

SAINS NATURAL

Jurnal Ilmiah Ilmu – ilmu Biologi dan Kimia
Volume 12 No. 2 April 2022

Pelindung :

Dr. Ir. Yunus Arifien, M.Si (Universitas Nusa Bangsa)

Penanggung Jawab (Advisory Editor)

Dr. Lany Nurhayati, M.Si (Universitas Nusa Bangsa)

Ketua Dewan Redaksi (Editor in Chief)

Dra. Febi Nurilmala, M.Si (Bioteknologi, Universitas Nusa Bangsa)

Editor (Editors)

Dr. Agung Abadi Kiswandono, M.Sc (Kimia Analitik dan lingkungan, Universitas Lampung)

Mamay Maslahat, S.Si., M.Si (Kimia Analisis, Universitas Nusa Bangsa)

Dra. Tri Retno Dyah Larasati, M.Si (Kimia Lingkungan, Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi-Badan Tenaga Nuklir Nasional)

Editor Bagian (Section Editors)

Devy Susanty, S.Pd., M.Si (Biokimia, Universitas Nusa Bangsa)

Mia Azizah, S.Si., M.Si (Ekologi, Universitas Nusa Bangsa)

Editor Bahasa (Copy Editors)

Srikandi, S.Si., M.Si (Mikrobiologi Tanah dan Lingkungan, Universitas Nusa Bangsa)

Dra. Nia Yuliani, M.Pd (Fisiologi Tumbuhan, Universitas Nusa Bangsa)

Dra. I Gusti Ayu Manik Widyastini, M.Kes (Fisiologi Hewan, Universitas Nusa Bangsa)

Nina Ariesta, S.Pd., M.Si (Kimia Fisika, Universitas Nusa Bangsa)

Ade Ayu Oksari, S.Si., M.Si (Taksonomi, Universitas Nusa Bangsa)

Gladys Ayu Paramita Kusumah Wardhani, S.Si., M.Si (Kimia Anorganik, Universitas Nusa Bangsa)

Nurlela, S.Si., M.Si (Kimia Organik, Universitas Nusa Bangsa)

Proofreaders

Dr. Lany Nurhayati, M.Si (Kimia Organik, Universitas Nusa Bangsa)

Layout Editor

Dian Arrisujaya, S.Pd., M.Si (Kimia Analisis Lingkungan, Universitas Nusa Bangsa)

Web Admin

Dian Arrisujaya, S.Pd., M.Si (Kimia Analisis Lingkungan, Universitas Nusa Bangsa)

Sekretariat Redaksi (Secretariat)

Nurlela, S.Si., M.Si (Kimia Organik, Universitas Nusa Bangsa)

Penerbit :

Fakultas MIPA Universitas Nusa Bangsa

Kantor :

Kampus Universitas Nusa Bangsa

Jl. Raya K. H. Sholeh Iskandar Km. 4, Cimanggu, Tanah Sareal Bogor 16166

Telp. (0251) 8340217, 7535605 Fax. (0251) 7535605

Website : <http://ejournalunb.ac.id/index.php/JSN/index>

e-mail : jsainsnatural.unb@gmail.com

Jurnal Sains Natural merupakan jurnal ilmiah yang memuat artikel hasil penelitian dan kupasan (*review*) dalam bidang Biologi dan Kimia yang orsinil dan belum serta tidak dipublikasikan dalam media lain. Naskah dikirim ke kantor editor. Naskah yang masuk akan melalui proses seleksi mitra bestari dan editor. Naskah yang dapat dimuat dengan perbaikan akan dikirimkan kembali ke penulis untuk disempurnakan, sedangkan naskah yang tidak dapat dimuat hanya akan dikembalikan jika disertai amplop balasan yang berperangko secukupnya. Informasi lengkap untuk pemuatan artikel dan petunjuk penulisan tersedia disetiap terbitan. Calon penulis artikel yang memerlukan petunjuk penulisan artikel, dapat menghubungi Redaksi Pelaksana Jurnal Sains Natural. Jurnal ini terbit secara berkala sebanyak dua kali dalam setahun (Januari dan Juli).

Journal of Natural Science is a scientific journal containing research articles and analysis (*review*) in the field of Biology and Chemistry of original and yet also not published in other media. The manuscript is sent to the office of the editor. Manuscript received will be through the selected partner process and editor. Scripts that can be loaded with the repair will be sent back to the author to be refined, while the script which can not be loaded will be returned only if accompanied by a stamped reply envelope. Complete information and instructions for loading article writing is available in every issue. Prospective authors of articles that need help writing the article, please contact the Managing Editor of Journal of Natural Science. The journal is published on a regular basis twice a year (January and July)

Mengutip ringkasan dan pernyataan atau mencetak ulang gambar atau tabel dari jurnal ini harus mendapat ijin dari penulis. Produksi ulang dalam bentuk kumpulan cetakan ulang untuk keperluan apapun harus seijin salah satu penulis dan mendapat lisensi dari penerbit. Jurnal ini diedarkan sebagai tukaran dan untuk perguruan tinggi, lembaga penelitian dan perpustakaan di dalam dan luar negeri.

Citing a summary and a statement or reprint pictures or tables from this journal should get permission from the author. Reproduced in the form of a collection of reprint for any purpose permission must be from one of the authors and get a license from the publisher. The journal is distributed as an exchange and for universities, research institutions and libraries at home and abroad.

KATA PENGANTAR

Penerbitan Jurnal Sains Natural Volume 12 No.2, Bulan April 2022 dapat terlaksana berkat kerja sama semua pihak. Kami berharap isi dalam Jurnal Sains Natural ini dapat menarik minat pembaca dan diambil manfaat serta kegunaan dari hasil – hasil penelitian di dalamnya.

Pada terbitan ini membahas aspek – aspek Biologi dan Kimia seperti: *Kertas Indikator pH dengan Mengimmobilisasikan Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit, Hibiscus Leaves Extract, Antioksidan Fuli Buah Pala (Myristica Fragrans Houtt), Pemanfaatan Besi Bekas untuk Pengolahan Limbah Cair Industri Kelapa Sawit, Komposit Ag-Hidroksidaapatit dari Tulang Ikan Tuna (Thunnus albacores) dan Minyak Atsiri Lengkuas (Alpinia galanga (L.) Willd).*

Kami mengharapkan masukan – masukan berupa kritik maupun saran yang membangun yang ditujukan baik pada pengelola maupun para penulis jurnal ini. Kepada semua pihak yang telah terlibat dalam penerbitan ini, pengelola mohon maaf jika ada kesalahan – kesalahan yang tidak kami sengaja. Kami ucapkan terima kasih terutama pada mitra bestari atas segala bantuannya sehingga terbitnya Jurnal Ilmiah Sains Natural yang kami anggap kualitasnya sudah lebih baik.

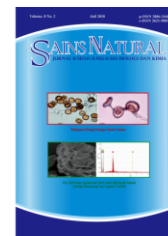
Bogor, April 2022

Ketua Dewan Redaksi

Sains Natural

Jurnal Ilmiah Ilmu – ilmu Biologi dan Kimia

| Volume 12 | April 2022 | No. 2 |
|---|------------|-------|
| <i>Research Articles</i> | | |
| 1. <i>pH Indicator Paper by Immobilizing Turmeric rhizome Ethanol Extract on Filter Paper</i> Maria Aloisia Uron Leba, Maria Benedikta Tukan, Faderina Komisia..... | | 45-53 |
| 2. <i>Utilization of Hibiscus Leaves Extract as an Environmentally Friendly Detergent Active Ingredients</i> Gerda Pintoko Tunjungsari, Muhamad Aditya Hidayah, Alfandi Ahmad, Retno Aliyatul Fikroh..... | | 54-64 |
| 3. <i>Secondary Metabolites and Potential Antioxidants of Nutmeg (<i>Myristica fragrans</i> Houtt) Mace from West Java</i> Rahmatul Kartini Erza, Karmanah, Nurlela..... | | 65-72 |
| 4. <i>Utilization of Iron Scrap for Palm Oil Mill Effluent Treatment by Fenton and Photo-Fenton Processes</i> Diana Novita Sari, Dea Amelia, Muhammad David Ramadhon, Yuant Tiandho..... | | 73-77 |
| 5. <i>Antibacterial Activity of Ag-Hydroxyapatite Composite of Bone-in Tuna (<i>Thunnus albacores</i>) Against <i>Streptococcus mutans</i></i> Hendri Faisal, Rida Evalina Tarigan, Julkardo Lase..... | | 78-84 |
| 6. <i>Galangal Rhizome (<i>Alpinia galanga</i> (L.) Willd) Essential Oil as a Natural Preservative of Chicken Fillets</i> Rr Pramitha Ika Putri Ayuningtyas, Nia Yuliani, dan Srikandi..... | | 85-94 |



pH INDICATOR PAPER BY IMMOBILIZING TURMERIC RHIZOME ETHANOL EXTRACT ON FILTER PAPER

Maria Aloisia Uron Leba^{1)*}, Maria Benedikta Tukan²⁾ dan Faderina Komisia³⁾
^{1,2,3)}Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Katolik Widya Mandira, Jln. San Juan No.1 Penfui Timur, Kupang, 85361, Indonesia

ARTICLE INFO

Article history:

Received 20 Jan 2022,

Revised 28 Mar 2022,

Accepted 04 Apr 2022

Available online 30 Apr 2021

Keywords:

- ✓ curcumin
- ✓ turmeric
- ✓ pH indicator
- ✓ indicator paper
- ✓ natural indicator

*corresponding author:

mariaaloisiauronleba@gmail.com

Phone: +6285253826118

<https://doi.org/10.31938/jsn.v12i2.377>

ABSTRACT

Research has been carried out on the manufacture of pH indicator paper by immobilizing turmeric rhizome ethanol extract on filter paper. Turmeric extract was extracted from turmeric rhizome samples with 95% medical-grade ethanol and 96% analytical grade ethanol. The ethanol extract obtained was immobilized by adsorption on filter paper. This research aimed to examine the phytochemicals of turmeric ethanol extract, the effectiveness of turmeric ethanol extract on pH solution of 1-14, the effectiveness of turmeric paper on pH solution of 1-14, colour stability and effectiveness of turmeric paper based on storage time. Based on the research results obtained, EEK-95% and EEK-96% contain alkaloids, flavonoids, tannins and triterpenoids, EEK-95% and EEK-96% are yellow at pH 1-7, yellow-orange at pH 7.5-7.7, pale brick red at pH 7.8-8 and brick red at pH 9-14, KIK-95% and KIK-96% are yellow at pH 1-7.5, brick red at pH 7.6-9 and dark brick red at pH 10-14, KIK-95% and KIK-96% are stable for more than 5 months and still give a good response.

ABSTRAK

Kertas Indikator pH dengan Mengimmobilisasikan Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit pada Kertas Saring

Telah dilakukan penelitian pembuatan kertas indikator pH dengan mengimmobilisasikan ekstrak etanol rimpang kunyit pada kertas saring. Ekstrak kunyit diekstraksi dari sampel rimpang kunyit dengan pelarut etanol 95 % grade medis dan etanol 96% grade analisis. Ekstrak etanol yang diperoleh diimmobilisasikan secara adsorpsi pada kertas saring. Tujuan dari penelitian ini untuk mengkaji kandungan fitokimia ekstrak etanol kunyit, efektivitas ekstrak etanol kunyit pada larutan pH 1 - 14, efektivitas kertas kunyit pada larutan pH 1-14, stabilitas warna dan efektivitas kertas kunyit berdasarkan waktu penyimpanan. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh EEK-95% dan EEK-96% mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan triterpenoid, EEK-95% dan EEK-96% berwarna kuning pada pH 1-7, kuning oranye pada pH 7,5-7,7, merah bata pudar pada pH 7,8-8 dan merah bata pada pH 9-14, KIK-95% dan KIK-96% berwarna kuning pada pH 1-7,5, merah bata pada pH 7,6-9 dan merah bata pekat pada pH 10-14, KIK-95% dan KIK-96% stabil hingga lebih dari 5 bulan dan masih memberikan respon yang baik.

Kata kunci: kurkumin, kunyit, indikator pH, kertas indikator, indikator alami

PENDAHULUAN

Indikator pH merupakan senyawa yang dapat memberikan sinyal berupa perubahan warna spesifik pada rentang pH asam maupun pH basa. Senyawa ini dapat berupa suatu asam atau basa organik lemah dengan massa molekul besar (Fessenden & Fessenden, 1982). Fenolftalein dan kertas lakmus merupakan indikator sintesis yang digunakan secara luas dalam praktikum kimia

pada hampir semua satuan pendidikan khususnya di Nusa Tenggara Timur, NTT. Indikator ini berpotensi menyebabkan pencemaran lingkungan, bersifat racun dan mahal (Vadivel & Chipkar, 2016; Bahadori, 2016). Pemanfaatan pigmen tumbuhan sebagai indikator pH merupakan salah satu alternatifnya (Kapilraj *et al.*, 2019).

Pigmen yang digunakan sebagai indikator pH dapat diperoleh dari bagian tumbuhan yang berwarna mencolok seperti batang, daun, bunga,



buah, dan umbi. Pigmen ini dapat memperlihatkan perubahan warna pada pH yang berbeda (Sharma *et al.*, 2013), karena merupakan suatu senyawa asam atau basa organik lemah (Pradeep & Dave, 2013). Senyawa ini dapat menerima atau melepaskan elektron (Garg *et al.*, 2018) sehingga dapat berada dalam bentuk ionisasi maupun molekulnya. Terjadinya perubahan warna disebabkan karena ionisasi senyawa pada indikator, yang mana dalam bentuk ionisasi dan molekulnya mempunyai warna yang berbeda (Gupta *et al.*, 2012). Beberapa di antaranya mengalami dua perubahan warna yang menunjukkan warna asam dan warna basa, tetapi ada pula yang mengalami lebih dari dua perubahan warna (Bhise *et al.*, 2014).

Rimpang Kunyit (*Curcuma longa L.*) merupakan salah satu pigmen kuning alami (Shalaby & Amin, 2018, Supharoek *et al.*, 2017). Senyawa utama yang terkandung dalam rimpang kunyit adalah kurkumin dan turunannya yakni *demethoxycurcumin*, *bis-demethoxycurcumin* dan *cyclic curcumin* (Priyadarsini, 2014). Kurkumin dan senyawa turunannya yang diisolasi dari rimpang kunyit dikenal sebagai kurkuminoid. Senyawa ini memberikan warna kuning yang khas pada kunyit. Kurkumin stabil dalam suasana asam dan dengan cepat terdekomposisi pada suasana di atas netral, berwarna kuning pada rentang pH 1 hingga 7 dan berwarna merah pada pH di atas 7,5 (Stancovie, 2004). Kurkumin memperlihatkan perubahan warna yang jelas dalam larutan asam dan basa yakni dari kuning menjadi merah bata (Mohammad *et al.*, 2007). Keunikan sifat kimianya ini menjadikan kurkumin dalam rimpang kunyit berpotensi sebagai indikator pH alami.

Kurkumin dan turunannya dapat diekstraksi dari kunyit dengan pelarut etanol (Pethcana *et al.*, 2020; Priyadarsini, 2014.). Dari berbagai penelitian di antaranya yang telah dilakukan oleh Rezki *et al.*, (2015), Sundari (2016), Wasito *et al.*, (2017), Sudibyo *et al.*, (2018), pelarut pengestraksi yang digunakan dalam mengekstraksi kurkumin dan turunannya dari sampel kunyit adalah etanol 96% *grade* analisis. Belum ada laporan tentang penggunaan etanol selain *grade* analisis misalnya *grade* medis untuk mengekstraksi sampel kunyit dalam penggunaannya sebagai indikator pH alami. Etanol *grade* analisis merupakan pelarut standar yang digunakan dalam analisis kimia, sedangkan etanol 95% *grade* medis digunakan untuk keperluan medis. Ketersediaan etanol *grade* analisis sangat terbatas di NTT dan harus dipesan

dan dibeli dari Jawa ketika akan menggunakannya. Jika dibandingkan dengan ketersediaan etanol *grade* medis, pelarut ini dapat terjangkau hingga ke daerah-daerah di NTT. Di sisi lain, informasi mengenai penggunaan pigmen tumbuhan lokal sebagai indikator pH sangat diperlukan dalam pembelajaran kimia pada jenjang SMA atau sederajat. Harapan mengenai sumber belajar dari lingkungan dengan memanfaatkan alat dan bahan yang terjangkau mendorong pentingnya kajian mengenai penggunaan etanol selain *grade* analisis dalam mengekstraksi pigmen tumbuhan sebagai indikator pH. Dengan demikian, diperlukan metode praktis untuk mempersiapkan dan membuat indikator pH alami sebagai sumber belajar yang dapat digunakan oleh sekolah-sekolah hingga ke daerah-daerah di NTT.

