

Biofarmasi

Journal of Natural Products Biochemistry

**VOLUME 9
NOMOR 1
FEBRUARI 2011
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.

Efek antihelmintik ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum americanum*) terhadap kematian *Ascaris suum* secara in vitro

Effects of anthelmintic of ethanol extract of basil (*Ocimum americanum*) leaf against *Ascaris suum* death in vitro

OKKIE MHARGA SENTANA, SRI HARYATI, YUL MARIYAH

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

Manuskrip diterima: 9 Januari 2010. Revisi disetujui: 23 April 2010.

Abstract. Sentana OM, Haryati S, Mariyah Y. 2011. Effects of anthelmintic of ethanol extract of basil (*Ocimum americanum*) leaf against *Ascaris suum* death in vitro. *Biofarmasi* 9: 1-6. This research aimed to examine the relationship between the ethanol extract of basil leaf against *Ascaris suum* mortality rate in vitro. This study was a laboratory experiment with a research design of the post-test with controlled group design. The samples were *Ascaris suum* Goeze that still actively moved and obtained from pig intestines. The sampling technique used was a purposive sampling by equating the type and the length of worms, and it did not distinguished for the sex of worms. The subjects were divided into five groups, each group consisted of 5 worms and repeated in 6 times. The control group contained 25 mL of physiological saline solution and 25 mL pyrantel pamoate 5 mg/mL. Three other groups contained basil leaves extracts consisted of various concentrations, i.e. 30%, 40% and 50%. The number of dead worms was counted every 2 hours until all the worms in the group died. The data were analyzed by using a linear regression analysis and a probit analysis. Simple linear regression statistical test showed a significance correlation at 0.000 with 0.837 correlation coefficient was negative, R square 0.701, in which the significant correlation <0.05 or the value of 37.565 with a significance of means, there was a negative relationship between the length of time of death of worms with large concentrations of basil extract. Analysis using a probit analysis obtained LC50 at a concentration of 40% and LT50 at a concentration of 40% was 2 hours. The ethanol extract of basil leaf could affect the death of *A. suum* in vitro with LC50 at a concentration of 40% and LT50 at a concentration of 40% was 2 hours.

Keywords: *Ascaris suum* Goeze, basil leaves, mortality, in vitro

PENDAHULUAN

Askariasis tersebar di seluruh dunia, dengan frekuensi terbesar berada di negara tropis yang lembap, dimana angka prevalensi mencapai lebih dari 50%. Angka prevalensi dan intensitas infeksi biasanya paling tinggi pada anak-anak antara usia 3 dan 8 tahun (Chin 2006). Di Indonesia, prevalensi askariasis masih tinggi yaitu antara 60-90%, tergantung pada lokasi dan sanitasi lingkungan, terutama pada anak-anak (Pohan 2006). Di daerah pesisir di Semarang Utara, prevalensi askariasis pada anak balita berkisar antara 34-73%, dimana askariasis tersebut sudah mulai ditemukan pada anak usia 4 bulan, dan dalam usia 2 tahun hampir semua anak balita di daerah kumuh pernah terkena askariasis. Adapun prevalensi askariasis pada anak usia sekolah dasar di daerah tersebut berkisar antara 38-98% (Hestningsih 2004).

Angka-angka prevalensi penyakit askariasis tersebut menunjukkan bahwa kasus-kasus askariasis di dunia maupun di Indonesia masih tinggi. Infeksi cacing penyebab askariasis sendiri banyak menimbulkan kerugian bagi manusia, seperti menyebabkan obstruksi usus, berkurangnya nafsu makan, diare, dan konstipasi. Cacing dewasa juga dapat menyebabkan gangguan penyerapan nutrisi, terutama pada anak-anak yang dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan dan perkembangan anak (Laskey

2007). Untuk itu, penanganan yang tepat sangat dibutuhkan untuk mengobati dan membunuh cacing-cacing tersebut supaya mati.

Hingga saat ini, jenis obat-obatan yang digunakan untuk membunuh cacing dewasa dalam usus adalah mebendazole, pirantel pamoat, dan levamisole. Meskipun obat-obatan tersebut efektif, masih juga dilaporkan adanya efek samping obat, seperti diare, mual, muntah, sakit kepala, dan demam. Selain efek samping, beberapa obat juga dikontra-indikasikan bagi wanita hamil dan penderita sirosis hepatitis (Katzung 1998). Oleh karena itu, penggunaan bahan-bahan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan perlu dipertimbangkan sebagai obat cacing jika terbukti berpengaruh terhadap mortalitas cacing tersebut.

Telah banyak dilaporkan adanya beberapa jenis tanaman di Indonesia yang dapat digunakan sebagai antihelmintik, diantaranya tanaman putri malu dan ketepeng. Syahid (2009) meneliti efek antihelmintik ekstrak putri malu (*Mimosa pudica* Linn.) terhadap *Ascaris suum* Goeze secara in vitro. Kandungan bahan kimia dari ekstrak putri malu diantaranya mimosin, asam pikekolinat, tanin, alkaloid, dan saponin. Selain itu, putri malu juga mengandung triterpenoid, sterol, polifenol, dan flavonoid. Kandungan bahan-bahan kimia tersebut yang memiliki efek antihelmintik adalah mimosin dan tanin. Senyawa tanin memiliki kemampuan dalam mendenaturasi protein

yang menyebabkan protein pada permukaan tubuh cacing terdenaturasi, sehingga permukaan tubuh cacing menjadi tidak permeabel lagi terhadap zat di luar tubuh cacing.

Mimosin memiliki efek antihelmintik melalui mekanisme neurotoksik dengan cara menghambat asetilkolinesterase, sehingga terjadi penumpukan asetilkolin pada tubuh cacing yang menyebabkan cacing mati dalam kondisi kaku. Selanjutnya, Kuntari (2008) meneliti efek antihelmintik air rebusan daun ketepeng (*Cassia alata* L.) terhadap cacing tambang pada anjing secara *in vitro*. Daun *Cassia alata* diketahui mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan antraknon. Daya antihelmintik air rebusan daun ketepeng diduga disebabkan oleh adanya senyawa aktif saponin yang menghambat kerja kolinesterase, sehingga cacing akan mengalami paralisis spastik otot yang akhirnya dapat menimbulkan kematian. Berdasarkan laporan penelitian-penelitian tersebut maka dapat dilihat bahwa kandungan kimia yang bermanfaat sebagai antihelmintik adalah saponin, mimosin, dan tanin.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Medica et al. (2004) menyebutkan bahwa hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum americanum* L.) menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid/steroid. Meskipun daun kemangi memiliki kandungan kimia, seperti saponin dan tanin, dimana menurut teori dapat membunuh cacing, belum ada penelitian yang menyebutkan secara ilmiah bahwa daun kemangi berpotensi sebagai antihelmintik. Hal inilah yang membuat penulis tertarik untuk mengetahui efek antihelmintik yang dimiliki oleh tumbuhan kemangi yang juga mengandung tanin dan saponin.

Sebagai objek penelitian digunakan cacing *A. suum* (cacing gelang pada hewan) sebagai pengganti *Ascaris lumbricoides* Linn. (cacing gelang pada manusia), karena kesulitan untuk mendapatkan cacing *A. lumbricoides* dalam jumlah banyak. Secara morfologi, *A. suum* hampir sama dengan *A. lumbricoides*, dan *A. suum* juga dapat menginfeksi manusia meskipun tidak menimbulkan manifestasi klinis yang berarti (Laskey 2007; Miyazaki 1991).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara pemberian ekstrak etanol daun kemangi terhadap angka mortalitas *A. suum* secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasitologi Universitas Setia Budi, Surakarta pada tanggal 14 Agustus 2010 sampai 31 Agustus 2010. Ekstraksi daun kemangi dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM).

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi cawan petri berdiameter 15 cm, batang pengaduk kaca, pinset anatomis, gelas piala, gelas ukur, labu takar, stoples untuk menyimpan cacing, dan inkubator. Sementara itu,

bahan-bahan yang digunakan yaitu NaCl 0,9% (b/v), ekstrak daun kemangi, dan cacing *A. suum*.

Jenis penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian *the post-test with controlled group design*.

Subjek penelitian

Subjek penelitian atau hewan uji yang digunakan adalah *A. suum* yang masih aktif bergerak, diperoleh dari usus babi dari tempat penyembelihan "Radjakaja" Kotamadia Surakarta.

Teknik sampling

Penelitian ini menggunakan teknik *incidental sampling* dengan menyamakan jenis cacing dan tidak membedakan jenis kelamin cacing.

Cara kerja

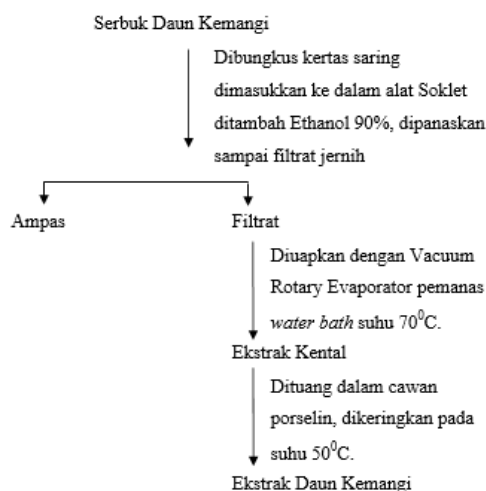
Pembuatan ekstrak daun kemangi

Pengambilan bahan. Daun kemangi didapat dari Pasar Beringharjo, Yogyakarta. Dipilih daun kemangi yang masih segar dan berwarna hijau, tetapi belum kering dan tidak busuk.

Pembuatan serbuk daun kemangi. Daun kemangi segera dicuci bersih pada air mengalir, tujuannya untuk menghilangkan kotoran yang melekat kemudian dikeringkan dalam lemari pengering pada suhu 45°C selama 24 jam sampai kering untuk mencegah terjadinya pembusukan oleh bakteri atau cendawan dan lebih mudah dihaluskan untuk diserbuk. Tanaman kemangi yang sudah kering kemudian diserbuk dengan mesin penyerbuk dengan saringan dengan diameter lubang saringan 1 mm.

Ekstraksi daun kemangi

Ekstraksi daun kemangi dilakukan dengan metode sokletasi dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:



Penghitungan konsentrasi larutan uji yang digunakan

Penghitungan konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah sebagai berikut :

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

Keterangan: V_1 = volume awal V_2 = volume akhir M_1 = konsentrasi awal M_2 = konsentrasi akhir

Pada uji pendahuluan, digunakan larutan ekstrak pada konsentrasi 20%, 30%, 40%, dan 50%.

Penentuan besar sampel

Penentuan besar sampel dihitung dengan rumus Federer (Arkeman dan David 2006) sebagai berikut:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

Keterangan:

n = besar sampel

t = jumlah kelompok perlakuan

Penentuan besar jumlah ulangan (replikasi)

Penentuan besar replikasi juga dihitung dengan rumus Federer sebagai berikut:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

Keterangan:

n = jumlah ulangan (replikasi)

t = jumlah kelompok perlakuan

Uji pendahuluan

Penetapan waktu hidup *A. suum* di luar tubuh babi (kontrol negatif). Cawan petri disiapkan, kemudian diisi dengan larutan garam fisiologis 25 mL dan dihangatkan terlebih dahulu pada suhu 37°C di dalam inkubator selama kurang lebih 15 menit. Ke dalam cawan petri dimasukkan *A. suum* sebanyak 5 ekor, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C. Untuk melihat cacing sudah mati atau masih hidup, cacing-cacing tersebut disentuh dengan pinset anatomis. Jika sudah tidak bergerak maka cacing dinyatakan mati. Pengamatan dilakukan setiap 2 jam sekali. Hasil waktu kematian yang diperoleh kemudian dicatat. Penelitian direplikasi sebanyak 2 kali. Lama waktu yang diperoleh ditetapkan sebagai waktu maksimal pengamatan penelitian efek antihelmintik ekstrak daun kemangi.

Pengamatan lama waktu hidup *A. suum* yang diberi perlakuan dengan pirantel pamoat 5 mg/mL (kontrol positif). Cawan petri disiapkan, kemudian diisi dengan larutan pirantel pamoat 25 mL dan dihangatkan terlebih dahulu pada suhu 37°C di dalam inkubator selama kurang lebih 15 menit. Ke dalam cawan petri dimasukkan *A. suum* sebanyak 5 ekor, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C. Untuk melihat cacing sudah mati atau masih hidup, cacing-cacing tersebut disentuh dengan pinset anatomis. Jika sudah tidak bergerak maka cacing dinyatakan mati. Pengamatan dilakukan setiap 2 jam sekali. Hasil waktu kematian yang diperoleh kemudian dicatat. Penelitian direplikasi sebanyak 2 kali. Lama waktu yang diperoleh ditetapkan sebagai kontrol positif.

Uji penelitian pendahuluan

Cawan petri disiapkan, kemudian masing-masing cawan diisi dengan larutan ekstrak etanol dengan konsentrasi 20%, 30%, 40%, dan 50% sebanyak 25 mL dan dihangatkan terlebih dahulu pada suhu 37°C di dalam inkubator selama kurang lebih 15 menit.

Ke dalam cawan petri dimasukkan *A. suum* sejumlah 5 ekor, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C. Untuk melihat cacing sudah mati atau masih hidup, cacing-cacing tersebut disentuh dengan pinset anatomis. Jika sudah tidak bergerak maka cacing dinyatakan mati. Pengamatan dilakukan setiap 2 jam sekali. Hasil yang diperoleh selanjutnya dicatat. Masing-masing larutan ekstrak daun kemangi dicatat persentase kematian cacingnya setiap 2 jam sekali. Kemudian dipilih ekstrak daun kemangi dengan konsentrasi terendah yang lama waktu kematian cacingnya tidak jauh dari lama waktu kematian kontrol positif. Konsentrasi tersebut digunakan sebagai konsentrasi terendah untuk melakukan uji penelitian berikutnya.

Uji penelitian akhir

Cawan petri disiapkan, kemudian masing-masing cawan diisi dengan larutan uji sebanyak 25 mL, dengan konsentrasi terendah yang diketahui setelah dilakukan uji pendahuluan, dan dihangatkan terlebih dahulu pada suhu 37°C di dalam inkubator selama kurang lebih 15 menit. Ke dalam masing-masing cawan petri dimasukkan *A. suum* sebanyak 5 ekor, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C. Untuk melihat cacing sudah mati atau masih hidup, cacing-cacing tersebut disentuh dengan pinset anatomis. Jika sudah tidak bergerak maka cacing dinyatakan mati. Pengamatan dilakukan setiap 2 jam sekali. Penelitian direplikasi sebanyak 6 kali. Hasil yang diperoleh selanjutnya dicatat.

Analisis data

Data yang didapat berupa waktu kematian cacing dianalisis secara statistik dengan analisis regresi linier dan analisis probit. Uji regresi linier menunjukkan hubungan antara 2 variabel numerik. Berbeda dengan uji korelasi, uji regresi linier berfungsi untuk memprediksi nilai variabel numerik dengan nilai variabel numerik yang lain. Variabel yang ingin diprediksi adalah variabel tergantung, sedangkan variabel yang diukur adalah variabel bebas (Sastroasmoro dan Ismael 2002). Sementara itu, analisis probit digunakan untuk mengetahui daya bunuh ekstrak daun kemangi terhadap *A. suum* yang dinyatakan dengan *lethal death time* (Matsumura 1975).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian pendahuluan sebagai kontrol negatif digunakan larutan NaCl 0,9% untuk mengetahui lama hidup cacing *A. suum* di luar tubuh babi sebagai hospes utamanya. Hasil uji pendahuluan pada Tabel 1 diketahui rata-rata cacing pada larutan NaCl 0,9% yaitu 96 jam. Hasil ini digunakan sebagai waktu maksimal pengujian larutan ekstrak. Adapun sebagai kontrol positif digunakan pirantel pamoat dengan konsentrasi 5 mg/mL. Absorpsi pirantel

pamoat melalui usus tidak baik dan sifat tersebut memperkuat efeknya yang selektif pada cacing. Oleh karena tidak diserap oleh usus maka tidak diketahui kadarnya dalam darah dan diekskresikan dalam tinja dan urin dalam bentuk utuh dan metabolitnya (Ganiswara 2007; Katzung 2004). Oleh karena itu, dalam penelitian ini digunakan konsentrasi 5 mg/mL dengan cara melarutkan 1 tablet pirantel pamoat dalam 50 mL larutan NaCl 0,9%.

Selain untuk mengetahui waktu maksimal pengujian larutan ekstrak, pada penelitian pendahuluan juga dilakukan perendaman cacing *A. suum* dalam beberapa konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi untuk mengetahui apakah daun kemangi memiliki efek antihelminik, dan juga lama waktu kematian cacing pada masing-masing konsentrasi. Konsentrasi yang digunakan adalah 20%, 30%, 40%, dan 50%.

Berdasarkan hasil uji pendahuluan dapat dilihat bahwa ekstrak etanol daun kemangi mempunyai efek antihelminik secara in vitro dan konsentrasi terendah yang memiliki waktu kematian cacing yang tidak terlalu jauh dari pirantel pamoat yaitu pada konsentrasi 30%. Konsentrasi tersebut digunakan sebagai konsentrasi awal pengujian pada uji penelitian akhir.

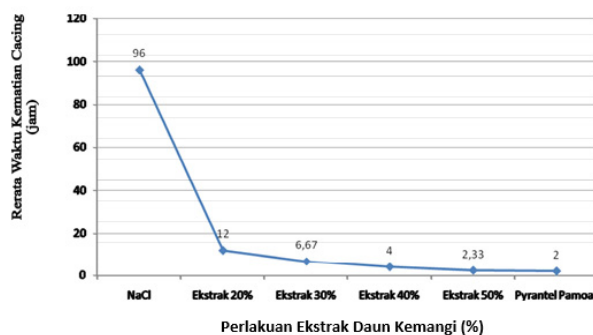
Pada uji tahap penelitian akhir, cacing gelang direndam pada serial konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi yang diperoleh pada uji tahap penelitian awal. Hasil uji tahap penelitian akhir ini digunakan untuk mengetahui LC₅₀ dan LC₉₀ ekstrak etanol daun kemangi. Dengan analisis Probit diperoleh hasil bahwa LC₅₀ dan LC₉₀ ekstrak etanol daun kemangi adalah 39,202% dan 60,610%. Artinya, pada konsentrasi 39,202%, ekstrak etanol daun kemangi dapat membunuh 50% cacing gelang uji.

Selanjutnya, analisis Probit dilakukan untuk membandingkan daya antihelminik ekstrak etanol daun kemangi 40%, yaitu konsentrasi yang paling mendekati LC₅₀, dengan pirantel pamoat 5 mg/mL sebagai *drug of choice* infeksi cacing gelang. Setelah dilakukan analisis Probit didapatkan bahwa LT₅₀ ekstrak etanol daun kemangi pada konsentrasi 40% adalah 2 jam. Hal ini berarti bahwa dalam waktu 2 jam, jumlah cacing gelang yang mati mencapai 50%. Angka tersebut jauh di atas nilai LT₅₀ pirantel pamoat 5 mg/mL yaitu 40 menit. Hal tersebut menunjukkan bahwa efektivitas ekstrak etanol daun kemangi sebagai antihelminik lebih rendah daripada efektivitas pirantel pamoat yang memang obat pilihan untuk infeksi cacing gelang, karena dalam waktu yang sama pirantel pamoat membunuh lebih banyak cacing dibandingkan ekstrak etanol daun kemangi.

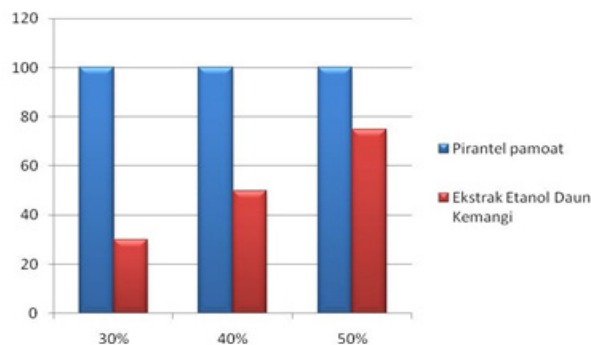
Untuk memprediksi lama kematian cacing dengan konsentrasi tertentu ekstrak etanol daun kemangi maka dilakukan uji statistik regresi linier dengan persamaan regresi sebagai berikut: $Y = 12,444 - 0,2X$, dimana Y = lama kematian cacing dan X = konsentrasi ekstrak daun kemangi.

Dari hasil penelitian terlihat bahwa ekstrak etanol daun kemangi memiliki efek antihelminik. Pada Gambar 1 terlihat pada konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi yang berbeda menunjukkan daya antihelminik yang berbeda pula, semakin tinggi konsentrasi maka waktu kematian cacing semakin cepat.

Hal ini sesuai dengan teori sebelumnya yang menyebutkan bahwa daun kemangi memiliki efek antihelminik. Efek antihelminik dari daun kemangi diduga dikarenakan kandungan zat aktif tanin dan saponin pada daun kemangi. Senyawa aktif saponin mempunyai efek menghambat kerja enzim kimotripsin, kolinesterase, dan preoteinase. Daya antihelminik ekstrak etanol daun kemangi diduga disebabkan oleh senyawa aktif saponin yang menghambat kerja kolinesterase, sehingga cacing akan mengalami paralisis spastik otot yang akhirnya dapat menimbulkan kematian. Adapun senyawa tanin yang memiliki kemampuan dalam mendenaturasi protein menyebabkan protein pada permukaan tubuh cacing terdenaturasi, sehingga permukaan tubuh cacing menjadi tidak permeabel lagi terhadap zat-zat di luar tubuh cacing (Brunet dan Hoste 2006; Iqbal et al. 2007; Cenci et al. 2007; Anthanasiadou et al. 2001).



Gambar 1. Grafik rerata waktu kematian cacing



Gambar 2. Persentase daya antihelminik ekstrak etanol daun kemangi dibanding pirantel pamoat.

