makanan fungsional*. Kanisius, Yogyakarta.
- Soeatmaji DW. 1998. Peran stress oksidatif dalam patogenesis angiopati mikro dan makro DM. *Medica* 5 (24): 318-325.
- Song Y, Barlow PJ. 2004. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chemistry* 88: 411-417.
- Souri E, Amin G, Farsam H et al. 2008. Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts. *Daru* 16 (2): 83-87.
- Sudarmadji S, Haryono B, Suhardi. 1984. *Prosedur analisis untuk bahan makanan dan pertanian*. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Tee ES, Rajam K, Young SI, Khor SC, Zakiah HO. 1996. *Laboratory Procedures in Nutrient Analysis of Foods*. Division of Human Nutrition, Institute for Medical Research, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Tjitrosoepomo G. 1989. *Taksonomi tumbuhan (Spermatophyta)*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Trilaksani W. 2003. *Antioksidan: Jenis, sumber, mekanisme kerja, dan peran terhadap kesehatan*. www.tumoutou.net. [29 Maret 2009].
- Utami W, Dai M, Sofiana YR. 2005. Aktivitas penangkap radikal dengan metode DPPH serta penetapan kandungan fenol dan flavonoid dalam ekstrak kloroform, ekstrak etil asetat, ekstrak etanol daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L.). *Pharmaceutical Journal of Indonesia* 6: 5-9.
- Wangenstein H, Samuelsen AB, Materud KE. 2004. Antioxidant activity in extracts from coriander. *Food Chem* 88 (2): 293-297.
- Winarsi H. 2007. *Antioksidan alami dan radikal bebas*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Zin ZM, Hamid A, Osman. 2002. Antioxidative activity of extracts from mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) root, fruit, and leaf. *Food Chem* 78: 227-231.

Efek ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap kadar enzim SGOT dan SGPT pada mencit dengan induksi karbon tetraklorida

The influence of noni fruit (*Morinda citrifolia*) extract toward the level of SGOT and SGPT enzymes on white mice induced by carbon tetrachloride

HERMAWAN SURYA D., YUL MARIYAH, TAHONO

Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 2 April 2009. Revisi disetujui: 19 Juli 2009.

Abstract. Surya DH, Mariyah Y, Tahono. 2009. The influence of noni fruit (*Morinda citrifolia*) extract toward the level of SGOT and SGPT enzymes on white mice induced by carbon tetrachloride. *Biofarmasi* 7: 87-93. Noni fruit (*Morinda citrifolia* L.) is a wellknown crop in the society. It is determined for its contents including proxeronine and some antioxidants, i.e. ascorbic acid and beta-carotene that function to maintain and improve cell function. This research used hepatic cells considering the vital function of the hepatic organ in the body. The purpose of this research was to determine the effect of noni fruit extract to reduce hepatic cells damage induced by CCl₄. This research was included into laboratory experimental research and used a completely randomized design. The samples consisted of 25 male white mice (*Mus musculus*) type Swiss Webster with the age between 3-4 months and the weight between 20-30 grams, and divided into 5 groups. The first group was the CCl₄ control group, in which white mice were given toxic dosage of CCl₄ 11 mg/20 g BW without noni fruit extract treatment. The second group consisted of white mice given by noni fruit extract in dosage of 0.56 g/20 g BW for 8 days, and in 8th day they were given by a toxic dosage of CCl₄ 11 mg/20 g BW. The third group consisted of white mice given by noni fruit extract in dosage of 1.12 g/20 g BW for 8 days, and in 8th day they were given by a toxic dosage of CCl₄ 11 mg/20 g BW. The fourth group consisted of white mice given by noni fruit extract in dosage of 2.24 g/20 g BW for 8 days and in 8th day they were given by a toxic dosage of CCl₄ 11 mg/20 g BW. The fifth group consisted of white mice given only water and daily food for 8 days. Blood samples from all white mice were taken after 24 hours to determine the level of SGOT and SGPT enzymes. The results were analyzed by using One-Way Anova statistical test, which continued with Post Hoc Test and Tukey Test. The result of research showed that noni fruit extract in dosage of 0.56, 1.12, and 2.24 g/20 g BW given per oral could reduce SGOT level in 214.48±48.804 U/I, 151.16±22.811 U/I, and 169.62±44.891 U/I, respectively, compared with a positive control of CCl₄ that was 296.62±59.254 U/I. Meanwhile, SGPT level became 55.42±4.292, 54.34±6.896, 58.58±8.210 U/I, compared with a positive control of CCl₄ that was 83.96±2.931 U/I.

Keywords: *Morinda citrifolia*, noni fruit extract, SGOT and SGPT level, CCl₄

PENDAHULUAN

Sudah sejak lama, manusia memanfaatkan tumbuhan dan bahan alam lain sebagai obat untuk mengurangi rasa sakit, menyembuhkan dan mencegah penyakit tertentu, mempercantik diri, serta menjaga kondisi badan agar tetap sehat dan bugar. Sejarah mencatat bahwa fitoterapi atau terapi menggunakan tumbuhan telah dikenal masyarakat sejak masa sebelum Masehi. Saat ini, pemanfaatan tumbuhan atau bahan alam sebagai obat dikenal dengan sebutan obat tradisional. Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa tumbuhan, hewan, mineral, sediaan sarian (galenik), atau campuran dari bahan-bahan tersebut, yang secara turun-temurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman (Pramono 2006).

Mengkudu atau pace (*Morinda citrifolia* L.) merupakan salah satu tanaman obat yang dalam beberapa tahun terakhir banyak peminatnya, baik dari kalangan pengusaha agribisnis maupun dari kalangan pengusaha industri obat tradisional, bahkan dari kalangan ilmuwan di berbagai

negara. Hal ini disebabkan karena, baik secara empiris maupun hasil penelitian medis, membuktikan bahwa dalam semua bagian tanaman mengkudu terkandung berbagai macam senyawa kimia yang berguna bagi kesehatan manusia. Peran mengkudu dalam pengobatan tradisional mendorong para peneliti di berbagai belahan dunia melakukan berbagai penelitian mengenai khasiat mengkudu. Popularitas tanaman tersebut terus menyebar ke negara-negara maju, seperti Amerika Serikat, Inggris, Perancis, Australia, Jepang, dan Singapura. Industri pengolahan berbahan baku mengkudu terus tumbuh di berbagai negara (Djauhariya et al. 2006).

Di samping itu, buah mengkudu juga dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk penyembuhan penyakit hipertensi, oedem, konstipasi, dan gangguan fungsi hati. Buah mengkudu yang masak dapat digunakan untuk pengobatan radang tenggorokan dan penderita narkotika (Wijayakusuma et al. 1992). Air perasan buah mengkudu segar dapat menurunkan tekanan darah. Buah mengkudu juga mempunyai khasiat antioksidan karena buah

mengkudu mengandung bahan aktif *scopoletin*, *ascorbic acid*, *beta-carotene*, *L-arginine*, dan *proxeronine*.

Enzim *proxeronase* dan alkaloid *proxeronine*, kedua senyawa tersebut akan membentuk zat aktif bernama *xeronine* di dalam tubuh. Senyawa tersebut akan dibawa aliran darah menuju sel-sel tubuh. *Xeronine* merupakan komponen esensial dalam protein membran sel. Setiap sel mempunyai membran yang terdiri dari lapisan protein. Membran protein tersebut bertanggung jawab penuh terhadap kesehatan fungsi sel. Protein *layer* tersebut tersusun dari peptida-peptida. Peptida-peptida tersebut dirangkaikan oleh ikatan, dimana ikatan tersebut akan menjadi lemah tanpa peran dari alkaloid *xeronine*.

Sejauh ini, berbagai penelitian membuktikan bahwa *xeronine* tidak disimpan dalam tubuh sehingga sangat penting untuk memenuhinya dari luar tubuh. Selain itu, kebutuhan akan *xeronine* untuk penjagaan fungsi sel juga meningkat seiring dengan paparan stres atau toksin yang diterima tubuh. Suplai *xeronine* ke dalam tubuh perlu dipenuhi secara rutin untuk menjaga kesehatan sel. Buah mengkudu mengandung *proxeronine* dan *proxeronase* yang akan diubah menjadi senyawa aktif *xeronine* di dalam tubuh kita. Fungsi spesifik dari senyawa tersebut adalah untuk melindungi membran sel. Hasilnya, sel-sel tubuh akan lebih aktif, sehat, dan terjadi perbaikan-perbaikan struktur maupun fungsi, termasuk perbaikan fungsi sel hati (Wijayakusuma et al. 1992). Zat antioksidan, seperti *silymarin*, *colchicine*, serta vitamin A, C, dan E dapat menghambat pembentukan radikal bebas akibat pemberian parasetamol sehingga dapat mencegah kerusakan sel hati (Muriel et al. 1998).

Hepar merupakan pusat metabolisme tubuh yang mempunyai banyak fungsi dan penting untuk mempertahankan hidup. Kapasitas cadangannya sangat besar, hanya dengan 10-20% jaringan hati yang masih berfungsi ternyata sudah cukup untuk mempertahankan hidup pemiliknya. Kemampuan mengganti jaringan mati dengan jaringan yang baru (regenerasi) pada hati pun cukup besar. Itulah sebabnya pengangkatan sebagian jaringan hati yang rusak akibat serangan penyakit akan cepat digantikan dengan jaringan yang baru (Dalimartha 2005).

Gangguan hepar selain dapat disebabkan oleh mikroorganisme, seperti virus dan bakteri, juga dapat disebabkan oleh penggunaan obat-obatan dan berbagai makanan yang dikonsumsi (Akbar 1996). Salah satu zat yang dapat menyebabkan kerusakan hepar adalah *carbon tetrachloride* (CCl₄). CCl₄ sering digunakan sebagai model untuk mempelajari hepatotoksisitas pada hewan percobaan, karena sifatnya yang toksik, terutama pada sel hepar dan sel tubulus ginjal, baik setelah pemaparan akut maupun kronis. Karbon tetraklorida bersifat menekan dan merusak hampir semua sel tubuh manusia, termasuk sistem saraf pusat, hati, ginjal, dan pembuluh darah (Sartono 2002).