Pada aspek lainnya, kajian mengenai penggunaan rimpang kunyit sebagai indikator pH alami dalam pembelajaran kimia terutama praktikum sudah banyak dilakukan dan dilaporkan, namun umumnya hanya sebatas pada penggunaan ekstrak saja. Pengembangannya sebagai indikator alami dalam wujud kertas indikator pH belum banyak dilaporkan dan digunakan terutama di NTT. Padahal penggunaan indikator dalam wujud kertas sangat praktis karena tidak memerlukan preparasi ketika akan digunakan. Di samping itu, ketersediaan rimpang kunyit sebagai sumber pigmen dalam pembuatan kertas indikator pH sangat melimpah dan murah. Pemanfaatan pigmen alami seperti ini dalam praktikum kimia pun turut mendukung keterlaksanaan *green chemistry*.

Dengan demikian, diperlukan adanya kajian mengenai pembuatan indikator kertas kunyit dari rimpang kunyit serta menguji efektivitas dan stabilitasnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengkaji kandungan fitokimia ekstrak etanol kunyit, efektivitas ekstrak etanol kunyit pada larutan uji pH 1-14, efektivitas kertas kunyit pada larutan uji pH 1-14, stabilitas warna dan efektivitas kertas kunyit berdasarkan waktu penyimpanan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah etanol 95% *grade* medis, etanol 96% *grade* analisis (Emerk), HCl 1 M, NaOH 1 M, NaOH 0,1 M dan KH₂PO₄ 0,1 M (Merck), akuades dan rimpang kunyit. Alat-

alat yang digunakan adalah peralatan gelas standar yang digunakan dalam pembuatan larutan, neraca digital, tabung reaksi, pelat tetes, pH meter, kertas indikator universal, kertas lakmus merah, dan kertas lakmus biru.

Metode

Pembuatan Larutan Uji pH 1-14

Larutan uji pH 1-6 dibuat dengan mengencerkan HCl 1 M. Larutan uji pH 8-14 dibuat dengan mengencerkan larutan NaOH 1 M. Larutan uji pH 7; 7,5; 7,6; 7,7; 7,8; 7,9; dan 8 dibuat dengan mencampurkan KH_2PO_4 0,1 M dan NaOH 0,1 M (Lloyd, 2000).

Preparasi dan Ekstraksi Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah kunyit segar yang dibeli dari pasar lokal di Kota Kupang. Kunyit dikupas, dicuci, diiris tipis-tipis dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 5 hari. Kunyit yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan *blender* dan diayak dengan ayakan 80 mesh. Sampel halus dimaserasi dengan pelarut etanol 96% *grade* analisis dan etanol 95% *grade* medis dengan perbandingan 1:4 (Rezki *et al.*, 2015) selama 24 jam (Wasito *et al.*, 2017). Selanjutnya ekstrak kunyit dipisahkan dari campurannya melalui penyaringan. Ekstrak ini disimpan untuk langkah selanjutnya.

Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Kunyit

Uji alkaloid menggunakan reagen Mayer dan reagen Wagner. Sebanyak 1 mL ekstrak etanol kunyit ditempatkan dalam tabung reaksi 1 dan 2. Pada tabung reaksi 1 ditambahkan 0,5 mL HCl 0,1 M dihomogenkan dengan cara dikocok dan ditambahkan beberapa tetes reagen Mayer. Pada tabung reaksi ke 2 ditambahkan 2-3 tetes reagen Wagner. Terbentuknya endapan putih pada tabung reaksi 1 dan endapan cokelat pada tabung reaksi 2 mengindikasikan sampel positif mengandung alkaloid (Goa *et al.*, 2021; Kopon *et al.*, 2020).

Uji flavonoid dilakukan dengan cara menempatkan 1 mL ekstrak etanol kunyit ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 tetes HCl 2 M, dikocok dan ditambahkan sedikit serbuk Mg. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga mengindikasikan sampel positif mengandung flavonoid (Goa *et al.*, 2021; Kopon *et al.*, 2020).

Uji saponin dilakukan dengan cara menempatkan 1 mL ekstrak dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 mL air panas. Campuran

dikocok selama 30 detik. Apabila terbentuk busa dan bila busa tersebut tidak hilang setelah ditambahkan 1 mL HCl 2 M mengindikasikan bahwa sampel positif mengandung saponin (Kopon *et al.*, 2020).

Uji tanin dilakukan dengan cara menempatkan 1 mL ekstrak dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 3 tetes FeCl_3 1% (Goa *et al.*, 2021). Terbentuknya endapan biru tua, hitam kehijauan (Kopon *et al.*, 2020) mengindikasikan sampel positif mengandung tanin.

Uji steroid/triterpenoid dilakukan dengan cara menempatkan 1 mL ekstrak dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 mL kloroform 98% dan dikocok. Lapisan kloroform diambil, ditetaskan pada pelat tetes dan dibiarkan hingga kering kemudian ditetaskan 5 tetes asam asetat anhidrida 98% dan 3 tetes H_2SO_4 98%. Terbentuknya warna kuning, merah, oranye mengindikasikan sampel positif mengandung triterpenoid, namun bila terbentuk warna hijau mengindikasikan sampel mengandung steroid (Goa *et al.*, 2021; Kopon *et al.*, 2020).

Uji Ekstrak Kunyit pada Larutan Uji pH 1-14

Larutan uji pH 1 -14 disiapkan sebanyak 1 mL dalam tabung reaksi. Ke dalam setiap larutan ditetesi dengan 1 tetes ekstrak kunyit (Bria *et al.*, 2021). Respon positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna (Wasito *et al.*, 2017).

Immobilisasi Ekstrak Kunyit pada Kertas Saring

Immobilisasi ekstrak kunyit pada kertas saring dilakukan secara adsorpsi (Wasito *et al.*, 2017). Dalam sebuah wadah gelas yang berisi ekstrak kunyit dimasukkan kertas saring biasa *grade* halus yang telah dipotong dengan ukuran 1 x 4 cm dan dibiarkan selama 24 jam. Kertas saring yang sudah teradsorpsi diangkat perlahan-lahan dan keringkan dengan cara diangin-anginkan dalam ruangan (Bria *et al.*, 2021). Setelah kering, kertas indikator kunyit disimpan untuk pengujian selanjutnya.

Uji Efektivitas Kertas Indikator Kunyit pada Larutan Uji

Larutan uji pH 1 – 14 disiapkan dalam pelat tetes. Ke dalam setiap larutan dicelupkan masing-masing 1 lembar kertas indikator kunyit (Bria *et al.*, 2021). Sebagai pembanding terhadap kertas indikator kunyit, digunakan indikator standar yakni kertas lakmus merah dan kertas lakmus biru.

Uji Stabilitas Warna dan Sensitivitas Kertas Indikator Kunyit

Uji stabilitas warna kertas indikator kunyit dilakukan dengan cara menyimpan kertas indikator kunyit yang dihasilkan dalam wadah plastik bening dan wadah berbahan polimer. Kertas indikator kunyit dalam kedua wadah ini disimpan dalam ruangan gelap dan diamati setelah 3, 7, 14, 21, 30, 60, 90, 120, dan 150 hari. Setelah pengamatan warna, selanjutnya dilakukan uji sensitivitasnya pada larutan pH 1 - 14 dan sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Sampel

Pelarut pengestraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 95% *grade* medis dan etanol 96% *grade* analisis. Etanol merupakan salah satu pelarut yang dapat mengekstraksi senyawa kurkumin dan turunannya yang terkandung dalam rimpang kunyit (Priyardarsini, 2014; Sundari, 2016; Sudibyo *et al.*, 2018). Ekstrak kunyit yang diperoleh dengan pelarut etanol 95% *grade* medis, selanjutnya disebut

dengan ekstrak etanol kunyit 95% (EEK-95%) dan ekstrak kunyit yang diperoleh dengan pelarut etanol 96% *grade* analisis, selanjutnya disebut ekstrak etanol kunyit 96% (EEK-96%). Kedua ekstrak yang diperoleh ini berwarna oranye. Ekstrak ini digunakan untuk pengujian selanjutnya.

Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Kunyit

Hasil uji fitokimia EEK-95% dan EEK-96% secara lengkap ditampilkan dalam Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1 diketahui bahwa EEK-95% dan EEK-96% mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan triterpenoid. Dengan demikian penggunaan etanol 95% *grade* medis memberikan hasil yang tidak berbeda dengan penggunaan pelarut etanol 96% *grade* analisis. Secara kualitatif kedua jenis pelarut ini mampu mengekstraksi komponen senyawa yang sama dari sampel rimpang kunyit.

Hasil Uji Ekstrak Etanol Kunyit pada Larutan Uji pH 1 - 14




















Hasil uji EEK-95% dan EEK-96% pada larutan pH 1 - 14 ditampilkan dalam Tabel 2.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia EEK-95% dan EEK-96%

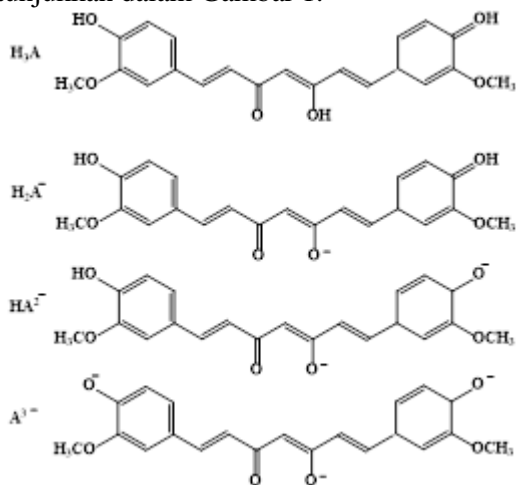
| No | Uji | Pereaksi | EEK-95% | EEK-96% |
|----|--------------|--|---------|---------|
| 1 | Alkaloid: | | | |
| | a. Mayer | HCl 0,1 M + Mayer | + | + |
| | b. Wagner | Wagner | + | + |
| 2 | Flavonoid | HCl 0,1 M + serbuk Mg | + | + |
| 3 | Saponin | Akuades + HCl 2 M | - | - |
| 4 | Tanin | FeCl ₃ 1% | + | + |
| 5 | Steroid | CH ₃ COOH anhidrat 98% + H ₂ SO ₄ pekat | - | - |
| 6 | Triterpenoid | CH ₃ COOH anhidrat 98% + H ₂ SO ₄ pekat | + | + |

Keterangan: (+) = hasil uji positif, (-) = hasil uji negatif

Tabel 2. Warna Ekstrak dalam Larutan Uji pH 1 - 14

| Warna Ekstrak dalam Larutan Uji | | | | | | | |
|---------------------------------|---|---|---|---|--|---|---|
| pH larutan | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| EEK-95% | Kuning | Kuning | Kuning | Kuning | Kuning | Kuning | Kuning |
| EEK-96% | Kuning | Kuning | Kuning | Kuning | Kuning | Kuning | Kuning |
| Gambar |  |  |  |  |  |  |  |
| pH larutan | 7,5 | 7,6 | 7,7 | 7,8 | 7,9 | 8 | |
| EEK-95% | Kuning oranye | Kuning oranye | Kuning oranye | Merah bata (pudar) | Merah (pudar) | bata | Merah bata (pudar) |
| EEK-96% | Kuning oranye | Kuning oranye | Kuning oranye | Merah bata (pudar) | Merah (pudar) | bata | Merah bata (pudar) |
| Gambar |  |  |  |  |  |  |  |
| pH larutan | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | |
| EEK-95% | Merah bata | Merah bata | Merah bata | Merah bata | Merah bata | Merah bata | |
| EEK-96% | Merah bata | Merah bata | Merah bata | Merah bata | Merah bata | Merah bata | |
| Gambar |  |  |  |  |  |  | |

Berdasarkan Tabel 2 diketahui bahwa EEK-95% dan EEK-96% memberikan respon positif berupa perubahan warna yang senada pada berbagai larutan pH. EEK-95% dan EEK-96% berwarna kuning pada pH 1 - 7, kuning oranye pada pH 7,5 - 7,7, merah bata (pudar) pada pH 7,8 - 8, merah bata pH 9 - 14. Terjadinya perubahan warna ekstrak pada rentang pH larutan uji ini disebabkan karena kehadiran senyawa kurkumin dalam ekstrak. Kurkumin merupakan suatu asam organik lemah golongan polifenol. Senyawa ini berwarna kuning pada suasana asam dan berada dalam bentuk molekul netral yakni H_3A . Pada pH di atas 7,5 kurkumin kehilangan tiga protonnya dan secara berturut-turut berada dalam bentuk ion yakni H_2A^- , HA^{2-} dan A^{3-} pada pKa 7,8, 8,5 dan 9. Hal inilah yang menyebabkan pada pH di atas 7,5 kurkumin berubah warna menjadi merah bata (Stancovie, 2004). Berdasarkan hasil uji ini dapat diamati ada kecenderungan perubahan warna yakni kuning, kuning oranye, merah bata (pudar) dan merah bata (pekat). Perubahan warna ini mengindikasikan adanya perubahan struktur molekul kurkumin akibat perubahan pH. Struktur kurkumin dalam bentuk molekul dan ion ditunjukkan dalam Gambar 1.

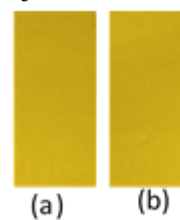


Gambar 1. Struktur Senyawa Kurkumin Berturut-turut adalah dalam Bentuk Molekul, Ion H_2A^- , ion HA^{2-} dan Ion A^{3-} (Stancovie, 2004).

Kertas Indikator Kunyit dan Efektivitasnya

Immobilisasi EEK-95% pada kertas saring menghasilkan kertas indikator kunyit 95% (KIK-95%) dan immobilisasi EEK-96% pada kertas saring menghasilkan kertas indikator kunyit 96% (KIK-96%). KIK-95% dan KIK 96% yang dihasilkan berwarna kuning seperti ditampilkan pada Gambar 2. Pemilihan kertas saring *grade*

halus sebagai media untuk mengimmobilisasikan ekstrak kunyit karena kertas saring terbuat dari selulosa yang mempunyai daya serap yang baik (Bria, 2021). Immobilisasi ekstrak pada media selulosa menghasilkan kertas indikator dengan perubahan warna yang lebih jelas (Wasito *et al.*, 2017). KIK-95% dan KIK-96% yang dihasilkan selanjutnya diuji efektivitasnya sebagai indikator pH pada larutan uji.



Gambar 2. (a) KIK-95%, (b) KIK-96%

KIK-95% dan KIK-96% yang diuji pada larutan pH 1 - 14 memberikan respon positif. Kedua KIK ini memberikan hasil yang tidak berbeda seperti ditampilkan dalam Tabel 3.

Berdasarkan hasil uji pada Tabel 3, KIK-95% dan KIK-96% berwarna kuning pada pH 1 - 7,5 berubah menjadi merah bata pada pH 7,6 - 9 dan menjadi merah bata pekat pada pH 10 - 14. Perubahan warna merah bata yang dihasilkan semakin pekat seiring meningkatnya pH larutan. Terjadinya perubahan warna KIK-95% dan KIK-96% pada rentang pH ini disebabkan oleh kehadiran senyawa kurkumin (Stancovie, 2004; Mohammad *et al.*, 2007) yang terimmobilisasi pada kertas indikator (Wasito, *et al.*, 2017).

Bila dibandingkan hasil uji EEK-95% dan EEK-96% dengan KIK-95% dan KIK-96% diketahui bahwa penggunaan pelarut etanol 95% *grade* medis dan etanol 96% *grade* analisis tidak mempengaruhi efektivitas ekstrak kunyit dan KIK sebagai indikator pH. Baik dalam wujud ekstrak (EEK-95% dan EEK-96%) maupun kertas (KIK-95% dan KIK-96%), senyawa kurkumin yang terkandung di dalamnya memberikan hasil uji yang jelas. Namun kurkumin dalam wujud ekstrak menunjukkan perubahan warna yang kurang jelas pada pH 7,5 - 7,9 jika dibandingkan dengan kurkumin dalam wujud kertas.

Hasil Uji Perbandingan Kertas Kunyit dengan Indikator Standar

Hasil uji perbandingan KIK 95% dan KIK 96% dengan kertas indikator standar yakni lakmus merah dan lakmus biru pada larutan uji ditampilkan dalam Tabel 4.