Tabel 1. Lama kematian cacing pada kontrol negatif dan kontrol positif

Ulangan	Lama Kematian Cacing (jam)	
	NaCl 0,9%	Pirantel Pamoat 5 mg/mL
I	90	2
II	96	2
III	102	2
IV	96	2
Rerata	96	2

Tabel 2. Lama kematian cacing pada ekstrak etanol daun kemangi sebagai penelitian pendahuluan

Konsentrasi	Lama Kematian Cacing (jam)
20%	12
30%	6
40%	4
50%	2

Tabel 3. Lama kematian cacing pada ekstrak etanol daun kemangi sebagai penelitian akhir

Ulangan	Lama kematian Cacing (jam) ekstrak kemangi			Pirantel Pamoat 5 mg/mL
	30%	40%	50%	
I	8	6	4	2
II	6	4	2	2
III	6	4	2	2
IV	6	2	2	2
V	6	4	2	2
VI	8	4	2	2
Rerata	6.67	4	2.67	2

Tabel 4. Persentase daya antihelmintik ekstrak etanol daun kemangi dibandingkan pirantel pamoat

Perlakuan	Persentase daya antihelmintik (%)
Ekstrak 30%	29,98%
Ekstrak 40%	50,00%
Ekstrak 50%	74,90%

Tabel 5. Hasil uji statistik regresi linier

	Correlations	Lama kematian cacing	Konsentrasi
Pearson Correlation	Lama kematian cacing	1,000	0,837
	Konsentrasi	0,837	1,000
Sig. (1-tailed)	Lama kematian cacing	0,000	0,000
	Konsentrasi	0,000	0,000
N	Lama kematian cacing	18	18
	Konsentrasi	18	18

Tabel 6. Hasil analisis Probit LC50 ekstrak daun kemangi terhadap cacing *Ascaris suum* secara in vitro

Persentase kematian (%)	Konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi	Batas bawah (%)	Batas atas (%)
10	17,795	7,452	23,447
30	30,443	25,301	33,585
50	39,202	36,524	41,742
70	47,962	45,014	52,639
90	60,610	55,233	70,406

Tabel 7. Hasil analisis Probit untuk mengetahui LT50 ekstrak etanol daun kemangi 40%

Persentase kematian (%)	Waktu (Jam)	Batas bawah (%)	Batas atas (%)
10	0,608	-	1,327
30	1,431	0,185	1,934
50	2,001	1,250	2,433
70	2,571	2,107	3,140
90	3,394	2,897	4,608

Tabel 8. Hasil analisis Probit untuk mengetahui LT50 obat pirantel pamoat 5 mg/mL

Persentase kematian (%)	Waktu (Jam)	Batas bawah (%)	Batas atas (%)
10	0,350	-	0,585
30	0,536	0,026	0,720
50	0,665	0,291	0,823
70	0,795	0,539	0,944
90	0,981	0,824	1,192

Meskipun efek antihelmintik ekstrak etanol daun kemangi lebih rendah daripada pirantel pamoat, bukan berarti ekstrak etanol daun kemangi tidak efektif digunakan sebagai obat cacing. Pada Tabel 4 dan Gambar 2 diketahui bahwa perbandingan daya antihelmintik ekstrak etanol daun kemangi pada berbagai konsentrasi dengan pirantel pamoat sebagai kontrol positif. Pada konsentrasi 50%, ekstrak etanol daun kemangi memiliki daya antihelmintik 75% dibandingkan pirantel pamoat. Dengan efektivitas tersebut, ekstrak etanol daun kemangi memiliki peluang tinggi untuk dikembangkan menjadi preparat obat antihelmintik, khususnya pada askariasis, karena efek samping yang terdapat dalam pirantel pamoat, seperti gangguan pencernaan, demam, dan sakit kepala mungkin tidak diperoleh pada penggunaan ekstrak etanol daun kemangi sebagai obat cacing. Selain itu, penggunaan pirantel pamoat pada wanita hamil dan anak usia di bawah 2 tahun tidak dianjurkan dan masih dalam kontroversi. Beberapa kekurangan pirantel pamoat yang tidak ada dalam ekstrak etanol daun kemangi tersebut, menjadi alasan kuat penelitian ini untuk dapat dikembangkan lebih jauh.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum americanum* L.) dapat mempengaruhi kematian *Ascaris suum* Goeze secara in vitro pada konsentrasi yang telah ditentukan. LC50 ekstrak etanol daun kemangi adalah 40%, dan LT50 dari konsentrasi ekstrak 40% adalah 2 jam.

DAFTAR PUSTAKA

- Athanasiadou S, Kyriazakis I, Jackson F. 2001. Direct anthelmintic effects of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: In vitro and in vivo studies. *Vet Parasitol* 99(3): 219-205.
- Arkeman, David. 2006. Concepts of altered health states. *Phatophysiology*. Edisi ke-6. Lippincott Williams and Winkins, Philadelphia.
- Brunet S, Hoste H. 2006. Monomers of condensed tannins affect the larval exsheathment of parasitic nematodes of ruminants. *J Agric Food Chem* 54 (20): 7487-7481.
- Cenci FB, Louvandini H, McManus CM et al. 2007. Effects of condensed tannin from *Acacia mearnsii* on sheep infected naturally with gastrointestinal helminthes. *Vet Parasitol* 144 (1-2): 137-132.
- Chin J. 2006. Pemberantasan manual penyakit menular. CV Info Medika, Jakarta.
- Ganiswara SG. 2007. Farmakologi dan terapi. 5th edition. Gaya Baru, Jakarta.
- Hestningsih. 2004. Identifikasi jenis cacing perut pada anak usia balita di Daerah ROB Kecamatan Semarang Utara, Kotamadya Semarang. Universitas Diponegoro, Semarang. [27 Februari 2004].
- Iqbal Z, Sarwar M, Jabbar A et al. 2007. Direct and indirect anthelmintic effects of condensed tannins in sheep. *Vet Parasitol* 144 (1-2): 131-125.
- Katzung BG. 1998. Farmakologi dasar dan klinik. EGC, Jakarta.
- Kuntari T. 2008. Daya antihelminthik air rebusan daun ketepeng. *Jurnal Logika* 5: 8-2.
- Laskey A. 2007. *Ascaris lumbricoides*. dokterfoto.com. [2 Maret 2009].
- Matsumura F. 1975. Toxicology of test management. Planum Press, New York.
- Medica V, Ruslan W, Nawawi A. 2004. Telaah fitokima daun kemangi (*Ocimum americanum* L). [Skripsi]. Fakultas Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Miyazaki I. 1991. Helminthic zoonoses. International Medical Foundation of Japan, Tokyo.
- Pohan HT. 2006. Penyakit cacing yang ditularkan melalui tanah in buku ajar ilmu penyakit dalam. Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Sastroasmoro S, Ismael S. 2002. Dasar-dasar metodologi penelitian klinis. CV Sagung Seto, Jakarta.
- Syahid MAN. 2009. Pengaruh Ekstrak Putri Malu (*Mimosa pudica*, Linn) terhadap Mortalitas *Ascaris suum*, Goeze In Vitro. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Efek antipiretik ekstrak daun pare (*Momordica charantia*) pada tikus putih jantan

The antipyretic effect of bitter melon (*Momordica charantia*) leaf in male white mice

ELLY FAUZIAH ERMAWATI, SAMIGUN, ENDANG SRI HADJANTI

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

Manuskrip diterima: 17 April 2010. Revisi disetujui: 25 Agustus 2010.

Abstract. Ermawati EF, Samigun, Hadjanti ES. 2011. The antipyretic effect of bitter melon (*Momordica charantia*) leaf in male white mice. *Biofarmasi* 9: 7-11. The potential of antipyretic effect of flavonoid in bitter melon (*Momordica charantia* L.) leaf is one of the traditional medicines that people used. This research aimed to determine the antipyretic effect of the extract of bitter melon leaf in male white mice. This experimental research was arranged as a post-test only controlled group design. Thirty Wistar furrow white mice with 2 months of ages and 100 gram in body weight were used as an animal model. Those mice were grouped equally into five groups, consisted of negative control group (2 ml water), positive control group (6.3 mg paracetamol/100 g body weight of mice/2 ml water), the first dose of the extract of bitter melon leaf (0.756 mg/100 g body weight of mice/2 ml water), the second dose of extract (1.512 mg/100 g body weight mice/2 ml water) and the third dose of extract (2.268 mg/100 g body weight mice/2 ml water). The measurement of mice temperature was conducted before and 2 hours after treated by DPT vaccine, and every 30 minutes post-treatment until 180 minutes. The result of this research was analyzed by using Anova statistical test and post-hoc test. The result of Anova statistical test showed significant differences among groups of variance, but there was no significant difference among times of variance. The result of post-hoc test showed the significant differences between negative control group, positive control group and the extract of bitter melon leaf group. This research concluded that there was an antipyretic effect in the extract of bitter melon leaf in male white mice, but the effect was lower than paracetamol effect.

Keywords: Antipyretic, bitter melon leaf extract, *Momordica charantia*

PENDAHULUAN

Sesuai dengan sifat alamiahnya, manusia selalu berusaha mencukupi kebutuhannya dengan memanfaatkan segala sesuatu yang ada di sekitarnya, termasuk untuk kebutuhan pangan dan obat-obatan (Mursito 2002). Sejak ribuan tahun yang lalu, pengobatan tradisional sudah ada di Indonesia jauh sebelum pelayanan kesehatan formal dengan obat-obatan modern dikenal masyarakat. Pengobatan tradisional dengan memanfaatkan tumbuhan berkhasiat obat merupakan pengobatan yang diakui oleh masyarakat dunia dan menandakan kesadaran 'kembali ke alam' (*back to nature*) untuk mencapai kesehatan yang optimal dan mengatasi berbagai penyakit secara alami (Wijayakusuma 2001).

Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat tradisional masih dilakukan oleh masyarakat di Indonesia, terutama di daerah pedesaan yang masih kaya dengan keanekaragaman jenis tumbuhan (Saumantera 2004). Ada beberapa manfaat yang dapat diambil dari penggunaan obat tradisional, diantaranya harganya yang relatif murah, kemudahan dalam mendapatkan bahan baku, bahkan tanaman obat dapat ditanam sendiri di halaman rumah, serta efek samping yang ditimbulkan obat tradisional relatif kecil sehingga aman digunakan (Susanty 2003). Obat tradisional Indonesia masih belum banyak diteliti, khususnya yang berasal dari bahan tumbuhan (Azwar 1992).

Pare dikenal dengan rasanya yang pahit. Rasa pahit dari pare tidak mengurangi khasiat yang dikandungnya sebagai obat untuk berbagai jenis penyakit. Daun pare (*Momordica charantia* L.) dapat digunakan sebagai obat penurun panas atau antipiretik. Selain itu, daun pare juga dapat digunakan untuk menyembuhkan diare pada bayi, membersihkan darah bagi wanita yang baru melahirkan, mengeluarkan cacing kremi, dan dapat menyembuhkan batuk (Sudarsono dan Subagus 2002). Daun pare digunakan oleh sebagian masyarakat sebagai penurun panas dengan cara ditumbuk kemudian ditambahkan air dan disaring lalu diminum pada pagi hari sebelum makan (Dalimartha 2008).

Daun pare mengandung vitamin A, vitamin B, vitamin C, saponin, flavonoid, steroid/triterpenoid, asam fenolat, alkaloid, dan karotenoid (Tati 2004). Flavonoid menunjukkan lebih dari seratus macam bioaktivitas. Bioaktivitas yang ditunjukkan antara lain efek antipiretik, analgetik, dan antiinflamasi (Wijayakusuma 2001). Flavonoid dapat menghambat siklooksigenase, sehingga diduga efek antipiretik disebabkan karena adanya aktivitas penghambatan dari siklooksigenase yang merupakan langkah pertama pada jalur menuju eikosanoid seperti prostaglandin dan tromboksan (Robinson 1991). Pengambilan zat kimia pada daun pare diantaranya dapat dilakukan dengan ekstraksi. Maserasi merupakan proses ekstraksi dimana obat yang sudah halus direndam dalam *menstruum* sampai meresap dan melunakkan susunan sel,

sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut sehingga didapatkan ekstrak daun pare (Howard 1989).

Demam atau pireksia merupakan gejala dari suatu penyakit. Penyakit infeksi, seperti demam berdarah, tifus, malaria, dan peradangan hati, merupakan beberapa contoh jenis penyakit yang sering mempunyai gejala demam. Dampak negatif demam antara lain mengakibatkan dehidrasi, kekurangan oksigen, kerusakan saraf, serta rasa tidak nyaman seperti sakit kepala, nafsu makan menurun (anoreksia), lemas, dan nyeri otot. Untuk mengurangi dampak negatif tersebut, demam dapat diobati dengan antipiretik (Arifianto dan Hariadi 2007). Antipiretik atau analgetik non-opioid merupakan salah satu obat yang secara luas paling banyak digunakan (Brune dan Santoso 1991).

Obat yang biasa digunakan untuk menurunkan demam adalah parasetamol dan asetosal. Sekitar 175 juta tablet parasetamol dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia setiap tahunnya ketika gejala demam muncul, karena cukup aman, mudah didapat, dan harganya terjangkau. Beberapa hasil penelitian tentang parasetamol akhir-akhir ini menemukan bahwa meskipun cukup aman, parasetamol memiliki banyak efek samping (Sajuthi 2003; Ant 2003). Selain itu, ada kemungkinan kemiripan struktur parasetamol dengan flavonoid (Robinson 1991). Golongan terbesar flavonoid berciri mempunyai cincin piran yang menghubungkan rantai tiga karbon dengan salah satu cincin benzene, dimana efek parasetamol tersebut ditimbulkan oleh gugus aminobenzena (Freddy 2007). Berdasarkan uraian tersebut, daun pare yang mengandung flavonoid diharapkan mempunyai efek antipiretik yang berperan sebagai penurun panas.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antipiretik ekstrak daun pare (*Momordica charantia* L.) pada tikus putih jantan, serta efektivitas antipiretik ekstrak daun pare dibandingkan parasetamol pada tikus putih jantan.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kandang tikus, timbangan hewan, spuit pencekok/oral 3 ml, beaker glass, termometer digital, dan stopwatch. Sementara itu, bahan-bahan yang digunakan yaitu daun pare, kapas steril, vaksin DPT 0,2 cc, akuades, parasetamol, dan alkohol.

Subjek penelitian

Tanaman pare diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM, Yogyakarta. Daun pare yang diekstrak adalah daun yang semuruh yaitu daun yang masih muda dan segar, terletak di pucuk pohon, dan diambil 5-6 lembar tiap pucuk pohonnya.

Hewan uji

Hewan uji yang digunakan berupa tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar dengan umur kurang lebih 2 bulan dan berat badan kira-kira 100 g sebanyak 30 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri atas 6 ekor tikus putih yang dipilih secara acak.

Jenis penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium *post-test only control group design*.

Cara kerja

Pembuatan ekstrak daun pare

Ekstrak daun pare dibuat dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% dan hasilnya berupa ekstrak kental. Ekstrak kental berwujud liat pada kondisi dingin dan tidak dapat dituang, dengan kandungan airnya sekitar 30% (Voigt 1994).

Langkah penelitian

Tikus putih jantan dipuasakan terlebih dahulu selama ± 6 jam setelah diadaptasikan selama 3 hari di tempat penelitian. Kemudian tikus putih jantan sebanyak 30 ekor dikelompokkan menjadi 5 kelompok secara acak, masing-masing kelompok terdiri atas 6 ekor tikus putih jantan. Kelima kelompok perlakuan tersebut sebagai berikut: (i) K1: Kelompok pertama (kontrol negatif), diberikan 2 ml air. (ii) K2: Kelompok kedua (kontrol positif), diberikan 6,3 mg parasetamol/100 g BB tikus putih/2 ml air. (iii) K3: Kelompok ketiga, diberikan dosis 1 ekstrak daun pare 0,756 mg/100 g BB tikus putih/2 ml air. (iv) K4: Kelompok keempat, diberikan dosis 2 ekstrak daun pare 1,512 mg/100 g BB tikus putih/2 ml air. (v) K5: Kelompok kelima, diberikan dosis 3 ekstrak daun pare 2,268 mg/100 g BB tikus putih/2 ml air.

Sebelum diberi perlakuan, tiap-tiap ekor tikus putih jantan diukur suhu rektal sebelum disuntik dengan vaksin (U1) dan 2 jam setelah disuntik dengan vaksin DPT (U2), untuk mengetahui derajat peningkatan suhu tubuh setelah penyuntikan vaksin. Tikus putih jantan disuntik dengan vaksin DPT 0,2 mL secara intramuskular di bagian paha. Dua jam setelah pemberian vaksin, masing-masing kelompok diberi perlakuan ekstrak daun pare secara oral dalam bentuk larutan. Tiga puluh menit setelah perlakuan, suhu rektal diukur kembali sampai percobaan pada menit ke-180 dengan interval 30 menit.

Penentuan dosis ekstrak daun pare

Volume cairan maksimal yang dapat diberikan per oral pada tikus putih adalah 5 ml/100 g BB (Imono dan Nurlaila 1986). Jadi dalam memperkirakan dosis ekstrak daun pare tidak boleh melebihi 5 ml/100 g BB. Takaran daun pare yang biasa digunakan adalah 6 gram.

Faktor konversi dosis untuk manusia dengan berat badan 70 kg pada tikus putih dengan berat badan 200 g adalah 0,018. Adapun berat rata-rata orang Indonesia adalah ± 50 kg (Imono dan Nurlaila 1986).

Dengan demikian, dosis daun pare untuk tikus adalah:

$$\begin{aligned}
 &= (6 \times 1000 \text{ mg} \times 70/50 \times 0,018)/200 \text{ g BB} \\
 &= 151,2 \text{ mg}/200 \text{ g BB} \\
 &= 75,6 \text{ mg}/100 \text{ g BB}
 \end{aligned}$$

Berdasarkan informasi dari LPPT UGM Yogyakarta, persentase daun pare segar ke ekstrak daun pare dengan kandungan yang sama adalah sebesar 2%.

$$\begin{aligned}
 &\text{Dosis ekstrak untuk tikus putih jantan yaitu:} \\
 &= (75,6 \times 2\%) / 100 \text{ g BB} = 1,512 \text{ mg}/100 \text{ g BB}/2 \text{ ml} \\
 &\text{Dosis I} = 0,756 \text{ mg ekstrak}/100 \text{ g BB}/2 \text{ ml} \\
 &\text{Dosis II} = 1,512 \text{ mg ekstrak}/100 \text{ g BB}/2 \text{ ml} \\
 &\text{Dosis III} = 2,268 \text{ mg ekstrak}/100 \text{ g BB}/2 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Pembuatan ekstrak daun pare:

Pembuatan larutan CMC Na 1% sebagai pelarut:

1 g CMC Na

100 ml air

Pembuatan larutan stok konsentrasi 1%:

= 1 g ekstrak

100 ml pelarut

= 1000 mg ekstrak

100 ml pelarut

Misalnya berat tikus putih: A g BB

Dosis I = $0,756 \text{ mg}/100 \text{ g BB} \times A \text{ g BB} = B \text{ mg}$

$$\text{Volume} = \frac{\text{Massa}}{\text{Konsentrasi}}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{B \text{ mg}}{1000 \text{ mg}/100 \text{ mL air}} \\
 &\text{C mL @ tambahkan air sampai } 2 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

Penentuan dosis parasetamol

Dosis parasetamol yang biasanya dikonsumsi orang dewasa adalah 500 mg. Jadi, dosis parasetamol yang diberikan pada tikus putih jantan dengan BB 100 g = $(500 \text{ mg} \times 70/50 \times 0,018)/200 \text{ g BB} = 12,6 \text{ mg}/200 \text{ g BB} = 6,3 \text{ mg}/100 \text{ g BB}/2 \text{ ml}$ dengan suspensi CMC-Na 1%.

Analisis data

Data yang diperoleh dari penelitian dianalisis secara statistik dengan uji *Anova* dan uji *post-hoc*. Uji *Anova* adalah uji untuk membandingkan perbedaan *mean* lebih dari dua kelompok, sedangkan uji *post-hoc* adalah uji untuk membandingkan perbedaan *mean* antara dua kelompok dengan nilai $\alpha=0,5$ (Murti 1994).

HASIL DAN PEMBAHASAN

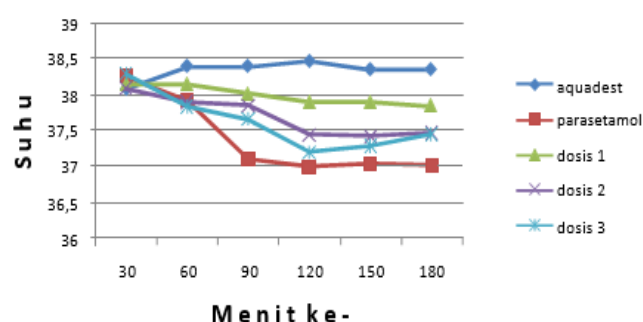
Rata-rata suhu rektal pada kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1. Pada kelompok perlakuan parasetamol, dosis 2, dan dosis 3, dari beberapa titik waktu perlakuan menunjukkan penurunan suhu yang lebih besar dibandingkan perlakuan pada kelompok perlakuan akuades dan dosis 1 (Gambar 2). Pada gambar tersebut juga terlihat bahwa titik optimal penurunan suhu rektal tikus pada kelompok perlakuan dosis 2 dan dosis 3 ekstrak daun pare

terjadi pada rentang waktu antara 90 sampai 120 menit, sedangkan pada kelompok perlakuan parasetamol, titik optimal penurunan suhu terjadi pada rentang waktu 60 sampai 90 menit. Sementara itu, untuk mengetahui ada tidaknya penurunan suhu, dilakukan perhitungan Δt yang dihitung dari suhu setelah penyuntikan vaksin DPT dikurangi dengan suhu setelah pemberian perlakuan pada titik waktu tertentu.