Gangguan hati dapat terjadi pada hari kedua, ditandai dengan peningkatan kadar *serum glutamic oxaloacetic transaminase* (SGOT) dan *serum glutamic pyruvic transaminase* (SGPT), laktat dehidrogenase,

kadar bilirubin serum, serta pemanjangan masa protrombin (Wilmana 1995).

Hingga saat ini, belum ada obat khusus untuk mengatasi gangguan hepar. Obat yang sudah beredar saat ini adalah obat-obat hepatoprotektor yang bertujuan menjaga fungsi sel hati dan membantu proses penyembuhan (Hadi2000).

Berdasarkan uraian tersebut, ekstrak buah mengkudu yang mengandung berbagai senyawa penting, terutama *proxeronine*, diharapkan mempunyai efek hepatoprotektif. Oleh karena itu dilakukan penelitian untuk mengetahui efek hepatoprotektif ekstrak buah mengkudu pada mencit putih jantan dengan induksi CCl₄.

Tujuan penelitian ini adalah: (i) Mengetahui efek hepatoprotektor ekstrak buah mengkudu terhadap hepar mencit putih jantan galur *Swiss Webster* yang diinduksi dengan CCl₄; serta (ii) Mengetahui dosis ekstrak buah mengkudu yang tepat dan efektif sebagai hepatoprotektor pada mencit putih jantan galur *Swiss Webster* yang diinduksi dengan CCl₄.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM, Yogyakarta pada bulan Agustus 2008.

Hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih jantan galur *Swiss Webster* sebanyak 25 ekor, berumur antara 3-4 bulan dengan berat antara 20-30 g yang diperoleh dari LPPT unit III UGM, Yogyakarta.

Jenis penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *post-test only control group design*.

Teknik pengelompokan

Teknik pengelompokan dilakukan secara random. Hewan uji dibagi menjadi lima kelompok dan masing-masing kelompok terdiri atas 5 ekor mencit. Penentuan besarnya sampel dilakukan berdasarkan rumus Federer yaitu $(k-1)(n-1) \geq 15$, dimana k = jumlah perlakuan, n = jumlah mencit untuk tiap perlakuan. Jumlah perlakuan pada penelitian ini adalah lima perlakuan yang terdiri dari dua kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan. Dengan demikian didapatkan nilai n dengan pembulatan adalah 5 untuk masing-masing kelompok.

Variabel penelitian

Variabel bebas berupa ekstrak buah mengkudu (pengukuran skala nominal) dan karbon tetraklorida (CCl₄) (pengukuran skala nominal). Variabel terikat berupa SGOT dan SGPT (pengukuran skala ordinal). Sementara itu, variabel pengganggu yang dapat dikendalikan meliputi jenis kelamin, makanan, umur, obat, dan genetik, sedangkan variabel pengganggu yang tidak dapat

dikendalikan meliputi penyakit hati, penyakit jantung, trauma otot, dan saluran pencernaan.

Definisi operasional variabel

Ekstrak buah mengkudu

Ekstraksi adalah suatu proses penarikan senyawa utama dari suatu bahan alam menggunakan pelarut yang sesuai dengan kelarutan dari senyawa tersebut. Etanol 70% adalah salah satu pelarut yang cukup baik dalam melarutkan senyawa utama tumbuhan, karena efektif dalam menghasilkan jumlah bahan yang optimal (Voight 1994).

Ekstrak mengkudu merupakan perasan murni sari buah mengkudu, dimana didalamnya terkandung senyawa-senyawa yang berkhasiat obat. Ekstrak kental mengkudu dapat dijual ke pabrik pengolahan mengkudu, dimanfaatkan langsung sebagai obat, atau dikeringkan lalu dimasukkan ke dalam kapsul dan siap untuk dikonsumsi.

Karbon tetraklorida

Karbon tetraklorida (CCl_4) merupakan suatu hidrokarbon terhalogenasi (Goodman dan Gilman 2001) yang bersifat hepatotoksik dan telah dipelajari secara luas, terutama melalui metabolit reaktifnya (Wenas 1996). Mekanisme CCl_4 dalam merusak organ tubuh secara ringkas adalah CCl_4 bereaksi dengan radikal bebas dan membentuk $\text{CCl}_3\cdot$ yang selanjutnya akan bereaksi dengan O_2 membentuk triklorometil peroksida (CCl_3O_2). Senyawa CCl_3O_2 akan bereaksi dengan asam lemak tidak jenuh dan berubah menjadi peroksida lipid (Hodgson dan Levi 2000). Kadar hepatotoksik CCl_4 untuk mencit adalah 0,55 mg/g BB.

SGOT dan SGPT

SGPT merupakan enzim yang paling banyak ditemukan pada sel hati serta efektif dalam mendiagnosis kerusakan hepatoselular. Kadar SGPT dapat lebih tinggi dari kadar sekelompok transaminase lainnya dalam kasus kerusakan hati akibat penggunaan obat atau zat kimia. Kadar SGPT sering kali dibandingkan dengan kadar SGOT untuk tujuan diagnostik. Peningkatan kadar SGPT lebih spesifik daripada SGOT pada kasus nekrosis hati dan hepatitis akut, sedangkan peningkatan SGOT lebih spesifik terjadi pada kasus sirosis, kanker hati, dan hepatitis kronis (Kee 2008).

Cara kerja

Adaptasi mencit

Mencit percobaan diadaptasikan terlebih dahulu selama satu minggu di LPPT UGM Yogyakarta.

Pembuatan ekstrak buah mengkudu

Cara membuat ekstrak buah mengkudu sebagai berikut. Buah mengkudu dihaluskan dengan blender kemudian direndam dalam alkohol 90% dengan perbandingan buah mengkudu dan alkohol 90% = 1:3 dan dikocok dengan pengocok listrik (*magnetic stirrer*) selama 2 jam, lalu didiamkan selama 24 jam. Ekstrak buah mengkudu selanjutnya disaring dan ampasnya direndam kembali dengan alkohol 90% dengan perbandingan 1:2, kemudian dikocok selama 2 jam dan didiamkan selama 24 jam. Hasil penyaringan (filtrat) yang dihasilkan kemudian diuapkan dengan menggunakan mesin penguap listrik (evaporator)

hingga didapatkan ekstrak kental dengan rendemen $\pm 7,65\%$.

Standar mutu ekstrak kental buah mengkudu sebagai berikut: rendemen = 10-12%; kandungan kimia (flavonoid total) = 0,09-0,12%; dan kadar air = 3,7-6,15%.

Pembuatan larutan CCl_4

Larutan CCl_4 dibuat dengan pelarut minyak kelapa.

Penetapan dosis hepatotoksik CCl_4

Dosis hepatotoksik CCl_4 pada mencit adalah 0,55 mg/g BB mencit per oral (Aminah 2003). Oleh karena berat badan (BB) rata-rata mencit adalah 20 g maka dosis ekstrak buah mengkudu untuk setiap pemberian pada mencit adalah 11 mg/20 g BB mencit. Pemberian dosis maksimal untuk mencit adalah 1 mL (Pamudji 2003).

Jika pada pembuatan larutan CCl_4 dibutuhkan minyak kelapa sebanyak 50 mL maka CCl_4 yang dibutuhkan sebanyak = $(50 \text{ mL} \times 11 \text{ mg})/1 \text{ mL} = 550 \text{ mg}$. Oleh karena sediaan CCl_4 berbentuk cair maka dilakukan penghitungan untuk menentukan dosis yang setara dalam bentuk cair sebagai berikut.

$$\begin{aligned} \rho \text{CCl}_4 &= 1,59 \text{ g/cm}^3 \text{ m CCl}_4 \\ &= 550 \times 10^{-3} \text{ g V CCl}_4 \\ &= \text{m/P} \\ &= 550 \times 10^{-3} \text{ g}/1,59 \text{ g/cm}^3 \\ &= 346 \times 10^{-3} \text{ mL} \\ &= 0,346 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi, untuk mendapatkan dosis 11 mg/20 g BB mencit, sebanyak 0,346 mL CCl_4 dilarutkan dalam 50 mL minyak kelapa.

Penetapan dosis ekstrak buah mengkudu

Efek hepatoprotektif dosis ekstrak buah mengkudu pada mencit adalah 56 g/kg BB. Dosis tersebut jika dikonversikan ke berat badan mencit (BB rata-rata 20 g) maka dosis untuk satu mencit adalah 1,12 g/20 g BB mencit.

Untuk menilai keefektifan efek hepatoprotektif ekstrak buah mengkudu dalam percobaan ini dilakukan orientasi tiga dosis yaitu: (i) Dosis I, sebanyak 0,56 g/20 g BB; (ii) Dosis II, sebanyak 1,12 g/20 g BB; dan (iii) Dosis III, sebanyak 2,24 g/20 g BB. Jika 1 g buah mengkudu menghasilkan 0,1 g ekstrak kental maka penghitungan dosis buah mengkudu I, II, dan III adalah sebagai berikut.

Dosis I. Ekstrak buah mengkudu yang dibutuhkan sebanyak = $0,1 \text{ g} \times 0,56 \text{ g} = 0,056 \text{ g}$. Untuk mempermudah pemberian maka ekstrak tersebut dilarutkan dengan akuades. Oleh karena ekstrak cair yang dibutuhkan sebanyak 100 mL maka ekstrak kental buah mengkudu yang dibutuhkan sebanyak = $(100 \text{ mL} \times 0,056 \text{ g})/1 \text{ mL} = 5,6 \text{ g/1 mL}$. Jadi, untuk dosis 0,56 g/20 g BB, sebanyak 5,6 g ekstrak diencerkan sampai volume 100 mL dengan akuades.