Tabel 3. Hasil Uji KIK-95% dan KIK-96% pada Larutan Uji pH 1 - 14

| Warna KIK-95% dan KIK-96% dalam Larutan Uji | | | | | | | |
|---|------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------|
| pH larutan | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| KIK-95% | Kuning | Kuning | Kuning | Kuning | Kuning | Kuning | Kuning |
| KIK-96% | Kuning | Kuning | Kuning | Kuning | Kuning | Kuning | Kuning |
| Gambar | | | | | | | |
| pH larutan | 7,5 | 7,6 | 7,7 | 7,8 | 7,9 | 8 | |
| KIK-95% | Kuning | Merah bata | Merah bata | Merah bata | Merah bata | Merah bata | |
| KIK-96% | Kuning | Merah bata | Merah bata | Merah bata | Merah bata | Merah bata | |
| Gambar | | | | | | | |
| pH larutan | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | |
| KIK-95% | Merah bata | Merah bata (pekat) | Merah bata (pekat) | Merah bata (pekat) | Merah bata (pekat) | Merah bata (pekat) | |
| KIK-96% | Merah bata | Merah bata (pekat) | Merah bata (pekat) | Merah bata (pekat) | Merah bata (pekat) | Merah bata (pekat) | |
| Gambar | | | | | | | |

Tabel 4. Hasil Uji KIK-95% dan KIK-96% dengan Indikator Standar

| pH Larutan Uji | Warna Kertas Indikator | | | pH Larutan Uji | Warna Kertas Indikator | | |
|----------------|------------------------|--------------|-------------|----------------|------------------------|--------------|-------------|
| | KIK-95% & KIK-96% | Lakmus Merah | Lakmus Biru | | KIK-95% & KIK-96% | Lakmus Merah | Lakmus Biru |
| 1 | Kuning | Merah | Merah | 7,8 | Merah bata | Biru pudar | Biru |
| 2 | Kuning | Merah | Merah | 7,9 | Merah bata | Biru pudar | Biru |
| 3 | Kuning | Merah | Merah | 8 | Merah bata | Biru pudar | Biru |
| 4 | Kuning | Merah | Merah | 9 | Merah bata | Biru pudar | Biru |
| 5 | Kuning | Merah | Biru | 10 | Merah bata (pekat) | Biru pudar | Biru |
| 6 | Kuning | Merah | Biru | 11 | Merah bata (pekat) | Biru pudar | Biru |
| 7 | Kuning | Merah | Biru | 12 | Merah bata (pekat) | Biru pudar | Biru |
| 7,5 | Kuning | Biru pudar | Biru | 13 | Merah bata (pekat) | Biru | Biru |
| 7,6 | Merah bata | Biru pudar | Biru | 14 | Merah bata (pekat) | Biru | Biru |
| 7,7 | Merah bata | Biru pudar | Biru | | | | |

Berdasarkan hasil uji pada Tabel 4 diketahui bahwa KIK-95% dan KIK-96% memberikan hasil uji yang jelas yaitu pada rentang pH asam hingga netral berwarna kuning dan pada rentang pH basa berwarna merah bata yang semakin pekat dengan bertambahnya pH larutan.

Indikator standar yang digunakan sebagai pembanding dalam uji ini adalah kertas lakmus. Dalam uji ini diamati bahwa kertas lakmus merah menunjukkan warna merah pada pH 1 - 7, berubah menjadi biru pudar pada pH 7,5 - 11 dan berwarna

biru pada pH 12 - 14. Kertas lakmus biru menunjukkan perubahan warna dari biru menjadi merah pada pH 1 - 4 dan berwarna biru pada pH 5 - 14. Bila dibandingkan dengan kertas KIK, KIK menunjukkan perubahan warna yang jelas yakni berwarna kuning pada pH 1 - 7,5 dan merah bata pada pH 7,6 - 9 dan merah bata pekat pada pH 10 - 14. Dengan demikian KIK dapat digunakan sebagai indikator pH alami menggantikan kertas lakmus.

Tabel 5. Hasil Uji Stabilitas Warna dan Efektivitas Kertas *Kurkumin*

| Waktu penyimpanan (hari) | Stabilitas Warna KIK-95% dan KIK 96% | Efektivitas KIK-95% dan KIK 96% dalam Larutan Uji | | |
|--------------------------|--------------------------------------|---|--------------------|--------------------|
| | | pH 1 - 7 | pH 7,6 - 9 | pH 10 - 14 |
| 0 | Kuning | Kuning | Merah bata (pudar) | Merah bata (pekat) |
| 3 | Kuning* | Kuning | Merah bata (pudar) | Merah bata (pekat) |
| 7 | Kuning* | Kuning | Merah bata(pudar) | Merah bata (pekat) |
| 14 | Kuning* | Kuning | Merah bata(pudar) | Merah bata (pekat) |
| 21 | Kuning* | Kuning | Merah bata (pudar) | Merah bata (pekat) |
| 30 | Kuning* | Kuning | Merah bata (pudar) | Merah bata (pekat) |
| 60 | Kuning* | Kuning | Merah bata (pudar) | Merah bata (pekat) |
| 90 | Kuning* | Kuning | Merah bata (pudar) | Merah bata (pekat) |
| 120 | Kuning* | Kuning | Merah bata (pudar) | Merah bata (pekat) |
| 150 | Kuning* | Kuning | Merah bata (pudar) | Merah bata (pekat) |
| 164 | Kuning* | Kuning | Merah bata (pudar) | Merah bata (pekat) |

Keterangan : * warna tidak berubah

Hasil Uji Stabilitas Warna dan Efektivitas Kertas Kunyit

KIK-95% dan KIK-96% yang dihasilkan disimpan dalam wadah berbahan polimer yang tidak tembus cahaya untuk diamati stabilitas warna dan efektivitasnya sebagai indikator pH. Uji stabilitas warna dilakukan dengan cara pengamatan terhadap warna KIK. Uji efektivitas KIK sebagai indikator pH dilakukan pada larutan uji pH 1-14 berdasarkan waktu penyimpanan. Secara keseluruhan hasil uji stabilitas warna dan efektivitas kertas kunyit ditampilkan dalam Tabel 5.

Dari Tabel 5 diketahui bahwa stabilitas warna KIK-95% dan KIK-96% stabil hingga 164 hari atau lebih dari 5 bulan. Hasil uji efektivitas KIK-95% dan KIK-96% menunjukkan perubahan warna yang jelas yaitu kuning pada pH 1 - 7,5 dan merah bata pada pH 7,6 - 9 dan merah bata pekat pada pH 10 - 14 setelah penyimpanan lebih dari 5 bulan. Hasil uji ini tidak berbeda dengan hasil uji awal setelah pembuatan kertas kunyit (0 hari) yang ditampilkan dalam Tabel 3.

Berdasarkan hasil penelitian ini diketahui bahwa KIK-95% dan KIK-96% berpotensi sebagai indikator pH alami. Dalam penggunaannya sebagai indikator pH alami,

kurkumin dalam rimpang kunyit dapat diekstraksi dengan etanol *grade* medis maupu etanol *grade* analisis. Hal ini disebabkan karena *grade* etanol tidak memengaruhi efektivitas kurkumin sebagai indikator pH dalam wujud KIK. Demikian pula kurkumin dalam wujud KIK-95% dan KIK-96% memiliki stabilitas warna yang sama dan efektif sebagai indikator pH karena memberikan hasil uji yang jelas.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini disimpulkan bahwa EEK-95% dan EEK-96% mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan triterpenoid, EEK-95% dan EEK-96% berwarna kuning pada pH 1 - 7, kuning oranye pada pH 7,5 - 7,7, merah bata pudar pada pH 7,8 - 8 dan merah bata pada pH 9 - 14, KIK-95% dan KIK-96% berwarna kuning pada pH 1 - 7,5, merah bata pada pH 7,6 - 9 dan merah bata pekat pada pH 10 - 14, KIK-95% dan KIK-96% stabil hingga lebih dari 5 bulan dan masih memberikan respon yang baik.

Dari hasil penelitian ini disarankan agar dalam aplikasinya, KIK-95% dan KIK-96% sebaiknya disimpan dalam wadah berbahan

polimer yang tidak tembus cahaya. Hal ini bertujuan untuk mempertahankan stabilitas warna dari KIK-95% dan KIK-96%. Apabila KIK-95% dan KIK-96% memiliki stabilitas warna yang baik maka dalam aplikasinya akan memberikan efektivitas yang baik pula. Dalam penelitian ini uji stabilitas dan efektivitas dari KIK-95% dan KIK-96% dipelajari hanya sampai 164 hari, namun KIK-95% dan KIK-96% masih dapat memberikan stabilitas dan efektivitas yang baik hingga lebih dari 164 hari apabila penyimpanannya dilakukan dengan baik sesuai yang disarankan.

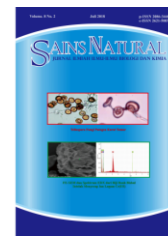
UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada LPPM Universitas Katolik Widya Mandira – Kupang yang telah membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bahadori, A., & Maroufi, N. G. (2016). Volumetric Acid Base Titration by Using of Natural Indicators and Effects of Solvent and Temperature. *Austin Chromatography*, 3(1), 1041-1044.
- Bhise, S. H., Shinde, N. G., Surve, B. S., Pimpodkar, N. V., & Shikalgar, S. S. (2014). Acalypha wilkesiana as Natural pH Indicator. *International Journal of Natural Products Research*, 4(1), 33-35.
- Bria, H. R., Leba, M. A. U., & Kopon, A. M. (2021). Penggunaan Ekstrak Umbi Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas* L.) Sebagai Indikator Asam Basa Alami. *Jurnal Beta Kimia*, 1(2), 35-41.
- Dayanti, N., Saputri, S. V., Arit, Muharini, R., & Masriani. (2020). Natural Dyes Characterization of Local Plants as Acid-Based Indicator. *EduChemia (Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia)*, 5(1), 72-86.
- Fessenden, R. J., & Fessender, J. S. (1982). *Kimia Organik Edisi Ketiga*. Jakarta: Erlangga.
- Garg, S., Garg, A., Shukla, P., Mathew, J., Vishwakarma, D., & Sens, S. (2018). Investigation of Plants Source as Natural Indicator for Acid Based Titration for Reduce the use harmful chemicals insome extent. *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sains*, 7(1), 64-70.
- Goa, R. F., Kopon, A. M., & Boelan, E. G. (2021). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*) dan Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza*) Asal Nusa Tenggara Timur. *Jurna Beta Kimia*, 1(1), 37-41.
- Gupta, P., Puspha, J., & Jain, P. K. (2012). Isolation of Natural Acid Based Indicator from the Flower sap of *Habicus rosa sinensis*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Reseach*, 4(12), 4957-4960.
- Kapilraj, N., Keerthan, S., & Sithambaresan, M. (2019). Natural Plant Extracts as Acid-Base Indicator and Determination of Their pKa Value. *Journal of Chemistry*, 2019(6), 1-6.
- Kopon, A. M., Baunsele, A. B., & Boelan, E. G. (2020). Skrining Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Biji Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Asal Pulau Timor. *Akta Kimia Indonesia*, 5(1), 43-52.
- Lloyd, D. D. (2000, Januari 1). *Preparation of Buffer solution*. Dipetik Juni 5, 2021, dari AnalChem Resources: <http://delloyd.50megs.com/moreinfo/buffers2.html>
- Mohammad, R., Musa, A., & Jamaluddin, M. D. (2007). The Potential of Kurkumin Reagent as Natural pH Indicator for the Development of an Optical pH Sensor. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 11(2), 351-360.
- Nuryanti, S., Matsjeh, S., Anwar, C., & Raharjo, T. J. (2010). Indikatot Titrasi Asam Basadari Ekstrak Bunga Sepatu (*Habicus rosa sinensis* L.). *Agritech*, 11(2), 178-183.
- Pradeep, J. D., & Dave, K. (2013). A Novel, Inexpensive and Less Hazardous Acid-Based Indicator. *Journal of Laboratory Chemical Education*, 1(2), 34-38.
- Priyadarsini, K. I. (2014). The Chemistry of Kurkumin: From Extraction to

- Therapeutic Agent. *Molecule*, 2014(19), 91-112.
- Rezki, R. S., Anggoro, D., & Siswarni, M. Z. (2015). Ekstraksi Multi Tahap Kurkumin dari Kunyit (*Curcuma domestica valet*) Menggunakan Pelarut Etanol. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 2015, 29-34.
- Shalabi, S. M., & Amin, H. H. (2016). Red Cabbage and Turmeric Extracts as Potential Natural Colors and Antioxidant Actives in Stirred Yogurt. *Journal of Probiotics & Health*, 6(2), 1-9.
- Sharma, P., Gupta, R., Roshan, S., Sahu, S., Tantuwai, S., Sukla, A., & Garg, A. (2013). Plant Extracts as Acid Base Indicator: an Overview. *Inventi Impact: Planta Activa*, 2013(3).
- Stancovic, I. (2004). Kurkumin Chemical and Technical Assessment. *JECFA*, 2004(61), 1-8.
- Sudiby, A., Hutajulu, T. F., & Sukiman, M. (2018). Preparation Process of Kurkuminoid Powder from Turmeric Rhizome (*Curcuma longa domestica*, Vhal) and Its Characteric as Food Ingredients. *Jurnal Riset Teknologi Industri*, 12(1), 9-20.
- Sundari, R. (2016). Pemanfaatan dan Efisiensi Kurkumin Kunyit (*Curcuma domestica Val*) sebagai Indikator Titrasi Asam Basa. *Teknoin*, 22(8), 259-601.
- Supharoek, S., Ponghong, K., Siringhawut, W., & Grudpan, K. (2017). Employing Natural Reagent from Turmeric and Lime for Acetic Acid Determination in Vinegar Sample. *Journal of Food and Drug Analysis*, XXX(2017), 1-8.
- Vadivel, E., & Chipkar, S. D. (2016). Eco-Frenly Natural Acid-Base Indicator Properties of four flowering Plants from Wester Ghats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(6), 150-162.
- Wasito, H., Karyati, E., Vikarosa, C., Hafizah, I. N., & Utami, H. R. (2017). Test Strip Pengukuran pH dari Bahan Alam yang Diimmobilisasikan dalam Kertas Selulosa. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(3), 223-229.



UTILIZATION OF HIBISCUS LEAVES EXTRACT AS AN ENVIRONMENTALLY FRIENDLY DETERGENT ACTIVE INGREDIENTS

Gerda Pintoko Tunjungsari*, Muhamad Aditya Hidayah, Alfandi Ahmad, and Retno Aliyatul Fikroh
Pendidikan Kimia, Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan, UIN Sunan Kalijaga
Jl. Laksada Adisucipto, Depok-Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta 55281, Indonesia;

ARTICLE INFO

Article history:

Received 15 Feb 2022,

Revised 16 Apr 2022,

Accepted 22 Apr 2022

Available online 30 Apr 2022

Keywords:

- ✓ Hibiscus Leaf Extract
- ✓ Eco-Friendly detergent
- ✓ Hibiscus leaf
- ✓ Surfactant
- ✓ LAS (Linear Alkylbenzene Sulfonate)

*corresponding author:

gerdatunjungsari@gmail.com

Phone: +62857-1273-4986

<https://doi.org/10.31938/jsn.v12i2.381>

ABSTRACT

*Detergent is an ingredient used to maintain cleanliness. In the manufacture of detergents, an active ingredient in the form of LAS (Linear Alkylbenzene Sulfonate) surfactant is often added to kill bacteria. In addition to using synthetic materials, natural ingredients can also be used that can act as antibacterial. One of the natural ingredients with antibacterial activity is hibiscus leaves (*Hibiscus tiliaceus* L). The use of hibiscus leaf extract as a substitute for LAS surfactants aims to reduce the impact of environmental pollution. The purpose of this research was to find the right formula in the manufacture of liquid detergent made from hibiscus leaf extract and determine its quality based on SNI 06-0475-1996. The research method used is experimental research that produces qualitative and quantitative data. Qualitative data include phytochemical tests, organoleptic tests, hard water emulsion stability tests, and cleaning power tests. The resulting quantitative data includes the characteristics of the liquid detergent produced based on testing pH, specific gravity, antimicrobial test, phenol coefficient, and levels of active substances. Based on the study, results showed that hibiscus leaf extract contained secondary metabolites in the form of saponins, triterpenoid/steroidal saponins, flavonoids, and polyphenols. The antibacterial test showed that hibiscus leaf liquid detergent had antibacterial activity 1.67 times more effective than phenol. The product test results show that the liquid detergent of hibiscus leaves has the quality according to SNI 06-0475-1996.*

INTRODUCTION

Cleanliness is a reflection for every individual in maintaining health which is important in life. The Millenium Development Goals (MDGs) program with the motto "Health is not everything, but without health everything is nothing" places cleanliness as the main factor in achieving health and well-being. Clean and Healthy Lifestyle is a program designed by the government and implemented in various main sectors. This is because personal and environmental hygiene is a must and priority for every community.

Detergent is one of the cleaning agents widely used by the community in households, industry, hotels, restaurants, and others. Based on the form, detergent can be in the form of powder detergent and liquid detergent. In general, both forms of detergent have the same function. Liquid detergents are widely used in cleaning kitchen utensils. However along with the times, liquid detergents are also widely applied for

industrial needs and cleaning cloths. This is because liquid detergent is easier than powder detergent to handle and more practical in its use.