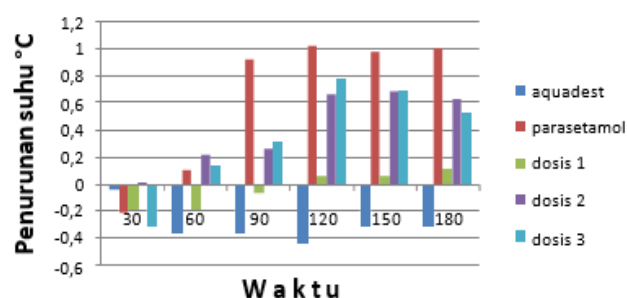
Dari hasil analisis dapat diketahui bahwa antar kelompok dosis mempunyai nilai $p < 0,05$. Hal ini mengandung makna bahwa dalam kelompok perlakuan atau dosis terdapat minimal satu kelompok yang mengalami penurunan suhu yang berbeda secara signifikan. Adapun pada antar kelompok waktu memiliki nilai $p > 0,05$. Hal ini mengandung makna bahwa tidak ada perbedaan penurunan suhu yang signifikan di antara kelompok waktu.

Setelah dilakukan uji *Anova*, dilanjutkan dengan uji *post-hoc*. Uji tersebut dilakukan untuk membandingkan antar kelompok perlakuan. Oleh karena hanya antar kelompok dosis yang mempunyai perbedaan secara signifikan, hanya kelompok tersebut yang akan dilakukan uji *post-hoc*.

Hasil perhitungan statistik uji *post-hoc* sumber variasi kelompok perlakuan dengan taraf signifikansi 5% menunjukkan bahwa perbandingan antar kelompok perlakuan akuades dengan parasetamol, dosis 2, dan dosis 3 ekstrak daun pare; parasetamol dengan dosis 1 ekstrak daun pare; dosis 1 dengan dosis 2 dan dosis 3 ekstrak daun pare menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dan H_0 ditolak. Hal ini berarti terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok yang dibandingkan, artinya terdapat pengaruh antipiretik (penurunan suhu) yang signifikan antar kelompok yang dibandingkan.



Gambar 1. Rata-rata suhu rektal tikus



Gambar 2. Penurunan suhu rata-rata kelompok perlakuan

Sementara itu, antara kelompok akuades dengan dosis 1 ekstrak daun pare; parasetamol dengan dosis 2 dan dosis 3 ekstrak daun pare; dosis 2 dan dosis 3 ekstrak daun pare menunjukkan hasil yang tidak signifikan ($p>0,05$) dan H_0 diterima. Hal ini berarti dari kelompok tersebut tidak terdapat perbedaan pengaruh antipiretik yang signifikan, sehingga dapat dikatakan besar pengaruh antipiretiknya sebanding.

Hasil pengukuran suhu rektal pada Tabel 1 menunjukkan adanya variasi suhu rata-rata pada tiap-tiap kelompok setelah diberikan perlakuan. Tinggi rendahnya kenaikan suhu menunjukkan derajat demam yang dialami oleh masing-masing tikus. Semakin tinggi kenaikan suhu berarti semakin tinggi derajat demam yang dialami tikus, demikian juga sebaliknya. Jika setelah perlakuan terjadi penurunan suhu rektal tikus, berarti demam mulai turun, dengan kata lain efek antipiretiknya meningkat.

Penurunan suhu rata-rata tikus putih jantan bervariasi meskipun terdapat dalam satu kelompok yang sama, hal ini dapat dilihat dalam Tabel 1 dan 2. Variasi tersebut kemudian dianalisis untuk mengetahui ada tidaknya penurunan yang signifikan sebagai respons terhadap perlakuan.

Penurunan suhu yang bervariasi tersebut diduga disebabkan oleh faktor endogen masing-masing tikus putih jantan yang bersifat individual terhadap agen penyebab demam dan banyak dipengaruhi oleh beberapa faktor non fisik dan lingkungan. Adanya stres pada tikus akibat perlakuan dalam pengukuran suhu rektal yang berulang-ulang merupakan salah satu faktor pengganggu yang menyebabkan kenaikan suhu tikus. Menurut Aiache (1993), variasi suhu hasil pengukuran dapat dimengerti karena terdapat keragaman kepekaan setiap hewan uji yang merupakan akibat dari perbedaan biologis, yaitu ketersediaan hayati dan perubahan hayati suatu obat. Nasib obat, dalam hal ini pemberian ekstrak daun pare dan

parasetamol sebagai kontrol positif, dapat dipengaruhi oleh faktor patologis yang dapat menyebabkan pengaruh obat menurun atau meningkat. Penurunan efek obat diduga merupakan konsekuensi dari penyerapan yang tidak baik pada saluran pencernaan, pembuluh darah, atau peningkatan ekskresi melalui ginjal.

Tabel 2 menunjukkan penurunan suhu rektal rata-rata dari kelima kelompok perlakuan. Pada pengukuran suhu 30 menit pertama, kelompok perlakuan sebagian besar masih menunjukkan kenaikan suhu. Hal ini diduga akibat efek antipiretik pada kelompok perlakuan belum bekerja, atau efek pirogen dari vaksin DPT yang masih bekerja lebih dominan. Efek antipiretik sudah mulai terlihat pada menit ke-60, tetapi tidak untuk kelompok perlakuan akuades dan dosis 1 yang masih menunjukkan kenaikan suhu. Pada kelompok perlakuan parasetamol, penurunan suhu mulai tampak pada menit ke-60 dan penurunan suhu terbesar terjadi pada menit ke-90. Hal ini diduga diakibatkan oleh kadar puncak parasetamol dalam plasma darah dicapai dalam waktu 60-90 menit. Adapun dosis 2 dan dosis 3 keduanya sama-sama mencapai penurunan suhu terbesar pada menit ke-120.

Dari hasil uji *Anova* didapatkan hasil, dimana pada sumber variasi kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang signifikan. Setelah dilakukan uji *Anova*, dilanjutkan dengan uji *post-hoc* untuk mengetahui kelompok-kelompok perlakuan yang mengalami penurunan suhu yang berbeda secara signifikan. Hasil uji *post-hoc* pada Tabel 5 menunjukkan berbagai perbandingan pada masing-masing perlakuan. Meskipun kelompok dosis 1 sudah dianggap mempunyai efek antipiretik, namun apabila dibandingkan dengan parasetamol berbeda secara signifikan. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa efek antipiretik dosis 1 sangat lemah, sedangkan kelompok uji dosis 2 dan dosis 3 tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan parasetamol.

Tabel 1. Pengukuran rata-rata suhu rektal tikus setelah perlakuan

Kelompok perlakuan	Suhu rektal tikus (°C) pada menit ke-					
	30'	60'	90'	120'	150'	180'
Akuades (K1)	38,08	38,40	38,40	38,48	38,35	38,35
Parasetamol (K2)	38,25	37,66	37,11	37,01	37,05	37,03
Dosis 1 (K3)	38,16	38,16	38,03	37,91	37,91	37,85
Dosis 2 (K4)	38,10	37,91	37,75	37,51	37,43	37,48
Dosis 3 (K5)	38,30	37,78	37,60	37,35	37,30	37,46

Keterangan: K1 = Kelompok kontrol negatif (akuades) per oral 2 ml, K2 = kelompok kontrol positif (parasetamol) 6,3 mg/100 g BB/2 ml per oral, K3 = kelompok ekstrak daun pare dosis 1 (0,756 mg ekstrak/100 g BB/2 ml), K4 = kelompok ekstrak daun pare dosis 2 (1,512 mg ekstrak/100 g BB/2 ml), K5 = kelompok ekstrak daun pare dosis 3 (2,268 mg ekstrak/100 g BB/2 ml).

Tabel 2. Rata-rata penurunan suhu rektal tikus dari kelima kelompok perlakuan

Dosis	Rata-rata penurunan suhu rektal tikus (°C) pada menit ke-					
	30'	60'	90'	120'	150'	180'
Akuades	-0,05	-0,37	-0,37	-0,45	-0,32	-0,32
Parasetamol	-0,22	0,10	0,92	1,02	0,98	1,00
Dosis 1	-0,20	-0,20	-0,07	0,05	0,05	0,11
Dosis 2	0,01	0,21	0,25	0,66	0,68	0,63
Dosis 3	-0,32	0,13	0,31	0,77	0,68	0,52

Namun dilihat dari Gambar 1, efek antipiretik ekstrak daun pare dosis 2 dan 3 masih lebih rendah dibanding parasetamol. Hal ini diduga akibat zat antipiretik dalam parasetamol lebih tinggi jika dibandingkan dengan pada kelompok uji, atau dapat disebabkan karena ekstrak daun pare tidak hanya mengandung flavonoid saja yang mempunyai efek antipiretik, tetapi juga mengandung zat-zat lain (saponin, alkaloid) yang diduga dapat mengganggu interaksi flavonoid dengan reseptornya. Faktor lain yang diduga berpengaruh adalah kandungan flavonoid yang tersari pada ekstrak daun pare yang digunakan belum optimal, atau dapat juga akibat dosis kelompok uji kurang tinggi sehingga tidak menimbulkan efek antipiretik yang optimal.

Dosis 2 merupakan dosis maksimal untuk tikus, sedangkan dosis 1 dan dosis 3 masing-masing 0,5 x dosis 2 dan 1,5 x dosis 2. Oleh karena efek antipiretik berbeda secara signifikan pada dosis 2 dan dosis 3 maka untuk menimbulkan efek antipiretik diperlukan paling tidak 1x dosis yang biasa digunakan pada manusia. Dosis 2 dan dosis 3 tidak berbeda secara signifikan, dengan demikian dosis yang dianggap efektif untuk menurunkan demam adalah dosis yang paling kecil, yaitu dosis 2 (1,512 mg/100 g BB tikus). Hal ini diduga karena dosis 2 sudah merupakan dosis dengan konsentrasi tertinggi yang dapat berikatan dengan reseptor, sehingga pada dosis yang lebih besar, ikatan pada reseptor yang bersangkutan sudah melewati titik jenuh, yang pada akhirnya tidak memberikan efek antipiretik yang lebih baik daripada dosis optimal.

Efek antipiretik bahan uji yang melebihi efek antipiretik parasetamol juga ditemukan pada penelitian sebelumnya. Penelitian yang dilakukan oleh Sari (2005) mendapatkan hasil efek antipiretik air perasan buah nanas (*Ananas comusus*) yang lebih baik dari parasetamol. Hal ini diduga disebabkan karena dalam buah nanas terdapat komponen aktif (enzim bromelin, steroid, dan flavonoid) yang menghambat penginduksi demam (prostaglandin) dan komponen lain yang menunjang efek antipiretiknya serta kadar airnya yang tinggi untuk menghindari dehidrasi.

Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Maftuhah (2005) dengan menggunakan ekstrak buah pare mendapatkan hasil yang sama dengan penelitian ini, yaitu efek antipiretiknya masih lebih rendah dibanding parasetamol. Hal ini diduga dikarenakan penggunaan flavonoid yang belum optimal dan dosis kelompok uji yang kurang tinggi.

KESIMPULAN

Ekstrak daun pare (*Momordica charantia* L.) mempunyai efek antipiretik, namun lebih rendah dibanding parasetamol.

DAFTAR PUSTAKA

- Aiache JM. 1993. Farmasetika 2. Airlangga University Press, Surabaya.
- Ant. 2003. Masyarakat Indonesia Konsumsi 2.1 milyar Panadol. www.investorindonesia.com. [4 September 2009].
- Arifianto, Hariadi, Nurul I. 2007. Demam. www.prodia.co.id. [4 September 2009].
- Azwar A. 1992. Antropologi Kesehatan Indonesia Jilid I Pengobatan Tradisional. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Brune, Santoso B. 1991. Antypiretik analgesics, *New insight*. Gadjah Mada University, Yogyakarta.
- Dalimartha S. 2008. Atlas tumbuhan obat Indonesia, Jilid 5. Pustaka Bunda, Jakarta.
- Freddy IW. 2007. Analgesik, antipiretik, antiinflamasi nonsteroid dan obat pirai. Farmakologi dan Terapi, Edisi ke-5. Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Howard C. 1989. Pengantar bentuk sediaan farmasi. Penerbit UI Press, Jakarta.
- Imono AD, Nurlaila. 1986. Obat tradisional dan fitoterapi uji toksikologi. Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Maftuhah A. 2005. Uji Efek Antipiretik Ekstrak Buah Pare (*Momordicae fructus*) pada Tikus Putih Jantan. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Mursito B. 2002. Ramuan tradisional untuk penyakit malaria. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Murti B. 1994. Penerapan metode statistik nonparametrik dalam ilmu kesehatan. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Robinson T. 1991. Kandungan organik tumbuhan tinggi. Edisi ke-6. Penerbit ITB Press, Bandung.
- Sajuthi D. 2003. Efek antipiretik ekstrak cacing tanah. www.kompas.com. [4 September 2009].
- Sari M. 2005. Efek Antipiretik Air Perasan Buah Nanas (*Ananas comusus*). [Skripsi]. Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Saumantera IW. 2004. Pemanfaatan obat penurun panas oleh masyarakat Angkah, Tabanan Bali. Prosiding Seminar Nasional XXV: Tumbuhan Obat Indonesia. Pokjanas, Tawangmangu.
- Sударsono DG, Subagus W. 2002. Tumbuhan obat II. Hasil Penelitian, Sifat-sifat dan Penggunaan. Penerbit PSOT UGM, Yogyakarta.
- Susanty DW. 2003. Cara bijak menggunakan obat herbal. Meditek Majalah Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana Vol. 11, No. 29, Agustus-Desember 2003. Universitas Kristen Krida Wacana, Jakarta.
- Tati S. 2004. Khasiat dan manfaat pare, si pahit pembasmi penyakit. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Voigt R. 1994. Buku pelajaran teknologi farmasi. Penerbit UGM Press, Yogyakarta.
- Wijayakusuma H. 2001. Penyembuhan dengan bawang putih dan bawang merah. Penerbit Milenia Populer, Jakarta.

Pengaruh ekstrak herba anting-anting (*Acalypha australis*) terhadap kadar glukosa darah mencit Balb/C dengan induksi Streptozotocin

Effect of herbal extract of anting-anting (*Acalypha australis*) on blood glucose level of Balb/C mice with induction of Streptozotocin

RIZKY OCKTARINI, DIDING HERI PRASETYO, IPOP SJARIFAH

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

Manuskrip diterima: 9 Agustus 2010. Revisi disetujui: 19 November 2010.

Abstract. Ocktarini R, Prasetyo DH, Sjarifah I. 2011. Effect of herbal extract of anting-anting (*Acalypha australis*) on blood glucose level of Balb/C mice with induction of Streptozotocin. *Biofarmasi* 9: 12-16. This study was conducted to determine the effect of herbal extract of anting-anting (*Acalypha australis* L.) on the decrease of blood glucose level of Balb/C mice induced with Streptozotocin. This research was an experimental laboratory with pre and post-test control group design, conducted in Laboratory of Biochemistry and Histology, Faculty of Medicine, Sebelas Maret University, Surakarta. The test animals used were 16 male mice, about 4-6 weeks of age with approximately 20-30 grams induced with Streptozotocin in 0.02 M citric buffer solution, and a dose of 65 mg/kg body weight. Furthermore, the mice were divided into two groups (Metformin in a dose of 1.3 mg/mice/day and herbal extract of anting-anting 1000 mg/kg BB/day) randomly, each group consisted of 8 mice. All mice were observed for GDS level after 14 days treatment period. The data obtained was processed by using the Independent-Samples T-test statistical test (unpaired t-test) with SPSS for Microsoft Windows Release 18.0. Mean of decreased GDS levels on Metformin group vs herbal extract of anting-anting (145.87 mg/dl vs 144.62 mg/dl, $p=0.965$). The treatment of herbal extract of anting-anting in a dose of 1000 mg/kg body weight/day could decrease blood glucose level of Balb/C mice induced with Streptozotocin that equal with Metformin.

Keywords: *Acalypha australis*, anting-anting, blood glucose level, Streptozotocin

PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus (DM) merupakan suatu penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia kronis yang terjadi akibat kelainan sekresi insulin, defek kinerja insulin, atau kedua (American Diabetes Association 2008), juga dapat disertai dengan berbagai kelainan metabolik akibat gangguan hormonal yang menimbulkan berbagai komplikasi kronik pada mata, ginjal, saraf, dan pembuluh darah (Arif et al. 2001). Menurut data WHO, Indonesia menempati urutan ke-4 terbesar dalam jumlah penderita DM di dunia. Pada tahun 2006 diperkirakan jumlah penderita diabetes di Indonesia meningkat tajam menjadi 14 juta orang, dimana baru 50% penderita yang sadar mengidapnya dan diantara mereka baru sekitar 30% yang melakukan pengobatan secara teratur.

Pola makan modern seperti sekarang ini yang tidak sehat, disertai dengan intensitas konsumsi makanan yang tinggi dan stres yang menekan sepanjang hari, membuat kadar glukosa darah sangat sulit dikendalikan. Pada penderita DM akan terjadi peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia) akibat glukosa yang diserap dari makanan oleh usus yang kemudian masuk ke dalam darah, tidak dapat dipindahkan ke dalam sel otot, ginjal, dan adiposit, serta tidak dapat diubah menjadi glikogen dan lemak. Kondisi tersebut terjadi akibat adanya kekurangan sekresi dan/atau kerja insulin serta *glucose carrier* (pengangkut glukosa ke dalam sel), sehingga banyak

glukosa yang tertimbun dalam darah atau terjadi hiperglikemia (Santoso 2001).

Sejauh ini, tindakan preventif yang paling penting adalah konsumsi diet dengan komposisi seimbang berupa karbohidrat (60-70%), protein (10-15%), dan lemak (20-25%). Kalori disesuaikan dengan pertumbuhan, status gizi, usia, stres, dan kegiatan fisik untuk mencapai berat badan ideal (Arif et al. 2001). Jika pengaturan diet (minimal selama 3 bulan) dan kegiatan fisik sudah dilakukan secara teratur, namun kadar glukosa darah masih belum membaik maka dapat dipertimbangkan pemakaian obat antidiabetika oral (Tjay dan Rahardja 2002).

Penggunaan obat alami dalam masyarakat mulai berkembang pada dekade terakhir karena efek samping yang hampir tidak ada jika digunakan secara benar. Hal ini diduga disebabkan karena tanaman obat bersifat kompleks dan organis yang sesuai untuk tubuh yang juga bersifat kompleks dan organis, sehingga tanaman obat dapat disetarakan dengan makanan, suatu bahan yang dikonsumsi dengan tujuan untuk merekonstruksi organ atau sistem tubuh yang rusak.

Penelitian mengenai khasiat ekstrak tanaman anting-anting masih jarang dilakukan. Namun, dilihat dari potensi zat-zat yang terkandung dalam tanaman anting-anting dapat digunakan untuk mengontrol DM dan dipercaya memiliki lebih sedikit efek samping dan lebih murah jika dibandingkan dengan obat kimiawi meskipun masih terdapat beberapa kandungan zat aktifnya yang belum

diketahui. Herba anting-anting merupakan tumbuhan liar yang banyak terdapat di negara tropis. Di Indonesia, jenis tanaman ini dapat ditemukan dengan mudah di tepi-tepi jalan, kebun, sungai, ataupun pekarangan rumah (Ketut 2010).

Menurut Duke (2009), herba anting-anting memiliki berbagai kandungan bahan aktif, seperti *acalyphamide*, *aurantiamide*, *acalyphine*, *beta-sitosterol-beta-d-glucoside*, *calcium oxalate*, *gamma-sitosterol-acetate*, HCN, *quebrachitol*, *succinimid*, *tannin*, dan *triacetonamine*. Zat-zat kimia yang terkandung dalam herba anting-anting ini memiliki berbagai efek farmakologi, diantaranya efek antidiabetik, efek hipoglikemik, dan efek antioksidan yang diduga dapat dimanfaatkan untuk menurunkan kadar glukosa darah yang tinggi, sehingga dapat digunakan menjadi terapi DM. Namun, kandungannya sebagai terapi DM belum banyak diketahui dan dimanfaatkan.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak herba anting-anting (*Acalypha australis* L.) dalam menurunkan kadar glukosa darah Mencit Balb/C dengan induksi Streptozotocin.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia dan Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta.

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kandang hewan uji beserta perlengkapannya untuk pemberian pakan dan minum, gelas ukur, labu ukur, spuit injeksi *tuberculin*, sonde mencit, *blood glucose stick meter* GlucoDrTM, dan timbangan elektrik. Sementara itu, bahan-bahan yang digunakan yaitu Streptozotocin (STZ), ekstrak anting-anting, akuades, Metformin, *Broiler I*, dan *buffer* sitrat.

Jenis penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian *pre and post-test control group design*.

Subjek penelitian

Subjek dalam penelitian ini yaitu mencit Balb/C jantan, dalam kondisi sehat dan mempunyai aktivitas normal, belum kawin, berumur kira-kira 4-6 minggu dengan berat badan kira-kira 20-30 gram. Mencit diperoleh dari UD. Wistar, Dadapan, Yogyakarta.

Teknik sampling

Pengambilan sampel dilakukan secara *purposive sampling*, setelah itu dilakukan induksi STZ dan pengukuran kadar GDS mencit dengan kadar GDS <200 mg/dl dipisahkan (*exclude*), kemudian dilanjutkan *simple random sampling* untuk membagi subjek menjadi dua kelompok, yaitu: (i) Kelompok I: diberi Metformin dengan

dosis 1,3 mg/mencit/hari. (ii) Kelompok II: diberi ekstrak herba anting-anting dosis 1000 mg/kg BB/hari.

Besar sampel

Jumlah sampel ditentukan dengan menggunakan rumus sampel tidak berpasangan, dengan perhitungan sebagai berikut:

$$n = 2 \left[\frac{(Z_{\alpha} \times s)}{d} \right]^2$$

Keterangan:

Z_{α} = 1,960 (merupakan suatu ketetapan)

s = simpangan baku pada kedua kelompok

d = tingkat ketepatan absolut dari beda rerata

Oleh karena insidensi belum diketahui maka nilai s dianggap sama dengan nilai d .

Banyaknya sampel yang diperlukan, menurut rumus sampel tidak berpasangan yaitu:

$$\begin{aligned} n &= 2 \times (1,960)^2 \\ &= 2 \times 3,8416 \\ &= \pm 8 \end{aligned}$$

Jumlah sampel lebih kurang sama dengan 8 ekor mencit tiap kelompok. Dalam penelitian ini, setiap kelompok terdiri dari 8 ekor mencit, sehingga banyaknya sampel telah memenuhi.