Dosis II. Ekstrak buah mengkudu yang dibutuhkan sebanyak = $1,12 \text{ g} \times 0,1 \text{ g} = 0,112 \text{ g}$. Untuk mempermudah pemberian maka ekstrak tersebut dilarutkan dengan akuades. Oleh karena ekstrak cair yang dibutuhkan sebanyak 100 mL maka ekstrak kental buah mengkudu yang dibutuhkan sebanyak = $(100 \text{ mL} \times 0,112 \text{ g})/1 \text{ mL} =$

11,2 g. Jadi, untuk dosis 1,12 g/20 g BB, sebanyak 11,2 g ekstrak diencerkan sampai volume 100 mL dengan akuades.

Dosis III. Ekstrak buah mengkudu yang dibutuhkan sebanyak = $2,24 \text{ g} \times 0,1 \text{ g} = 0,224 \text{ g}$. Untuk mempermudah pemberian maka ekstrak tersebut dilarutkan dengan akuades. Oleh karena ekstrak cair yang dibutuhkan sebanyak 100 mL maka untuk dosis 2,24 g/20 g BB, sebanyak 22,4 g ekstrak diencerkan sampai volume 100 mL dengan akuades.

Perlakuan CCl_4 dan ekstrak buah mengkudu

Subjek penelitian dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu sebagai berikut.

Kelompok I. Sebagai kelompok kontrol perlakuan (kontrol positif), terdiri atas 5 ekor mencit galur *Swiss Webster* yang diberi perlakuan CCl_4 pada dosis toksik secara per oral sebanyak 11 mg/20 g BB pada hari ke-8. Selain itu, mencit juga diberi pakan *pellet* dan air. Setelah 24 jam diambil darahnya melalui sinus orbitalis untuk diperiksa kadar SGOT dan SGPT-nya.

Kelompok II. Sebagai kelompok perlakuan I, terdiri atas 5 ekor mencit yang diberi perlakuan CCl_4 pada dosis toksik sebanyak 11 mg/20 g BB pada hari ke-8. Selain itu, mencit juga diberi pakan *pellet* dan air. Mencit diberikan ekstrak buah mengkudu dosis tunggal secara per oral tiap ekor sebanyak 0,56 g/20 g BB selama 8 hari berturut-turut.

Kelompok III. Sebagai kelompok perlakuan II, terdiri atas 5 ekor mencit yang diberi perlakuan CCl_4 pada dosis toksik sebanyak 11 mg/20 g BB pada hari ke-8. Mencit diberikan ekstrak buah mengkudu pada dosis tunggal sebanyak 1,12 g/20 g BB selama 8 hari berturut-turut. Selain itu, mencit juga diberikan pakan *pellet* dan air.

Kelompok IV. Sebagai kelompok perlakuan III, terdiri atas 5 ekor mencit yang diberi perlakuan CCl_4 pada dosis toksik sebanyak 11 mg/20 g BB pada hari ke-8. Mencit diberikan ekstrak buah mengkudu pada dosis tunggal sebanyak 2,24 g/20 g BB selama 8 hari berturut-turut. Selain itu, mencit juga diberikan pakan *pellet* dan air.

Kelompok V. Sebagai kelompok kontrol (kontrol negatif), terdiri atas 5 ekor mencit yang hanya diberi makan *pellet* dan air.

Pengukuran kadar SGOT dan SGPT

Pada hari ke-8, setelah perlakuan dengan ekstrak buah mengkudu, semua mencit dari kelompok II, III, IV, dan V diambil darahnya melalui sinus orbitalis dengan menggunakan tabung mikropipiler sebanyak 2 mL kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 60 menit

hingga didapatkan serum dan diukur kadar SGOT dan SGPT-nya.

Analisis data

Data yang didapat dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji parametrik Anova dan apabila terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan maka dilanjutkan uji *Post Hoc Test* dengan menggunakan analisis Tukey dan *Homogenous Subset* dengan tingkat signifikansi $\alpha=0,05$.

Data hasil penelitian berupa kadar enzim SGOT dan SGPT dianalisis dengan uji *One-Way Anova* yang kemudian dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* berupa uji Tukey HSD. Data diolah dengan program *Statistical Product and Service Solution (SPSS) 16.00 for Windows*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah dilakukan penelitian tentang studi kadar enzim SGOT dan SGPT pada mencit yang diberikan ekstrak buah mengkudu dengan induksi karbon tetraklorida didapatkan data hasil penelitian dari masing-masing kelompok.

Berdasarkan data pada Tabel 1 terlihat bahwa rata-rata kadar enzim SGOT pada kelompok I ($296,62 \pm 59,254 \text{ U/I}$) jauh di atas normal apabila dibandingkan dengan kelompok V (kontrol negatif) yaitu sebesar ($78,80 \pm 20,050 \text{ U/I}$). Perbedaan kadar enzim SGOT tersebut mengalami kenaikan sebesar 376,4%. Nilai tersebut menunjukkan perbedaan yang bermakna jika diuji dengan menggunakan statistik Anova yang dilanjutkan dengan uji Tukey HSD pada $p < 0,05$. Sementara itu, kadar enzim SGOT pada kelompok II (ekstrak buah mengkudu dosis 0,56 g/20 g BB) dibandingkan dengan kelompok I (kontrol positif) terjadi penurunan sebesar 27,7%. Data tersebut jika dilihat dari hasil penghitungan statistik Anova yang dilanjutkan dengan uji Tukey HSD, belum menunjukkan perbedaan yang signifikan. Kadar enzim SGOT pada kelompok III (ekstrak buah mengkudu dosis 1,12 g/20 g BB) apabila dibandingkan dengan kelompok I, terjadi penurunan sebesar 50%. Hasil tersebut menunjukkan perbedaan yang signifikan jika diuji dengan menggunakan perhitungan statistik Anova yang dilanjutkan dengan uji Tukey HSD. Demikian juga dengan kadar enzim SGOT pada kelompok IV (ekstrak buah mengkudu dosis 2,24 g/20 g BB) apabila dibandingkan dengan kelompok I, terjadi penurunan sebesar 42,8%. Nilai tersebut menunjukkan perbedaan yang juga signifikan.

Tabel 1. Hasil pengukuran kadar SGOT dan SGPT

Kelompok	Keterangan	Kadar SGOT \pm SD (U/I)	Kadar SGPT \pm SD (U/I)
I	Control CCl_4	296,62 \pm 59,254	83,96 \pm 2,93
II	Perlakuan I	214,48 \pm 48,704	55,42 \pm 4,292
III	Perlakuan II	151,16 \pm 22,811	54,34 \pm 6,896
IV	Perlakuan III	169,62 \pm 44,891	57,58 \pm 7,210
V	Kontrol negatif	78,80 \pm 20,050	48,76 \pm 5,609

Berdasarkan data pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa rata-rata kadar enzim SGPT pada kelompok I ($83,96 \pm 2,931$ U/I) jauh di atas normal apabila dibandingkan dengan kelompok V ($48,76 \pm 5,609$ U/I). Perbedaan kadar enzim SGPT tersebut mengalami kenaikan sebesar 172,2%. Nilai tersebut jika diuji dengan menggunakan uji statistik Anova yang dilanjutkan dengan uji Tukey HSD menunjukkan perbedaan yang signifikan. Selain itu, perbandingan antara kelompok perlakuan ekstrak buah mengkudu, baik pada dosis I, II, ataupun III, juga menunjukkan nilai perbedaan yang signifikan jika dilihat dari hasil perhitungan statistik Anova.

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh rata-rata kadar enzim SGOT dari kelompok kontrol CCl₄ sebesar $296,62 \pm 59,254$ U/I yang jauh di atas normal apabila dibandingkan dengan kelompok V (kontrol negatif) yaitu sebesar $78,80 \pm 20,050$ U/I. Nilai tersebut jika dianalisis dengan menggunakan uji statistik Anova menunjukkan perbedaan yang signifikan, sedangkan rata-rata kadar enzim SGPT kelompok perlakuan yang hanya diberikan CCl₄ (kontrol positif) sebesar $83,96 \pm 2,931$ U/I yang jauh di atas normal apabila dibandingkan dengan kelompok V (kontrol negatif) yaitu $48,76 \pm 5,609$ U/I. Nilai tersebut jika dianalisis dengan menggunakan uji statistik Anova juga menunjukkan perbedaan yang signifikan. Peningkatan kadar enzim SGOT dan SGPT tersebut sesuai dengan yang diuraikan oleh Wenas (1996) bahwa pemberian CCl₄ pada dosis toksik dapat menyebabkan nekrosis, terutama melalui metabolit reaktifnya yang ditandai dengan peningkatan kadar enzim SGOT dan SGPT. Peningkatan kadar enzim SGOT tersebut tidak dapat dipastikan apakah semuanya berasal dari hati. SGOT merupakan enzim yang sebagian besar ditemukan dalam otot, jantung, dan hati. Sementara itu, dalam konsentrasi sedang, enzim tersebut ditemukan pada otot rangka, ginjal, dan pankreas. Konsentrasi enzim SGOT yang rendah terdapat dalam darah, kecuali jika terjadi cedera seluler (Kee 2008). Peningkatan kadar enzim SGOT dapat berasal dari jaringan-jaringan tersebut selama masa adaptasi, misalnya perkelahian antar tikus yang menyebabkan trauma pada otot skelet dan dapat juga terjadi akibat penyakit dan kelainan pada hati, ginjal, atau jantung yang telah diderita hewan uji sebelumnya.