Detergents are usually used to remove stains, while removing stains may not necessarily kill harmful bacteria. The active ingredients commonly used in detergents are Linear Alkylbenzene Sulfonate (LAS) surfactants. Surfactants are compounds that have two hydrophobic (lipophilic) and hydrophilic (lipophobic) groups, as foam-forming and detergency properties (Nurfarahin et al., 2018).

Surfactants are useful for removing dirt and fat (Cornwell, 2018). The negative impact of using LAS surfactants is the problem of biodegradation. During use, detergents are difficult to be degraded by bacteria in water, which results in detergent waste remaining in the water. This results in an accumulation of detergent in the water. The accumulation of detergent in water can be a source of water pollution. This can cause environmental damage, especially in aquatic habitats. Based on the data



obtained, it is proven that it takes 1-87 days to decompose LAS substances, and even worse, only 50% of the substances can be decomposed by microorganisms (Scott & Jones, 2000)

Detergents that are used on a large scale for a long period can contaminate groundwater due to the decomposition process of detergents that produce benzene, this causes drinking water consumed to cause cancer (Dominguez et al., 2018). This process can occur during the drinking water treatment process, precisely in the chlorination process using chlorine to kill germs. Chlorine contains elements of chlorine and when benzene is mixed with chlorine it can produce chlorobenzene which has proven to be very dangerous (Yuan et al., 2020). Therefore, the idea arose about the manufacture of liquid detergents that have antimicrobial properties. One of the ingredients found in nature and has the anti-microbial ability is hibiscus leaf (*Hibiscus tiliaceous* L).

Hibiscus leaves contain phytochemical compounds such as saponins, flavonoids, polyphenols, and tannins (Olivia et al., 2021). Derivatives of polyphenolic compounds are known to have antibacterial effects (Novitasari, 2017). The content of saponins in hibiscus leaves functions as a washing agent that has soap-like properties and acts as a surfactant. Saponins from a colloidal solution in water form a stable foam when shaken and do not disappear with the addition of acid (A. Harborne, 1998). The level of cleanliness of washing with hibiscus leaves is the same as with synthetic detergents, even hibiscus leaves do not fade clothes to maintain the quality of the fabric as before. In addition, detergent waste from hibiscus leaves can be decomposed by nature, and the pollution level is almost non-existent. Therefore, an environmentally friendly detergent from hibiscus leaves is a potential alternative and acts as an antibacterial. The liquid detergent made from hibiscus leaves is expected to be used by the community as a form of awareness of the environment and human life.

This research was conducted on the formulation of a detergent that utilizes hibiscus leaves as an antibacterial. The formulation is done to get the best detergent formula so that it can be produced for daily use. That way, this research can also be implemented to the community by providing socialization regarding the manufacture of detergents with antimicrobial capabilities from hibiscus leaf extract. Based on this description, several problem formulations

can be formulated, including what percentage of hibiscus leaf extract should be added to the detergent formula to obtain detergent with the best antimicrobial ability, the detergent produced has good quality based on the requirements of SNI 06-0475-1996. The purpose of this research was to find the right formula in the manufacture of liquid detergent made from hibiscus leaf extract and determine its quality based on SNI 06-0475-1996.

This research is expected to provide information about the use of hibiscus leaves in the manufacture of liquid detergent. In addition, this research is expected to be one of the considerations for cultivating hibiscus plants and can contribute to the development of science regarding anti-bacterial detergents.

MATERIALS AND METHODS

Materials and Tools

The ingredients used in liquid detergents include distilled water, citric acid, borax, CMC (Carboxymethyl Cellulose), hibiscus leaves, fragrance, food coloring, and STPP (Sodium Tripoly Phosphate), and texapon. In contrast, the materials for analysis include distilled water, glacial acetic acid, sulfuric acid, hibiscus leaf, FeCl₃, HCl, Chloroform, NaCl, MgCl₂, pH buffer solution, anhydrous CaCl₂, quaternary ammonium, methylene blue, pure culture, filter paper millipore, nutrient agar, phenol, and comparison product samples.

The tools used are bulb, incubator, loop wire, ruler, spray bottle, tweezers, pycnometer, pH meter, electric heater, spatula, analytical balance, rotary evaporator, and glassware.

Methods

This research was experimental research that produced qualitative and quantitative data. Qualitative data included phytochemical tests, organoleptic tests, hard water emulsion stability tests, and cleaning power tests. The resulting quantitative data contained the characteristics of the liquid detergent produced based on testing the pH value, specific gravity, anti-microbial test, phenol coefficient, and the active substance content.

Preliminary Analysis (Phytochemical Analysis)

Phytochemical analysis is an initial test method to determine the content of active compounds contained in plants (J. B. Harborne,

2013), phytochemical test was based on the identification of the color formed in hibiscus leaf extract using Liebermann Burchard reagent for terpenoids or steroids, FeCl_3 solution for testing polyphenolic compounds, gelatin for tannins and Mg, and 2% HCl for flavonoid compounds.

Saponin Test

15 mg of sample was added to 5 mL of hot water $\pm 70^\circ\text{C}$. Then, shaken vigorously and observed. If the foam is formed with a height of 1-10 cm, which lasts for 10 minutes, it is positive for saponins.

Triterpenoid or steroidal Test

0.5 mg of the sample was added to 5 mL of chloroform, then it was heated until remaining 1 mL. The filtrate was added with 1 mL of glacial acetic acid and a drop of concentrated sulfuric acid. After 30 minutes, if a brown or purple color forms on the barrier between the two layers, it means containing of triterpenoid saponins. If a bluish-green color is formed, it contains steroidal saponins.

polyphenols and Tannin Test

10 mL of hot water was added to extract, then five drops of 10% NaCl were added and divided into two test tubes. One test tubes was added three drops of FeCl_3 . If a blue-black color was formed, it was positive for polyphenols. In the second tube, three drops of gelatin were added. If a precipitate formed, it was positive for tannin.

Making hibiscus leaf extract

Hibiscus leaves were separated from the stalks, washed, and cut into tiny pieces. Then they were dried at room temperature for 24

hours. Dried hibiscus leaves were macerated with ethanol and methanol for 24 hours. The methanol extract was evaporated at 60°C to obtain a extractum spissum (thick extract). Then, the extract was put into a 100/250/500/1000 mL volumetric flask, added distilled water to the mark, and filtered. The filtrate was ready for further analysis.

Making liquid detergent

A total of 1 gram of CMC was added to 1 gram of Na_2SO_4 , 0.1 gram Na_2CO_3 , 0.1 gram $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, 0.1 grams of STPP, and 0.5 grams of texapon. All ingredients were dissolved in aquadest until there were no lumps in the mixture, then hibiscus leaf extract was added. Citric acid was added to achieve a pH of 6-8. Then, the mixture was added distilled water to a volume of 100 mL and added dye and fragrance.

Liquid detergent analysis

Cleaning power test

Liquid detergent was diluted by making comparisons 10:100, 5:100, and 1:100. The detergent solution was used to wash dirty clothes, and the ability to lift dirt was seen based on the level of cleanliness of the clothes and compared to detergents on the market.

Organoleptic test

The test was carried out on 20 panelists with the results of observations on a numerical scale that they liked, neutral, and disliked the parameters of aroma, color, and foam.

pH test

The pH meter was calibrated using pH buffers 4, 7, and 10. Then it was used to measure the pH value of the sample solution.

Table 1. Formulation of Liquid Detergent

| Formula | Ingredients | | | | | | | | | |
|---------|-----------------|---------|--------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------------------|-----|-----------|------|---------|
| | citric acid (g) | CMC (g) | Hibiscus leaf (ml) | Na_2CO_3 | Na_2SO_4 | $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ | Dye | Fragrance | STPP | Texapon |
| 1 | - | 1,5 | - | 0,1 | 1,5 | 0,1 | - | - | 0,1 | - |
| 2 | - | 1,5 | - | 0,1 | 1,5 | 0,1 | - | - | 0,1 | - |
| 3 | 0,05 | 1 | - | 0,1 | 1 | 0,1 | - | - | 0,1 | 0,5 |
| 4 | 0,1 | 1 | - | 0,1 | 1 | 0,1 | - | - | 0,1 | 1 |
| 5 | 0,05 | 1 | - | 0,1 | 1 | 0,1 | - | - | 0,1 | 1 |
| 6 | 0,05 | 1 | - | 0,1 | 1 | 0,1 | - | - | 0,1 | 2 |
| 7 | 0,2 | 1 | - | 0,1 | 1 | 0,1 | - | - | 0,1 | 5 |
| 8 | 0,15 | 1,5 | - | 0,1 | 1 | 0,1 | - | - | 0,1 | 5 |
| 9 | 0,1 | 1,75 | - | 0,1 | 1 | 0,1 | 0,1 | - | 0,1 | 5 |
| 10 | 0,15 | 1,5 | - | 0,1 | 1 | 0,1 | - | - | 0,1 | 5 |
| 11 | 0,155 | 1,25 | 10 | - | 1 | 0,3 | 0,1 | 0,2 | 0,1 | 5 |

Specific gravity test

The pycnometer was washed and then rinsed with ethanol and dried. After letting it sit for 30 minutes, the lid was put on and weighed (W_0). The distilled water was put into the dry pycnometer, then closed (avoid bubbles) and weighed (W_1). The pycnometer was cleaned again, dried, and then filled with the sample without any bubbles. The pycnometer containing the sample was weighed (W_2). The formula calculated the density of the sample:

$$\text{density} = \frac{W}{V} = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0} \cdot \frac{W_1 - W_0}{V}$$

Hard water emulsion stability test

A total of 0.0304 grams of anhydrous CaCl_2 and 0.0319 grams of $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ were dissolved in aquadest in a 100 mL volumetric flask. 1 mL of the sample was put into 100 mL of hard water, then stirred and left for 6 hours. After 6 hours, it was observed whether there was a separation of layers or a precipitate formed.

Anti-microbial test

The test was carried out by inhibiting the growth of microorganisms. Namely, the inhibition zone will be seen as a clear area around the area containing antibacterial substances. Suspended 1-2 ose of pure culture for 24 hours. The suspension was pipetted 1 mL into a petri dish, and then the liquefied NA medium was poured into a petri dish that already contained bacteria—mixed to form a figure 8 and allowed to freeze. The millipore paper chips that had been extracted with various concentrations were put into a petri dish aseptically—and then incubated at 35°C for 48 hours. Microbial growth was recorded, and the transparent area (zone) was measured around the millipore paper plate.

Phenol coefficient test

Preparation of phenol standard solution. A standard stock of 5% phenol was made in 50 mL of sterile distilled water. Then, sterile distilled water was prepared with a ratio of 1:90 and 1:100 in an Erlenmeyer flask. Each 1 mL of 5% phenol standard solution was added and then homogenized, and 5 ml of each ratio was pipetted into different test tubes.

Making a disinfectant solution. Sterile distilled water was prepared in a ratio of 1:100, 1:150, 1:200, and 1:250 (water: liquid detergent

oh hibiscus leaves and comparison product) in different Erlenmeyer flasks. Into each Erlenmeyer flask was added 1 mL of product sample and homogenized.

Phenol coefficient test. The NA medium was made and then poured into a petri dish and waited for it to freeze. 0.5 L of pure culture was added into a 1:90 phenol tube and waited 5 minutes (5 minutes contact time). Ose that has been incandescent was dipped into the tube, then streaked on the first frozen NA medium. Waited 5 minutes, then dipped the ose into the tube and inscribed on the second frozen NA medium (10 minutes contact time). The ose was dipped into the tube and streaked five minutes later on the third frozen NA medium (contact time 15 minutes). The same method was also carried out for 1:100 phenol and both samples for each comparison and then incubated at 35°C for 24 hours. Bacterial growth was observed.

RESULTS AND DISCUSSION

The raw material for this research was hibiscus leaf originating from the Bogor district to be used as an additional ingredient in antibacterial liquid detergent. Hibiscus leaves were taken at random, and the best leaves were selected and separated from the stems. The leaves were cut into small pieces to speed up the drying process. Drying was carried out in the sunray to reduce the water content in the leaves and make it easier for the solvent to attract bioactive components in the sample during maceration (Chairunnisa et al., 2019). The solvents used were methanol and ethanol because these two solvents are suitable solvents for dissolving secondary metabolite compounds. %yield generated in the extraction process is shown in Table 2.

Table 2. % Yield in Each Solvent

Solvent: Ethanol

| Sample Type | Sample Weight | Extract Weight | %Yield |
|-------------|---------------|----------------|--------|
| Wet | 20 g | 16,9380 g | 84,69% |
| Dry | 20 g | 14,7285 g | 73,64% |

Solvent: Methanol

| Sample Type | Sample Weight | Extract Weight | %Yield |
|-------------|---------------|----------------|--------|
| Wet | 40 g | 19,5629 g | 48,91% |
| Dry | 40 g | 23,4491 g | 58,62% |

Table 3. Phytochemical Test Results of Hibiscus leaf Extract

| No | Sample | Solvent | Compound Type | | | |
|----|------------|----------|---------------|---------------------------------|------------|------------|
| | | | Saponins | Saponins triterpenoids/steroids | Flavonoids | Polyphenol |
| 1. | Wet Sample | - | - | ++ (steroids) | +++ (red) | - |
| 2. | Dry Sample | - | - | +++ (steroids) | + (orange) | + |
| 3. | Wet Sample | Ethanol | +++ | - | ++ (red) | +++ |
| 4. | Dry Sample | Ethanol | ++ | +++ (triterpenoids) | + (orange) | ++ |
| 5. | Wet Sample | Methanol | ++ | - | + (orange) | ++ |
| 6. | Dry Sample | Methanol | + | ++ (triterpenoids) | +++ (red) | +++ |

Phytochemical Analysis

Based on phytochemical analysis (Table 3), it showed that hibiscus leaf extract contains secondary metabolites in the form of saponins, triterpenoid/steroidal saponins, flavonoids, and polyphenols. These metabolites indicated that hibiscus leaf extract has the potential as an antibacterial.

The saponin test performed showed positive results on ethanol and methanol extracts. The most substantial test results were on samples of wet leaves with ethanol as a solvent. This result was the basis for making hibiscus leaf extract which would be used as an ingredient for making detergents.

The triterpenoid or steroid test results were positive for triterpenoids in the ethanol and methanol extract samples from the dry leaf samples. In contrast, the wet leaf samples were negative for triterpenoids or steroids, and the non-extracted leaf samples were positive for steroids.

The results of the flavonoid test from various wet and dry leaf extracts and non-extraction showed positive results. This is because flavonoid compounds are polar, which can dissolve in polar and semipolar solvents. The polarity of these compounds is because flavonoids are polyhydroxy compounds (having more than one hydroxyl group) (Arifin & Ibrahim, 2018).

Polyhydroxy flavanones will be reduced by magnesium metal and react with hydrochloric acid to form benzo pyrylium salts (flavylium salts) red or orange (Ghorbani, 2017). The polyphenol test gave positive results in all samples except for samples of wet leaves without being extracted. The hallmark of phenolics was to form a blue-black complex with iron (III) chloride. The complex formed was detected to be iron (III) Hexa phenolic (J. B. Harborne, 2013).

Product Results

Liquid detergent products were made by adding hibiscus leaf extract. In the process of making the product, 11 experiments were carried out without hibiscus leaf extract by considering several factors such as viscosity, pH, emulsion, color, and aroma. The ingredients used as a constituent of liquid detergent products include distilled water, CMC, STPP, Na_2SO_4 , Na_2CO_3 , $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, texapon, citric acid, hibiscus leaf extract, fragrances, and dyes. The distilled water contains almost no minerals as a solvent. In addition, citric acid serves as acidity setting agent. Borax ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$), a highly concentrated salt solution, was used to brighten the color of clothes. CMC (Carboxy Methyl Cellulose) functions to prevent dirt from returning to clothes and as a thickener. Hibiscus leaf extract functioned as a surfactant and antibacterial. The fragrance is an aromatic mixture that can be in the form of natural oils, a mixture of natural perfumes, and synthetic perfumes. Adding fragrance to detergent was intended to provide a pleasant aroma and cover odors that arise during washing. The fragrance used in the product was Tahity fragrance. Dyes function as a colorant in liquid soap. STTP (Sodium Tripoly Phosphate) increased washing efficiency by surfactants by deactivating minerals that cause water hardness. Texapon was used as a foam producer in detergents and Na_2SO_4 to prevent clumping in the product. The formula for making liquid detergent can be seen in the Appendix.