Hewan uji dengan induksi Streptozotocin

Mencit Balb/C diadaptasikan terlebih dahulu selama satu minggu. Untuk menginduksi peningkatan glukosa darah, mencit dipuasakan selama 12-24 jam kemudian diinjeksi dengan STZ yang diencerkan dalam *citrate buffer* (100 mM asam sitrat dan 100 mM Na-sitrat pada pH 4,5) dengan dosis 65 mg/kg BB secara intraperitoneal (IP). Hanya mencit dengan kadar glukosa darah ≥ 200 mg/dl yang digunakan dalam penelitian ini.

Cara kerja

Kandang mencit disiapkan. Mencit diadaptasikan dengan lingkungan selama ± 3 hari. Mencit sebanyak 16 ekor diukur kadar GDS kemudian dicatat sebagai kadar GDS awal. Selanjutnya dilakukan induksi STZ dengan dosis 65 mg/kg BB yang dilakukan dua kali dengan selang waktu induksi lima hari, kemudian diukur GDS ± 2 hari setelah dilakukan induksi STZ. Mencit dengan kadar GDS <200 mg/dl dipisahkan (*exclude*) selanjutnya dikelompokkan secara *simple random sampling* menjadi dua kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 8 ekor mencit.

Kelompok 1 diberi diet standar dan diberi Metformin dosis 1,3 mg/kg BB/hari (Rao dan Nammi 2006). Kelompok 2 diberi diet standar dan diberi ekstrak anting-anting dengan dosis 1000 mg/mencit secara per oral setiap hari. Pemeriksaan glukosa darah untuk menilai penurunan kadar GDS mencit dilakukan pada hari kelima belas, satu hari setelah akhir penelitian yang dilakukan sekitar 14 hari perlakuan.

Penentuan dosis

Streptozotocin (STZ)

Induksi dilakukan dengan pemberian STZ secara intraperitoneal dalam 0,15 M NaCl dan 100 mM *buffer* sitrat pH 4,5 (Nakhaee 2009). Penelitian yang dilakukan oleh Arora et al. (2009) dengan menggunakan dosis tunggal STZ 180 mg/kg BB dapat menginduksi DM tipe I, sedangkan dosis STZ 40 mg/kg BB yang diberikan selama 5 hari berturut-turut dapat menyebabkan DM tipe II. Pada penelitian lain juga digunakan dosis tunggal STZ 240 mg/kg BB, dapat menginduksi DM tipe I pada mencit (Nacci et al. 2009).

Pada penelitian ini digunakan STZ sebanyak 500 mg yang dilarutkan dalam 50 ml *buffer* sitrat 0,02 M, sehingga 1 ml larutan mengandung 10 mg STZ. Dosis STZ yang digunakan tidak mengacu pada penelitian yang telah ada, namun peneliti menggunakan dosis 65 mg/kg BB yang diberikan dua kali dengan selang waktu 5 hari. Apabila berat mencit rata-rata adalah 30 gram maka dibutuhkan 1,95 mg STZ untuk setiap ekor mencit. Jika 1 ml larutan mengandung 10 mg STZ maka induksi secara intraperitoneal memerlukan 0,195 ml larutan.

Metformin

Berdasarkan tabel konversi perhitungan dosis untuk berbagai hewan uji dari berbagai spesies dan manusia maka konversi dosis manusia dengan berat badan 70 kg pada mencit dengan berat badan 20 g adalah 0,0026 (Ngatidjan 1991). Dosis Metformin yang digunakan untuk orang dewasa adalah 500 mg/hari, dengan demikian perhitungan dosis untuk mencit 20 gram adalah (500 mg x 0,0026), sehingga tiap mencit diberikan Metformin sebanyak 1,3 mg/mencit/hari. Oleh karena pemberian Metformin dilakukan secara per oral maka perlu dilakukan pelarutan, yaitu 26 mg Metformin dilarutkan dalam 2 ml akuades. Apabila dosis tiap mencit adalah 1,3 mg maka volume Metformin yang diberikan adalah 0,1 ml tiap mencit setiap hari.

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan program *Statistical Products and Service Solutions* (SPSS) for Windows Release 18.0 (Morgan et al. 2001) dan $p < 0,05$ dipilih sebagai tingkat minimal signifikansinya. Oleh karena kelompok yang akan diuji sebanyak dua kelompok maka digunakan uji statistik *Independent-Samples T-test* dengan syarat yaitu data yang dimiliki terdistribusi normal (Sopiyudin 2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian

Pengukuran kadar GDS dilakukan pada awal penelitian, setelah diinduksi dengan STZ, setelah hewan uji dikelompokkan, dan 14 hari setelah diberi perlakuan ekstrak herba anting-anting. Dari hasil pengukuran tersebut diperoleh rerata kadar GDS normal sebesar 147,75 mg/dl, setelah diinduksi STZ, rerata GDS meningkat menjadi 226,78 mg/dl. Hewan uji tersebut kemudian dibagi menjadi

kelompok Metformin dengan rerata kadar GDS sebelum perlakuan sebesar 273,5 mg/dl dan kelompok ekstrak herba anting-anting sebelum perlakuan sebesar 250,88 mg/dl. Setelah diberi perlakuan ekstrak herba anting-anting, kadar GDS mengalami penurunan, masing-masing sebesar 145,87 mg/dl untuk kelompok Metformin dan 144,62 mg/dl untuk kelompok ekstrak herba anting-anting.

Pada penelitian ini, pengaruh ekstrak herba anting-anting terhadap kadar glukosa darah mencit Balb/C yang diinduksi dengan Streptozotocin tersebut didapatkan rata-rata kadar GDS mencit Balb/C sebelum diberi perlakuan sebesar $147,75 \pm 14,21$ mg/dl. Setelah dilakukan induksi STZ dosis 65 mg/kg BB yang diberikan dua kali dalam selang waktu 5 hari dalam larutan *buffer* sitrat, kemudian dua hari kemudian dilakukan pengukuran kadar GDS, mencit dengan kadar GDS < 200 mg/dl dipisahkan (*exclude*).

Dari pengukuran kadar GDS tersebut didapat rerata peningkatan kadar GDS pada 16 ekor hewan uji sebesar $226,78 \pm 49,28$ mg/dl. Setelah itu dilakukan pengambilan sampel secara *simple random sampling* untuk membagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok perlakuan Metformin dan ekstrak herba anting-anting. Dapat hasil yang diperoleh dapat diketahui bahwa rerata awal kadar GDS kelompok Metformin sebesar $273,50 \pm 54,03$ mg/dl, sedangkan kelompok ekstrak herba anting-anting sebesar $250,88 \pm 64,43$ mg/dl. Selanjutnya, kedua kelompok tersebut diberi Metformin dosis 1,3 mg/mencit/hari dan ekstrak herba anting-anting dosis 1000 mg/kg BB/hari secara per oral yang diberikan dengan teknik sonde. Dari Tabel 1 dapat dilihat di atas selisih kadar GDS setelah diberi perlakuan dan sebelum perlakuan. Tiap-tiap kelompok perlakuan mengalami perubahan kadar GDS setelah diberi perlakuan.

Untuk melihat tingkat perubahan kadar GDS maka pada penelitian ini dilakukan analisis data menggunakan uji statistik *Independent-Samples T-Test* (uji-t), karena penelitian ini merupakan penelitian dengan variabel numerik dengan dua kelompok perlakuan yang berbeda. Uji-t dapat dilakukan jika data yang diperoleh memenuhi syarat uji-t, yaitu data terdistribusi normal dengan varians data dapat sama atau berbeda. Jika syarat tersebut terpenuhi maka dapat dilakukan uji-t menggunakan program *SPSS for Windows Release 18.0* dan $p < 0,05$ dipilih sebagai tingkat minimal signifikansi.

Berdasarkan uji normalitas Shapiro-Wilk, karena jumlah sampel kurang dari 50, didapatkan nilai signifikansi untuk selisih kadar GDS dari masing-masing kelompok sebesar $p = 0,58$ untuk kelompok Metformin dan $p = 0,29$ untuk kelompok perlakuan ekstrak herba anting-anting, sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa distribusi kedua kelompok tersebut adalah normal. Oleh karena nilai $p > 0,05$ maka dapat ditarik kesimpulan bahwa syarat uji-t terpenuhi, sehingga uji-t dapat dilakukan. Selanjutnya dilakukan interpretasi uji-t, pada kotak *Levene's test* (uji hipotesis yang digunakan untuk menguji varians) dengan nilai signifikansi = 0,697, sehingga data dari kedua kelompok adalah sama (Tabel 2).

Kesamaan varians tidak menjadi syarat mutlak, sehingga tidak akan berpengaruh pada analisis statistik

dengan uji-t. Tetapi, oleh karena varians dari kedua kelompok adalah sama maka untuk melihat hasil uji-t, homogenitas harus diperhitungkan, sehingga digunakan hasil pada baris pertama (*equal variances assumed*). Angka signifikansi pada baris pertama adalah 0,965 dengan perbedaan rerata (*mean difference*) sebesar -1,25, nilai Interval Kepercayaan (IK) 95% adalah antara -60,86 sampai 58,36. Pada nilai Interval Kepercayaan tersebut tidak tercakup nilai 0 (nol), sehingga nilai yang didapatkan tidak signifikan secara statistik. Oleh karena nilai $p > 0,05$ maka dapat disimpulkan tidak terdapat perbedaan rerata kadar GDS yang signifikan secara statistik pada kelompok perlakuan Metformin dosis 1,3 mg/mencit/hari dan kelompok perlakuan ekstrak herba anting-anting dosis 1000 mg/kg BB/hari.

Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak herba anting-anting terhadap kadar glukosa darah sewaktu mencit Balb/C diinduksi dengan Streptozotocin. Sampel penelitian ini yaitu mencit Balb/C jantan usia 4-6 minggu yang diinduksi dengan STZ untuk meningkatkan kadar GDS, karena bersifat selektif dalam merusak sel β -pankreas (Pathak et al. 2008). Streptozotocin bekerja langsung pada sel β -pankreas, dengan aksi sitotoksiknya yang dimediasi oleh *reactive oxygen species* (ROS), sehingga dapat digunakan sebagai induksi DM. Streptozotocin masuk ke sel β -pankreas melalui *glucose transporter* (GLUT2) dan akan menyebabkan alkilasi DNA. Alkilasi atau masuknya gugus metil dari STZ ke dalam molekul DNA tersebut akan menyebabkan kerusakan fragmentasi DNA (Elsner et al. 2000). Pemberian STZ dengan dosis 65 mg/kg BB sebanyak dua kali dalam selang waktu lima hari dapat menginduksi terjadinya DM tipe 1 pada mencit Balb/C yang digunakan pada penelitian ini.

Fungsi kerja STZ salah satunya juga dipengaruhi oleh pengenceran dan penyimpanan. Streptozotocin murni bersifat basa, setelah diencerkan dengan *buffer* sitrat maka sifatnya berubah menjadi asam dengan pH berkisar antara 3,5-4,5. Setelah dilakukan pengenceran maka STZ harus disimpan dalam pendingin (2-8°C) dan dijauhkan dari cahaya matahari. Apabila disimpan dalam suhu kamar maka STZ harus segera digunakan dalam waktu 12 jam (Akbarzadeh et al. 2007). Metformin sebagai obat antidiabetik dipilih sebagai terapi pembanding ekstrak herba anting-anting, karena daya kerja Metformin mampu menurunkan produksi dan penyerapan glukosa, sehingga menyebabkan fluktuasi gula darah menjadi lebih kecil dan nilai rata-ratanya menurun (Tjay dan Rahardja 2002).

Penurunan kadar GDS diduga kuat disebabkan oleh komponen farmakologis herba anting-anting yang berupa *fiber* dan asam askorbat yang memiliki efek antidiabetik dan β -sitosterol- β -D-glucoside dengan efek hipoglikemik. Kedua efek tersebut dapat menurunkan kadar glukosa darah dan menurunkan risiko terjadinya stres oksidatif pada sel dan jaringan, sehingga diharapkan herba anting-anting dapat dikembangkan sebagai fitofarmaka terapi alternatif bagi DM.



Gambar 1. Rerata penurunan kadar GDS (*pre-test*)-(post-test) kelompok perlakuan Metformin dan ekstrak herba anting-anting.

Tabel 1. Rerata penurunan kadar glukosa darah sewaktu

Kelompok	Penurunan kadar GDS
Metformin	145,87 $\pm$ 50,22
Ekstrak herba anting-anting	144,62 $\pm$ 60,48

Tabel 2. Hasil uji normalitas dan uji-t

Variabel	<i>p</i>
Kelompok metformin vs ekstrak herba anting-anting	0,965

Berdasarkan hasil penelitian, mekanisme kerja herba anting-anting diduga kuat serupa dengan Metformin, yaitu melalui stimulasi sel β -pankreas yang masih berfungsi untuk meningkatkan pelepasan insulin, sehingga dapat digunakan sebagai pilihan terapi pada DM tipe 2, dimana sel-sel β masih bekerja cukup aktif. Pada penelitian ini, pemberian ekstrak herba anting-anting dapat menurunkan kadar GDS mencit dengan DM tipe 1, hal ini diduga karena pada kondisi ini sel β -pankreas yang berfungsi masih cukup, sehingga produksi insulin belum terlalu terganggu. Kerusakan tersebut dapat menjadi lebih parah dengan penambahan waktu penelitian, karena luasnya komplikasi pada DM berkorelasi dengan konsentrasi glukosa darah, sehingga glukosa berlebih diduga menjadi penyebab utama kerusakan jaringan (Rahbani-Nobar 1999). Fenomena tersebut dapat disebabkan oleh kemampuan hiperglikemia secara *in vivo* dalam modifikasi oksidatif berbagai substrat. Selain itu, hiperglikemia juga terlibat dalam proses pembentukan radikal bebas (Droge 2002). Hiperglikemia yang terjadi pada DM menyebabkan auto-oksidasi glukosa, glikasi protein, dan aktivasi jalur metabolisme poliol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif. Pembentukan senyawa oksigen reaktif tersebut dapat meningkatkan modifikasi lipid, DNA, dan protein pada berbagai jaringan (Ueno 2002). Modifikasi molekuler pada berbagai jaringan tersebut mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan protektif (pertahanan antioksidan) dan peningkatan produksi radikal bebas yang berakhir pada kerusakan oksidatif. Seperti terlihat pada hasil penelitian D'Avila-Esqueda and Martinez-Morales

(2004) bahwa selama empat minggu setelah induksi STZ 65 mg/kg BB mencit tetap mengalami hiperglikemi. Sepanjang penelitian ini dilakukan dapat terlihat kondisi yang semakin memburuk dengan memantau kadar GDS, kadar kolesterol total, dan kreatinin klirens selama 24 jam.

Dalam penelitian ini, terdapat beberapa kekurangan dan keterbatasan, antara lain dosis efektif yang dibutuhkan untuk mendapatkan hasil yang optimal belum diketahui. Waktu penelitian yang kurang lama, sehingga sel β -pankreas belum sepenuhnya mengalami kerusakan.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak herba anting-anting (*Acalypha australis* L.) dosis 1000 mg/kg BB/hari selama dua minggu mampu menurunkan kadar GDS mencit Balb/C sebanding dengan Metformin.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbarzadeh A, Norouzian D, Mehrabi MR et al. 2007. Induction of diabetes by Streptozotocin in rats. *Indian J Clin Biochem* 22(2): 60-64.
- American Diabetes Association. 2008. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 31 (1).
- Arif M, Kuspuji T, Rakhmi S et al. 2001. Kapita selekta kedokteran. Edisi ke-3. Media Aesculapius, Jakarta.
- Arora S, Ojha SK, Vohora D. 2009. Characterisation of Streptozotocin induced diabetes mellitus in Swiss albino mice. *Global J Pharmacol* 3(2): 81-84.
- D'ávila-Esqueda ME, Martínez-Morales F. 2004. Pentoxifylline diminishes the oxidative damage to renal tissue induced by Streptozotocin in the rat. *Exp Diabetes Res* 5: 245-251.
- Duke JA. 2009. List of chemicals of *Acalypha australis* L. Phytochemical and ethnobotanical databases. sun.ars-grin.gov. [27 Februari 2010].
- Droge W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 82: 47-95.
- Elsner M, Guldbakke B, Tiedge M et al. 2000. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of Streptozotocin. *Diabetologia* 43: 1528-1533.
- Ketut. 2010. Tanaman obat Indonesia. www.iptek.net.id. [25 Maret 2010].
- Morgan GA, Griego OV, Gloeckner GW. 2001. SPSS for Windows: An introduction to use and interpretation in research. L Erlbaum Associates, Mahwah NJ.
- Nacci C, Tarquinio M, de Benedictis L et al. 2009. Endothelial dysfunction in mice with Streptozotocin-induced Type 1 diabetes is opposed by compensatory overexpression of cyclooxygenase-2 in the vasculature. *Endocrinology* 150(2): 849-861.
- Nakhaee A, Bokaeian M, Savarani M. 2009. Attenuation of oxidative stress in Streptozotocin-induced diabetes rats by *Eucalyptus globulus*. *Indian J Clin Biochem* 24(4): 419-425.
- Ngatidjan. 1991. Petunjuk laboratorium metode laboratorium dalam toksikologi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Pathak S, Dorfmueller HC, Borodkin VS et al. 2008. Chemical dissection of the link between Streptozotocin, O-GlcNAc, and pancreatic cell death. *Chem Biol* 15(8): 799-807.
- Rao NK, Nammi S. 2006. Antidiabetic and renoprotective effects of the chloroform extract of *Terminalia chebula* Retz seeds in Streptozotocin-induced diabetic rats. *BMC Complement Altern Med* 6: 17.
- Rahbani-Nobar ME, Rahimi-Pour A, Rahbani-Nobar M et al. 1999. Total antioxidant capacity, superoxide dismutase and glutathione peroxidase in diabetic patients. *Med J Islamic World Acad Sci* 12(4):109-114.
- Santoso BI. 2001. Fisiologi manusia: Dari sel ke sistem. EGC, Jakarta.
- Sopiyudin MD. 2008. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan. PT. ARKANS Entertainment and Education in Harmony, Jakarta.
- Ueno Y, Kizaki M, Nakagiri R et al. 2002. Dietary glutathione protects rats from diabetic nephropathy and neuropathy. *J Nutr* 32: 897-900.
- Tjay TH, Rahardja K. 2002. Obat-obat penting, penggunaan, dan efek-efek sampingnya. Edisi ke-6. Elex Media Komputindo Jakarta.

Penambahan ekstrak jahe dalam pembuatan susu kedelai bubuk instan dengan metode *spray drying*: Komposisi kimia, sifat sensoris, dan aktivitas antioksidan

The addition of ginger extract in making soymilk powder by spray drying method: Chemical constituents, sensory characteristic and antioxidant activity

DIKA PRAMITASARI, R. BASKORO KATRI ANANDHITO, GUSTI FAUZA

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

Manuskrip diterima: 19 September 2010. Revisi disetujui: 21 Desember 2010.

Abstract. *Pramitasari D, Anandhito RBK, Fauza G. 2011. The addition of ginger extract in making soymilk powder by spray drying method: Chemical constituents, sensory characteristic and antioxidant activity. Biofarmasi 9: 17-25.* Soybean has better nutritional contents than other legumes. Soybean is appropriate to produce soymilk due to the protein contents which similar to cow milk. However, soymilk has an unpleasant beany flavor taste which less favored by consumers. This study aimed to determine the effect of ginger extract adding on soy milk powder which produced by a spray dryer method regarding to chemical characteristics, antioxidant activity, and the consumer acceptance of product. This research used a Completely Randomized Design (CRD) with three different concentrations of ginger extract treatments. The treatments were consisted of the ginger extract concentration by 0% (P1 as control), 2% (P2) and 3% (P3). The chemical characteristics were proximate analysis (AOAC), antioxidant activity (DPPH) and sensory characteristic (hedonic quality test). The statistical analysis used was ANOVA method at $\alpha=5\%$ and followed by Duncan's Multiple Range Test. The result showed that moisture, ash, and fat content of product were not significantly different from P1, but the protein content and the antioxidant activity were significantly increasing due to the addition of ginger extract. The lowest antioxidant activity was P1, while the highest was P3. The sensory test result showed that the product with the highest overall preferences was P3.

Keywords: Antioxidant activity, ginger extract, soymilk, spray dryer

PENDAHULUAN

Kacang-kacangan dan biji-bijian, seperti kedelai, kacang tanah, biji kecipir, dan koro, merupakan bahan pangan sumber protein dan lemak nabati yang sangat penting peranannya dalam kehidupan. Dibandingkan dengan beras, jagung, tepung singkong, kacang hijau, daging, ikan segar, dan telur ayam, kedelai mempunyai kandungan protein yang lebih tinggi, hampir menyamai kadar protein susu skim kering (Koswara 1992).

Susu kedelai merupakan minuman yang bergizi tinggi, terutama karena kandungan proteinnya. Kedelai mengandung protein sekitar 35%, bahkan pada varietas unggul, kadar proteinnya dapat mencapai 40-43% (Margono et al. 2000). Selain itu, susu kedelai juga mengandung lemak, karbohidrat, kalsium, fosfor, zat besi, provitamin A, vitamin B kompleks (kecuali B12), dan air.

Kualitas protein susu kedelai sekitar 80% dari susu sapi, tetapi tidak mengandung kolesterol dan tidak menyebabkan alergi, sehingga sesuai untuk dikonsumsi oleh penderita *lactose intolerance*. Hanya saja, susu kedelai memiliki cita rasa langu (*beany flavour*), sehingga kurang disukai oleh sebagian konsumen. Rasa langu tersebut dapat diatasi dengan teknologi pengolahan yang tepat dan penggunaan varietas kedelai yang sesuai, yaitu kedelai berbiji kuning, berkadar protein tinggi, serta

intensitas langunya rendah. Menurut Santoso (1994), selain beberapa hal yang telah disebutkan tersebut, cita rasa langu susu kedelai dapat disamarkan dengan penambahan *essence*, seperti vanili, pandan, cokelat, *mocca*, kayu manis, dan jahe.

Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) merupakan salah satu tanaman temu-temuan yang tergolong tanaman apotek hidup. Menurut Rukmana (2004), jahe dipercaya secara tradisional dapat menghilangkan masuk angin, mengurangi atau mencegah influenza, rematik, dan batuk, serta mengurangi rasa sakit (analgesik) dan bengkak (antiinflamasi).

Menurut Ariviani (1999), jahe memiliki berbagai kandungan zat yang diperlukan oleh tubuh. Beberapa kandungan zat yang terdapat pada jahe diantaranya minyak atsiri (0,5-5,6%), zingiberon, zingiberin, zingibetol, barneol, kamfer, folandren, sineol, gingerin, vitamin (A, B1, dan C), karbohidrat (20-60%), damar (resin), serta asam-asam organik (malat, oksalat). Selain sebagai antimikroba, jahe juga memiliki kemampuan sebagai antioksidan (Uhl 2000). Hal tersebut yang melatarbelakangi penambahan serbuk jahe pada susu kedelai. Susu kedelai dengan penambahan ekstrak jahe tidak hanya menambah cita rasa dan aroma, akan tetapi juga dapat meningkatkan kandungan antioksidan pada susu kedelai. Namun perlu diperhatikan dosis penambahan

ekstrak jahe pada susu kedelai. Hal ini dikarenakan jahe memiliki rasa pedas yang kuat, sehingga dapat mempengaruhi aroma serta cita rasa dari susu kedelai tersebut.

Mengingat umur simpan susu kedelai tidak bertahan lama maka dapat dilakukan proses pengeringan pada susu kedelai. Proses tersebut adalah dengan menggunakan teknologi *spray drying* pada proses pengeringannya, sehingga susu kedelai tersebut menjadi susu kedelai bubuk. Proses pengeringan (*drying*) merupakan usaha untuk menghilangkan sebagian kandungan air dalam suatu materi, dengan begitu massanya akan berkurang, dan jika digunakan pada industri makanan, produk yang dihasilkan dari proses *drying* akan lebih awet/tahan lama, karena bakteri yang membutuhkan air untuk hidup menjadi tidak mungkin berkembang biak pada makanan. Produk dengan masa simpan yang lebih lama akan mempunyai nilai ekonomis yang lebih tinggi.

Keunggulan dari proses *spray drying* adalah dapat menghasilkan produk yang bermutu tinggi, tingkat kerusakan gizi yang rendah, serta perubahan warna, bau, dan rasa yang dapat diminimalisasi. Selain itu, menurut Suwedo-Hadiwiyoto (1983), penggunaan *spray dryer* akan lebih menguntungkan dibandingkan dengan penggunaan *drum dryer* karena *spray dryer* menghasilkan partikel susu yang lebih halus, sehingga sangat mudah larut dalam air dingin dan tidak meninggalkan ampas.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui komposisi kimia susu kedelai bubuk instan yang dihasilkan dengan proses *spray drying*, menentukan konsentrasi yang tepat dalam penambahan ekstrak jahe pada susu kedelai berdasarkan penerimaan konsumen melalui uji sensoris kesukaan, serta mengetahui aktivitas antioksidan yang terkandung pada susu kedelai dengan penambahan serbuk instan jahe.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Rekayasa Proses Pengolahan Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Surakarta dan Laboratorium Teknologi II Fakultas Teknologi Pangan, Universitas Gadjah Mada pada bulan April sampai Juni 2010.

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan pada pembuatan susu kedelai meliputi baskom, saringan, blender, gelas ukur, timbangan, termometer, panci, kompor, dan *spray dryer*. Adapun alat yang digunakan untuk pembuatan ekstrak jahe meliputi pisau, *cabinet dryer*, blender, ayakan 80 mesh, dan saringan. Alat untuk analisis kadar air dan kadar abu adalah seperangkat alat metode termogravimetri dan seperangkat alat pengabuan. Alat untuk analisis kadar protein adalah serangkaian alat metode Kjeldahl dan neraca analitik. Alat untuk uji kadar lemak adalah seperangkat alat metode Soxhlet. Alat untuk uji kandungan antioksidan dan uji

sensori yaitu seperangkat alat metode DPPH, borang, dan gelas sloki.

Sementara itu, bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi kacang kedelai impor, jahe emprit yang tidak rusak/busuk dan tidak kisut, gula, dan garam yang diperoleh dari pasar tradisional di Surakarta, serta maltodekstrin 10%. Pada analisis protein digunakan larutan HCl 0,02 N, H₂SO₄, HgO, larutan NaOH-Na₂S₂O₃, K₂SO₄, Na₂B₄O₇·10H₂O, H₃BO₃, indikator (campuran 2 bagian metil merah 0,2% dalam alkohol dan 1 bagian metilen blue 0,2% dalam alkohol), dan akuades. Bahan yang digunakan dalam analisis kadar lemak adalah petroleum eter. Adapun bahan yang digunakan untuk analisis kandungan antioksidan dengan metode DPPH yaitu metanol, akuades, larutan 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl hydrate (DPPH) 0,1 mM serta, sampel susu bubuk kedelai jahe pada masing-masing analisis.

Rancangan penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Adapun perlakuan yang diberikan yaitu konsentrasi ekstrak jahe 0% (perlakuan 1), 2% (perlakuan 2), dan 3% (perlakuan 3).

Cara kerja

Penelitian ini terdiri dari tiga tahap, yaitu meliputi persiapan bahan, pembuatan susu kedelai, dan karakterisasi susu bubuk kedelai.

Penyiapan bahan

Pembuatan ekstrak jahe dilakukan berdasarkan metode yang digunakan oleh Hasyim (2008) dan telah dimodifikasi dengan penelitian pendahuluan, yaitu rimpang jahe dibersihkan dan dicuci terlebih dahulu. Kemudian rimpang jahe diiris tipis-tipis dengan menggunakan *slicing*, sehingga didapatkan potongan yang seragam. Setelah itu, dilakukan proses pengeringan dengan menggunakan *cabinet dryer* pada suhu 60°C selama 6 jam. Setelah kering, jahe dihaluskan dengan menggunakan blender kering, selanjutnya diseragamkan ukurannya melalui pengayakan dengan ukuran 80 mesh. Serbuk jahe yang telah diayak selanjutnya ditambah dengan air panas pada suhu 60°C dan rasio serbuk jahe : air = 1 : 10 (b/v). Hasil dari pengayakan kemudian disaring, sehingga diperoleh ekstrak jahe. Kemudian ekstrak jahe ditambahkan pada susu kedelai dengan variasi konsentrasi 0%, 2%, dan 3% (v/v).

Pembuatan susu bubuk kedelai

Pembuatan susu kedelai mengacu pada metode Maria (2004) yang telah dimodifikasi dengan metode Santoso (2009) dan penelitian pendahuluan. Tahap pertama yang dilakukan dalam pembuatan susu kedelai adalah sortasi pada biji kedelai yang tidak cacat, tidak terserang hama, tidak keriput, maupun busuk untuk menghasilkan susu kedelai yang baik. Setelah itu, biji kedelai utuh direndam dalam air dengan perbandingan kedelai : air = 1 : 3. Perlakuan tersebut berfungsi untuk melunakkan biji kedelai serta mengurangi rasa langu. Biji kedelai yang telah direndam selanjutnya dicuci dan dikupas kulitnya, lalu dilakukan perebusan biji kedelai untuk melunakkan biji dan

melemahkan kegiatan enzim lipoksigenase. Lama perebusan sekitar 30 menit.

Tahap selanjutnya adalah proses penggilingan biji kedelai dengan perbandingan kedelai : air = 1 : 3. Bubur kedelai yang dihasilkan kemudian disaring untuk mendapatkan susu kedelai. Kemudian susu kedelai tersebut dimasak, namun tidak sampai mendidih pada suhu $\pm 90^{\circ}\text{C}$, lalu ditambahkan ekstrak jahe dengan konsentrasi 0%, 2%, 3% (v/v), serta maltodekstrin 10% sebagai pengisi.

Tahap terakhir adalah pengeringan susu kedelai dengan menggunakan pengering *spray dryer* pada suhu *inlet* 110°C dan *outlet* 60°C . Lalu susu bubuk kedelai-jahe tersebut dikemas dengan menggunakan pembungkus *aluminium foil*.

Karakteristik susu bubuk kedelai-jahe

Susu bubuk kedelai yang sudah jadi disimpan dalam pembungkus *aluminium foil*. Kemudian dilakukan analisis kadar air, kadar abu, kadar lemak, kadar protein, dan kadar antioksidan, serta dilakukan uji organoleptik yang meliputi warna, aroma, rasa, serta *overall*. Masing-masing metode analisis dapat dilihat pada Tabel 1.

Analisis data

Data yang didapat selanjutnya dianalisis dengan ANOVA pada tingkat signifikansi $\alpha=5\%$. Apabila terdapat perbedaan antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji DMRT.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Susu kedelai merupakan produk susu nabati yang memiliki komposisi yang sangat baik bagi tubuh karena memiliki kandungan protein yang tinggi namun rendah lemak, sehingga susu kedelai dapat dijadikan sebagai pengganti susu sapi karena harganya yang lebih murah tetapi memiliki kandungan protein yang hampir sama. Selain itu, susu kedelai juga dapat dikonsumsi oleh penderita *lactose intolerance*, atau orang-orang yang tidak memiliki enzim laktase dalam saluran pencernaannya, sehingga tidak mampu mencerna laktosa. Untuk menambah kandungan gizi dalam susu kedelai tersebut maka dilakukan penambahan ekstrak jahe dengan konsentrasi 0%, 2%, dan 3% yang berfungsi sebagai antioksidan pada susu kedelai dan juga sebagai diversifikasi produk yang telah ada di pasaran. Dikarenakan susu kedelai cair memiliki daya simpan yang kurang tahan lama maka diharapkan dengan dilakukannya pengeringan dengan *spray dryer* dapat memperpanjang umur simpan susu kedelai, sehingga susu kedelai dapat dipasarkan secara meluas. Parameter yang diamati pada penelitian ini meliputi rendemen susu kedelai bubuk instan jahe, karakteristik kimia susu bubuk kedelai, sifat sensoris, dan aktivitas antioksidan. Pengujian karakteristik kimia meliputi pengujian kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, dan kadar karbohidrat. Pengamatan parameter sifat sensoris menggunakan uji hedonik yang meliputi warna, aroma, rasa, dan keseluruhan, sedangkan aktivitas antioksidan diamati dengan menggunakan uji DPPH.

Tabel 1. Metode analisis dalam karakterisasi susu bubuk kedelai-jahe

Jenis analisis	Metode
Kadar air	Metode oven (Apriyantono et al. 1989)
Kadar abu	Metode penetapan total abu (Apriyantono et al. 1989)
Kadar protein	Metode Kjeldahl (Sudarmaji et al. 1989)
Kadar lemak	Metode ekstraksi Soxhlet (Apriyantono et al. 1989)
Kadar karbohidrat	<i>By difference</i> (Winarno 2002)
Antioksidan	DPPH (Amrun et al. 2007)
Uji sensoris	Kesukaan (Kartika et al. 1988)

Rendemen susu kedelai bubuk instan jahe

Rendemen susu kedelai bubuk instan jahe yang dihasilkan dalam percobaan ini sebesar 6 g dari 200 ml susu kedelai cair, jadi hanya sekitar 3% dari volume susu kedelai cair sebelum dilakukan pengeringan dengan *spray drier*. Rendemen susu kedelai bubuk jahe tersebut lebih besar dibandingkan dengan hasil penelitian Maria (2004) yang berjudul ‘Pembuatan Susu Bubuk Kedelai’, dimana hasil rendemennya hanya menghasilkan 1% (b/v). Tingginya rendemen susu kedelai bubuk jahe yang dihasilkan pada penelitian ini disebabkan penggunaan bahan pengisi maltodekstrin 10%. Menurut Nurika (2000), penambahan bahan pengisi perlu dilakukan untuk menurunkan kecenderungan bubuk melekat pada dinding *spray dryer*, sehingga rendemen yang dihasilkan lebih tinggi daripada produk yang dihasilkan tanpa penambahan maltodekstrin. Selain itu, penggunaan maltodekstrin akan menghasilkan kualitas bubuk yang baik secara fisika, kimia, dan organoleptik.

Karakteristik kimia susu kedelai bubuk instan jahe

Kadar air

Kadar air merupakan banyaknya air yang terkandung dalam bahan yang dinyatakan dalam persen. Kadar air juga merupakan salah satu karakteristik yang sangat penting pada bahan pangan, karena air dapat mempengaruhi penampakan, tekstur, dan cita rasa pada bahan pangan. Kadar air dalam bahan pangan ikut menentukan kesegaran dan daya awet bahan pangan tersebut. Kadar air yang tinggi mengakibatkan mudahnya bakteri, kapang, dan khamir untuk berkembang biak, sehingga akan terjadi perubahan pada bahan pangan. Semakin rendah kadar air, semakin lambat pertumbuhan mikroorganisme, sehingga bahan pangan dapat tahan lebih lama. Sebaliknya, semakin tinggi kadar air maka semakin cepat mikroorganisme berkembang biak, sehingga proses pembusukan akan berlangsung lebih cepat (Winarno 2002). Kadar air suatu bahan makanan merupakan salah satu faktor yang dapat menentukan tingkat keawetan selama penyimpanan. Pada umumnya, semakin tinggi kadar air suatu bahan makanan maka peluang terkontaminasi mikroorganisme juga semakin besar (Dharmaputra 1994).

Dalam susu bubuk, kadar air merupakan faktor penting untuk menentukan kualitas susu. Oleh karena itu dalam penelitian ini dilakukan pengujian kadar air pada susu

bubuk kedelai jahe yang mengacu pada metode berdasarkan SNI. Menurut SNI 01-2970-2006, kadar air pada susu bubuk maksimal sebesar 5%.

Dari hasil analisis pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa kadar air pada susu bubuk kedelai dengan penambahan ekstrak jahe sudah sesuai dengan syarat mutu susu bubuk dari SNI 01-2970-2006. Berdasarkan data statistik tersebut, perbedaan konsentrasi jahe pada susu bubuk kedelai tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hal tersebut dikarenakan metode pengeringan serta suhu yang digunakan adalah sama. Pada penelitian ini, metode pengeringan yang digunakan adalah pengering semprot (*spray dryer*) pada suhu 110°C.

Pengering semprot (*spray dryer*) mempunyai keunggulan yaitu dapat menghasilkan produk yang bermutu tinggi, tingkat kerusakan gizi rendah, serta perubahan warna, bau, dan rasa dapat diminimalisasi. Hal ini dikarenakan suhu *output spray drier* relatif rendah. Teknologi tersebut sesuai untuk produk yang memiliki nilai ekonomi tinggi dan mudah mengalami kerusakan akibat panas, seperti susu dan sari buah (Prayogo 2009).

Kadar abu

Abu merupakan bahan anorganik sisa dari proses pembakaran sempurna pada suhu 600°C selama beberapa waktu. Kadar abu suatu bahan adalah kadar residu hasil pembakaran semua komponen-komponen organik di dalam suatu bahan. Pada umumnya, abu terdiri dari senyawa natrium (Na), kalsium (K), dan silikat (Si). Menurut Sudarmadji et al. (1989), abu merupakan salah satu faktor yang menentukan kualitas suatu bahan. Penentuan kadar abu bertujuan untuk mengontrol konsentrasi garam anorganik seperti natrium, kalium, karbonat, dan fosfat. Apabila kadar abunya tinggi maka kandungan mineralnya juga tinggi.

Besarnya kadar abu pada suatu produk pangan bergantung pada besarnya kandungan mineral bahan yang digunakan. Mineral yang terdapat dalam suatu bahan dapat digolongkan menjadi dua macam garam, yaitu garam organik (asam malat, oksalat, asetat, pektat) dan garam anorganik (fosfat, karbonat, klorida, sulfat, nitrat) (Sudarmadji et al. 1989). Untuk mengetahui kandungan mineral pada produk susu bubuk kedelai dengan penambahan ekstrak jahe maka dilakukan analisis kadar abu dengan metode penetapan total abu menurut Apriyanton (1989). Hasil analisis kadar abu dapat dilihat pada Tabel 3.

Dilihat dari Tabel 3 dapat diketahui bahwa kadar abu pada susu bubuk kedelai yang ditambahkan ekstrak jahe tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Menurut Widiyanti (2009), kadar abu pada jahe hanya sebesar 6,5%, sehingga penambahan ekstrak jahe pada susu kedelai tidak memberikan perbedaan yang nyata. Kadar abu yang terkandung pada jahe adalah Cr, Ma, Fe, Co, Zn, Na, K, As, Se, Hg, Sb, Cl, Br, F, Rb, Cs, Sc, dan Cu. Selain itu, susu kedelai itu sendiri hanya memiliki kadar abu kira-kira sebesar 2%. Hal tersebut sesuai dengan teori Muchtaridi (2008) yang mengatakan bahwa susu kedelai memiliki kandungan mineral, terutama kalsium, lebih sedikit daripada susu sapi, oleh karena itu dianjurkan dilakukan penambahan atau fortifikasi mineral. Selain itu, pada proses pembuatan susu kedelai tidak ditambahkan garam, sehingga mineral yang terkandung dalam susu kedelai bubuk tersebut relatif kecil.

Kadar protein

Protein merupakan bahan pangan yang penting sebagai penyusun komponen-komponen sel, terutama dalam proses pertumbuhan dan perkembangan makhluk hidup. Struktur utama protein terdiri dari rantai polipeptida dari asam-asam amino yang terikat dengan ikatan peptida. Karakteristik asam amino adalah adanya gugus amina (NH_2) yang bersifat basa dan gugus karboksil (COOH) yang bersifat asam.

Keunggulan protein pada susu kedelai adalah proteinnya tidak menimbulkan alergi dan mempunyai susunan asam amino esensial paling lengkap dibandingkan jenis kacang-kacangan lainnya, serta mirip dengan susu sapi. Dengan demikian, susu kedelai sangat baik digunakan sebagai pengganti susu sapi, terutama bagi konsumen yang alergi terhadap susu sapi dan penderita *lactose intolerance* (Astawan 2004).

Tabel 2. Hasil analisis kadar air susu kedelai bubuk instan dengan penambahan ekstrak jahe

Konsentrasi ekstrak jahe	Kadar air (%)	SNI susu sapi bubuk (b/b)
0%	4,658 ^a	Maksimal 5%
2%	5,066 ^a	
3%	5,063 ^a	

Tabel 3. Hasil analisis parameter kualitas susu kedelai bubuk instan dengan penambahan ekstrak jahe

Konsentrasi ekstrak jahe	Kadar Abu wb (%)	Kadar Abu db (%)	Kadar Lemak wb (%)	Kadar Lemak db (%)	Kadar Protein wb (%)	Kadar Protein db (%)	Kadar Karbohidrat wb (%)	Kadar Karbohidrat db (%)
0%	2,184 ^a	2,2979 ^a	2,5033 ^a	2,6336 ^a	11,0208 ^a	11,5938 ^a	79,3491 ^c	83,4745 ^c
2%	2,274 ^a	2,3956 ^a	3,0533 ^a	3,2164 ^a	11,7708 ^b	12,3989 ^b	77,8348 ^b	81,9886 ^b
3%	2,240 ^a	2,3605 ^a	3,0466 ^a	3,2110 ^a	13,2916 ^c	14,0069 ^c	76,3146 ^a	80,4210 ^a

Berdasarkan data pada Tabel 3 dapat diketahui adanya perbedaan yang nyata kadar protein antara susu kedelai bubuk yang tidak diberikan ekstrak jahe dan susu bubuk kedelai yang diberi penambahan ekstrak jahe. Dari tabel tersebut dapat diamati adanya peningkatan kadar protein dari konsentrasi 0%, yaitu sebesar 11,0208%, lalu pada konsentrasi 2% yaitu sebesar 11,7708%, dan kadar protein tertinggi terdapat pada susu bubuk kedelai dengan penambahan ekstrak jahe sebesar 3% yaitu sebesar 13,2916%. Hal ini disebabkan karena menurut Ravindran dan Babu (2005), selain mengandung komponen minyak menguap dan minyak tidak menguap, jahe juga mengandung protein sebesar 12,3%. Dengan demikian, susu bubuk kedelai yang diberi perlakuan penambahan jahe, kadar proteinnya lebih tinggi daripada susu bubuk kedelai yang tidak diberi penambahan ekstrak jahe, karena susu kedelai bubuk dengan penambahan ekstrak jahe mendapatkan tambahan protein dari jahe itu sendiri. Selain itu, kandungan protein susu kedelai aman dikonsumsi oleh penderita *lactose intolerance*. Koswara (1992) menyebutkan bahwa susu kedelai memiliki mutu protein yang tinggi dan komposisi susu kedelai hampir sama dengan susu sapi. Oleh sebab itu, susu kedelai dapat digunakan sebagai pengganti susu sapi dan susu kedelai dapat dikonsumsi oleh penderita *lactose intolerance*, yaitu orang-orang yang tidak punya atau kurang enzim laktase dalam saluran pencernaannya sehingga tidak mampu mencerna laktosa pada susu sapi. Laktosa pada susu sapi yang lolos ke usus besar akan dicerna oleh jasad renik yang terdapat di dalam usus besar. Akibatnya, orang yang tidak toleran terhadap laktosa akan menderita diare setiap kali minum susu sapi.

Dibandingkan susu sapi, susu kedelai kekurangan jumlah asam amino metionin dan sistein. Akan tetapi, oleh karena kandungan asam amino lisin di dalamnya cukup tinggi maka susu kedelai memiliki nilai gizi protein yang lebih tinggi dibanding nasi dan makanan sereal lainnya (Santoso 2009).

Kadar lemak

Protein, karbohidrat, dan lemak bersama-sama dengan air merupakan konstituen utama dalam bahan pangan. Protein dibutuhkan terutama untuk pertumbuhan dan untuk memperbaiki jaringan-jaringan tubuh yang rusak. Karbohidrat dan lemak merupakan sumber energi dalam aktivitas tubuh manusia. Sementara itu, susu kedelai merupakan minuman yang bergizi tinggi, terutama karena kandungan proteinnya. Selain itu, susu kedelai juga mengandung lemak, karbohidrat, kalsium, fosfor, zat besi, provitamin A, vitamin B kompleks (kecuali B12), dan air.