Berdasarkan hasil analisis varian satu arah (*One-Way Anova*) pada tingkat signifikansi $\alpha=0,05$ didapatkan $p<0,05$ yang menunjukkan rata-rata perubahan kadar enzim SGOT dan SGPT pada kelima kelompok berbeda nyata. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pemberian perlakuan dengan ekstrak buah mengkudu dapat menghambat produksi enzim SGOT dan SGPT, serta pada peningkatan pemberian konsentrasi ekstrak buah mengkudu menghambat produksi enzim SGOT dan SGPT yang fluktuatif. Penurunan kadar enzim SGOT maupun SGPT terbesar dicapai oleh mencit yang mendapat perlakuan ekstrak buah mengkudu dosis II yaitu sebesar $151,16 \pm 22,811$ U/I untuk SGOT dan $54,34 \pm 6,896$ U/I untuk SGPT.

Perlakuan pada kelompok II bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian ekstrak buah mengkudu dosis $0,56$ g/20 g BB dalam menurunkan kadar SGOT dan SGPT akibat pemberian CCl₄. Data pada Tabel 1 menunjukkan adanya penurunan kadar enzim, baik SGOT maupun SGPT. Berdasarkan hasil analisis statistik ($p<0,05$), penurunan kadar SGOT dan SGPT tersebut menunjukkan nilai yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif untuk SGPT, tetapi tidak signifikan untuk SGOT. Hal ini dapat berasal dari jaringan-jaringan dalam tubuh mencit selama masa adaptasi, misalnya perkelahian antar mencit yang menyebabkan trauma pada otot skelet, atau akibat penyakit dan kelainan pada hati, ginjal, atau jantung yang sudah diderita oleh mencit sebelumnya. Oleh karena SGOT juga banyak didapatkan pada sel-sel organ lain selain sel hati maka ketika terdapat jejas pada sel-sel tersebut, kadar SGOT akan meningkat.

Perlakuan pada kelompok III bertujuan untuk membuktikan ekstrak buah mengkudu pada dosis $1,12$ g/20 g BB bersifat hepatoprotektif atau tidak. Data pada Tabel 1 menunjukkan penurunan kadar enzim SGOT dan SGPT jika dibandingkan dengan kelompok kontrol CCl₄. Data tersebut menunjukkan nilai yang signifikan ($p<0,05$) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol CCl₄.

Perlakuan pada kelompok IV bertujuan untuk membuktikan pengaruh hepatoprotektif ekstrak buah mengkudu dengan dosis $2,24$ g/20 g BB) pada kelompok yang juga diinduksi dengan CCl₄. Data pada Tabel 1 menunjukkan penurunan kadar enzim SGOT dan SGPT. Berdasarkan hasil analisis statistik, penurunan kadar kedua enzim tersebut menunjukkan nilai yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol CCl₄ ($p<0,05$).

Penurunan kadar enzim SGOT dan SGPT pada kelompok III dan IV cukup drastis, tetapi belum mencapai nilai seperti pada kondisi normal. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah mengkudu pada dosis $1,12$ g/20 g BB dan $2,24$ g/20 g BB memperlihatkan efek hepatoprotektif, yaitu dapat melindungi tubuh terhadap kerusakan jaringan hati yang dipapar dengan CCl₄, namun efek hepatoprotektif tersebut belum optimal dan diduga akan semakin efektif apabila dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan kadar dosis ekstrak buah mengkudu yang optimal.

Hal tersebut diduga juga terkait dengan lama penelitian. Jika dibandingkan dengan penelitian yang serupa seperti yang dilakukan oleh Suarsana et al. (2005) dengan menggunakan dosis sebesar $0,2$ g/20 g BB, tetapi dengan waktu yang jauh lebih lama, yaitu 5 minggu, dapat menurunkan kadar SGOT menjadi $175,33 \pm 5,86$ U/I dari kadar SGOT dari kelompok kontrol parasetamol yaitu $390,67 \pm 4,04$ U/I. Begitu juga dengan kadar SGPT yang menurun menjadi $54,67 \pm 3,51$ U/I dari kadar SGPT pada kelompok kontrol parasetamol yaitu sebesar $103,33 \pm 5,86$ U/I.

Perbaikan sel-sel hati yang mengalami kerusakan atau perlindungan sel-sel hati dari kerusakan yang diakibatkan oleh induksi CCl₄ setelah pemberian ekstrak buah mengkudu diduga disebabkan oleh adanya senyawa bioaktif yang terdapat dalam buah mengkudu. Senyawa *proxeronine* dan enzim *proxeronase* dalam buah mengkudu mampu melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan secara genetis dan menormalkan fungsi sel-sel yang rusak sehingga dapat meningkatkan fungsi sel (Heinicke 2000). Selain itu, senyawa terpen dalam buah mengkudu juga berfungsi dalam peremajaan sel (Waha 2002).

Selain golongan senyawa tersebut, buah mengkudu juga mengandung senyawa yang bersifat sebagai antioksidan, seperti senyawa fenol dan vitamin C. Senyawa antioksidan dapat bertindak sebagai penetral radikal bebas yang dihasilkan oleh metabolit parasetamol. Terjadinya kerusakan hati akibat terbentuknya ikatan antara makromolekul hati dengan metabolit intermedier parasetamol yang mengalami biotransformasi di dalam hati (Mitchell et al. 1973).

Mekanisme kerja senyawa antioksidan diduga berlangsung dengan cara memberikan elektronnya atau menghentikan reaksi dari radikal bebas, sehingga dapat mencegah reaksi rantai berlanjut dari peroksidasi lemak dan juga protein akibat dampak radikal bebas. Dengan demikian, kerusakan sel lebih lanjut dapat dicegah.

Penghambatan kenaikan kadar SGOT dan SGPT tersebut tergantung pada dosis ekstrak buah mengkudu yang diberikan, seperti yang terlihat pada Tabel 1, dimana semakin besar dosis ekstrak buah mengkudu yang diberikan maka semakin kuat pengaruh hambatannya terhadap kadar SGOT dan SGPT. Hal ini dikarenakan pada dosis ekstrak buah mengkudu yang semakin meningkat maka akan didapatkan zat aktif yang berkhasiat antioksidan, seperti *scopoletin*, *ascorbic acid*, *beta-carotene*, *L-arginine*, dan *proxeronine* yang juga semakin banyak, sehingga semakin kuat kerjanya dalam melindungi kerusakan sel hati dan hambatannya terhadap kenaikan kadar SGOT dan SGPT. Pada pemberian ekstrak buah mengkudu dosis 1,12 g/20 g BB, meskipun dapat menurunkan kadar SGOT dan SGPT paling rendah, masih belum mampu menyamai seperti kadar SGOT dan SGPT pada kelompok kontrol negatif. Pada kelompok IV dengan pemberian ekstrak buah mengkudu pada dosis tertinggi, penurunan kadar enzim SGOT dan SGPT justru tidak lebih rendah dari kelompok III, bahkan lebih tinggi. Hal ini dapat berasal dari jaringan-jaringan tubuh mencit selama masa adaptasi, misalnya akibat perkelahian antar mencit yang menyebabkan trauma pada otot skelet, atau karena penyakit dan kelainan pada hati, ginjal, atau jantung yang sudah diderita oleh mencit sebelumnya.

Penurunan kadar enzim SGOT dan SGPT selain sebagai faktor hepatoprotektif dari ekstrak buah mengkudu, juga dapat disebabkan karena jeda waktu pemberian CCl₄ dengan pengambilan sampel darah cukup lama yaitu 36 jam. Hal ini disesuaikan dengan waktu paruh SGOT dan SGPT di dalam darah, yaitu antara 12-57 jam (Widmann 1995). Berdasarkan jeda

waktu 36 jam tersebut diharapkan kadar SGOT dan SGPT di dalam darah sudah mencapai puncak dan belum mulai menurun.

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini menunjukkan bahwa belum diketahui dosis efektif dari ekstrak buah mengkudu yang mampu menghambat kadar SGOT dan SGPT akibat pemberian CCl₄. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan meningkatkan dosis ekstrak buah mengkudu untuk mengetahui pengaruh hambatan maksimumnya terhadap kadar SGOT dan SGPT. Dengan demikian dapat diketahui apakah ekstrak buah mengkudu mampu menghambat peningkatan kadar SGOT dan SGPT pada kerusakan sel hepar yang hasilnya dapat menyamai seperti pada kadar SGOT dan SGPT dari kelompok kontrol negatif.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan sebagai berikut. Ekstrak buah mengkudu dengan dosis I (0,56 g/20 g BB), dosis II (1,12 g/20 g BB), dan dosis III (2,24 g/20 g BB) dapat menurunkan kadar enzim SGOT dan SGPT pada mencit yang diinduksi dengan karbon tetraklorida. Dosis ekstrak buah mengkudu sebesar 1,12 g/20 g BB merupakan dosis optimal untuk menurunkan kadar enzim SGOT dan SGPT pada mencit yang diinduksi dengan CCl₄.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar N. 1996. Kelainan enzim pada penyakit hati. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jilid I. Edisi ketiga. Balai Penerbit FKUI, Jakarta.
- Aminah R. 2003. Teh jamur sebagai penyehat radang hati. Litbang Depkes. digilib.litbang.depkes.go.id. [17 April 2008].
- Dalimartha S. 2005. Ramuan tradisional untuk pengobatan hepatitis. Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta.
- Djauhariya E, Rahardjo M, Ma'mun. 2006. Karakterisasi morfologi dan mutu buah mengkudu. Buletin Plasma Nutfah 12(1): 1-8.
- Goodman, Gilman. 2001. The pharmacological basis of therapeutics. 6th edition. MacMillan Publishing Co, Inc., New York.
- Hadi S. 2000. Hepatologi. Mandar Maju, Bandung.
- Heinicke RM. 2000. The pharmacologically active ingredient of noni. www.noni.net.nz. [14 Maret 2008].
- Hodgson E, Levi PE. 2000. Text book of modern toxicology. 2nd edition. McGraw Hill, North Carolina.
- Kee JLF. 2008. Pedoman pemeriksaan laboratorium dan diagnostik. EGC, Jakarta.
- Mitchell JR, Jollow DJ, Potter WZ et al. 1973. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. J Pharmacol Exp Ther 187: 185-194.
- Muriel P, Quintanar ME, Perez AW. 1998. Effect of colchicine on acetaminopen induced liver damage. Biochem Pharmacol 37: 4127-4135.
- Pamudji G. 2003. Petunjuk praktikum farmakologi. Bagian Farmakologi. Universitas Setia Budi, Surakarta.
- Pramono S. 2006. Strategi dan tahapan menuju produksi obat herbal terstandar dan fitofarmaka bagi perusahaan jamu. Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXIX. UNS Press, Surakarta.
- Sartono. 2002. Racun dan keracunan. Penerbit Widya Medika, Jakarta.
- Suarsana B. 2005. Potensi hepatoprotektor mengkudu pada keracunan parasetamol. Jurnal Veteriner, Universitas Udayana, Denpasar. veterinaryjournal.fkh.unud.ac.id. [14 Maret 2008].
- Voigt R. 1994. Buku ajar teknologi farmasi. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