The first formula experiment found that the product did not contain foam, and the detergent was too thick. In the second experiment, a little texapon was added, and a little foam was obtained. The third experiment added more texapon than the previous one, obtained a product with the appropriate viscosity, and the foam was still small and unstable. In the fourth experiment, the composition of the material was

the same as in the previous experiment, and the results obtained were an appropriate viscosity and an inappropriate and unstable foam. The fifth experiment found a formula with a pH of 9, a little foam, and poor viscosity. In the sixth experiment, more texapon was added than in the previous experiment, and the results were pH 10 with less foam and poor viscosity. In the seventh experiment, more CMC, texapon, and citric acid were added than in the previous experiment, which resulted in pH 4, moderate foam, and less viscosity. In the eighth experiment, to increase the pH to get a pH of 6-8, it was done by reducing the amount of citric acid and adding the amount. A formula with an appropriate pH was obtained, namely pH 8, but very thick and moderately foamy.

Table 4. Liquid Detergent Formula (100 ml volume)

| No. | Material Name | Quantity |
|-----|--|----------|
| 1 | Distilled Water | 81,9 mL |
| 2 | CMC | 1,25 g |
| 3 | STPP | 0,1 g |
| 4 | Na ₂ SO ₄ | 1,0 g |
| 5 | Na ₂ B ₄ O ₇ · 10H ₂ O | 0,3 g |
| 6 | Texapon | 5,0 g |
| 7 | Citric Acid | 0,155 g |
| 8 | Fragrance | 0,2 mL |
| 9 | Dye | 0,1 mL |
| 10 | Hibiscus leaf extract | 10 mL |

In the ninth experiment, a formula with a pH of 7 was obtained by reducing the amount of CMC, but it was still very thick and had moderate foam. In the tenth experiment, it was carried out by reducing the amount of CMC to get the appropriate viscosity, and with the addition of champerlain, which aimed to produce an excellent and stable foam, the results were obtained with a pH of 7, suitable viscosity, and excellent stable foam, but two phases occurred at formulas. This is due to the addition of champerlain because champerlain and texapon cannot be dissolved when mixed. In the eleventh experiment, to get a good and stable foam, it was done by not adding Na₂CO₃ and champerlain, but a formula with a pH of 5.6 - 8 that was obtained pH 7, which was measured by universal pH, the obtained viscosity was appropriate, and the

resulting foam was good and stable. In the eleventh experiment, the ingredients for the product have met the requirements according to SNI 06-0475-1996 (BSN, 1996).

After obtaining a good formula without hibiscus leaf extract, detergent was then made with the addition of hibiscus leaf extract with various concentrations (0 mL; 2.5 mL; 5 mL; 10 mL; 15 mL; and 20 mL). The addition of this extract reduced the amount of solvent added. Based on the experimental results, the best formula was obtained, as shown in Table 4. The detergent product made was named Friend Clean

Analysis Based on SNI 06-0475-1996

The detergent produced was analyzed and compared with the requirements in SNI 06-0475-1996. The results of the analysis can be seen in Table 5.

Table 5. Analysis Result Based on SNI 06-0475-1996

| No. | Criteria | Unit | Standard | Results |
|-------------|-------------------|-------|--------------------------|------------|
| Conditions: | | | | |
| 1 | Shape | - | Homogenous | Homogenous |
| | | | Liquid | Liquid |
| | Smell | - | Typical | Typical |
| 2 | Color | - | Typical | Typical |
| | pH (25°C) | - | 6-8 | 6,97 |
| 3 | Active materials | % | Min. 10 | Not Tested |
| 4 | Density | g/mL | 1,0-1,2 | 1,01 |
| 5 | Total Plate Count | CFU/g | Max. 1 x 10 ⁵ | - |

pH Test

The pH value in SNI 06-0475-1996 is 6-8, based on Friend clean liquid detergent analysis, which was 6.97. The pH value in detergents on the market more or less ranges from 10-to 12. The pH value tolerated by human skin was 6-8. This was because, in the process of washing by hand, the detergent will experience direct contact with the skin, so the detergent must be able to prevent irritation of human skin. If the pH is acid, it will affect the structure of the acid coat that protects the skin from bacterial and fungal infections. At the same time, if the pH is too alkaline, then the acidic mantle on the skin will lose its acidic properties and can even be damaged. If this happens, the skin of the hands

will tend to be more easily irritated and infectious (McNichol et al., 2018). Based on this pH test, the Friend Clean detergent produced was safe for the skin and worthy to be marketed.

Density Test

Density is a physicochemical property of liquid detergents that is important to be reported (Bratovic et al., 2018). The value of the typical density of the liquid detergent produced appropriated to the quality requirements of SNI 06-0475-1996, which ranges from 1.0-1.2 g/mL. The density value of the detergent obtained was 1.01 g/mL. The density of liquid detergent will affect the ability of the detergent to dissolve in water and the stability of the emulsion of the liquid detergent. The density of the type of liquid detergent is greatly influenced by the density of the type of constituent components. The further the difference in the type of density of the constituent components of the detergent will cause a decrease in the stability of the emulsion of the detergent (Liu et al., 2020).

Antimicrobial activity Test

Antibacterial activity is seen through the results of anti-microbial tests (Karimi et al., 2019) and phenol coefficients (Yamasaki et al., 2017). Anti-microbial tests used *S.aureus* bacteria. Testing was done to determine the antibacterial power at each concentration of hibiscus leaves added to the product. Observations were made 1x24 hours in expediency at a temperature of 37°C. The resulting clear area is the sensitivity of bacteria to antibacterial materials used for test materials expressed with a width of transparent zone diameter and measured by millimeters (mm). The diameter of the bland zone ibis is categorized as its antibacterial power strength. The results of anti-microbial tests at various concentrations can be seen in Table 6.

Data on the diameter of the inhibition zone on *S. aureus* (Table 6) showed promising results at a concentration of 10%, 34 mm. There was a decrease in inhibition at a concentration of 15%, 18 mm, and at a concentration of 20%, 22 mm, while at concentrations of 2.5% and 5%, there

was no inhibition zone. A concentration of 10% put the largest inhibition zone compared to other concentrations of hibiscus leaves. According to Ramanathan et al. (2018), the criteria for the strength of antibacterial power based on the zone of inhibition were as follows: 5-10 mm is categorized as very weak, 10-20 mm is categorized as moderate, the zone of inhibition 20 mm or more is categorized as very strong. Therefore, the concentration of hibiscus leaf with 2.5%-5% hibiscus leaf extract was categorized as very weak. In contrast, the concentration of 15% was categorized as moderate, and the concentrations of 10% and 20% were categorized as very strong. The antibacterial ability of hibiscus leaf extract is supported by the results of the phenol coefficient test, as shown in Table 6.

Determination of the phenol coefficient value with the test bacteria *S. aureus* showed no bacteria in the phenol 1:90 dilution. Based on the observation table above, the highest bacterial killing effectiveness in sample R was found at a dilution of 1:250 with a value of 2.78 at a contact time of 15 minutes. In comparison, the highest effectiveness of killing bacteria in sample X was found at a dilution of 1:150 with a phenol coefficient value of 1.67 at a contact time of 15 minutes. So it could be seen that the two samples used have a phenol coefficient value above 1 (> 1) which means it had antibacterial power that was more effective and more potent than the phenol tested on *S. aureus* (Chavhan, 2017). So, in sample R, the antibacterial activity was 2.78 times more effective than phenol, and in sample X, the antibacterial activity was 1.67 times more effective than phenol.

Hard Water Emulsion Stability Test

A hard water emulsion stability test was carried out by leaving the sample in hard water for 6 hours and observing whether a precipitate formed in the detergent solution. The hard water used was CaCl₂ and MgCl₂. The results obtained in the liquid detergent soap product were that there was no emulsion because it did not produce a precipitate. This analysis aimed to determine whether liquid detergent can still foam in hard water (Pinheiro Da Silva Pinto, 2022).

Table 6. Antimicrobial Activity Test

| | Concentrations (%) | | | | | |
|------------------------|--------------------|-----|---|----|----|----|
| | 0 | 2.5 | 5 | 10 | 10 | 20 |
| Clear Zone (mm) | - | - | - | 34 | 18 | 22 |

Table 7. Phenol Coefficient Test Result

| Sample | Dilution | 5 Minute | 10 Minute | 15 Minute | Phenol Coefficient Value |
|-----------------|----------|----------|-----------|-----------|--------------------------|
| Phenol Standard | 1: 90 | - | - | - | 1 |
| | 1: 100 | + | + | + | |
| | 1: 100 | + | + | + | |
| | 1: 150 | + | + | + | |
| Sample R | 1: 200 | + | + | + | 2.78 |
| | 1: 250 | + | + | - | |
| | 1: 100 | + | + | + | |
| | 1: 150 | + | + | - | |
| Sample X | 1: 200 | + | + | + | 1.67 |
| | 1: 250 | + | + | + | |

Description : Sample R = Comparison Sample (Rinso Cair), Sample X = Product (Friend Clean)

Cleaning Power Test

The cleaning power test was carried out by comparing it with comparable products on the market. Experiments were carried out three times with various comparisons, namely 10:100, 5:100, and 1:100. The three comparisons had the same cleaning power. However, the ratio used was 1:100 because less detergent used will be more effective.

Organoleptic Test

The organoleptic test was carried out by testing the consumer's preference for Friend Clean liquid detergent products. The tests carried out included look, smell, texture, and foam. This test was conducted on 20 untested panelists. Panelists gave a score for the aroma, foam, and color of the Friend Clean products with a score of 1 for very less, 2 for less, 3 for good, and 4 for very good.

The scent of the Friend Clean liquid detergent used was Tahiti. The color of Friend Clean liquid detergent was turquoise green, which was a mixture of the original green extract with the blue color of clothes dye. The level of preference for foam produced by Friend Clean liquid detergent in each wash was observed, and the results are obtained according to the supplementary data.

The product testing results showed that the liquid detergent product of hibiscus leaf extract was qualified appropriate to the requirements in SNI 06-0475-1996. All test parameters required by SNI 06-0475-1996 were tested except for the content of the active ingredients. This test was not carried out but was replaced with a cleaning power test compared to the product comparison.

CONCLUSION

Based on the phytochemical analysis results, hibiscus leaf extract contained secondary metabolites in the form of saponins, flavonoids, triterpenoid/steroidal saponins, and polyphenols. Friend Clean liquid detergent had the best antibacterial ability by adding 10 mL of hibiscus leaf extract to 100 mL of detergent. The product test results indicate that the liquid detergent of hibiscus leaves has the quality according to the requirements in SNI 06-0475-1996. So it is safe to use for everyday purposes.

It was necessary to analyze the content of the active substance to fulfill all the requirements specified in SNI 06-0475-1996.

REFERENCES

- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, bioaktivitas dan antioksidan flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21–29.
- Bratovic, A., Nazdrajic, S., Odobasic, A., & Sestan, I. (2018). The influence of type of surfactant on physicochemical properties of liquid soap. *Int. J. Mat. Chem*, 8, 31–37.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 1996. SNI-06-0475-1996 tentang Deterjen Cuci Cair. Heath. 2000.
- Detergent A Guide To The Properties and Uses A Detergen in Micro System. USA: American Society for Microbiology.

- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). Pengaruh suhu dan waktu maserasi terhadap karakteristik ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri ISSN, 2503*, 488X.
- Chavhan, A. (2017). Efficacy study of some antiseptics and disinfectants. *Int. J. of Life Sciences, 5*(4), 593–598.
- Cornwell, P. (2018). A review of shampoo surfactant technology: Consumer benefits, raw materials and recent developments. *International Journal of Cosmetic Science, 40*(1), 16–30.
- Dominguez, C. M., Romero, A., Fernandez, J., & Santos, A. (2018). In situ chemical reduction of chlorinated organic compounds from lindane production wastes by zero valent iron microparticles. *Journal of Water Process Engineering, 26*, 146–155.
- Ghorbani, A. (2017). Mechanisms of antidiabetic effects of flavonoid rutin. *Biomedicine & Pharmacotherapy, 96*, 305–312.
- Harborne, A. (1998). *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis*. springer science & business media.
- Harborne, J. B. (2013). *The Flavonoids: Advances in Research since 1980*. Springer.
- Karimi, S., Lotfipour, F., Asnaashari, S., Asgharian, P., Sarvari, Y., & Hazrati, S. (2019). Phytochemical analysis and antimicrobial activity of some Important medicinal plants from north-west of Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR, 18*(4), 1871.
- Liu, B., Li, T., Wang, W., Sagis, L., Yuan, Q., Lei, X., Cohen Stuart, M. A., Li, D., Bao, C., & Bai, J. (2020). Corn cob cellulose nanosphere as an eco-friendly detergent. *Nature Sustainability, 3*(6), 448–458.
- McNichol, L. L., Ayello, E. A., Phearman, L. A., Pezzella, P. A., & Culver, E. A. (2018). Incontinence-associated dermatitis: State of the science and knowledge translation. *Advances in Skin & Wound Care, 31*(11), 502–513.
- Novitasari, D. (2017). *Potensi Ekstrak Biji Lamtoro (Leucana leucocephala) Kaya Polifenol Terenkapsulasi Sebagai Antioksidan dan Antibakteri*.
- Nurfarahin, A. H., Mohamed, M. S., & Phang, L. Y. (2018). Culture medium development for microbial-derived surfactants production—An overview. *Molecules, 23*(5), 1049.
- Olivia, N. U., Goodness, U. C., & Obinna, O. M. (2021). Phytochemical profiling and GC-MS analysis of aqueous methanol fraction of *Hibiscus asper* leaves. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences, 7*(1), 1–5.
- Pinheiro Da Silva Pinto, J. I. (2022). *Hand dishwashing and emulsion stability*.
- Ramanathan, S., Gopinath, S. C., Anbu, P., Lakshmipriya, T., Kasim, F. H., & Lee, C.-G. (2018). Eco-friendly synthesis of *Solanum trilobatum* extract-capped silver nanoparticles is compatible with good antimicrobial activities. *Journal of Molecular Structure, 1160*, 80–91.
- Scott, M. J., & Jones, M. N. (2000). The biodegradation of surfactants in the environment. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes, 1508*(1–2), 235–251.
- Yamasaki, M., Sakai, T., Ito, T., & Mori, K. (2017). Bactericidal effects of disinfectants on *Yersinia ruckeri*. *Fish Pathology, 52*(4), 198–201.
- Yuan, Y., Ning, X., Zhang, Y., Lai, X., Li, D., He, Z., & Chen, X. (2020). Chlorobenzene levels, component distribution, and ambient severity in wastewater from five textile dyeing wastewater treatment plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 193*, 110257.