Lemak merupakan komponen makanan yang tidak larut dalam air. Trigliserida merupakan bagian terbesar dari kelompok lipid. Lemak berperan penting dalam gizi manusia, terutama sebagai sumber energi, memperbaiki tekstur dan cita rasa, serta sebagai pelarut vitamin A, D, E, dan K (Winarno 2002).

Dari Tabel 3 dapat dilihat kadar lemak pada susu bubuk kedelai dengan penambahan ekstrak jahe yaitu sekitar 3% dan tidak ada perbedaan yang nyata antara konsentrasi

ekstrak jahe dengan kadar lemak susu bubuk kedelai pada taraf signifikansi $\alpha=0,05$.

Menurut Muchtaridi (2008), kedelai memiliki kandungan lemak yang rendah, tetapi memiliki asam lemak tidak jenuh yang tinggi. Asam lemak tidak jenuh adalah asam lemak yang tidak memiliki ikatan rangkap. Asam lemak tidak jenuh biasa terdapat pada lemak nabati. Oleh karena itu, susu kedelai sangat baik untuk dikonsumsi oleh orang yang sedang diet, balita, maupun para manula.

Menurut Berk (1992), komponen lemak pada biji kedelai tergantung pada varietas dan kondisi pertumbuhan. Salah satu data yang dipublikasikan oleh Wahnou et al. (1988) menunjukkan biji kedelai memiliki kadar lemak tidak jenuh lebih dari 80% yang terdiri dari asam oleat 21,1%, asam linoleat 52,4%, dan asam linolenat 7,1%.

Sifat lemak yang tidak larut dalam air memperkecil pengaruh perendaman terhadap hilangnya kandungan lemak dalam biji kedelai. Selain itu, lemak juga tidak mudah berubah akibat pemanasan pada suhu di bawah 100°C. Menurut Fennema (1996), lemak jenuh mulai mengalami dekomposisi pada pemanasan 200-700°C. Namun demikian, lemak di dalam biji tetap akan mengalami sedikit penurunan karena adanya hasil hidrolisis lemak selama perendaman yang menghasilkan senyawa-senyawa yang mudah menguap dan terikat bersama oksigen yang ada di dalam air. Mulyowidarmo (1988) melaporkan bahwa perendaman selama 12-24 jam pada suhu 30°C menyebabkan kehilangan lemak sebesar 10%.

Kadar karbohidrat

Karbohidrat merupakan sumber kalori utama, disamping mempunyai peranan penting dalam menentukan karakteristik bahan makanan, misalnya rasa, warna, aroma, dan tekstur (Syarif et al. 1989). Oleh karena fungsinya yang sangat penting bagi tubuh maka diperlukan analisis kadar karbohidrat yang terdapat dalam susu bubuk hasil penelitian.

Karbohidrat merupakan sumber kalori utama bagi hampir seluruh penduduk dunia. Karbohidrat mempunyai peranan penting dalam menentukan karakteristik bahan makanan, misalnya rasa, warna, dan tekstur. Karbohidrat juga berguna untuk mencegah ketosis, pemecahan protein yang berlebihan, kehilangan mineral, dan membantu metabolisme lemak dan protein (Winarno 2002). Hasil analisis karbohidrat dengan metode pengujian *by different* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tingginya kadar karbohidrat pada susu bubuk kedelai yang terlihat pada Tabel 3 diduga disebabkan karena adanya penambahan maltodekstrin 10% (b/b). Maltodekstrin merupakan produk dari modifikasi pati, salah satunya singkong (tepung tapioka). Maltodekstrin sangat banyak aplikasinya. Seperti halnya pati, maltodekstrin merupakan bahan pengental sekaligus dapat dimanfaatkan sebagai emulsifier. Sifat-sifat maltodekstrin antara lain mengalami dispersi yang cepat, memiliki daya larut yang tinggi, dapat membentuk film, memiliki sifat higroskopis yang rendah, mampu membentuk *body*, sifat *browning* yang rendah, mampu menghambat kristalisasi, dan memiliki daya ikat yang kuat. Kelebihan maltodekstrin

adalah bahan tersebut dapat dengan mudah larut pada air dingin.

Aplikasi penggunaan maltodekstrin diantaranya pada minuman susu bubuk, minuman berenergi, dan minuman prebiotik. Kelebihan lainnya yaitu maltodekstrin merupakan oligosakarida yang tergolong dalam prebiotik (makanan bakteri probiotik), dimana maltodekstrin sangat baik bagi tubuh yang secara nyata dapat memperlancar saluran pencernaan dengan membantu berkembangnya bakteri probiotik. Maltodekstrin merupakan salah satu jenis bahan pengganti lemak berbasis karbohidrat yang dapat diaplikasikan pada produk *frozen dessert*, seperti pada es krim yang berfungsi membentuk padatan, serta meningkatkan viskositas, tekstur, dan kekentalan (Astuti 2009).

Penurunan kadar karbohidrat pada konsentrasi 2% dan 3%, sangat dipengaruhi oleh tingginya kadar protein dan kadar lemak pada sampel yang mempengaruhi perhitungan secara *by different*. Menurut Sugito dan Hayati (2006), kadar karbohidrat yang dihitung secara *by different* dipengaruhi oleh komponen nutrisi lain, semakin rendah komponen nutrisi lain maka kadar karbohidrat akan semakin tinggi. Komponen nutrisi yang mempengaruhi kandungan karbohidrat diantaranya kandungan protein, lemak, air, dan abu.

Sifat sensoris susu kedelai bubuk instan jahe

Dalam perancangan produk baru, pengujian dengan indra sangat berperan penting. Bentuk pengujian secara indrawi tersebut paling mendasar dan pertama kali dilakukan oleh seorang perancang yang bekerja pada pengembangan produk baru, Larmond (1977). Sifat organoleptik sangat penting bagi setiap produk karena berkaitan erat dengan tingkat penerimaan konsumen. Untuk mengetahui tingkat penerimaan panelis terhadap konsentrasi ekstrak jahe yang ditambahkan pada susu kedelai bubuk instan maka digunakan uji kesukaan (*Hedonic Test*). Pengujian sensoris dengan uji kesukaan tersebut dilakukan dengan melibatkan indra pembau, perasa, penglihatan, dan peraba pada sampel sebanyak 5 parameter berdasarkan kesukaan panelis.

Warna

Warna memegang peranan penting dalam penerimaan makanan. Selain itu, warna dapat memberi petunjuk mengenai perubahan kimia dalam makanan. Menurut Kartika et al. (1988), warna merupakan sifat suatu bahan yang dianggap berasal dari penyebaran spektrum sinar. Selain itu, warna bukan merupakan suatu zat atau benda, melainkan suatu sensasi seseorang oleh karena adanya rangsangan dari seberkas energi radiasi yang jatuh ke indra mata atau retina mata. Apabila suatu produk mempunyai warna yang menarik maka dapat menimbulkan selera seseorang untuk mencoba makanan tersebut. Fennema (1985) menambahkan, warna menjadi atribut kualitas yang paling penting meskipun suatu produk bernilai gizi tinggi, memiliki rasa yang enak dan tekstur yang baik, namun jika warnanya kurang menarik maka akan menyebabkan produk tersebut kurang diminati. Warna merupakan parameter pertama yang menentukan tingkat penerimaan konsumen

terhadap suatu produk. Penelitian secara subjektif dengan penglihatan masih sangat menentukan dalam pengujian organoleptik warna (Fennema 1985).

Pengujian organoleptik pada parameter warna dilakukan dalam penelitian ini dikarenakan sesuai SNI 01-3830-1995, warna merupakan salah satu syarat mutu susu kedelai. Tingkat kesukaan warna susu bubuk kedelai dengan penambahan ekstrak jahe dapat dilihat pada Tabel 4.

Hasil uji tingkat kesukaan menunjukkan bahwa antara konsentrasi ekstrak jahe 0% dan 2% menunjukkan perbedaan yang nyata, sedangkan antara konsentrasi 2% dan 3% tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Hal ini dikarenakan ekstrak jahe yang ditambahkan pada susu bubuk kedelai memberikan warna kecokelatan dibandingkan dengan susu bubuk kedelai yang tidak menggunakan ekstrak jahe. Warna kecokelatan tersebut didapatkan dari warna asli jahe yang digunakan yaitu jahe emprit, atau biasa disebut jahe kuning. Adanya peningkatan warna kecokelatan pada susu bubuk kedelai cenderung mengurangi tingkat kesukaan konsumen. Meskipun demikian, warna kecokelatan yang dihasilkan dari ekstrak jahe masih dapat diterima oleh konsumen.

Aroma

Menurut Kartika et al. (1988), aroma dapat didefinisikan sebagai sesuatu yang dapat diamati dengan indra pembau. Di dalam industri pangan, pengujian terhadap bau atau aroma dianggap penting karena dengan cepat dapat memberikan hasil penilaian terhadap produk tentang diterima atau tidaknya produk tersebut. Selain itu, aroma juga dapat digunakan sebagai indikator terjadinya kerusakan pada suatu produk. Susu kedelai dikenal mempunyai rasa dan aroma yang langu dan penambahan ekstrak jahe tentu akan memberikan aroma yang khas dan digemari oleh konsumen karena fungsi kesehatannya.

Aroma memiliki peranan yang sangat penting untuk suatu produk makanan. Sebelum mengonsumsi suatu produk, aroma makanan akan tercium terlebih dahulu oleh indra hidung. Apabila aroma pada produk tersebut terlalu menyengat atau terkesan hambar, tentu akan membuat konsumen menjadi tidak tertarik untuk mengonsumsi. Pengujian aroma dilakukan untuk mengetahui tingkat kesukaan panelis terhadap sampel dengan peningkatan konsentrasi ekstrak jahe pada susu bubuk kedelai. Semakin tinggi konsentrasi jahe yang digunakan, intensitas aroma jahe yang terdeteksi oleh indra penciuman panelis semakin tinggi.

Tabel 4. Tingkat kesukaan parameter kualitas susu kedelai bubuk instan dengan penambahan ekstrak jahe

Konsentrasi ekstrak jahe	Warna	Aroma	Rasa	Parameter keseluruhan
0%	3,20 ^a	2,50 ^a	2,70 ^a	2,65 ^a
2%	2,65 ^b	3,50 ^b	2,90 ^a	2,95 ^a
3%	2,55 ^b	3,75 ^b	3,90 ^b	3,80 ^b

Tabel 4 menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara konsentrasi 0% dan 2%, namun tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antara konsentrasi 2% dan 3%. Penambahan ekstrak jahe pada susu kedelai bubuk tersebut cenderung meningkatkan kesukaan konsumen, hal tersebut disebabkan oleh aroma khas jahe yang dihasilkan oleh senyawa *zingiberene* dan *zingiberol* yang menyebabkan bau harum, sehingga dapat mengurangi rasa langu yang ditimbulkan oleh susu kedelai. Ketaren (1986) menyatakan bahwa jahe mempunyai bau yang khas aromatik. Jahe mengandung minyak atsiri dengan komponen utamanya adalah *zingiberene* dan *zingiberol*, yang menyebabkan jahe berbau harum.

Rasa

Rasa terbentuk dari sensasi yang terbentuk dari hasil perpaduan antara bahan pembentuk dan komposisinya pada suatu produk makanan yang ditangkap oleh indra pengecap. Rasa merupakan salah satu pendukung cita rasa yang mendukung kualitas suatu produk. Cita rasa didefinisikan oleh Hall (1968) sebagai rangsangan yang ditimbulkan oleh bahan yang dikonsumsi, terutama dirasakan oleh indra pengecap dan pembau, juga rangsangan lain seperti perabaan dan penerimaan derajat panas di mulut.

Rasa merupakan sensasi yang terbentuk dari hasil perpaduan bahan pembentuk dan komposisinya pada suatu produk makanan yang ditangkap oleh indra pengecap. Oleh sebab itu, rasa suatu produk makanan sangat dipengaruhi oleh komposisi bahan penyusun formula dalam makanan. Rasa merupakan atribut mutu dari suatu produk yang biasanya merupakan faktor penting bagi konsumen dalam memilih produk. Suatu produk dapat diterima oleh konsumen apabila rasanya sesuai. Pada Tabel 4 dapat dilihat hasil uji organoleptik tingkat kesukaan untuk parameter rasa pada susu bubuk kedelai dengan penambahan ekstrak jahe.

Rasa susu kedelai bubuk yang ditambah dengan ekstrak jahe dengan berbagai konsentrasi berbeda nyata dengan susu kedelai bubuk tanpa penambahan ekstrak jahe, hal tersebut dikarenakan adanya pengaruh rasa pedas dari ekstrak jahe. Paimin et al. (1991) menyebutkan bahwa jahe mengandung oleoresin yang terdiri dari komponen zingerol, shogaol, dan resin yang menyebabkan rasa pedas pada jahe. Rasa susu kedelai bubuk dengan penambahan konsentrasi ekstrak jahe 3% lebih disukai oleh konsumen daripada penambahan ekstrak jahe dengan konsentrasi 2%, hal ini diduga disebabkan karena konsentrasi penambahan ekstrak jahe yang ditambahkan masih kurang, akibatnya rasa pedas khas jahe kurang terasa sehingga tidak dapat menutup rasa khas susu kedelai.

Keseluruhan

Tingkat kesukaan dan penerimaan konsumen terhadap suatu bahan diduga tidak hanya dipengaruhi oleh satu faktor saja, akan tetapi juga dipengaruhi oleh berbagai macam faktor, sehingga menimbulkan penerimaan yang utuh. Tujuan dari pengujian ini adalah panelis diminta untuk menilai kesukaannya terhadap sampel susu kedelai bubuk dengan penambahan ekstrak jahe yang mengandung

antioksidan alami pada berbagai macam konsentrasi ekstrak jahe. Hasil pengujian organoleptik terhadap atribut keseluruhan susu kedelai bubuk dengan penambahan ekstrak jahe dapat dilihat pada Tabel 4.

Berdasarkan data pada Tabel 4 diketahui bahwa tidak adanya perbedaan yang nyata antara penambahan ekstrak jahe pada konsentrasi 0% dan 2%, namun terjadi perbedaan yang nyata dengan penambahan ekstrak jahe dengan konsentrasi 3%. Penambahan ekstrak jahe dengan konsentrasi 3% lebih disukai oleh konsumen daripada konsentrasi lainnya, hal ini dikarenakan penambahan ekstrak jahe pada konsentrasi yang lebih tinggi dapat mengurangi rasa serta aroma langu yang biasa terdapat pada susu kedelai yang tidak disukai konsumen. Oleh karena itu, konsentrasi yang tepat untuk penambahan ekstrak jahe pada susu kedelai bubuk adalah penambahan ekstrak jahe dengan konsentrasi 3%. Selain dari aroma maupun rasa yang disukai konsumen, konsentrasi ekstrak jahe 3% juga memberikan aktivitas antioksidan yang tinggi yang menjadikan produk tersebut mempunyai keunggulan dibandingkan susu bubuk kedelai tanpa penambahan ekstrak jahe.

Analisis antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktan. Senyawa tersebut memiliki berat molekul yang kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya, kerusakan sel dapat dihambat (Winarsi dan Heri 2007).

Antioksidan sangat beragam jenisnya. Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Antioksidan sintetik adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. Contoh antioksidan sintetik yaitu butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen (BHT), propil galat, tert-butil hidroksi quinon (TBHQ), dan tokoferol. Antioksidan tersebut merupakan antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintesis untuk tujuan komersial (Wini 2003). Sementara itu, antioksidan alami adalah antioksidan hasil ekstraksi bahan alam tumbuhan. Beberapa jenis tumbuhan memiliki kandungan antioksidan. Kandungan antioksidan tersebut berhubungan erat dengan komposisi senyawa kimia yang terdapat di dalamnya (Katalinic et al. 2006).

Pada penelitian ini, penentuan aktivitas antioksidan dilakukan berdasarkan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging ability*), sebagai kontrol digunakan 5 ml metanol yang ditambahkan dengan 1 ml DPPH 0,1 mM. Penurunan absorbansi terjadi karena adanya penambahan elektron dari senyawa antioksidan pada elektron yang tidak berpasangan pada gugus nitrogen dalam struktur senyawa DPPH. Larutan DPPH berwarna ungu. Intensitas warna ungu akan menurun ketika radikal DPPH tersebut berikatan dengan hidrogen. Semakin kuat aktivitas antioksidan sampel maka akan semakin besar penurunan intensitas warna ungunya (Pokorny et al. 2001). Dari pengujian DPPH tersebut dapat diketahui aktivitas antioksidan susu kedelai bubuk dengan penambahan ekstrak jahe dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil analisis aktivitas antioksidan susu kedelai bubuk instan dengan penambahan ekstrak jahe

Konsentrasi Ekstrak Jahe	Tingkat Kesukaan
0%	10,366 ^a
2%	14,700 ^b
3%	21,673 ^c

Antioksidan pada jahe merupakan antioksidan alami, dimana antioksidan alami tersebut telah lama diketahui menguntungkan untuk digunakan dalam bahan pangan, karena lebih aman dalam penggunaannya apabila dibanding dengan antioksidan sintetik. Antioksidan alami umumnya digunakan sebagai suplemen dalam bentuk makanan ataupun untuk pengawet bahan pangan (Halliwell dan Gutteridge 1995). Dari hasil pengujian, dapat dilihat adanya perbedaan yang nyata antara susu bubuk kedelai yang diberi ekstrak jahe dan susu bubuk kedelai yang tidak ditambahkan ekstrak jahe. Aktivitas antioksidan pada susu bubuk kedelai dengan penambahan ekstrak jahe 3% memiliki nilai tertinggi, yaitu sebesar 21,673%, dan nilai terendah adalah susu bubuk kedelai yang tidak ditambahkan ekstrak jahe (0%) yaitu sebesar 10,366%. Hasil penelitian menunjukkan adanya aktivitas antioksidan pada sampel yang naik secara berurutan, mulai dari sampel yang tidak dilakukan penambahan ekstrak jahe dengan susu bubuk kedelai yang dilakukan penambahan jahe. Dari hasil statistik yang ditampilkan pada Tabel 5 dapat ditarik kesimpulan bahwa semakin tinggi penambahan ekstrak jahe maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya.

Kinsella et al. (1993) menyebutkan bahwa senyawa fenol dapat berfungsi sebagai antioksidan karena kemampuannya meniadakan radikal-radikal bebas dan radikal peroksida sehingga efektif dalam menghambat oksidasi lipid. Kemampuan antioksidan yang dimiliki oleh jahe serta kandungan senyawa fenolnya menjadi peran penting dalam peningkatan aktivitas antoksidan pada sampel yang telah direndam dalam larutan jahe. Fenol merupakan bagian dari komponen oleoresin, yaitu berpengaruh terhadap sifat pedas jahe. Dari 10 senyawa fenol yang memiliki sifat antioksidan, senyawa 6-gingerol merupakan senyawa yang memiliki potensi antioksidan dibandingkan 9 senyawa lainnya (Widiyanti 2009). Teori tersebut sesuai dengan hasil penelitian Kikuzaki dan Nakatani (1993) yang menunjukkan bahwa senyawa aktif nonvolatil fenol, seperti gingerol, shogaol, dan zingeron, yang terdapat pada jahe terbukti memiliki kemampuan sebagai antioksidan melebihi dari vitamin E.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat ditarik kesimpulan bahwa karakteristik kimia susu kedelai bubuk instan dengan penambahan ekstrak jahe dan pengeringan *spray dryer* untuk parameter kadar air, kadar abu, dan kadar lemak tidak berbeda nyata dengan susu kedelai bubuk tanpa penambahan jahe. Adapun untuk kadar protein dan kadar karbohidrat memberikan hasil yang berbeda nyata dengan susu kedelai bubuk tanpa

penambahan jahe. Konsentrasi penambahan ekstrak jahe yang tepat pada susu bubuk kedelai adalah konsentrasi 3%. Pada konsentrasi tersebut, aroma dan rasanya paling disukai oleh panelis karena tidak terlalu pedas, sehingga menutupi rasa serta aroma langu yang ditimbulkan oleh susu kedelai. Aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada konsentrasi ekstrak jahe 3% yaitu sebesar 21,673%, lalu konsentrasi ekstrak jahe 2% sebesar 14,7%, dan paling rendah adalah konsentrasi 0% yaitu sebesar 10,366%.

DAFTAR PUSTAKA

- Amrum, Umiyah HH, Umayah E. 2007. Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol beberapa varian buah kenit (*Chrisophyllum cainito* L.) dari daerah Jember. Hayati 13: 45-50.
- Apriyantono A, Fardiaz D, Puspitasari NL et al. 1989. Analisis pangan. PAU Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Ariviani S. 1999. Daya Tangkal Radikal dan Aktivitas Penghambatan Pembentukan Peroksida Sistem Linoleat Ekstrak Rimpang Jahe, Laos, Temulawak, dan Temuireng. [Skripsi]. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Astawan M. 2004. Tetap sehat dengan produk makanan olahan. Tiga Serangkai, Surakarta.
- Astuti YP. 2009. Maltodekstrin. <http://id.wordpress.com>. [4 Maret 2010].
- Berk Z. 1992. Technology of production of edible flours and protein products from soybeans. FAO Agricultural Services Bulletin No. 97. Food Agriculture Organisation of the United Nations, Rome.
- Dharmaputra OS. 1994. Kapang pada beras yang berasal dari beberapa varietas padi. IPB Press, Bogor.
- Fennema OR. 1996. Food chemistry. Marcel Dekker Inc., New York.
- Fennema RO. 1985. Food chemistry, Second edition. Revised and Expanded. Academy Press, New York.
- Hall RL. 1968. Flavor and flavoring: Seeking a concensus of definition. Food Technol 22 (11): 162.
- Halliwell B, Gutteridge JM. 1995. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. Free Radic Biol Med 18(1): 125-126.
- Hasyim N. 2008. Kajian Tingkat Kerusakan Minyak pada Jenang Kudus dengan Penambahan Ekstrak Jahe selama Penyimpanan. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Kartika, Hastuti BP, Supartono W. 1988. Pedoman uji inderawi bahan pangan. UGM Press, Yogyakarta.
- Katalinic V, Milos M, Kulisic T, Jukic M. 2006. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. Food Chem 94: 550-557.
- Ketaren. 1986. Pengantar teknologi minyak dan lemak pangan. UI Press, Jakarta.
- Kikuzaki H, Nakatani N. 1993. Antioxidant effects of some ginger constituents. J Food Sci 58(6): 1407-1410.
- Kinsella JE, Frankel E, German B, Kanner J. 1993. Possible mechanism for the protective role of the antioxidant in wine and plant foods. Food Tech. 47: 85-89.
- Koswara S. 1992. Teknologi pengolahan kedelai. Pustaka Sinar Harapan, Jakarta.
- Larmond E. 1977. Laboratory methods of sensory evaluation of foods. Publication 1673, Departement Agriculture Ottawa, Canada.
- Margono T, Suryati D, Hartinah S. 2000. Susu kedelai. Kantor Deputi Menegristek, Bidang Pendatagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi, Jakarta.
- Maria F. 2004. Pembuatan Susu Bubuk Kedelai Hitam. [Skripsi]. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Muchtaridi. 2008. Pembuatan susu kedelai. Penyuluhan di Desa Jaga Mukti Kecamatan Surade, Sukabumi. Jawa Barat.
- Mulyowidarso, R.K., 1988. The Microbiology and Biochemistry of Soybean Soaking for Tempe Fermentation. [Thesis]. Departement of Food Science and Technology, The University of New South Wales, Sydney.
- Nurika I. 2000. Pengaruh konsentrasi dekstrin dan suhu inlet *spray dryer* terhadap stabilitas warna bubuk pewarna dari ekstrak angkak. Jurnal Teknologi Pertanian 1(2): 15-23.