- Waha MG. 2002. Sehat dengan mengkudu. In: Wijayanti L (ed). Penerbit PT Mitra Sitta Kaleh, Jakarta.
- Wenas NT. 1996. Kelainan hati akibat obat. Buku Ajar Penyakit Dalam. Edisi ke-3. Balai Penerbit FK UI, Jakarta.
- Widmann FK. 1995. Tinjauan klinis hasil pemeriksaan laboratorium. Edisi ke-9. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Wijayakusuma HM, Dalimarta HS, Wirian AS et al. 1992. Tanaman berkhasiat obat di Indonesia. Pustaka Kartini, Jakarta.
- Wilmana F. 1995. Analgesik antipiretik, analgesik anti-inflamasi nonsteroid dan obat pirai. Farmakologi dan Terapi. Edisi ke-4. Bagian Farmakologi FKUI, Jakarta.

Uji antibakteri komponen bioaktif daun lobak (*Raphanus sativus*) terhadap *Escherichia coli* dan profil kandungan kimianya

Antibacterial activity of bioactive compounds from radish (*Raphanus sativus*) leaves against *Escherichia coli* and its chemical compounds

JENNY VIRGANITA, DINAR SARI CAHYANINGRUM WAHYUNI, ESTU RETNANINGTYAS NUGRAHENI

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 7 Mei 2009. Revisi disetujui: 18 Agustus 2009.

Abstract. *Virganita J, Wahyuni DSC, Nugraheni ER. 2009. Antibacterial activity of bioactive compounds from radish (Raphanus sativus) leaves against Escherichia coli and its chemical compounds. Biofarmasi 7: 94-98.* Indonesia has many kinds of plants, some of them are medicinal plants that were used to cure various diseases. One of medicinal plants is radish (*Raphanus sativus* L.), known as vegetable. That is the reason conducting the research to find out the bioactive compounds from plants, which can be used as raw materials of drug. Other reasons are expensive drug prices in the market, the death case due to microbial infection, and the increasing of bacterial resistance because of ineffectiveness usage of antibiotic. This study aimed to determine the antibacterial effect of bioactive compounds from radish leaves against *Escherichia coli*. Bioactive compounds were found by extraction dan partition using centrifugation. Dry powder from radish leaves was extracted with chloroform and methanol. After the antibacterial testing, methanol extract resulted in an antibacterial effect was separated in a partition by ethyl acetate into soluble and insoluble parts. The soluble part of ethyl acetate resulted in an antibacterial effect on the concentration of 30-50% was shown by a clear zone (average 10 mm). It was separated again into soluble and insoluble fractions with dichloromethane. Dichloromethane soluble fraction formed a clear zone about 8.30 mm on 10% concentration and 8.42 mm on 20% concentration. Furthermore, the chemical constituent profile of the most active fraction was monitored using KLT method and detected with spray chemicals. The results indicated that radish leaves had bioactive compounds from phenolic group. It was proved by ammonia detection which giving a yellow color, and dark blue with FeCl_3 detection.

Keywords: *Raphanus sativus*, *Escherichia coli*, antibacterial test, bioactive compounds

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki sekitar 30.000 spesies tumbuhan, dimana sekitar 9.600 spesies diantaranya diketahui berkhasiat obat, tetapi baru 200 spesies yang telah dimanfaatkan sebagai bahan baku pada industri obat tradisional (Meridianto 2008). Keanekaragaman spesies tersebut mendorong dilakukannya penelitian untuk memperoleh senyawa bioaktif dari bahan alam yang dapat digunakan sebagai bahan baku obat-obatan. Hal ini terkait dengan kenaikan harga obat di pasaran, tingginya kasus infeksi oleh bakteri *Escherichia coli* di masyarakat, serta meningkatnya tingkat resistensi bakteri terhadap antibiotik akibat penggunaannya yang tidak efisien dari segi indikasi dan dosis (Ridwan 2007). Adapun salah satu jenis tumbuhan yang berkhasiat obat adalah lobak (*Raphanus sativus* L.). Tanaman lobak telah diketahui memiliki khasiat mengatasi sulit tidur, antiinsomnia, sebagai obat radang tenggorokan dan penyakit sinus, antitumor, kemopreventif terhadap tumor payudara, mencegah batu ginjal, sirosis hati, antibakteri, dan imunomodulator (Wijayakusuma 2005; Fajarayu 2008; Sotyaningtyas 2008).

Uji fitokimia pendahuluan mengindikasikan bahwa umbi dan daun lobak mengandung saponin, flavonoid,

polifenol, dan glikosida. Daunnya mengandung minyak atsiri, vitamin A dan C, serta bijinya mengandung 30-40% lemak dan minyak atsiri. Zat-zat tersebut bersifat antibiotik terhadap beberapa jenis bakteri dan sebagai antioksidan (Wijayakusuma 2005).

Menurut Riyanto (2007), golongan senyawa fenolik berpotensi sebagai antibakteri. Demikian juga senyawa flavonoid, triterpenoid, dan saponin merupakan senyawa kimia yang memiliki potensi sebagai antibakteri dan antivirus (Robinson 1995 dalam Ajizah et al. 2007). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa terpenoid yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu *monoterpenoid linalool*, *diterpenoid (-) hardwickic acid*, *phytol*, triterpenoid saponin, dan triterpenoid glikosida (Grayson 2000; Bigham et al. 2003; Lim et al. 2006). Dilihat dari kandungan kimianya, diduga daun lobak mempunyai potensi untuk membunuh bakteri atau mikroba. Meskipun demikian, perlu dilakukan pengujian secara ilmiah, sehingga diharapkan dapat menjadi solusi untuk mengobati berbagai penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen seperti *E. coli*. Bakteri tersebut merupakan penyebab umum terjadinya diare. Diare masih merupakan masalah kesehatan utama pada anak di negara-negara berkembang. Di Indonesia sendiri, angka kematian bayi akibat diare masih cukup tinggi, sekitar 162 ribu balita

meninggal setiap tahun atau sekitar 460 balita setiap harinya (Ridwan 2007). Selain itu, bakteri *E. coli* juga menyebabkan hampir 80% dari kasus infeksi ginjal dan saluran kencing (TEMPO 2007). Oleh karena itu, penemuan senyawa bioaktif yang dapat membantu mengatasi bakteri tersebut akan memberikan sumbangan yang penting bagi upaya pemeliharaan kesehatan masyarakat.

Pada penelitian ini, daya antibakteri komponen bioaktif daun lobak diujikan terhadap *E. coli*. Selain menentukan aktivitas antibakteri dari komponen bioaktif daun lobak terhadap *E. coli*, penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui profil kandungan kimia dari komponen bioaktif daun lobak yang memiliki aktivitas antibakteri.

BAHAN DAN METODE

Bahan penelitian

Bahan penelitian yang digunakan berupa daun tanaman lobak yang diperoleh dari daerah Tawangmangu. Daun segar yang sudah dicuci bersih dikeringkan di bawah sinar matahari secara tidak langsung, lalu dijadikan serbuk.

Cara kerja

Ekstraksi dan partisi

Ekstraksi daun lobak dilakukan dengan menggunakan metode maserasi yang melibatkan pelarut kloroform dan metanol. Hasil maserasi diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kering kloroform dan ekstrak kering metanol. Ekstrak metanol dan kloroform kemudian diuji aktivitas antibakterinya. Ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri merupakan ekstrak terpilih yang selanjutnya akan dipartisi.

Ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri dipartisi dengan etil asetat sehingga diperoleh bagian yang larut dan bagian yang tidak larut dalam etil asetat. Kedua bagian tersebut diuji aktivitas antibakterinya dan bagian yang aktif menghambat pertumbuhan *E. coli* dipartisi kembali dengan pelarut yang berbeda. Adapun partisi yang kedua menggunakan pelarut diklorometan, menghasilkan fraksi larut dan fraksi yang tidak larut dalam diklorometan. Kedua fraksi tersebut diuji aktivitas antibakterinya. Fraksi yang menunjukkan aktivitas antibakteri selanjutnya dimonitor dengan menggunakan KLT dan dideteksi dengan pereaksi kimia untuk mengetahui kandungan kimianya.

Pengujian aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan berdasarkan prosedur Hostettman (1991). Bakteri uji diinokulasikan sebanyak 2 ose ke dalam media Mueller Hinton (MH) kemudian dituang ke dalam cawan petri. Pengujian dilakukan terhadap salah satu jenis bakteri gram negatif, yaitu *E. coli*, secara difusi agar (metode sumuran). Masing-masing hasil ekstraksi dan partisi diujikan dalam berbagai konsentrasi sebanyak 30 μ l. Sebagai pembanding digunakan Amoxicillin dengan konsentrasi 0,05%. Selanjutnya, cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri

diamati dan diukur diameter zona hambatnya dengan menggunakan jangka sorong.