SUPPLEMENTARY

Table 8. Organoleptic Test Result

| Aspect | Indicator | Panelist Assessment | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | Total Score | Average Score of each Indicator | Average Score of each Aspect | Actual Score of each aspect |
|-----------------------|-----------|---------------------|----|-----|----|----|----|-----|------|----|----|----|-----|------|-----|----|-----|------|-------|-----|----|-----|-------|-----------|-------|-------------|---------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| | | I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII | IX | X | XI | XII | XIII | XIV | XV | XVI | XVII | XVIII | XIX | XX | | | | | | | | |
| Look | 1 | 3 | 3 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 2 | 3 | 4 | 65 | 3.25 | 10.30 | | | | | |
| | 2 | 4 | 3 | 3 | 4 | 3 | 3 | 4 | 3 | 3 | 4 | 3 | 4 | 3 | 3 | 4 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 67 | 3.35 | | | | | | |
| | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 74 | 3.70 | | | | | | |
| Smell | 4 | 3 | 4 | 3 | 2 | 2 | 3 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 4 | 3 | 4 | 4 | 62 | 3.10 | 3.10 | | | | | |
| | 5 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | 2 | 3 | 4 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 3 | 65 | 3.25 | | | | | | |
| Texture | 6 | 4 | 3 | 3 | 4 | 3 | 3 | 4 | 3 | 3 | 4 | 3 | 4 | 3 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 3 | 67 | 3.35 | 6.60 | | | | | |
| | 7 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | 2 | 3 | 4 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 3 | 65 | 3.25 | | | | | | |
| Total | | 24 | 23 | 23 | 23 | 20 | 21 | 23 | 24 | 24 | 20 | 22 | 26 | 21 | 22 | 27 | 25 | 27 | 21 | 25 | 24 | 465 | 23.25 | 13.083333 | 23.25 | | | | |
| Average overall score | | 3.32 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Overall actual score | | 23.25 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Indicator:

- 1 Attractive of packaging design
- 2 Color selection
- 3 Storage practicality
- 4 Selection of fragrance essence
- 5 Viscosity
- 6 Presence of residu
- 7 The amount of foam produced

$$\text{Ideal maximum score} = 7 \times 4 = 28$$

$$\text{Ideal minimum score} = 7 \times 1 = 7$$

$$X_i = \frac{1}{2}(28+7) = 17.5$$

$$Sb_i = \frac{1}{6}(28-7) = 3.5$$

$$X_i + 1, Sb_i = 17.5 + 1 \times 3.5 = 21$$

$$X_i + 1, Sb_i = 17.5 - 1 \times 3.5 = 14$$

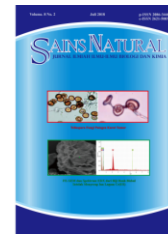
$$\% \text{Ideal} = \frac{23.25}{28} \times 100\%$$

$$\% \text{Ideal} = 83.03\%$$

Table 9. Final result of organoleptic test

| Score Range | Qualitative category |
|--------------------|----------------------|
| $X > 21$ | Very Good |
| $21 > X \geq 17.5$ | Good |
| $17.5 > X \geq 14$ | Less |
| $X < 14$ | Very Less |
| Final Result | |
| $23.25 > 21$ | Very Good |

The overall assessment results from the panellists showed that the actual score obtained was 23.25 from a maximum score of 28, with the ideal percentage reaching 83.03%. The actual score was in the range of $X > 21$, so the quality of Friend Clean detergent was included in the Very Good (VG) category



SECONDARY METABOLITES AND POTENTIAL ANTIOXIDANTS OF NUTMEG (*Myristica fragrans* Houtt) MACE FROM WEST JAVA

Rahmatul Kartini Erza¹⁾, Karmanah^{2)*}, Nurlela¹⁾

¹⁾ Program Studi Kimia, FMIPA, Universitas Nusa Bangsa

Jl. K.H. Sholeh Iskandar Km. 4 Cimanggu Tanah Sareal, Bogor 16166;

²⁾ Program Studi Agroteknologi, FAPERTA, Universitas Nusa Bangsa

Jl. K.H. Sholeh Iskandar Km. 4 Cimanggu Tanah Sareal, Bogor 16166

ARTICLE INFO

Article history:

Received 26 Jan 2022,

Revised 22 Apr 2022,

Accepted 26 Apr 2022

Available online 30 Apr 2022

Keywords:

- ✓ *Myristica fragrans* Houtt
- ✓ Mace
- ✓ Phenolic
- ✓ Flavonoid
- ✓ Antioxidant Activity

*corresponding author:

karmanahub@gmail.com

Phone: +6281282841650

[https://doi.org/10.31938/jsn.v](https://doi.org/10.31938/jsn.v12i2.380)

[12i2.380](https://doi.org/10.31938/jsn.v12i2.380)

ABSTRACT

Nutmeg mace is a mesh-shaped seed coat that is bright red when the fruit is ripe and yellowish-white when immature, which generally contains secondary metabolites such as flavonoids and phenolics. This study aimed to examine the content of flavonoids and phenolics, the antioxidant activity of ethanol extract of the nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt) mace based on three regions in West Java i.e. Sukabumi, Cianjur, and Bogor District with age differences. Total phenolic content was measured spectrophotometrically using the Folin Ciocalteu reagent. The total flavonoid content was quantitatively measured using the $AlCl_3$ colorimetric method. Antioxidant activity was tested by measuring the IC_{50} using the 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH) method. The highest phenolic content was found in young nutmeg from Sukabumi Regency (76.40 mgTAE/g). The highest flavonoid content was found in old age mace nutmeg from Bogor Regency (20.33 mgQE/g). Nutmeg mace has the potential as a natural antioxidant because it can reduce free radicals in DPPH with the lowest IC_{50} of 153.5 mg/L in old mace from Cianjur District.

ABSTRAK

Kandungan Metabolit Sekunder Dan Potensi Antioksidan Fuli Buah Pala (*Myristica Fragrans* Houtt) Dari Jawa Barat

Fuli pala adalah selubung biji berbentuk jala berwarna merah terang ketika buah sudah matang dan berwarna putih kekuningan ketika belum matang, yang umumnya mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya flavonoid dan fenolik. Tujuan penelitian ini untuk menguji kandungan senyawa flavonoid, fenolik dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol fuli pala (*Myristica fragrans* Houtt) berdasarkan tiga wilayah yaitu Kabupaten Sukabumi, Kabupaten Cianjur dan Kabupaten Bogor dengan perbedaan usia. Kadar total fenolik diukur spektrofotometri menggunakan reagen Folin Ciocalteu, Kadar total flavonoid secara kuantitatif dengan metode kolorimetri $AlCl_3$. Aktivitas antioksidan diuji dengan mengukur nilai IC_{50} dengan metode 2,2- difenil-1-pikril hidrazil (DPPH). Kadar fenolik tertinggi didapatkan pada pala usia muda dari Kabupaten Sukabumi dengan kadar sebesar 76,40 mgTAE/g. Kadar flavonoid tertinggi didapat pada fuli pala usia tua di Kabupaten Bogor dengan kadar sebesar 20,33 mgQE/g. Fuli buah pala berpotensi sebagai antioksidan alami karena mampu meredam radikal bebas pada DPPH dengan IC_{50} terendah sebesar 153,5 mg/L yang diperoleh dari fuli usia tua dari Kabupaten Cianjur.

Kata kunci : *Myristica fragrans* Houtt, Fuli, Fenolik, Flavonoid, Aktivitas Antioksidan

PENDAHULUAN

Pala merupakan tanaman asli Indonesia. Terdapat beberapa jenis pala yang dikenal di Indonesia, salah satunya adalah jenis pala Banda (*Myristica fragrans* Houtt). Jenis ini

berasal dari kepulauan Banda dan merupakan salah satu pala terbaik yang ada di Indonesia, dilihat dari segi kualitas dan juga produktivitasnya. Jenis pala ini banyak dikembangkan di provinsi Jawa Barat, yang merupakan salah satu daerah pusat produksi



pala nasional di Indonesia. Terdapat beberapa wilayah di Jawa Barat yang menjadi daerah pengembangan utama tanaman pala meliputi Kabupaten Bogor, Kabupaten Sukabumi dan Kabupaten Cianjur dengan luas arealnya masing-masing 1670 ha, 1475 ha dan 321 ha (Direktorat Jenderal Perkebunan 2019). Ketiga wilayah di Jawa Barat ini tergolong sesuai untuk pengembangan tanaman pala berdasarkan agroekologinya (Karmanah *et al.*, 2019).

Buah pala memiliki beberapa bagian yaitu daging buah, fuli, dan biji yang banyak dijual, khususnya fuli dalam bentuk kering dan dalam bentuk minyak atsiri. Minyak atsiri fuli pala Banda mengandung 10 senyawa metabolit sekunder yang termasuk dalam kelompok monoterpenoid dan alifatik (Karmanah *et al.* 2020). Fuli pala juga mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid dan fenolik yang memiliki potensi sebagai antioksidan (Gupta *et al.* 2013). Kandungan senyawa metabolit sekunder ini diduga dapat dipengaruhi oleh ketuaan atau usia pada fuli pala, meskipun belum ada penelitian yang membandingkan kandungan senyawa metabolit sekunder dengan usia fuli pala. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh usia fuli pala terhadap kadar total fenolik dan total flavonoid yang terkandung dalam fuli buah pala yang berasal dari tiga wilayah di Jawa Barat. Data kadar total fenolik dan total flavonoid yang diperoleh diharapkan dapat mendukung aktivitas antioksidannya.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah fuli buah pala (*Myristica fragrans* Houtt) yang diperoleh dari sentra pengembangan pala di Jawa Barat yaitu wilayah Sukabumi (SB), wilayah Cianjur (C) dan wilayah Bogor (BG), usia fuli dibedakan berdasarkan warna dengan warna putih kekuningan yang menunjukkan usia fuli muda (3-4 bulan) dan warna merah atau merah kekuningan yang menunjukkan usia fuli tua (7-9 bulan). Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah akuades, asam tanat, asam klorida, asam sulfat, asetat anhidrida, 2,2- difenil-1-pikril hidrazil (DPPH), etanol p.a, FeCl₃, *folin ciocalteau*, kloroform, kuersetin, Na₂CO₃, reagen *dragendorff*, reagen

mayer, reagen *wagner*, pita Mg, AlCl₃ 10%, kalium asetat 1 M.

Alat yang digunakan adalah blender, cawan alumunium, desikator, kertas saring, neraca analitik digital (Sartorius), oven, *water bath*, spektrofotometer *Ultra Violet-visible* (UV-VIS) dan peralatan gelas laboratorium.

Metode

Pembuatan Serbuk Simplisia Fuli Buah Pala

Fuli buah pala jenis tua (kode 1) dan muda (kode 2) yang diperoleh dari 3 wilayah sentra pengembangan pala dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 3 hari. Simplisia dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk dan disimpan dalam plastik kedap udara yang bersih dan kering.

Pembuatan Ekstrak Etanol Fuli Buah Pala

Simplisia fuli sebanyak 5 gram diekstraksi dengan pelarut etanol 20 mL (1:4). Perendaman dilakukan selama 3 x 24 jam dengan penggantian pelarut penyaringan setiap 1 x 24 jam. Ekstrak dievaporasi di atas *water bath* pada suhu 60° C selama kurang lebih 3 jam sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental selanjutnya ditimbang. Kadar air simplisia dihitung dengan cara 0,5 gram simplisia ditimbang, lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 105° C selama 3 jam (AOAC, 1984). Simplisia yang telah dioven, didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang. Cawan beserta isinya dikeringkan kembali sampai diperoleh berat konstan.

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan dengan metode yang dikembangkan oleh Harbone (1996).

a. Identifikasi Alkaloid

Ekstrak fuli pala sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 5 mL kloroform dan 5 mL amoniak, campuran disaring dan filtrat ditambahkan beberapa tetes reagen Mayer, Wagner dan Dragendorff. Sampel diamati hingga keruh atau ada endapan. Hasil uji positif dilihat dari adanya perubahan menjadi endapan merah hingga jingga dengan pereaksi Dragendorff, terbentuk endapan putih kekuningan dengan pereaksi Mayer, dan endapan coklat dengan pereaksi Wagner.

b. Identifikasi Flavonoid

Ekstrak fuli pala sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan pita Mg dan

5 tetes HCl pekat. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna kuning, oranye atau merah.

c. Identifikasi Saponin

Ekstrak fuli sebanyak 1 mL ditambahkan dengan akuades sebanyak 5 mL dan dipanaskan selama 5 menit pada suhu 80°C. Larutan tersebut didinginkan dan dihomogenkan. Timbulnya busa sampai selang waktu 10 menit menunjukkan adanya saponin.

d. Identifikasi Steroid/Triterpenoid

Ekstrak fuli sebanyak 1 mL ditambahkan 1 mL anhidrat asetat dan 1 mL asam sulfat pekat. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna merah yang menandakan ada triterpenoid dan biru atau hijau menunjukkan adanya steroid.

e. Identifikasi Tanin

Ekstrak fuli sebanyak 1 mL dimasukan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 5 mL akuades dan dipanaskan, selanjutnya ekstrak ditambahkan FeCl₃ sebanyak 3 tetes, hasil positif jika menghasilkan biru karakteristik, biru-hitam, hijau atau biru-hijau dan endapan (Farnsworth, 1966).

Pengujian Kadar Total Fenolik

Pengujian kadar total fenolik dilakukan dengan metode yang dikembangkan oleh Tan *et al.* (2013). Ekstrak etanol fuli pala sebanyak 12,5 mg ditimbang dan dilarutkan ke dalam labu ukur 25 mL. Larutan dipipet sebanyak 3 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditera dengan akuades sehingga didapatkan faktor pengenceran sebesar 3,3. Sampel dipipet 1 mL ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 mL Folin Ciocalteau 10% dan didiamkan 5 menit pada suhu ruang. Larutan tersebut ditambahkan 2,5 mL Na₂CO₃ 7,5%, didiamkan kembali selama 45 menit pada suhu ruang, pembacaan serapannya dilakukan pada panjang gelombang maksimum. Konsentrasi dari sampel yang diukur diketahui dengan menghitung menggunakan kurva baku yang telah didapat dan total fenol ekstrak sampel dinyatakan dalam mg asam tanat/g sampel (mg TAE/g sampel) dengan rumus:

$$\text{Total fenol mgTAE/g} = c \frac{V}{m}$$

Keterangan :

c = kadar total fenol dari kurva standar (mg/L)

V = volume sampel (L)

m = bobot sampel (g)

Pengujian Kadar Total Flavonoid

Pengujian kadar total flavonoid dilakukan dengan metode yang dikembangkan oleh Ukheyanna (2012). Ekstrak etanol fuli pala 5 mg ditimbang, dimasukkan ke labu ukur 10 mL, dan ditera dengan etanol. Larutan dipipet 1 mL ke labu ukur 10 mL, ditambahkan 0,2 mL AlCl₃ 10%, 0,2 mL kalium asetat 1 M dan 3 mL etanol, ditera dengan akuades. Larutan dibiarkan selama 30 menit, lalu serapannya diukur pada panjang gelombang maksimal. Absorbansi yang dihasilkan dimasukkan ke dalam persamaan regresi dari kurva standar kuersetin. Pengerjaan diulang sebanyak 3 kali dan dihitung kadar flavonoid total dengan menggunakan rumus :

$$\text{Total flavonoid mgQE/g} = c \frac{V}{m}$$

Uji Antioksidan

Uji antioksidan menggunakan Metode 2,2-difenil-1-pikril hidrazil (DPPH) secara kuantitatif dengan Spektrofotometer UV-VIS (Kusumah, 2019 dengan modifikasi). Tahapan pengujian sebagai berikut :

a. Pembuatan Larutan Uji Seri Konsentrasi 0, 3, 5, 6, 9, 12 mg/L

Larutan kontrol positif dibuat dari kuersetin 100 mg/L yang dipipet sebanyak 0; 1,5; 2,5; 3; 4,5; dan 6 mL sehingga didapat konsentrasi 3, 5, 6, 9, dan 12 mg/L. Kuersetin dilarutkan dengan etanol p,a dalam labu ukur 50 mL sampai tanda batas.

b. Pembuatan Larutan Uji Seri Konsentrasi 100, 150, 200, 250, 300 mg/L

Larutan uji seri konsentrasi dipipet dari larutan induk sampel sebanyak 1; 1,5; 2; 2,5; dan 3 mL sehingga didapat konsentrasi 100, 150, 200, 250, 300 mg/L. Larutan tersebut ditambahkan etanol p,a dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas.

c. Pengukuran Serapan dengan Spektrofotometer UV-VIS

Masing-masing larutan ekstrak fuli buah pala dan kontrol positif sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Larutan ekstrak ditambahkan larutan DPPH 0,1 mg/L sebanyak 2 mL, lalu dikocok dengan vortex hingga homogen, diinkubasi dalam ruangan gelap 30 menit. Selanjutnya, serapannya diukur pada panjang gelombang 515 nm.

d. Penentuan Persen Inhibisi

Aktivitas penangkal radikal diekspresikan sebagai persen inhibisi yang dapat dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Peredaman radikal bebas} = \frac{(\text{abs standar} - \text{abs sampel})}{\text{abs standar}} \times 100\%$$

e. Penentuan Nilai Inhibitory Concentration (IC₅₀)

Konsentrasi sampel dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linear. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan IC₅₀ dari masing-masing sampel yang dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC₅₀. Nilai IC₅₀ menyatakan besarnya konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas DPPH sebesar 50% yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna ungu pada larutan menjadi warna kuning pucat. Menurut Jun *et al.* (2006), suatu senyawa dikatakan sebagai antiradikal bebas sangat kuat apabila nilai IC₅₀ < 50 mg/L, kuat apabila nilai IC₅₀ antara 50-100 mg/L, sedang apabila nilai IC₅₀ berkisar antara 100-250 mg/L, lemah apabila nilai IC₅₀ berkisar 250-500 mg/L dan tidak aktif apabila IC₅₀ diatas 500 mg/L. Semakin kecil nilai IC₅₀, berarti semakin besar daya antioksidannya.

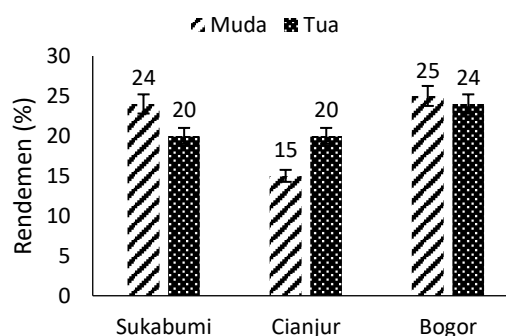
Analisis Data

Kadar total fenolik dan total flavonoid dilakukan analisis data dengan Uji Beda Nyata (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT) apabila lokasi dan usia berpengaruh signifikan (P<0,05) terhadap variabel yang diamati.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Fuli Buah Pala

Persentase rendemen fuli pala yang berasal dari Bogor dengan usia muda dan tua menghasilkan rendemen yang lebih besar yaitu 25% dan 24% (Gambar 1). Perbedaan persentase rendemen menunjukkan adanya perbedaan dalam jumlah senyawa metabolit sekunder yang terekstrak pada sampel, sesuai dengan pernyataan Harbone (1996), bahwa tingginya senyawa aktif yang terdapat pada suatu ekstrak ditunjukkan dengan tingginya jumlah rendemen. Persentase rendemen kemungkinan dipengaruhi oleh proses pengadukan saat maserasi sehingga zat-zat aktif dalam simplisia banyak tersari dalam larutan penyari. Selain itu, persentase rendemen fuli pala dipengaruhi oleh umur fuli pala dan daerah asal tanaman pala (Polii, 2016).