- Paimin, Farry B, Murhananto. 1991. Budi daya, pengolahan, perdagangan. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M. 2001. Antioxidant in food. CRC Press, Cambridge, England.
- Prayogo YL. 2009. Pembuatan minuman dalam bentuk bubuk. yongkikastanyaluthana.wordpress.com. [17 Februari 2010].
- Ravindran PN, Babu KN. 2005. Ginger. In: The Genus Zingiber. CRC Press, New York
- Rukmana R. 2004. Temu-temuan (apotik hidup di pekarangan). Kanisius, Yogyakarta.
- Santoso HB. 1994. Jahe gajah. Kanisius, Yogyakarta.
- Santoso HB. 2009. Susu dan yoghurt kedelai. Kanisius, Yogyakarta.
- Sudarmadji S, Suhardi, Haryono B. 1989. Analisa bahan makanan dan pertanian. Liberty, Yogyakarta.
- Sugito, Hayati A. 2006. Penambahan daging ikan gabus dan aplikasi pembekuan pada pembuatan pempek gluten. Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian Indonesia 8(2): 147-151.
- Suwedo-Hadiwiyoto. 1983. Hasil-hasil olahan susu, ikan, daging, dan telur. Liberty, Yogyakarta.
- Syarief R, Sentausa S, St. Isyana. 1989. Teknologi pengemasan pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Uhl S. 2000. Flavor trends: Ethnic and fusion cuisines. <http://www.foodproductdesign.com/articles/2000/05/flavor-trends.aspx> (accessed August 15, 2010).
- Wahnon R, Mokady S, Cogan U. 1988. Proceedings of 19th World Congress International Society for Fat Research, Tokyo.
- Widiyanti RF. 2009. Analisis Kandungan Jahe. [Skripsi]. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Winarno FG. 2002. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia, Jakarta.
- Winarsi H. 2007. Antioksidan alami dan radikal bebas. Kanisius, Yogyakarta.
- Wini T. 2003. Antioksidan: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja dan. Peran Terhadap Kesehatan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Pengaruh konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) dan waktu penyimpanan terhadap kualitas daging sapi

The influence of ethanol extracts concentration of mengkudu fruit (*Morinda citrifolia*) and storage time toward beef quality

AVE SONIA RAHMAN, TJAHJADI PURWOKO, ESTU RETNANINGTYAS NUGRAHENI

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

Manuskrip diterima: 14 Agustus 2010. Revisi disetujui: 10 Desember 2010.

Abstract. Rahman AS, Purwoko T, Nugraheni ER. 2011. The influence of ethanol extracts concentration of mengkudu fruit (*Morinda citrifolia*) and storage time toward beef quality. *Biofarmasi* 9: 26-32. The high protein content of beef makes it easy to get a contamination caused by an activity of bacteria. The use of formalin as a preservative substance especially for beef can make a damage to health, so it is required to find preservative substances as alternative to substitute formalin. Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) has antibacteria compounds to the decompose bacteria of beef, so mengkudu fruit can be one of natural preservative substance alternatives, especially for beef. The purposes of this research were to determine the influence of ethanol extracts concentration of mengkudu fruit and a storage-time effect toward bacteria amount, and to determine the concentration that had a same activity with formalin to combat the replication of bacteria. This research used two-way completely randomized design. The samples were fresh meat beef that be submerged in mengkudu extract with concentrations of 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% and formalin 1% as a comparator. After that, the beef was stored in a room temperature during 16 hours, and every 4 hours it was tested for water content, pH value, beef temperature and a total plate count (TPC) test with a dilution method, and then the number of bacteria colonies with the limit of the bacteria amount of the beef to consume might not be more than 1×10^4 CFU/gram. The data were analyzed by ANOVA. If there was a significance, it would be continued by a DMRT test with an error rate 5%. The research results showed that all extracts concentration of mengkudu fruit and storage-time gave a significant effect ($p < 0.05$) toward bacteria amount. The concentration of 100% had the same activity with formalin to combat the replication of bacteria among 16 hours storage time.

Keywords: Antibacteria, beef, *Morinda citrifolia*, TPC

PENDAHULUAN

Daging merupakan bahan pangan yang bernilai gizi tinggi karena kaya akan protein, lemak, mineral, serta zat lainnya yang sangat dibutuhkan tubuh. Usaha untuk meningkatkan kualitas daging diantaranya dilakukan melalui pengolahan atau penanganan yang lebih baik sehingga dapat mengurangi kerusakan atau kebusukan selama penyimpanan dan pemasaran (Yanti et al. 2008).

Usaha penyediaan daging memerlukan perhatian khusus karena daging mudah tercemar oleh pertumbuhan bakteri. Daging merupakan jenis bahan pangan berprotein tinggi sehingga sangat baik untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri. Tingginya jumlah bakteri dapat mencemari daging dan menurunkan kualitasnya. Penurunan kualitas daging tersebut dapat dilihat dari perubahan warna, rasa, aroma, hingga pembusukan. Sebagian besar kerusakan daging disebabkan oleh penanganan yang kurang baik, misalnya penyimpanan pada suhu kamar dalam jangka waktu yang lama dan tanpa penutupan, sehingga memberikan peluang hidup bagi pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri perusak yang berdampak pada menurunnya daya simpan dan nilai gizi daging (Yanti et al. 2008).

Sekarang ini, telah banyak dilakukan usaha untuk mengawetkan bahan makanan. Penggunaan formalin sebagai bahan pengawet makanan, sering sekali digunakan oleh para pedagang terutama untuk mengawetkan daging dan ikan agar tidak mudah busuk. Formalin dilarang digunakan sebagai pengawet makanan karena memiliki efek buruk bagi kesehatan yaitu dapat menyebabkan kerusakan hati, jantung, otak, limpa, pankreas, sistem saraf, dan ginjal (Setyabudi et al. 2008). Formalin juga bersifat karsinogenik (Setyabudi et al. 2008) bahkan sampai menyebabkan kematian (Putra 2009). Dengan demikian, perlu dicari alternatif untuk bahan pengawet makanan, terutama daging, yang aman bagi kesehatan.

Indonesia memiliki beraneka ragam tanaman yang berpotensi sebagai zat antibakteri, salah satunya adalah mengkudu. Mengkudu banyak dijumpai dan tersebar di Indonesia sehingga mudah didapatkan. Selama ini, mengkudu digunakan sebagai obat antihipertensi, antikanker, dan antibakteri. Senyawa antibakteri yang terdapat pada mengkudu adalah alkaloid, flavonoid, antrakuinon, skopoletin, glikosida, dan asam glukoronat. Senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, dan *Clostridium* (Collins et

al. 1989; Djaafar et al. 2007) yang merupakan bakteri pembusuk pada daging. Dengan demikian, mengkudu diharapkan dapat menjadi salah satu alternatif bahan pengawet makanan alami, terutama daging. Dengan demikian, perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh konsentrasi ekstrak buah mengkudu terhadap kualitas daging sapi.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu terhadap jumlah bakteri pada daging sapi, mengetahui pengaruh waktu penyimpanan terhadap jumlah bakteri pada daging sapi, serta menentukan konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu yang memiliki aktivitas yang sama dengan formalin dalam menghambat pertumbuhan jumlah bakteri pada daging sapi.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Sub-Laboratorium Biologi, Laboratorium Pusat Universitas Sebelas Maret Surakarta selama bulan Juni 2009 hingga Januari 2010.

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi blender, oven, stoples maserasi, erlenmeyer, corong gelas, *rotary evaporator*, gelas arloji, neraca digital, botol flakon, spatula, gelas Beaker, pinset, cawan petri, tabung reaksi, mikropipet, tip mikropipet, *drygalski*, bunsen, *laminar air flow* (LAF), inkubator, *colony counter*, sarung tangan, masker, pH-meter, dan termometer.

Sementara itu, bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah mengkudu berumur 4-5 bulan dengan tingkat kematangan sedang (buah berwarna kuning keputihan) yang didapatkan dari Desa Sukomangu, Kota Purwantoro, Kabupaten Wonogiri pada bulan Juni 2009, daging sapi segar dengan waktu 2 jam setelah penyembelihan (tahap prerigor), etanol 96%, kertas saring, pelarut *Carboxyl Methyl Cellulose* (CMC) 0,1%, akuades, formalin 1%, larutan garam fisiologis 0,9%, *pepton water* 0,1%, dan media *Nutrient Agar* (NA).

Rancangan penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial. Percobaan dilakukan dengan menggunakan dua faktor yaitu: (1) konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu yang terdiri dari 12 perlakuan yaitu konsentrasi 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, dan formalin 1% (sebagai kontrol), serta (2) faktor waktu penyimpanan yang terdiri dari 5 perlakuan yaitu lama waktu penyimpanan 0, 4, 8, 12, dan 16 jam. Percobaan tersebut dilakukan dengan dua kali perulangan perlakuan.

Cara kerja

Penyiapan sampel

Buah mengkudu yang didapat dari Desa Sukomangu, Kota Purwantoro, Kabupaten Wonogiri dicuci bersih. Selanjutnya, buah mengkudu diiris-iris tipis dan dijemur

dengan ditutup kain hitam hingga irisan buah mengkudu berubah menjadi kering. Buah mengkudu yang sudah kering kemudian disimpan di dalam oven bersuhu 45°C. Buah mengkudu yang telah kering kemudian dihancurkan hingga berbentuk serbuk.

Ekstraksi dan pembuatan seri konsentrasi

Serbuk mengkudu ditimbang dan dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% selama 24 jam. Setelah 24 jam, rendaman disaring dengan corong gelas yang telah dilapisi kertas saring. Residunya dipisahkan dan filtrat I yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator*, sehingga didapatkan ekstrak etanol, kemudian ekstrak dikeringkan. Residu dimaserasi ulang seperti cara sebelumnya sebanyak tiga kali perulangan, sehingga diperoleh filtrat II dan III lalu diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator*.

Ekstrak etanol buah mengkudu ditimbang untuk dibuat seri konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%. Ekstrak dibuat dengan menggunakan pelarut CMC 0,1%.

Uji in vivo pada daging

Daging segar yang diperoleh dari rumah pemotongan hewan dicuci bersih. Daging kemudian dipotong-potong dan sampel daging ditimbang dengan rata-rata berat 6 gram. Daging direndam dengan ekstrak mengkudu untuk masing-masing seri konsentrasi, pelarut CMC 0,1%, dan formalin 1% sebagai pembanding selama 2 menit. Daging yang sudah direndam kemudian disimpan pada suhu kamar.

Uji ALT pada daging

Uji ALT dilakukan setiap 4 jam terhadap sampel daging yang telah diuji secara in vivo. Daging tersebut selanjutnya dicacah dan dihomogenasi dengan larutan garam fisiologis 0,9% yang telah dicampur dengan *pepton water* 0,1%. Hasil homogenisasi sampel dipipet sebanyak 100 µl ke dalam tabung reaksi pertama dengan pengenceran 10^{-2} dan digojog hingga homogen. Pengenceran dilakukan hingga pengenceran 10^{-8} . Hasil pengenceran untuk tiap faktor pengenceran ditanam ke dalam media NA steril sebanyak 100 µl kemudian cairan sampel diratakan dengan *drygalski*. Uji ALT tersebut dilakukan secara aseptik di dalam LAF. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Jumlah koloni yang tumbuh dihitung dengan menggunakan *colony counter* (Depkes RI 1995).

Uji kadar air, pH, dan suhu daging

Daging yang telah diuji secara in vivo kemudian diukur suhunya dengan menggunakan termometer. Setelah itu, daging diuji nilai pH-nya dengan menggunakan kertas indikator pH skala 4-7. Selanjutnya dilakukan uji kadar air daging. Uji kadar air daging dilakukan dengan menimbang flakon kosong. Setelah itu, flakon diisi dengan daging seberat 2 gram yang telah diuji secara in vivo untuk masing-masing konsentrasi ekstrak, kemudian dilakukan penimbangan kembali. Berat flakon kosong berisi daging dianggap sebagai berat sampel awal.

Flakon yang berisi daging kemudian dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 100°C selama 24 jam. Setelah 24

jam, flakon berisi daging ditimbang kembali dan nilainya dianggap sebagai berat sampel akhir. Selisih antara berat awal dan berat akhir merupakan nilai perubahan kadar air dalam daging. Kadar air daging dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\frac{\text{berat sampel awal}-\text{berat sampel akhir}}{\text{berat sampel awal}} \times 100\%$$

Analisis data

Data hasil pengamatan dianalisis dengan ANOVA. Jika terdapat perbedaan yang signifikan maka dilanjutkan dengan uji DMRT dengan tingkat kesalahan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahap preparasi dan pengujian awal

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah mengkudu sebanyak 20 kg yang berumur sekitar 4 bulan dan berwarna kuning keputihan. Hal ini dikarenakan pada umur 4 bulan, kandungan flavonoid di dalam buah mengkudu cukup tinggi (Hilman 2009). Sebelum buah mengkudu dibuat serbuk, dilakukan penyortiran, pencucian, pemotongan, pengeringan, serta penghancuran buah mengkudu, sehingga didapatkan simplisia serbuk sebanyak 1200 gram dari buah mengkudu.

Pembuatan serbuk buah mengkudu bertujuan untuk memperluas permukaan partikel yang berinteraksi dengan pelarut, sehingga penetrasi pelarut ke dalam jaringan tanaman berlangsung efektif. Hal ini akan mempermudah pelarutan metabolit sekunder (Cannell 1998), serta senyawa dapat terekstrak dengan sempurna. Setelah itu dilakukan ekstraksi dan pembuatan seri konsentrasi ekstrak buah mengkudu. Selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi dengan etanol sebagai pelarut.

Etanol digunakan sebagai pelarut dalam proses ekstraksi, karena berdasarkan beberapa hasil penelitian dilaporkan bahwa etanol merupakan pelarut semipolar yang sangat baik untuk menarik senyawa golongan polifenol, fenol, glikosida, dan flavonoid yang terdapat di dalam biomassa tumbuhan (Virganita 2009). Hal ini sesuai dengan referensi yang didapatkan bahwa senyawa aktif antibakteri yang terkandung di dalam buah mengkudu yaitu flavonoid (Djauhariya 2003), dimana senyawa tersebut tergolong dalam senyawa polar, sehingga untuk menarik senyawa polar yang terkandung dalam buah mengkudu dianjurkan untuk menggunakan pelarut yang memiliki sifat kepolaran yang sama. Selanjutnya dilakukan pembuatan seri konsentrasi ekstrak buah mengkudu. Dalam pembuatan ekstrak buah mengkudu digunakan pelarut CMC. Pelarut CMC merupakan turunan selulosa yang mudah larut di dalam air yang berfungsi untuk melarutkan ekstrak dalam pembuatan seri konsentrasi ekstrak buah mengkudu. Selanjutnya dilakukan uji in vivo pada daging buah mengkudu. Setelah itu dilakukan pengujian terhadap kadar air, pH, suhu, dan ALT pada daging.

Uji ALT daging sapi

Uji ALT dilakukan terhadap sampel daging sapi yang telah dilakukan uji in vivo setiap 4 jam secara aseptis. Semua peralatan yang digunakan disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 30 menit. Tahapan dalam uji ALT tersebut meliputi proses penghancuran sampel, homogenisasi sampel, pengenceran, penanaman pada media padat (inokulasi), tahap inkubasi, dan penghitungan jumlah koloni bakteri. Tahap penghancuran sampel, homogenisasi sampel, pengenceran, serta inokulasi dilakukan di dalam LAF.

Tahap homogenisasi sampel merupakan tahap pendahuluan dalam pengujian. Homogenisasi daging diawali dengan pencacahan menggunakan pisau steril, kemudian daging hasil cacahan dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan selanjutnya dilakukan tahap pengenceran. Homogenisasi bertujuan untuk membebaskan sel bakteri yang mungkin terlindung partikel sampel dan untuk memperoleh distribusi bakteri sebaik mungkin.

Pada tahap pengenceran, digunakan larutan pengencer yang berfungsi untuk mengaktifkan kembali sel-sel bakteri yang mungkin kehilangan vitalitasnya karena kondisi di dalam sampel yang kurang menguntungkan. Pengenceran suspensi sampel dilakukan untuk mendapatkan koloni yang tumbuh secara terpisah dan dapat dihitung dengan mudah. Pengencer yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari larutan NaCl 0,9% yang ditambah dengan *pepton water* 0,1%. Penggunaan NaCl sebagai larutan pengencer tersebut sesuai dengan fungsi NaCl sebagai garam fisiologis yang mengandung ion-ion terlarut dalam cairan tubuh organisme, sedangkan *peptone water* berfungsi sebagai sumber nutrisi bagi bakteri untuk mempertahankan fase tumbuh bakteri.

Dalam uji ALT digunakan media NA karena pada media NA terkandung nutrisi, terutama natrium yang berguna sebagai sumber karbon dan nitrogen yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri pada sampel yang ditanam pada media. Selanjutnya, cawan petri tersebut diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam, yang bertujuan untuk menumbuhkan koloni bakteri. Selanjutnya, jumlah koloni bakteri yang tumbuh dihitung menggunakan *colony counter*.

Berdasarkan Gambar 1, jika ditinjau dari pola grafik penghambatan jumlah bakteri dan rentang waktu penyimpanan yang sama antara ekstrak dan formalin 1%, serta ditinjau dari kualitas daging sapi yang masih dapat dikonsumsi berdasarkan batas jumlah bakteri yang diizinkan untuk dikonsumsi ($<10^4$), tren grafik pertambahan jumlah bakteri pada daging selama waktu penyimpanan 4 jam, cenderung mengalami kenaikan yang diindikasikan dengan meningkatnya suhu pada daging, kecuali grafik jumlah bakteri pada daging yang direndam dengan ekstrak buah mengkudu pada konsentrasi 40%, 50%, 60%, dan 70% yang cenderung mengalami penurunan dengan jumlah bakteri pada daging yang masih dalam batas aman untuk dikonsumsi. Kondisi tersebut diindikasikan dengan menurunnya kadar air dan pH pada daging pada waktu penyimpanan tersebut. Hal ini sesuai dengan pernyataan Muljanah et al. (1986) bahwa semakin rendah kadar air maka pertumbuhan bakteri semakin

lambat, serta hasil penelitian Yanti (2008) yang menunjukkan semakin rendah pH daging sapi, semakin sedikit jumlah koloni bakteri. Semua daging yang direndam dengan ekstrak buah mengkudu dan formalin 1% memiliki jumlah bakteri yang masih dalam batas aman untuk dikonsumsi ($<10^4$). Namun, untuk daging yang direndam dalam ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 30%, jumlah bakteri pada waktu penyimpanan selama 4 jam sudah melebihi batas aman jumlah bakteri yang aman untuk dikonsumsi. Hal ini diindikasikan dengan meningkatnya suhu pada daging. Peningkatan suhu mengindikasikan peningkatan jumlah bakteri karena adanya metabolisme bakteri akan menyebabkan peningkatan suhu. Dengan demikian, konsentrasi ekstrak buah mengkudu 10%, 20%, dan 30% tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertambahan jumlah bakteri.

Untuk waktu penyimpanan selama 8 jam, grafik jumlah bakteri tidak menunjukkan adanya tren yang spesifik. Daging yang direndam dalam ekstrak buah mengkudu pada konsentrasi 40%, 70%, 80%, 90%, dan formalin 1% cenderung memiliki tren grafik jumlah bakteri yang cenderung menurun. Adapun daging yang direndam dengan konsentrasi ekstrak 50%, 60%, dan 100% cenderung memiliki tren jumlah bakteri yang cenderung meningkat. Meskipun demikian, semua daging yang direndam dengan konsentrasi ekstrak tersebut dan formalin 1% memiliki jumlah bakteri yang masih dalam batas aman untuk dikonsumsi.