Penentuan golongan komponen bioaktif

Adsorben yang digunakan adalah silika gel 60 GF254 (Merck). Ekstrak maupun hasil partisi dikembangkan dengan jarak pengembangan 7,5 cm. Fase gerak yang digunakan untuk karakterisasi komponen bioaktif hasil ekstraksi dan partisi yaitu kloroform dan etil asetat, sedangkan untuk memonitor kandungan kimia dari fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri hasil partisi kedua digunakan n-heksan dan etil asetat sebagai fase geraknya. Selanjutnya, kromatogram hasil KLT dideteksi dengan sinar UV254, UV366, dan pereaksi kimia serum (IV) sulfat untuk mengetahui kandungan senyawanya; dengan pereaksi semprot seperti Liebermann-Burchard, vanilin-asam sulfat, dan anisaldehyd untuk mendeteksi golongan senyawa terpenoid; Dragendorff untuk mendeteksi golongan alkaloid; serta ferri (III) klorida dan uap amonia untuk mendeteksi golongan senyawa fenolik.

Analisis data

Analisis deskriptif terhadap hasil KLT dari masing-masing tahapan pemisahan meliputi nilai Rf serta pembentukan warna oleh reagen pereaksi maupun dengan deteksi sinar UV. Selain itu dilakukan juga analisis yang sama terhadap hasil uji antibakteri yang berupa ukuran diameter zona hambat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak metanol pada semua konsentrasi yang diujikan memperlihatkan zona hambat, sehingga dapat diketahui bahwa ekstrak metanol lebih aktif menghambat pertumbuhan bakteri dibandingkan ekstrak kloroform (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif antibakteri tersebut cenderung bersifat polar, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka diameter zona hambat yang terbentuk juga semakin besar. Daya hambat yang ditunjukkan dari sampel ekstrak metanol termasuk dalam kategori respons penghambatan pertumbuhan yang lemah karena diameternya kurang dari 15 mm (Greenwood 1995 dalam Pratama 2005).

Rendahnya kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji pada ekstrak metanol daun lobak jika dibandingkan dengan Amoxicillin sebagai sediaan antibiotik komersial, diduga terkait dengan tingkat purifikasi yang masih rendah pada ekstrak. Hal ini mengakibatkan senyawa aktif memiliki konsentrasi yang lebih kecil dari sediaan komersial untuk kadar yang sama. Selain itu, kondisi tersebut juga dapat disebabkan karena bakteri *E. coli* termasuk bakteri gram negatif, dimana susunan dinding selnya terdiri dari beberapa lapis peptidoglikan yang dilindungi oleh membran luar berupa fosfolipid dan lipopolisakarida, serta membran selnya terdiri atas dua lapis fosfolipid dan mengandung sejumlah besar lipoprotein (Schlegel 1993; Purwoko 2007). Adanya lapisan-lapisan tersebut mempengaruhi aktivitas kerja dari senyawa antibakteri.

Menurut Susanti (2007), komponen fenol dari ekstrak tumbuhan dapat mengganggu pertumbuhan sel bakteri, karena fenol mampu mendenaturasikan protein dan merusak membran sel. Senyawa fenol bersifat koagulator protein. Fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen, sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Protein yang menggumpal tidak dapat berfungsi lagi, sehingga akan mengganggu pembentukan dinding sel bakteri (Rahayu 2000; Dwidjoseputro 1994). Persenyawaan fenolat bersifat bakteristatik atau bakterisidal, tergantung dari konsentrasinya (Pelczar dan Chan 1988). Ketidakstabilan dinding sel dan membran sitoplasma bakteri menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, dan pengendalian susunan protein dari sel bakteri menjadi terganggu. Gangguan integritas sitoplasma mengakibatkan lolosnya makromolekul dan ion dari sel. Sel bakteri kehilangan bentuknya, sehingga terjadi lisis dikarenakan tidak berfungsinya lagi dinding sel dalam mempertahankan bentuk dan melindungi bakteri yang memiliki tekanan osmotik dalam yang tinggi (Ajizah et al. 2007). Tanpa dinding sel, bakteri tidak dapat bertahan terhadap pengaruh luar dan segera mati. Kematian sel bakteri berarti hilangnya kemampuan bakteri secara permanen untuk bereproduksi (tumbuh dan membelah).

Ekstrak metanol selanjutnya dipartisi menggunakan pelarut etil asetat dengan tujuan untuk mendapatkan kandungan senyawa yang lebih spesifik. Sebanyak 22 gram ekstrak metanol dipartisi dan menghasilkan 2 gram bagian yang larut dalam etil asetat dan 20 gram bagian yang tidak larut dalam etil asetat. Hasil uji antibakteri terhadap bagian yang larut dalam etil asetat dan bagian yang tidak larut dalam etil asetat terhadap bakteri *E. coli* menunjukkan bahwa bagian yang larut dalam etil asetat memiliki aktivitas antibakteri seperti yang tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan bahwa zona bening yang terbentuk memiliki diameter lebih besar dibandingkan uji dengan ekstrak metanol pada konsentrasi yang sama. Hal ini berarti komponen senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri bersifat polar dan semakin spesifik karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi yang lebih rendah. Sementara itu, Amoxicillin yang digunakan sebagai kontrol pembanding memberikan daya hambat yang sangat besar pada konsentrasi 0,05% dengan terbentuknya zona bening berdiameter 29,75 mm, sedangkan CMC dan etil asetat yang juga digunakan sebagai kontrol tidak menimbulkan zona hambat.

Bagian yang larut dalam etil asetat selanjutnya dipartisi lagi dengan pelarut diklorometan dengan menggunakan alat sentrifugasi, menghasilkan fraksi larut diklorometan dan fraksi tidak larut diklorometan, masing-masing sebanyak 2,33 g dan 1,67 g. Kedua fraksi tersebut diuji aktivitas antibakterinya setelah dianalisis kandungan kimianya dengan metode KLT. Hasil uji antibakteri terhadap fraksi larut diklorometan dan fraksi tidak larut diklorometan terhadap bakteri *E. coli* menunjukkan bahwa fraksi larut diklorometan memiliki aktivitas antibakteri seperti yang tercantum pada Tabel 2.

Konsentrasi 10% dan 20% dipilih karena hasil dari partisi kedua mengandung komponen senyawa yang lebih

sederhana dibandingkan dengan hasil ekstraksi dan partisi pertama. Dengan demikian, fraksi pada konsentrasi yang lebih kecil diharapkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* karena adanya kandungan komponen senyawa yang spesifik dalam fraksi tersebut. Meskipun demikian, diameter zona bening yang terbentuk lebih kecil dibandingkan hasil uji antibakteri ekstrak metanol pada bagian yang larut dalam etil asetat. Hal ini diduga terjadi karena komponen senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri justru dapat memberikan efek yang maksimal jika berada dalam kondisi kompleks bersama dengan komponen senyawa lain dibandingkan komponen senyawa itu sendiri, sehingga terjadi penurunan ukuran diameter zona hambat yang terbentuk. Fraksi larut diklorometan yang memiliki aktivitas antibakteri selanjutnya diidentifikasi untuk mengetahui profil kandungan kimianya yang diduga berperan sebagai antibakteri.

Profil kandungan senyawa kimia dari fraksi larut diklorometan yang menghasilkan diameter zona hambatan lalu dideteksi dengan serum (IV) sulfat dan beberapa pereaksi semprot lainnya yang spesifik yaitu Dragendorff untuk melihat adanya kandungan senyawa alkaloid; Liebermann-Burchard, anisaldehyd, dan vanilin-asam sulfat untuk mendeteksi senyawa terpenoid; serta FeCl_3 dan uap amonia untuk mendeteksi senyawa golongan fenolik. Setiap pereaksi akan memberikan respons tersendiri terhadap masing-masing golongan senyawa, karena pereaksi tertentu hanya akan memberikan respons spesifik terhadap suatu golongan tertentu (Cannell 1998; Harborne 1987; Gritter et al. 1991). Adapun profil kandungan senyawa dari fraksi larut diklorometan dapat dilihat pada Gambar 1.

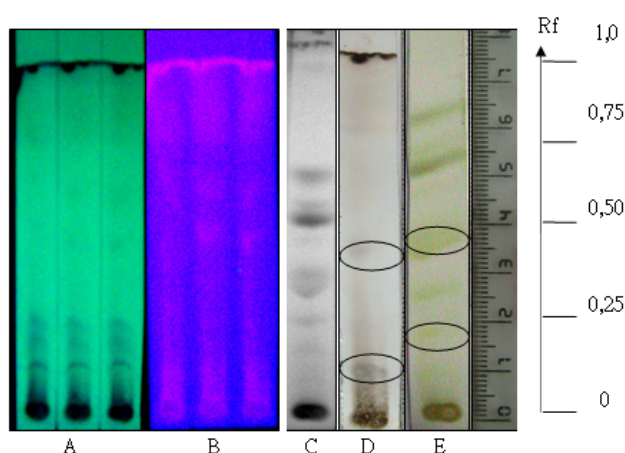
Pada Gambar 1 tampak bahwa fraksi larut diklorometan mengandung komponen-komponen senyawa kimia yang ditunjukkan oleh bercak-bercak berwarna biru keunguan pada kromatogram yang dideteksi dengan serum (IV) sulfat. Bercak berwarna coklat-kehitaman pada lempeng KLT yang dideteksi dengan menggunakan UV254, menginformasikan bahwa terdapat senyawa yang meredam sinar UV254, sehingga dapat dikatakan senyawa yang meredam UV254 mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi atau senyawa aromatik (Rakhmawati 2006). Selanjutnya, lempeng KLT diidentifikasi kandungan senyawa kimianya menggunakan beberapa pereaksi kimia penampak warna, diantaranya Dragendorff untuk pemeriksaan senyawa golongan alkaloid; Liebermann-Burchard, vanilin-asam sulfat dan anisaldehyd untuk mendeteksi senyawa golongan terpenoid; serta FeCl_3 dan uap amonia untuk mendeteksi senyawa golongan fenolik. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil visualisasi menunjukkan bahwa fraksi larut diklorometan daun lobak mengandung komponen bioaktif dari golongan fenolik. Hal ini terbukti dari terbentuknya warna biru gelap pada Rf 0,12 dan 0,46 setelah dideteksi dengan FeCl_3 (Tabel 3 dan Gambar 1D). Demikian juga hasil deteksi dengan uap amonia, memunculkan bercak warna kuning agak hijau pada Rf 0,2 dan 0,46 (Gambar 1E). Deteksi senyawa golongan alkaloid dan terpenoid tidak menunjukkan hasil positif (profil KLT-nya tidak ditampilkan), sehingga dapat disimpulkan bahwa

komponen bioaktif dalam fraksi larut diklorometan daun lobak yang memiliki aktivitas antibakteri adalah senyawa dari golongan fenolik.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol bagian yang larut dalam etil asetat fraksi larut diklorometan daun lobak memiliki kandungan senyawa antibakteri, khususnya senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Profil kandungan kimia dari fraksi aktif hasil partisi dengan diklorometan menunjukkan adanya komponen senyawa golongan fenolik.