Gambar 1. Persentase Rendemen Fuli Pala

Tabel 1. Hasil Pengujian Fitokimia Ekstrak Etanol Fuli Pala

| Sampel | Alkaloid | | | Flavonoid | Tanin | Saponin | Triterpenoid |
|--------|-------------|--------|-------|-----------|-------|---------|--------------|
| | Dragendorff | Wagner | Mayer | | | | |
| SB 1 | + | - | - | + | + | - | ++ |
| SB 2 | + | - | - | ++ | + | - | ++ |
| C 1 | + | ++ | - | + | ++ | - | ++ |
| C 2 | + | ++ | - | ++ | ++ | - | ++ |
| BG 1 | + | - | - | + | ++ | - | ++ |
| BG 2 | + | - | - | ++ | ++ | - | ++ |

Keterangan: 1) ++ = Sangat Kuat ; + = Kuat

2) SB= Kabupaten Sukabumi; C=Kabupaten Cianjur; BG= Kabupaten Bogor

3) 1= Fuli Usia Muda ; 2 = Fuli Usia Tua

Pada proses ekstraksi dipilih pelarut etanol 96%, karena dapat melarutkan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bersifat cukup polar dan tidak toksik dibandingkan dengan pelarut lain. Etanol juga dapat menarik senyawa-senyawa polar seperti flavonoid, tanin dengan menembus dinding sel bersifat non-polar dan polar secara efisien, sehingga senyawa-senyawa tersebut dapat tersari lebih banyak (Tiwari *et al.*, 2011). Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang tersebar pada tumbuhan dan cenderung mudah larut dalam pelarut polar (Nabavi *et al.*, 2011).

Hasil Uji Penapisan Fitokimia

Hasil uji penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol fuli pala mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan triterpenoid (Tabel 1). Berdasarkan Tabel 1, uji alkaloid ekstrak etanol fuli pala menunjukkan hasil yang positif pada uji Dragendorff pada semua jenis sampel dengan membentuk endapan berwarna coklat muda (tanda +). Endapan tersebut adalah kalium alkaloid. Perekasi Dragendorff mengandung Bismut-KI akan bereaksi dengan nitrogen yang digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam. Pada uji Wagner hanya sampel dari wilayah Cianjur saja yang memberikan hasil positif dengan membentuk endapan berwarna coklat muda (tanda ++). Pada pembuatan pereaksi Wagner, iodin akan bereaksi dengan ion I^- dari kalium iodida menghasilkan ion I_3^- yang berwarna coklat. Pada uji Wagner, ion logam K^+ akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap.

Uji flavonoid pada ekstrak etanol fuli pala menunjukkan hasil yang positif yang ditandai terbentuknya warna jingga pada lapisan etanol (tanda + dan ++). Prinsip uji flavonoid berdasarkan reaksi oksidasi reduksi. Senyawa flavonoid akan direduksi oleh hidrogen yang dihasilkan dari reaksi antara pita Mg dengan HCl, lalu membentuk senyawa kompleks dengan Mg^{2+} yang berwarna merah atau jingga (Ergina *et al.*, 2014).

Uji tanin pada ekstrak etanol fuli pala memberikan hasil positif dengan terbentuknya warna biru kehitaman yang sangat kuat pada ekstrak etanol fuli pala (tanda + dan ++). Warna yang terbentuk menunjukkan bahwa kandungan senyawa tanin pada fuli pala tinggi (tanda ++). Hal ini dipertegas dengan literatur yang menjelaskan bahwa fuli pala mengandung senyawa tanin yang tinggi (Assa *et al.*, 2014).

Pada pengujian kandungan saponin tidak menunjukkan perubahan (tanda -) artinya fuli pala tidak mengandung saponin. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian Ismiyanto (2009), senyawa golongan saponin tidak terdapat dalam sampel fuli pala kering. Hasil pengujian triterpenoid menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya warna merah kecoklatan (tanda ++).

Tabel 2. Hasil Uji DMRT Pada Total Fenolik

| Sampel | Total Fenolik (mgTAE/g) |
|--------|-------------------------|
| SB 1 | 76,40 ^c |
| SB 2 | 67,86 ^b |
| C 1 | 66,60 ^b |
| C 2 | 65,85 ^b |
| BG 1 | 63,87 ^b |
| BG 2 | 51,99 ^a |

Keterangan: Huruf yang sama dibelakang nilai total fenolik menunjukkan tidak berbeda nyata

Uji Total Fenolik

Kadar total fenolik ekstrak etanol fuli pala pada wilayah Sukabumi dan Bogor usia tua dan muda berbeda nyata secara signifikan dengan masing-masing kadar untuk wilayah sukabumi sebesar 76,40 mgTAE/g dan 67,86 mgTAE/g untuk usia muda dan tua serta wilayah bogor sebesar 63,87 mgTAE/g dan 51,99 mgTAE/g pada usia muda dan tua (Tabel 2). Hanya wilayah Cianjur yang tidak berbeda nyata, yaitu 66,60 mgTAE/g usia muda dan 65,85 mgTAE/g usia tua yang berarti bahwa wilayah dan usia tidak mempengaruhi kadar total fenolik secara statistik. Namun, jika dilihat kadar total fenolik secara keseluruhan dapat terlihat bahwa kadar pada usia muda lebih tinggi dibandingkan usia tua (Tabel 2). Sudjatha dan Wisaniyasa (2017) menjelaskan bahwa besarnya kadar fenolik pada buah tergantung pada perkembangannya. Buah yang masih muda mengandung fenolik yang lebih tinggi daripada buah yang sudah masak. Turunnya kadar pada buah disebabkan kandungan senyawa

fenolik tersebut mengalami degradasi. Hal ini yang mengakibatkan kadar total fenolik fuli pala lebih tinggi pada usia muda dibandingkan dengan usia tua.

Uji Total Flavonoid

Kadar total flavonoid pada ekstrak etanol fuli pala ketiga wilayah dengan usia tua dan muda sangat berbeda secara signifikan, dengan kandungan tertinggi berada pada wilayah Bogor dengan kadar total flavonoid sebesar 20,33 mgQE/g pada fuli usia tua dan 9,67 mgQE/g untuk usia muda. Pada wilayah Cianjur kadar total flavonoid sebesar 17,8 mgQE/g pada usia tua dan 10,27 mgQE/g usia muda. Kadar terendah berada pada wilayah Sukabumi dengan kadar sebesar 14,33 mgQE/g pada usia tua dan 6,07 mgQE/g pada usia muda (Tabel 3). Dilihat dari keseluruhan data total flavonoid, kadar total flavonoid lebih tinggi pada usia tua daripada usia muda.

Tabel 3. Hasil Uji DMRT Pada Total Flavonoid

| Sampel | Total Flavonoid (mgQE/g) |
|--------|--------------------------|
| SB 1 | 6,07 ^a |
| SB 2 | 14,07 ^c |
| C 1 | 10,27 ^b |
| C 2 | 17,80 ^d |
| BG 1 | 9,67 ^b |
| BG 2 | 20,33 ^d |

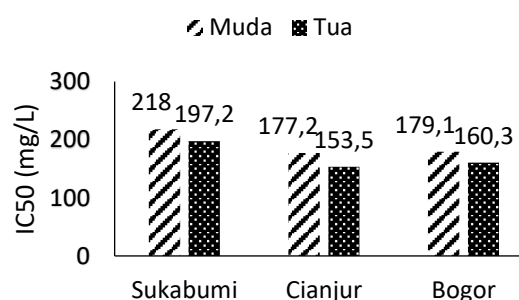
Keterangan: Huruf yang sama dibelakang nilai total flavonoid menunjukkan tidak berbeda nyata

Adanya perbedaan kandungan flavonoid dan juga kandungan fenolik menggambarkan adanya keragaman konstituen kimia tanaman pala sebagai akibat dari beberapa faktor yang mempengaruhi, diantaranya adalah kondisi lingkungan tumbuh tanaman pala. Perbedaan lingkungan tersebut dapat berupa suhu lingkungan tumbuh tanaman pala. Karmanah *et al.* (2019) melaporkan perbedaan suhu pada persebaran tanaman pala di tiga lokasi penelitian yaitu di Kabupaten Bogor memiliki suhu sebesar 25-27°C, Kabupaten Sukabumi sebesar 19-21°C dan Wilayah Cianjur sebesar 20-22°C. Menurut Abdullah *et al.* (2006) dan Goh *et al.* (2016), suhu yang tinggi akan memberikan cekaman bagi tanaman dan mendorong tanaman untuk memproduksi metabolit sekunder guna melawan radikal bebas. Berdasarkan Tabel 3 menunjukkan suhu yang lebih tinggi di Kabupaten Bogor dan Kabupaten

Cianjur menghasilkan kadar total flavonoid lebih tinggi dibandingkan Kabupaten Sukabumi. Menurut Shamloo *et al.* (2017) senyawa flavonoid yang lebih tinggi sebagai ekstra sinergi pertahanan terhadap cekaman lingkungan.

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan mengukur persentase inhibisi radikal bebas DPPH atau % inhibisi. Nilai % inhibisi digunakan dalam perhitungan nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC₅₀ merupakan nilai yang menggambarkan besarnya konsentrasi sampel (mg/L) yang dapat menangkap radikal bebas sebesar 50%. IC₅₀ diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel dengan simbol X terhadap aktivitas penangkapan radikal bebas dengan simbol Y. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan (Zuhra *et al.*, 2008).



Gambar 2. Nilai IC₅₀ dari Ekstrak Etanol Fuli Pala

Kuersetin dipilih sebagai kontrol positif karena merupakan antioksidan alami yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Pertiwi *et al.*, 2016). Perubahan warna yang terjadi pada kuersetin dan ekstrak etanol fuli pala diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum DPPH 515 nm. Pada Gambar 2 dapat dilihat perbandingan nilai IC₅₀ dari ekstrak etanol fuli pala. Ekstrak etanol fuli pala wilayah Cianjur memiliki nilai IC₅₀ yang paling rendah. Besar kemungkinan ekstrak etanol fuli pala Cianjur memiliki IC₅₀ yang lebih rendah dikarenakan peran dari senyawa fitokimia seperti alkaloid dan triterpenoid yang menunjukkan hasil positif pada uji alkaloid pereaksi Dragendorff dan Wagner serta positif pada uji triterpenoid sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 1. Ekstrak etanol fuli pala terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang ditandai dengan adanya kemampuan meredam radikal bebas pada DPPH. Nilai IC₅₀ yang dihasilkan menunjukkan bahwa ekstrak etanol fuli pala memiliki aktivitas

antioksidan aktif dengan kategori sedang. Selain itu, berdasarkan usia fuli pala dari ketiga wilayah menunjukkan fuli usia tua memiliki nilai IC_{50} yang lebih rendah dibandingkan usia muda, diduga karena fuli usia tua memiliki kandungan flavonoid yang lebih tinggi. Menurut Sidana *et al.* (2013), senyawa flavonoid dapat meredam aktivitas radikal bebas seperti hidroksil dan superoksida.

KESIMPULAN

Fuli pala dari tiga lokasi sentra pengembangan pala yaitu wilayah Sukabumi, Cianjur, dan Bogor terbukti mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang dapat menangkal radikal bebas. Kadar fenolik tertinggi terkandung pada fuli pala usia muda di Kabupaten Sukabumi dengan kadar sebesar 76,40 mgTAE/g. Kadar flavonoid tertinggi berada pada fuli pala usia tua di Kabupaten Bogor dengan kadar sebesar 20,33 mgQE/g. Lokasi penanaman dan usia fuli terbukti mempengaruhi kadar total flavonolik dan total flavonoid dalam ekstrak fuli pala. Fuli buah pala berpotensi sebagai antioksidan alami karena mampu meredam radikal bebas pada DPPH dengan IC_{50} terendah sebesar 153,5 mg/L pada fuli pala usia tua di Kabupaten Cianjur yang memiliki tingkat kekuatan antioksidan berkategori sedang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Dr. Karmanah SP, M.Si atas arahan dan bimbingannya serta telah mendanai penelitian ini. Begitu pula kepada Nurlala S.Si., M.Si yang telah memberikan bimbingannya selama penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Raymona Rosilla S.Si yang telah memotivasi untuk menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Abdullah, M., Babar, M., Kee, W. Y., Eun, J. H., & Kee, Y. P. (2006). Effect of temperature on secondary metabolite production and antioxidant enzyme activities in *Eleutherococcus senticosus* somatic embryos. *Plant cell, Tissue and Organ Culture*, 85, 219-228.

AOAC. (1984). *Official Methods of Analysis*. Washington, United States: Association of Official Agricultural Chemists.

[Ditjenbun] Direktorat Jenderal Perkebunan. (2019, Agustus 15). *Statistik Perkebunan Indonesia Komoditas Pala Tahun 2017-2019*. Diperoleh dari <http://ditjenbun.pertanian.go.id>

Ergina, Nuryanti, S., & Pursitasari, I. D. (2014). Uji kualitatif senyawa metabolit sekunder pada daun palado (*Agave angustifolia*) yang diekstraksi dengan pelarut air dan etanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 165-172.

Farnsworth, N. R. (1996). Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Sciences*, 55, 225-276.

Ghofur, A. A. (2017). *Peningkatan senyawa antioksidan terekstrak dari daging buah pala (Myristica fragrans Houtt) melalui penentuan jenis pelarut* (Skripsi). Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.

Goh, K. K., Sukira, Normah, & Baharum. (2016). Metabolite profiling reveals temperature effects on the vocs and flavonoids of different plant populations. *Plant Biol (Stuttg)*, 1, 130-139.

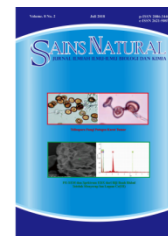
Gould, K., Davies, K. M., & Winefield, C. (2008). *Anthocyanins: Biosynthesis, Functions, And Applications*. Jerman: Springer.

Gupta, A. D., Vipin, K. B., Vikash, B., & Nishi, M. (2013). Chemistry antioxidant and antimicrobial potential of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt). *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 11, 25-31.

Harbone, J. B. (1996). *Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Bandung, Indonesia: Institut Teknologi Bandung.

Ismiyarto, A., Ngadiwiyana, A., & Mustika, R. (2009). Isolasi, identifikasi minyak atsiri fuli pala (*Myristica fragrans*) dan uji aktivitas sebagai larvasida. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 12 (1), 23 - 30.

- Jan, R., Assa, Simon B. W., & Joni K. (2014). Antioxidant potential of flesh, seed and mace of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt). *International Journal of ChemTech Research CODEN*.
- Jun, M., Fu, H. -Y., Hong, J., Wan, X., Yang, C. S., & Ho, C. -T. (2006). Comparison of antioxidant activities of isoflavones from kudzu root (*Pueraria lobata* Ohwi). *Journal of Food Science*, 68(6), 2117-2122.
- Karmanah, Susanto, S., Widodo, W. D., & Santosa, E. (2019). Suitability of nutmeg plant habitats in three nutmeg production centers using the geographic information system and aster DEM in West Java, Indonesia. *International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering*, 9(2), 4761–4766.
- Karmanah, Susanto, S., Widodo, W. D., & Santosa, E. (2020). The fruit characteristics of Ambon forest nutmeg (*Myristica fatua* Houtt) and Banda nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt). *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 25 (2), 292-300. DOI: 10.18343/jipi.25.2.292.
- Kusumah, R.R. (2019). *Total flavonoid dan aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol buah bisbul (Dyospyros discolor)* (Skripsi). Fakultas FMIPA, Universitas Nusa Bangsa, Bogor, Indonesia.
- Nabavi, S. F., Nabavi, S. M., Ebrahimzadeh, M. A., & Asgarirad, H. (2011). Antioxidant activity of wild medlar (*Mespilus germanical*) fruits, stem bark and leaf. *African Journal of Biotechnology*, 10(2), 283-289.
- Pertiwi, D. R., Yari, E. C., & Putra, F. N. (2016). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol limbah kulit buah apel (*Malus domestica* Borkh.) terhadap radikal bebas DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 2(1), 81–92.
- Polii, F. (2016). Penelitian penyulingan minyak pala "SIAUW" metode uap bertekanan dan karakteristik mutu minyak pala. *Jurnal Penelitian Teknologi Industri*, 8(1), 23-34.
- Shamloo, M., Babawale, E. A., Furtado, A., Henry, H. J., Peter, K. E., & Peter, J. H. J. (2017). Effects of genotype and temperature on accumulation of plant secondary metabolites in Canadian and Australian wheat grown under controlled environments. *Scientific Reports*, 7(1), 9133. DOI: 10.1038/s41598-017-09681-5.
- Sidana, J., Saini, V., Dahiya, S., Nain, P., & Bala, S. (2013). A review on citrus: the boon of nature. *Journal Pharmacy Science Review And Research*, 18(2), 20-27.
- Tan, K. P., Khoo, H. E., & Azrina, A. (2013). Comparison of antioxidant components and antioxidant capacity in different parts of nutmeg (*Myristica fragrans*). *Journal of Food Research*, 20(3), 1049-1052.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur H. (2011). Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 98-106.
- Ukieyanna, E. (2012). *Aktivitas antioksidan kadar fenolik dan flavonoid total tumbuhan suruhan (Peperomia pellucid L. Kunth)* (Skripsi). Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
- Zuhra, C. F., Tarigan, J., & Sihotang, H. (2008). Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari daun katuk *Sauropus androgynus* (L) Merr. *Jurnal Biologi Sumatera*, 3(1), 7-10.