Pada waktu penyimpanan 12 jam, grafik jumlah bakteri tidak menunjukkan adanya tren yang spesifik. Daging yang direndam dengan konsentrasi ekstrak 40%, 50%, 60%, dan 70% memiliki tren grafik jumlah bakteri yang cenderung meningkat dan kenaikan jumlah bakteri tersebut telah melebihi batas jumlah bakteri yang aman untuk dikonsumsi. Dengan demikian, konsentrasi ekstrak 40%, 50%, 60%, dan 70% mampu menghambat pertambahan jumlah bakteri selama 8 jam penyimpanan. Tingginya pertumbuhan bakteri dapat disebabkan adanya kandungan lemak yang terdapat dalam daging yang mampu membentuk lapisan pada permukaan mikroba dan dapat mencegah penetrasi zat antimikroba dari ekstrak ke dalam sel mikroba (Ting dan Deibel 1992). Selain itu, kandungan protein dan lemak yang cukup besar dalam bahan pangan dapat menurunkan aktivitas zat antimikroba (Shelef 1983). Adapun daging yang direndam pada konsentrasi ekstrak 80%, 90%, 100%, dan formalin 1% memiliki tren grafik jumlah bakteri yang cenderung menurun yang disertai penurunan kadar air dengan jumlah bakteri tersebut masih berada dalam batas aman untuk dikonsumsi. Hal ini disebabkan konsentrasi 80%, 90%, dan 100% memiliki kandungan senyawa aktif antibakteri dan antioksidan yang cukup tinggi, sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri dalam jangka waktu yang lama. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pelczar dan Chan (1988) bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat.

Pada waktu penyimpanan 16 jam, tren grafik jumlah bakteri menunjukkan penurunan, kecuali untuk daging yang direndam dengan konsentrasi ekstrak 80%, 90%,

100%, dan formalin 1% menunjukkan tren grafik jumlah bakteri yang cenderung meningkat yang diindikasikan dengan meningkatnya suhu daging pada waktu penyimpanan tersebut. Meskipun demikian, untuk konsentrasi ekstrak 100% dan formalin 1%, kenaikan jumlah bakteri tersebut masih dalam batas aman jumlah bakteri yang aman untuk dikonsumsi. Akan tetapi, untuk konsentrasi ekstrak 80% dan 90%, kenaikan jumlah bakteri tersebut sudah melebihi batas aman jumlah bakteri yang aman untuk dikonsumsi. Dengan demikian, ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi 80% dan 90% aktif menghambat kenaikan jumlah bakteri selama 12 jam. Meskipun ekstrak buah mengkudu memiliki kandungan senyawa antibakteri yang cukup tinggi, pada waktu penyimpanan yang cukup lama yaitu 16 jam, aktivitas ekstrak tersebut cenderung berkurang. Kondisi tersebut disebabkan oleh adanya penurunan aktivitas zat antimikroba yang dapat terjadi jika komponen antimikroba tersebut bereaksi atau berikatan dengan komponen makanan, atau terjadi pemecahan dan pengurangan struktur kimia antimikroba.

Ekstrak buah mengkudu pada konsentrasi 100% memiliki aktivitas yang sama dengan formalin 1% dalam rentang waktu penyimpanan yang cukup panjang yaitu 16 jam. Daging yang direndam dengan konsentrasi ekstrak 100% layak untuk dikonsumsi selama rentang waktu 16 jam penyimpanan, sehingga mampu menggantikan formalin sebagai bahan pengawet makanan, terutama daging. Kemampuan ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi 100% dalam menghambat pertambahan jumlah bakteri dalam jangka waktu yang lama disebabkan karena tingginya kandungan senyawa aktif antibakteri dan antioksidan di dalam ekstrak, sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri dalam jangka waktu yang lama. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pelczar dan Chan (1988) bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat.

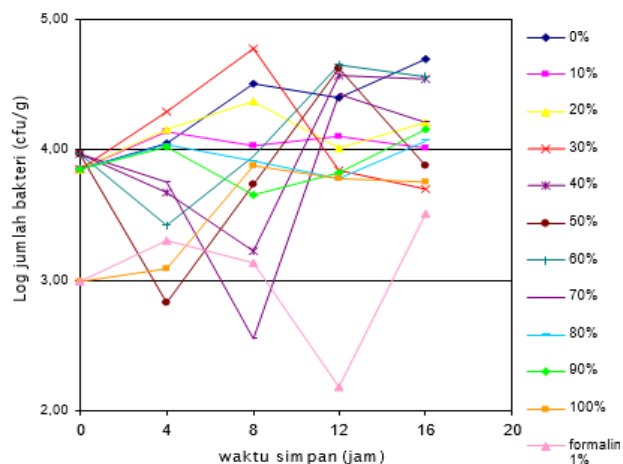
Dari hasil analisis statistik, pemberian ekstrak maupun waktu penyimpanan memberikan pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap jumlah bakteri pada daging. Jumlah bakteri pada daging yang direndam dengan semua konsentrasi ekstrak dan formalin 1% memiliki perbedaan yang nyata terhadap jumlah bakteri pada daging kontrol. Jumlah bakteri daging yang direndam dengan ekstrak 100% tidak berbeda nyata dengan jumlah bakteri pada daging yang direndam dengan formalin 1%. Berdasarkan uraian tersebut maka ekstrak yang memiliki kemampuan untuk menghambat jumlah bakteri yang lebih baik daripada kontrol dan memiliki aktivitas yang sama dengan formalin yaitu ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi 100%. Hal tersebut didukung dengan hasil analisis statistik dengan uji-t yang memperlihatkan hasil bahwa jumlah bakteri pada daging yang direndam dengan konsentrasi ekstrak 100% pada awal penyimpanan (0 jam) tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan jumlah bakteri pada akhir penyimpanan (16 jam), sehingga dapat diartikan bahwa konsentrasi ekstrak 100% mampu menghambat jumlah bakteri selama 16 jam penyimpanan.

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan uji T, terdapat perbedaan pertumbuhan bakteri pada daging antara

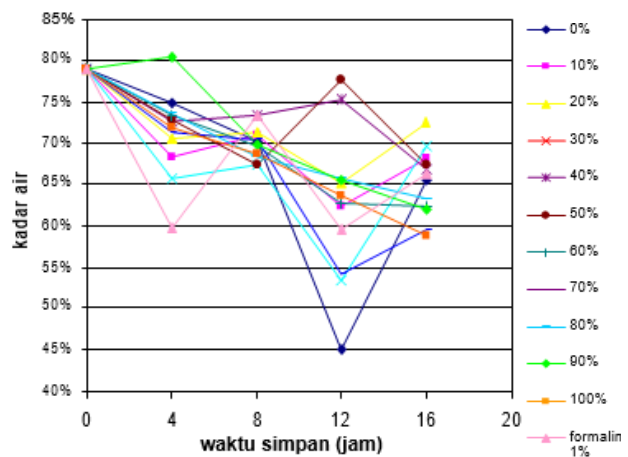
perlakuan kontrol dan formalin 1%. Pada daging kontrol, bakteri mengalami pertumbuhan. Hal ini dapat dilihat dari jumlah bakteri pada akhir penyimpanan (16 jam) yang berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan jumlah bakteri pada awal penyimpanan (0 jam). Adapun pada daging yang direndam dengan formalin 1%, pertumbuhan bakteri cenderung ditekan yang dapat terlihat dari jumlah bakteri pada akhir dan awal penyimpanan yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Dari pernyataan tersebut, dapat dilihat bahwa formalin mampu menghambat pertumbuhan bakteri pada daging. Hal ini dikarenakan formalin memiliki unsur aldehid yang bersifat mudah bereaksi dengan protein, sehingga formalin akan mengikat unsur protein, mulai dari bagian permukaan hingga meresap ke bagian dalam suatu bahan makanan. Formalin membunuh bakteri dengan membuat sel bakteri mengalami dehidrasi (kekurangan air), sehingga sel bakteri menjadi kering dan membentuk lapisan baru di permukaan. Artinya, formalin tidak saja membunuh bakteri, tetapi juga membentuk lapisan baru yang melindungi lapisan di bawahnya, supaya tahan terhadap serangan bakteri lain (Setyabudi et al. 2008).

Fenomena perbedaan aktivitas penghambatan masing-masing konsentrasi ekstrak pada waktu penyimpanan tertentu seperti dalam penelitian ini sesuai dengan pernyataan Pelczar dan Chan (1988), bahwa apabila suatu bahan antibakteri diaplikasikan, bahan tersebut tidak akan membunuh semua bakteri pada saat yang sama, melainkan sel-sel tersebut akan terbunuh dalam suatu periode waktu dengan laju eksponensial yang konstan. Adanya fluktuasi pertambahan jumlah bakteri selama masa penyimpanan selain disebabkan oleh faktor eksternal, seperti kadar air, pH, dan suhu daging, juga berhubungan dengan faktor internal seperti fase pertumbuhan bakteri.

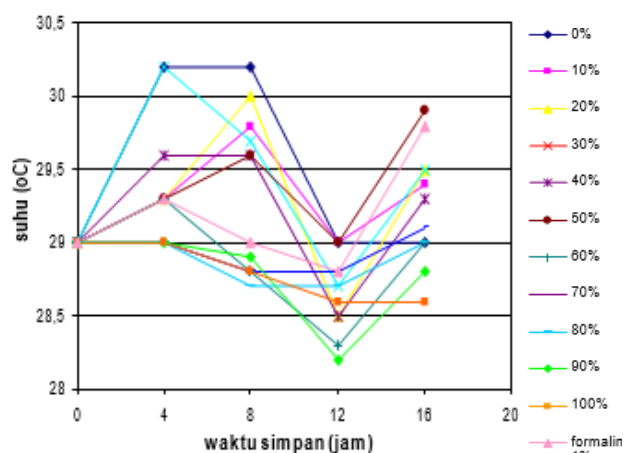
Tingginya kandungan senyawa antioksidan yaitu senyawa fenol (flavonoid) di dalam ekstrak sangat mempengaruhi tingkat keawetan suatu bahan pangan, karena antioksidan bekerja untuk menghambat auto-oksidasi pada lemak dengan cara menghambat reaksi antara peroksida aktif dengan ikatan rangkap lemak (Rini 2009). Aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh senyawa metabolit sekunder tanaman sangat penting karena dapat berfungsi sebagai penangkap radikal bebas. Selain itu, senyawa tersebut juga memiliki peran dalam mekanisme pertahanan terhadap mikroorganisme. Aktivitas tersebut dimiliki karena kemampuannya dalam membentuk kompleks dengan protein yang larut dan protein ekstraseluler, dan dalam membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri (Cowan 1999), sehingga dapat berfungsi sebagai antibakteri. Selain itu, penghambatan terhadap pertumbuhan sel-sel mikroba oleh komponen fenol dari suatu zat antimikroba disebabkan oleh kemampuan fenol untuk mendenaturasi protein dan merusak membran sel dengan cara melarutkan lemak yang terdapat pada dinding sel, karena senyawa tersebut mampu melakukan migrasi dari fase cair ke fase lemak (Pelczar dan Reid 1979). Aktivitas antioksidan dan antibakteri tersebut dapat dimanfaatkan sebagai bahan tambahan makanan yang akan menjaga makanan dari ketengikan dan kontaminasi bakteri.



Gambar 1. ALT daging pada berbagai konsentrasi ekstrak buah mengkudu dan waktu penyimpanan



Gambar 2. Kadar air daging pada berbagai konsentrasi ekstrak buah mengkudu dan waktu penyimpanan



Gambar 3. Suhu daging pada berbagai konsentrasi ekstrak buah mengkudu dan waktu penyimpanan.

Uji faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas daging sapi

Kadar air daging

Dari grafik kadar air daging, dapat dilihat bahwa kadar air daging yang direndam dalam ekstrak buah mengkudu selama 4 jam penyimpanan, cenderung mengalami penurunan. Hal ini disebabkan oleh ekstrak pada awal waktu penyimpanan lebih difokuskan untuk menyerap air yang terkandung di dalam daging melalui proses osmosis. Adapun pada 8 jam penyimpanan, kadar air daging tidak menunjukkan tren yang spesifik. Hal ini disebabkan jumlah bakteri pada waktu penyimpanan tersebut juga tidak menunjukkan tren yang spesifik. Untuk waktu penyimpanan 12 jam, kadar air daging cenderung menurun, terkecuali daging yang direndam dalam ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi 40% dan 50% yang mengalami kenaikan, hal ini didukung dengan meningkatnya jumlah bakteri pada waktu penyimpanan tersebut. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Fardiaz (1992) bahwa semakin banyak bakteri yang tumbuh maka jumlah air yang dihasilkan juga semakin banyak. Adapun untuk waktu penyimpanan 16 jam, kadar air daging cenderung mengalami kenaikan, kecuali daging yang direndam dalam ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi 40-100% yang cenderung mengalami penurunan. Hal ini disebabkan tingginya kandungan zat antibakteri pada ekstrak yang mampu menghambat pertambahan jumlah bakteri, sehingga kadar air daging menurun.

Pada Gambar 2, rata-rata kadar air daging yang direndam dalam ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi yang cukup tinggi (40-100%) memiliki kadar air yang cukup rendah yaitu berkisar antara 60-66% selama 16 jam penyimpanan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Muchtadi dan Sugiyono (1992) bahwa kadar air daging sapi yang direkomendasikan oleh *American Meat Institute Foundation* adalah 66%. Dengan demikian, kadar air daging yang direndam dalam ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi yang cukup tinggi, memiliki kadar air yang memenuhi standar tersebut.

Nilai pH daging

Berdasarkan grafik pengukuran pH, pH daging cenderung mengalami penurunan pada 4 jam penyimpanan, hal ini diduga disebabkan ekstrak buah mengkudu aktif bekerja selama 4 jam penyimpanan. Adapun pada penyimpanan selama 8 jam, pH daging cenderung stabil dan terdapat sebagian daging yang mengalami penurunan pH, hal ini diduga disebabkan oleh jenis bakteri yang tumbuh pada daging adalah golongan bakteri asam laktat yang menyebabkan pH menjadi rendah (Kusmiati dan Malik 2002). Untuk waktu penyimpanan selama 12 jam, pH daging tidak menunjukkan tren yang spesifik, hal ini disebabkan pada waktu penyimpanan tersebut, jumlah bakteri mengalami fluktuasi, sedangkan pH daging pada 16 jam penyimpanan cenderung stabil.

Jika dibandingkan dengan kontrol, semua daging yang direndam pada semua konsentrasi ekstrak maupun formalin 1%, memiliki pH yang lebih rendah dibandingkan kontrol. Hal ini memperlihatkan bahwa ekstrak mengkudu memiliki

pengaruh dalam memperpanjang waktu simpan daging yang ditandai dengan rendahnya pH pada daging.

Nilai pH medium sangat mempengaruhi jenis mikroba yang tumbuh. Nilai pH yang cukup rendah, yaitu 4-5, menyebabkan bakteri pada umumnya tidak dapat berkembang biak dengan baik (Rahayu 2000). Dari hasil pengukuran pH daging sapi yang direndam dalam ekstrak buah mengkudu, rata-rata pH daging berkisar antara 4,4-5,3, sehingga dapat dimungkinkan bahwa bakteri yang terdapat pada daging tersebut adalah golongan bakteri asam laktat, hal ini sesuai dengan hasil penelitian Nur (2009) tentang suksesi mikroba pada fermentasi mandai, makanan tradisional yang dibuat dengan fermentasi berkadar garam tinggi, bahwa kisaran pH yang terbentuk selama fermentasi mandai berada dalam kisaran pH 3,71-6,02. Nilai pH tersebut mengindikasikan bahwa bakteri yang ditemukan dalam produk mandai adalah kelompok bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat umumnya akan memecah glukosa untuk menghasilkan asam laktat. Hal ini menyebabkan pH menjadi rendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain, sehingga dapat berfungsi sebagai pengawet makanan (Kusmiati dan Malik 2002).

Kombinasi antara senyawa antimikroba dan pH asam dapat memperkuat aktivitas antimikroba. Menurut Hugo dan Russel (1983), senyawa fenolik menunjukkan keaktifan maksimum pada pH asam. Dari hasil pengukuran nilai pH daging yang direndam dengan ekstrak mengkudu mempunyai pH yang cukup rendah. Diduga pH yang rendah pada mengkudu menyebabkan zat antimikroba dalam ekstrak buah mengkudu menjadi lebih aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Suhu daging

Selama 4 jam penyimpanan, suhu daging cenderung mengalami kenaikan. Adapun pada 8 jam penyimpanan, suhu daging tidak menunjukkan tren yang spesifik, karena jumlah bakteri pada waktu penyimpanan tersebut mengalami fluktuasi. Pada 12 jam penyimpanan, suhu daging cenderung menurun, sedangkan pada 16 jam penyimpanan, suhu daging mengalami peningkatan.

Nilai suhu daging dari semua perlakuan ekstrak buah mengkudu lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol (Gambar 3), sehingga dapat terlihat bahwa perendaman daging dalam ekstrak buah mengkudu memberikan pengaruh dalam memperpanjang waktu simpan daging dibandingkan dengan daging yang tidak direndam dalam ekstrak buah mengkudu, hal ini sesuai dengan pernyataan Hadiwiyoto (1993) bahwa kecepatan proses metabolisme untuk pertumbuhan bakteri tersebut sangat tergantung pada suhu penyimpanan. Semakin rendah suhu maka semakin lambat proses metabolisme tersebut berlangsung dan semakin lama daging dapat disimpan. Selain itu, suhu tinggi akan menyebabkan perubahan pH yang cepat, sehingga dapat diasumsikan jika suhu mengalami penurunan maka jumlah bakteri juga akan menurun.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu memberikan pengaruh yang signifikan terhadap jumlah bakteri pada daging sapi. Waktu penyimpanan memberikan pengaruh yang signifikan terhadap jumlah bakteri pada daging sapi. Konsentrasi ekstrak 100% memiliki aktivitas yang sama dengan formalin dalam menghambat jumlah bakteri selama waktu penyimpanan 16 jam.

DAFTAR PUSTAKA

- Cannell RJP. 1998. Natural Products Isolation. Human Press Inc., New Jersey.
- Collins CH, Patricia ML, Grage JM. 1989. Microbiological methods. 6th edition. Butterworth, London.
- Cowan MM. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev 12 (4): 564-582.
- Depkes RI [Departemen Kesehatan Republik Indonesia]. 1995. Farmakope Indonesia, Edisi IV. Depkes RI, Jakarta.
- Djaafar, Titiek F, Rahayu S. 2007. Cemaran mikroba pada produk pertanian, penyakit yang ditimbulkan dan pencegahannya. Jurnal Litbang Pertanian 26 (2): 68-69.
- Djauhariya E. 2003. Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) tanaman obat tradisional. Perkembangan Teknologi 15 (1): 18-23.
- Fardiaz S. 1992. Mikrobiologi pengelolaan pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Hadiwiyoto S. 1993. Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan. Penerbit Liberty, Jakarta.
- Hilman. 2009. Buah mengkudu untuk obat kanker. www.naturindonesia.com. [14 Maret 2010].
- Hugo WB, Russel AD. 1983. Pharmaceutical Microbiology. 3rd ed. Blackwell, Oxford, UK.
- Kusmiati, Malik A. 2002. Aktivitas bakteriosin dari bakteri *Leuconostoc mesenteroides* pbac1 pada berbagai media. Makara Kesehatan 6 (1): 1-6.
- Muchtadi TR, Sugiyono. 1992. Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Muljanah IH, Irianto E, Putro S. 1986. Kemunduran mutu bakso ikan mas (*Cyprinus carpio*) pada suhu rendah (5°C). Lembaga Penelitian Perikanan Laut, Jakarta.
- Nur HS. 2009. Sukses mikroba dan aspek biokimiawi fermentasi mandai dengan kadar garam rendah. Makara Sains 13 (1): 13-16.
- Pelczar MJ, Chan ECS. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi. UI Press, Jakarta.
- Pelczar MJ, Reid RD. 1979. Microbiology. McGraw Hill Book Co., New York.
- Putra AK. 2009. Boraks dan formalin pada makanan. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Rahayu WP. 2000. Aktivitas antimikroba bumbu masakan tradisional hasil olahan industri terhadap bakteri patogen dan perusak. Buletin Teknologi dan Industri Pangan 11 (2): 22-34.
- Rini R. 2009. Produksi antioksidan dari daun simpur (*Dillenia indica*) menggunakan metode ekstraksi tekanan tinggi dengan sirkulasi pelarut. Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia. Jurusan Teknik Metalurgi dan Material, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.
- Ristiningsih T. 2009. Uji antibakteri komponen bioaktif daun lobak (*Raphanus sativus* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* Rosenbach dan profil kromatografi lapis tipisnya. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Setyabudi, Dondy A, Winarti C et al. 2008. Perlunya standar mutu buah impor: Studi kasus kontaminan pada buah-buahan impor. Prosiding PPI Standardisasi 2008. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Bogor.
- Shelef LA. 1983. Antimicrobial effect of spices. J Food Safety 6: 29-44.
- Ting WTE, Deibel K.E. 1992. Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to spices at two temperatures. J Food Safety 12: 129-137.
- Virganita J. 2009. Uji antibakteri komponen bioaktif daun lobak (*Raphanus sativus* L.) terhadap *Escherichia coli* dan profil kromatografi lapis tipisnya. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Yanti H, Hidayati, Elfawati. 2008. Kualitas daging sapi dengan kemasan plastik PE (*Polyethylen*) dan plastik PP (*Polypropylen*) di Pasar Arengka Kota Pekanbaru. Jurnal Peternakan 5 (1): 22-27.

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 sampel 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.

Efek antihelmintik ekstrak etanol daun kemangi (<i>Ocimum americanum</i>) terhadap kematian <i>Ascaris suum</i> secara in vitro	1-6
• OKKIE MHARGA SENTANA, SRI HARYATI, YUL MARIYAH	
Efek antipiretik ekstrak daun pare (<i>Momordica charantia</i>) pada tikus putih jantan	7-11
• ELLY FAUZIAH ERMAWATI, SAMIGUN, ENDANG SRI HADJANTI	
Pengaruh ekstrak herba anting-anting (<i>Acalypha australis</i>) terhadap kadar glukosa darah mencit Balb/C dengan induksi Streptozotocin	12-16
• RIZKY OCKTARINI, DIDING HERI PRASETYO, IPOP SJARIFAH	
Penambahan ekstrak jahe dalam pembuatan susu kedelai bubuk instan dengan metode spray drying: Komposisi kimia, sifat sensoris, dan aktivitas antioksidan	17-25
• DIKA PRAMITASARI, R. BASKORO KATRI ANANDHITO, GUSTI FAUZA	
Pengaruh konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i>) dan waktu penyimpanan terhadap kualitas daging sapi	26-32
• AVE SONIA RAHMAN, TJAHJADI PURWOKO, ESTU RETNANINGTYAS NUGRAHENI	