Gambar 1. Profil KLT fraksi larut diklorometan. Deteksi dilakukan dengan: (A) UV254, (B) UV366, pereaksi semprot (C) serium (IV) sulfat, (D) FeCl_3 , dan (E) uap amonia. Fase diam = silika gel GF254, fase gerak = n-heksan-etil asetat 4:1 (v/v).

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak kloroform dan ekstrak metanol daun lobak terhadap *E. coli*

Bahan uji	Konsentrasi (%)	Diameter Rata-rata Zona Hambat (mm)
CMC (kontrol)	0,1	-
Metanol (kontrol)	-	-
Amoxicillin (kontrol)	0,05	29,75
Ekstrak kloroform	30	-
	50	-
	70	-
Ekstrak metanol	30	9,03
	50	9,18
	70	11,35

Keterangan: (-) = Tidak terbentuk zona bening

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri bagian yang larut dan tidak larut dalam etil asetat dan diklorometan daun lobak terhadap *E. coli*

Bahan uji	Kons. (%)	Diameter rata-rata zona hambat (mm)	
		Etil asetat	Diklorometan
CMC (kontrol)	0,1	-	-
Etil asetat (kontrol)	-	-	-
Amoxicillin (kontrol)	0,05	29,75	29,75
Bagian tidak larut	30	-	-
	40	-	-
	50	-	8,30
Bagian larut	30	10,40	8,42
	40	10,64	-
	50	10,17	-

Keterangan: (-) = Tidak terbentuk zona bening

Tabel 3. Hasil deteksi dengan berbagai deteksi semprot fraksi larut diklorometan daun lobak

Detektor	Nilai Rf Fraksi Larut Diklorometan						Perkiraan Senyawa
	0,12	0,2	0,35	0,46	0,53	0,66	
UV254	-	-	-	-	-	-	-
UV366	-	-	-	-	-	-	-
Serium (IV) sulfat	-	Biru	Biru	Biru	Biru	Biru	Kompleks (senyawa organik)
Dragendorff	-	-	-	-	-	-	-
Liebermann-Burchard	-	-	-	-	-	-	-
Anisaldehyd	-	-	-	-	-	-	-
Vanilin-asam sulfat	-	-	-	-	-	-	-
FeCl_3	Biru	-	-	Biru	-	-	Fenolik
Uap amonia	-	Kuning	-	Kuning	-	-	Fenolik

Keterangan: (-) = Tidak muncul warna

DAFTAR PUSTAKA

Ajizah A, Thihana, Mirhanuddin. 2007. Potensi ekstrak kayu ulin (*Eusideroxylon zwageri* T et B) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Bioscientiae* 4(1): 37-42

Bigham AK, Munro AT, Rizzacasa MA et al. 2003. Divinatorins A-C, new neoclerodane diterpenoids from the controlled sage *Silvia divinorum*. The University of Melbourne, Victoria, Australia.
Cannell RJP. 1998. How to approach the isolation of a natural product. *Methods in Biotechnology*, Volume 4. Natural Products Isolation. Humana Press Inc., Totowa, NJ.
Dwidjoseputro D. 1994. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Djambatan, Jakarta.

- Fajarayu. 2008. Sup lobak jamur, antiflu. www.conectique.com. [18 Juli 2008].
- Grayson DH. 2000. Monoterpenoid. University Chemical Laboratory, Trinity College, Dublin, Ireland.
- Greenwood. 1995. Antibiotics susceptibility (sensitivity) test, antimicrobial and chemotherapy. Addison Westley Longman Inc., San Fransisco, USA.
- Gritter RJ, Bobbit JM, Schwarting AE. 1991. Pengantar kromatografi. Edisi kedua. Diterjemahkan oleh: Padmawinata K. Penerbit ITB, Bandung.
- Harborne JB. 1987. Metode fitokimia. Edisi II. ITB Press, Bandung.
- Hostettman K. 1991. Methods in plant biochemistry, Volume 6. Academic Press, New York.
- Lim SY, Bauermeister A, Kjonaas RA et al. 2006. Phytol-based novel adjuvants in vaccine formulation: 2. Assessment of efficacy in the induction of protective immune responses to lethal bacterial infections in mice. Department of Life Science, Indiana State University, Terre Haute, USA.
- Meridianto. 2008. Obat herbal. akafarma.putraindonesia-malang.or.id. [07 April 2009].
- Pelczar JM, Chan ECS. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi 2. Penerbit UI Press, Jakarta.
- Pratama MR. 2005. Pengaruh Ekstrak Serbuk Kayu Siwak (*Salvadora persica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Agar. [Skripsi]. ITS, Surabaya.
- Purwoko T. 2007. Fisiologi mikroba. Bumi Aksara, Jakarta.
- Rahayu PW. 2000. Aktivitas antimikroba bumbu masakan tradisional hasil olahan industri terhadap bakteri patogen dan perusak. Buletin Teknologi dan Industri Pangan 11(2): 42-48.
- Rakhmawati R. 2006. Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Bioaktif Daun Laban (*Vitex pubescens* Vahl.) Asal Kawasan Hutan Kalimantan Barat. [Thesis]. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Ridwan. 2007. Current issue kematian anak (penyakit diare). ridwan.amiruddin.wordpress.com. [09 Januari 2009].
- Riyanto R. 2007. Ekstrak senyawa bahan aktif buah picung sebagai penghambat bakteri pembusuk dan penghasil histamin. rr1.blogspot.com. [12 Agustus 2008].
- Robinson R. 1995. Kandungan organik tumbuhan tinggi. ITB Press, Bandung.
- Schlegel GH. 1993. General Microbiology. Seventh Edition. Cambridge University, Cambridge.
- Sotyaningtyas C. 2008. Khasiat lobak putih. theezayoe.blogspot.com. [07 April 2009].
- Susanti A. 2007. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica less*) Terhadap *Escherichia coli* secara In Vitro. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya.
- TEMPO. 2007. Bakteri E.coli cemari 68 persen air Jakarta. www.tempo.com. [23 Juli 2008].
- Wijayakusuma H. 2005. Sehat dengan lobak. fahima.org. [18 Juli 2008].

PEDOMAN UNTUK PENULIS

Format penulisan pada nomor ini merupakan acuan utama bagi para penulis, adapun pedoman ini hanya merupakan ringkasannya. Setiap naskah harus disertai surat pengantar yang menyatakan bahwa tulisan merupakan hasil karya penulis atau para penulis dan belum pernah dipublikasikan. Penulis diminta mengirimkan dua kopi naskah dan satu disket ukuran 3½", kecuali naskah yang dikirim melalui e-mail. Pada koreksi terakhir kembali diminta satu disket untuk pencetakan.

Tulisan diketik pada satu sisi kertas putih, ukuran A4 (210x297 mm²), dalam satu kolom, menggunakan spasi ganda, jenis huruf *Times New Roman*, ukuran 12 point, dengan jarak tepi 2 cm di semua sisi. Program pengolah kata atau jenis huruf tambahan dapat digunakan, namun harus *PC compatible* dan berbasis *Microsoft Word*. **Nama ilmiah** (genus, spesies, author), dan kultivar atau strain disebutkan secara lengkap pada penyebutan pertama kali. Nama genus dapat disingkat setelahnya penyebutan yang pertama, kecuali menimbulkan kerancuan. Nama author dapat dihilangkan setelah penyebutan pertama. Misalnya pertama kali ditulis *Rhizopus oryzae* L. UICC 524, selanjutnya ditulis *R. oryzae* UICC 524. Nama daerah dapat dicantumkan apabila tidak menimbulkan makna ganda. Penyebutan nama ilmiah secara lengkap dapat diulang pada bagian Bahan dan Metode. **Tata nama kimia dan biokimia** mengikuti aturan IUPAC-IUB. Simbol-simbol kimia standar dan penyingkatan untuk nama kimia dapat dilakukan apabila jelas dan umum digunakan, misalnya pertama kali ditulis lengkap butirat hidrositoluen (BHT) selanjutnya ditulis BHT. **Ukuran metrik** menggunakan satuan SI, penggunaan satuan lain harus diikuti nilai ekuivalen dengan satuan SI pada penyebutan pertama. Penyingkatan satuan, seperti g, mg, ml, dan sebagainya tidak diikuti titik. Indeks minus (m⁻², l⁻¹, h⁻¹) disarankan untuk digunakan, kecuali dalam hal-hal seperti "per-tanaman" atau "per-plot". **Persamaan matematika** tidak selalu dapat dituliskan dalam satu kolom dengan teks, untuk itu dapat ditulis secara terpisah. **Angka** satu hingga sepuluh dinyatakan dengan kata-kata, kecuali apabila berhubungan dengan pengukuran, sedangkan nilai di atasnya dituliskan dalam angka, kecuali di awal kalimat. Pecahan sebaiknya dinyatakan dalam desimal. Dalam teks digunakan "%" bukannya "persen". Pengungkapan ide dengan kalimat yang rumit dan bertele-tele perlu dihindari, sebaiknya digunakan kalimat yang efektif dan efisien. Naskah hasil penelitian diharapkan tidak lebih dari 25 halaman (termasuk gambar dan tabel), naskah telaah pustaka menyesuaikan, masing-masing halaman berisi 700-800 kata, atau sebanding dengan naskah dalam nomor penerbitan ini.

Judul ditulis secara padat, jelas, dan informatif, maksimum 20 kata. Judul ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris untuk naskah dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris saja untuk naskah dalam bahasa Inggris. Naskah yang terlalu panjang dapat dibuat berseri, tetapi naskah demikian jarang diterbitkan jurnal ini. **Judul pelari** (*running title*) sekitar 5 kata. **Nama penulis** atau para penulis pada naskah kelompok ditulis secara lengkap dan tidak disingkat. **Nama dan alamat institusi** ditulis lengkap dengan nama dan nomor jalan (lokasi), kode pos, nomor telepon, nomor faksimili, alamat e-mail dan website. Pada naskah kelompok perlu ditunjukkan penulis untuk korespondensi beserta alamat dengan urutan seperti di atas. **Abstract** sebaiknya tidak lebih dari 200 kata, ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris untuk naskah dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris saja untuk naskah dalam bahasa Inggris. **Kata kunci** (*Keywords*) sekitar 5 kata, meliputi nama ilmiah dan daerah (apabila ada), topik penelitian, dan metode-metode khusus yang digunakan.

Pendahuluan (*Introduction*) sekitar 400-600 kata, meliputi latar belakang, tinjauan pustaka, dan tujuan penelitian. **Bahan dan Metode** (*Materials and Methods*) sebaiknya ditekankan pada cara kerja dan cara analisis data. **Hasil dan Pembahasan** (*Results and Discussion*) ditulis sebagai satu rangkaian, pada tulisan yang cukup panjang sebaiknya dibuat beberapa sub judul. Pembahasan merupakan jawaban pertanyaan *mengapa* dan *bagaimana* hasil penelitian dapat terjadi, bukan sekedar mengungkapkan kembali hasil penelitian dalam bentuk kalimat. Pembahasan yang lengkap dan menyeluruh lebih disukai dari pada pembahasan yang tidak tuntas. Naskah telaah pustaka tanpa sub judul Bahan dan Metode, serta Hasil dan Pembahasan. **Kesimpulan** (*Conclusion*) sebaiknya tetap diberikan, meskipun biasanya sudah terungkap pada Hasil dan Pembahasan. **Ucapan terima kasih** (*Acknowledgments*) apabila diperlukan ditulis secara singkat. **Gambar dan Tabel** maksimum 3 halaman, dapat dibuat dengan tinta cina atau printer laser. Judul gambar ditulis di bawah gambar, sedangkan judul tabel ditulis di atas tabel. Foto dicetak pada kertas *glossy* dan diberi keterangan. Gambar berwarna dapat diterima apabila informasi ilmiah dalam naskah dapat hilang tanpa gambar tersebut. Setiap gambar dan foto

sebaiknya menyertakan file digital. Penulis dianjurkan menyertakan foto atau gambar untuk sampul depan meskipun tidak dimuat dalam naskah sendiri. **Tidak ada lampiran**, semua data atau analisis data dimasukkan dalam Hasil dan Pembahasan.

Pustaka dalam naskah ditulis dalam bentuk nama belakang penulis dan tahun. Pada kalimat yang diacu dari beberapa penulis, nama penulis diurutkan berdasarkan kebaruan pustaka. Pada naskah yang ditulis oleh dua penulis, nama keduanya disebutkan, sedangkan pada naskah yang ditulis oleh tiga penulis atau lebih, hanya nama penulis pertama yang ditulis diikuti et al. atau dkk., misalnya: Sprent dan Sprent (1990) atau (Suranto et al. 1998; Baker and Manwell 1991; Smith 1982a, b). Pada sitasi bertingkat digunakan kata *cit* atau dalam, misalnya (Gyorgy 1991 *cit* Coward 1999) atau Gyorgy (1991, dalam Coward 1999).

Daftar Pustaka diketik dengan spasi ganda. Sitasi mengikuti CBE-ELSE-Vancouver style dengan modifikasi sebagai berikut:

Jurnal:

Suranto S, Gough KH, Shukla DD et al. 1998. Coat protein sequence of Krish-infecting strain of Johnson-grass mosaic potyvirus. Arch Virol 143: 1015-1020.

Buku:

Sprent JI, Sprent P. 1990. Nitrogen fixing organisms: Pure and applied aspects. Chapman and Hall, London.

Bab dalam buku:

Baker CMA, Manwell C. 1991. Population genetics, molecular markers and gene conservation of bovine breeds. In: Hickman CG (ed). Cattle Genetic Resources. Elsevier, Amsterdam.

Abstrak:

Liu Q, Salih S, Ingersoll J et al. 2000. Response of transgenic 'Royal Gala' apple (*Malus x domestica* Borkh.) shoots, containing the modified cecropin MB39 gene to *Erwinia amylovora* [084]. Abstracts of 97th Annual International Conference of the American Society for Horticultural Science. Lake Buena Vista, FL, 23-26 July 2000.

Prosiding:

Alikodra HS. 2000. Keanekaragaman hayati bagi pembangunan daerah otonom. In: Setyawan AD, Sutarno (eds). Menuju Taman Nasional Gunung Lawu, Prosiding Semiloka Nasional Konservasi Biodiversitas untuk Perlindungan dan Penyelamatan Plasma Nutfah di Pulau Jawa. Surakarta, 17-20 Juli 2000.

Skripsi, Tesis, Disertasi:

Purwoko T. 2001. Biotransformasi Isoflavon oleh *Rhizopus oryzae* UICC 524 dan Aktivitas Antioksidan Isoflavon Aglikon dari Tempe terhadap Oksidasi Minyak Kedelai. [Tesis]. Universitas Indonesia, Jakarta.

Informasi dari Internet:

Rosauer D. 1998. Forest disturbance and succession. <http://www.anu.edu.au/Forestry/silviculture/daniel/chapter1/1.1.html>

Naskah publikasi "*in press*" dapat disitasi dan dicantumkan dalam daftar pustaka. "Komunikasi pribadi" dapat disitasi, tetapi tidak dapat dicantumkan dalam daftar pustaka. Penelitian yang tidak dipublikasikan atau sedang dalam tahap pengajuan publikasi tidak dapat disitasi.

Beberapa catatan tambahan. Naskah diketik tanpa tanda hubung (-), kecuali kata ulang. Penggunaan huruf "l" (el) untuk "1" (satu) atau "O" (oh) untuk "0" (nol) perlu dihindari. Simbol α , β , χ , dan lain-lain dimasukkan melalui fasilitas insert, bukan mengubah jenis huruf. Kata-kata dan tanda baca sesudahnya tidak diberi spasi.

Kemajuan Naskah. Pemberitahuan naskah dapat diterima atau ditolak akan diberitahukan sekitar satu bulan setelah pengiriman. Naskah dapat ditolak apabila materi yang dikemukakan tidak sesuai dengan misi jurnal, kualitas materi rendah, format tidak sesuai, gaya bahasa terlalu rumit, terjadi ketidakjujuran keaslian penelitian, dan korespondensi tidak ditanggapi. Penulis atau penulis pertama pada naskah kelompok akan mendapatkan satu eksemplar jurnal yang memuat tulisannya selambat-lambatnya sebulan setelah naskah diterbitkan. Penulis akan kembali mendapatkan satu eksemplar jurnal nomor penerbitan berikutnya.

PENTING: Penulis atau para penulis dalam naskah kelompok masih memegang hak cipta (*copyright*) dan mempertahankan hak penerbitan tanpa pembatasan atas naskah yang diterbitkan **Biofarmasi**. Penulis atau pihak lain diperkenankan memperbanyak naskah dalam jurnal ini selama tidak untuk tujuan komersial. Untuk penemuan baru, penulis disarankan mengurus hak patennya sebelum mempublikasikan dalam jurnal ini.

- Isolasi dan karakterisasi natrium alginat dari rumput laut *Sargassum* sp. untuk pembuatan bakso ikan tenggiri (*Scomberomorus commerson*)** 59-67
- WIWIN DWI WARDANI, KAWIJI, GODRAS JATI MANUHARA
- Pengaruh penambahan ekstrak berbagai jenis ubi jalar (*Ipomea batatas*) terhadap jumlah sel dan aktivitas antioksidan yogurt** 68-76
- RETNATI, M.A.M. ANDRIANI, GUSTI FAUZA
- Aktivitas antioksidan, kadar fenolat dan flavonoid ekstrak buah pare belut (*Trichosanthes anguina*)** 77-86
- YUANA RIKHA MARSETYA, MUDJIJONO, SRI HASTUTI
- Efek ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap kadar enzim SGOT dan SGPT pada mencit dengan induksi karbon tetraklorida** 87-93
- HERMAWAN SURYA D, YUL MARIYAH, TAHONO
- Uji antibakteri komponen bioaktif daun lobak (*Raphanus sativus*) terhadap *Escherichia coli* dan profil kandungan kimianya** 94-98
- JENNY VIRGANITA, DINAR SARI CAHYANINGRUM WAHYUNI, ESTU RETNANINGTYAS NUGRAHANI