UTILIZATION OF IRON SCRAP FOR PALM OIL MILL EFFLUENT TREATMENT BY FENTON AND PHOTO-FENTON PROCESSES

Diana Novita Sari, Dea Amelia, Muhammad David Ramadhon dan Yuant Tiandho*
Jurusan Fisika, Fakultas Teknik, Universitas Bangka Belitung
Kampus Peradaban UBB, Balunijuk, Bangka, Indonesia 33172

ARTICLE INFO

Article history:

Received 22 Sep 2021,

Revised 06 Apr 2022,

Accepted 27 Apr 2022

Available online 30 Apr 2022

Keywords:

- ✓ POME
- ✓ Fenton
- ✓ Photo-Fenton
- ✓ Scrap iron

*corresponding author:

yuant@ubb.ac.id

Phone: +628977567902;

[https://doi.org/10.31938/jsn.v](https://doi.org/10.31938/jsn.v12i2.341)

[12i2.341](https://doi.org/10.31938/jsn.v12i2.341)

ABSTRACT

The increase in the amount of palm oil production impacts increasing the total liquid waste from the processing of palm oil. Palm oil mill effluent (POME) has high chemical oxygen demand (COD) and biochemical oxygen demand (BOD) parameters that can cause environmental pollution. This study processed POME using the Fenton mechanism using reagents derived from scrap iron. The Fenton mechanism is one of the advanced oxidation process technology (AOPs) in wastewater treatment. To improve the performance of the Fenton mechanism, the researchers integrated it with UV-rays in the photo-Fenton mechanism scheme. Fenton and photo-Fenton processes effectively reduce the pH, BOD, and COD of POME. The COD removal efficiency was 99.91%, while the BOD removal efficiency was 99.93%. The more FeSO_4 added to the wastewater, the more significant the reduction of BOD and COD in the Fenton and photo-Fenton processes. Also, photo-Fenton is more effective than the Fenton process to reduce BOD and COD in the POME.

ABSTRAK

Pemanfaatan Besi Bekas untuk Pengolahan Limbah Cair Industri Kelapa Sawit Melalui Proses Fenton dan Foto-Fenton

Meningkatnya jumlah produksi kelapa sawit, berdampak pada peningkatan total limbah cair dari hasil pengolahan kelapa sawit. Limbah cair industri kelapa sawit atau *Palm Oil Mill Effluent* (POME) memiliki nilai parameter *chemical oxygen demand* (COD) dan *biochemical oxygen demand* (BOD) yang tinggi sehingga dapat menyebabkan pencemaran lingkungan. Di dalam penelitian ini, dilakukan pengolahan POME menggunakan mekanisme Fenton menggunakan reagen yang berasal dari besi bekas. Mekanisme Fenton adalah salah satu pengembangan dari teknologi proses oksidasi maju (AOPs) dalam pengolahan air limbah. Untuk meningkatkan performa dari mekanisme Fenton, peneliti mengintegrasikan system tersebut dengan sinar-UV dalam skema mekanisme foto-Fenton. Proses Fenton dan foto-Fenton sangat efektif dalam menurunkan pH, BOD dan COD dari POME. Efisiensi penyisihan COD mencapai 99,91%, sedangkan efisiensi penyisihan BOD mencapai 99,93%. Semakin banyak FeSO_4 yang ditambahkan ke dalam air limbah maka semakin besar reduksi BOD dan COD dalam proses Fenton dan foto-Fenton. Selain itu, foto-Fenton lebih efektif dibandingkan dengan proses Fenton dalam mereduksi BOD dan COD dalam POME

Kata kunci : POME, Fenton, foto-Fenton, besi bekas

PENDAHULUAN

Industri kelapa sawit adalah salah satu penyumbang devisa terbesar bagi negara Indonesia. Dalam lima tahun terakhir, luas areal perkebunan kelapa sawit di Indonesia terus meningkat dari sekitar 11 juta ha pada tahun 2015 menjadi lebih dari 14 juta ha pada tahun 2019 (Ditjenbun, 2019). Hal ini tidak terlepas dari terus

meningkatnya kebutuhan kelapa sawit yang dapat menghasilkan berbagai produk turunan dalam sektor pangan, energi, hingga kosmetik.

Di sisi lain, meningkatnya jumlah produk industri kelapa sawit juga berdampak pada peningkatan total limbah yang dihasilkan. Umumnya, terdapat dua jenis limbah industri kelapa sawit yaitu limbah dalam bentuk cair dan padat (Sitorus *et al.*, 2020). Adapun limbah cair



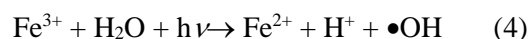
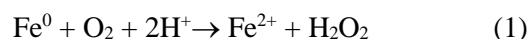
merupakan jenis limbah yang membutuhkan perhatian khusus karena mudah penyebarannya sehingga potensi merusak lingkungannya tinggi.

Pada industri kelapa sawit, dihasilkan 5-7 ton limbah cair atau *Palm Oil Mill Effluent* (POME) dengan produksi 1 ton minyak sawit (Iskandar *et al.*, 2018). POME merupakan limbah cair dengan bau yang tidak sedap dan memiliki nilai parameter *chemical oxygen demand* (COD) dan *biochemical oxygen demand* (BOD) yang tinggi sehingga dapat menyebabkan pencemaran serius dan masalah pada berbagai sumber air (Paramitadevi *et al.*, 2017).

Sistem kolam adalah metode paling konvensional untuk pengolahan POME. Lebih dari 85% pabrik kelapa sawit di Indonesia telah mengadopsi sistem kolam untuk pengolahan POME (Paramitadevi *et al.*, 2017). Namun, hanya sedikit yang dioperasikan dalam skala penuh karena kinerja yang tidak memuaskan, investasi modal yang tinggi, membutuhkan area yang luas, bau busuk, emisi gas rumah kaca, dan waktu retensi hidrolik yang lama (Suryawan *et al.*, 2020). Untuk memecahkan masalah lingkungan, bermunculan metode baru untuk mengatasi POME. Beberapa tahun terakhir, metode alternatif telah diteliti oleh peneliti untuk mengatasi kekurangan dari sistem kolam untuk pengolahan POME seperti proses oksidasi lanjutan atau *Advanced oxidation processes* (AOPs) (Saeed *et al.*, 2016), membran filtrasi (Sajjad *et al.*, 2018), koagulasi/flokulasi (Chung *et al.*, 2018), dan adsorpsi (Said *et al.*, 2016). Meskipun masih berjalan dalam skala laboratorium, namun metode-metode tersebut sudah menunjukkan potensi yang baik dibandingkan dengan metode konvensional.

Advanced oxidation processes (AOPs) merupakan metode yang dianggap cocok untuk pembersihan air yang terkontaminasi oleh kontaminan organik terlarut seperti senyawa aromatik, pewarna, obat-obatan, deterjen, herbisida, dan pestisida (Ertosun *et al.*, 2019). Salah satu jenis AOPs yang tengah dikembangkan secara intensif adalah metode Fenton dan foto-Fenton. Mekanisme ini melibatkan radikal yang dihasilkan oleh reaksi antara senyawa H_2O_2 dengan ion besi. Besi valensi nol dalam skala nano bereaksi cepat dengan oksigen untuk menghasilkan oksidan kuat. Awalnya, permukaan Fe^0 akan mentransfer dua elektron ke O_2 , menghasilkan oksidasi besi besi (Fe^{2+}) dan menghasilkan H_2O_2 (Persamaan 1). H_2O_2 dapat direduksi menjadi molekul air dengan tambahan transfer dua elektron dari besi (Persamaan 2).

Dalam reaksi Fenton, Fe^{2+} dioksidasi untuk menghasilkan radikal hidroksil ($\bullet OH$) yang memiliki kemampuan pengoksidasi kuat terhadap banyak senyawa organik (Persamaan 3). Pembentukan radikal $\bullet OH$ sebagian besar terjadi melalui Persamaan 4 pada proses foto-Fenton, terjadi reduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} , dalam proses ini Fe^{3+} mengkatalisis pembentukan radikal $\bullet OH$ dengan penyinaran sinar UV (Segura *et al.*, 2019).



Di sisi lain, pencemaran lingkungan juga dapat disebabkan oleh kehadiran logam seperti besi bekas. Meningkatnya jumlah peralatan yang manusia gunakan saat ini, tidak terlepas dari penggunaan besi dalam peralatan-peralatan tersebut. Besi dapat ditemukan dengan mudah sebagai bahan pengemasan kaleng, *furniture*, hingga berbagai peralatan memasak. Namun setelah tidak terpakai lagi, maka besi tersebut dibuang begitu saja. Sehingga jika hal ini dibiarkan dapat menimbulkan permasalahan lingkungan karena besi sulit terdegradasi dan pemanfaatannya kembali masih sangat minim (Chandane *et al.*, 2019).

Oleh karena itu, untuk mengatasi pencemaran lingkungan akibat POME dan besi bekas, maka dalam penelitian ini dilakukan analisis potensi penggunaan besi bekas sebagai sumber reagen Fenton dalam bentuk senyawa $FeSO_4$. Adapun reagen Fenton tersebut digunakan untuk memperbaiki POME, khususnya berkaitan dengan aspek COD dan BOD, sehingga bersifat ramah lingkungan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi air limbah industri kelapa sawit yang diperoleh dari salah satu industri kelapa sawit yang ada di Bangka, sabut cuci berbahan *stainless steel*, H_2SO_4 , H_2O_2 , akuades, kertas saring dan tisu. Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi gelas piala, gelas ukur, labu ukur, corong gelas, botol kaca, batang pengaduk kaca, pipet tetes, dan timbangan digital.

Metode

Sintesis FeSO₄ dari Besi Bekas

Besi bekas yang digunakan dalam sintesis H₂SO₄ ini adalah sabut cuci berbahan *stainless steel*. Sebelum digunakan, sabut tersebut dicuci sampai bersih dan dikeringkan dibawah sinar matahari. Setelah itu, sabut dipotong kecil-kecil untuk digunakan dalam proses selanjutnya. Sebanyak 30 gram sabut dimasukkan ke gelas piala ukuran 500 mL kemudian ditambahkan 200 mL H₂SO₄ 2,8 M dan dibiarkan selama 24 jam. Hasil perendaman disaring dan dikristalkan pada suhu 100°C. Analisis karakteristik selanjutnya dilakukan dengan *X-Ray Diffraction* (XRD) dan *X-Ray Fluoresence* (XRF).

Proses Fenton dan Foto-Fenton

Pada penelitian ini digunakan dua metode pengolahan POME yaitu proses Fenton (tanpa disinari dengan sinar-UV) dan proses foto-Fenton (disinari dengan sinar-UV). Pengolahan POME dengan metode Fenton dan foto-Fenton dilakukan dengan memvariasikan dosis FeSO₄ yaitu 0,75; 1; 1,25 gram yang dimasukkan ke gelas piala 500 mL kemudian dicampurkan dengan 250 mL POME dan 2,5 mL H₂O₂. Larutan tersebut diaduk dengan spatula kaca selama 1 menit kemudian dibiarkan selama 24 jam. Setelah peroses perendaman, sampel uji difiltrasi dengan kertas saring dan dilanjutkan dengan uji karakterisasi POME. Parameter uji air limbah meliputi pH, COD, dan BOD.

HASIL DAN PEMBAHASAN

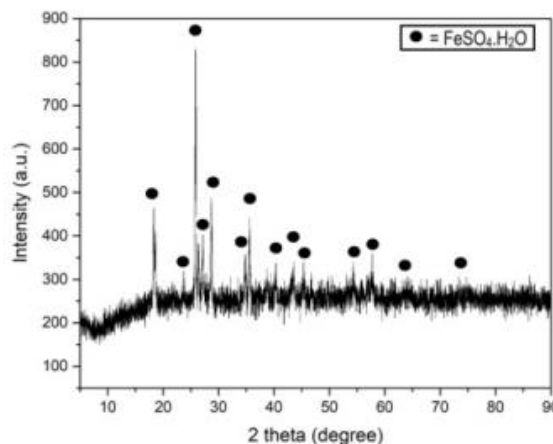
Karakterisasi FeSO₄

Data pengukuran XRF pada Tabel 1 menunjukkan bahwa sampel FeSO₄ yang disintesis dalam penelitian ini terdiri dari unsur Fe, S, dan Cr. Hal ini menunjukkan telah terbentuk besi sulfat. Adanya Cr dikarenakan limbah besi yang digunakan adalah *stainless steel*. Namun demikian, jumlah Cr tidak signifikan dibandingkan dengan jumlah Fe dan S.

Tabel 1. Hasil XRF dari Sampel

| Unsur | Kadar (%) |
|-------|-----------|
| S | 17,58 |
| Cr | 2,85 |
| Fe | 79,57 |
| Total | 100,00 |

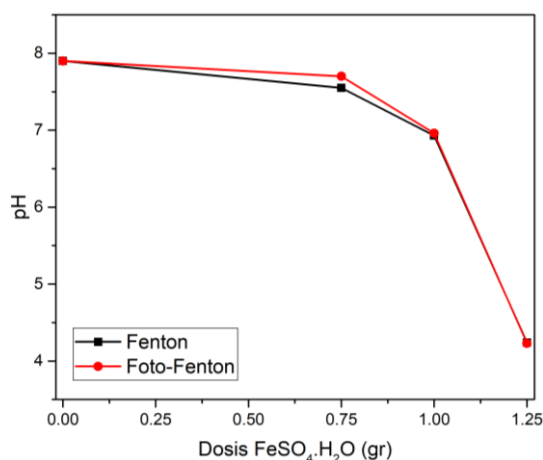
Selanjutnya melalui analisis XRD pada Gambar 1, terlihat bahwa fasa kristal yang terbentuk pada penelitian ini adalah FeSO₄•(H₂O). Hal tersebut diindikasikan oleh beberapa puncak tertinggi yang terletak pada 2θ: 25,88°, 28,59°, 35,58°, 18,28°, dan 26,43°. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penelitian ini telah berhasil mensintesis reagen FeSO₄ dari besi bekas.



Gambar 1. Karakterisasi XRD Sampel

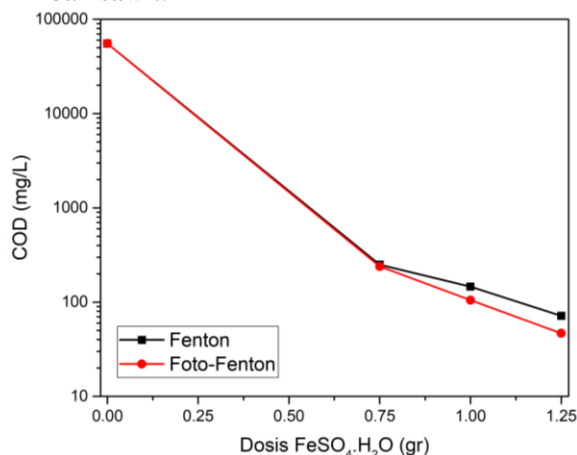
Karakterisasi Pengolahan POME

Pada Gambar 2 disajikan hasil pengukuran pH POME dengan mekanisme Fenton dan foto-Fenton. Tampak bahwa semakin tinggi dosis FeSO₄ yang diberikan maka semakin rendah nilai pH POME setelah perlakuan. Hal ini dikarenakan penambahan dosis FeSO₄ tentunya akan semakin menurunkan pH sebagai efek samping dari proses oksidasi. Selain itu, tampak bahwa kedua jenis metode pengolahan, yaitu Fenton dan Foto-Fenton menghasilkan perubahan pH yang tidak berbeda secara signifikan. Selisih keduanya hanya berada pada rentang 0,01 – 0,15.



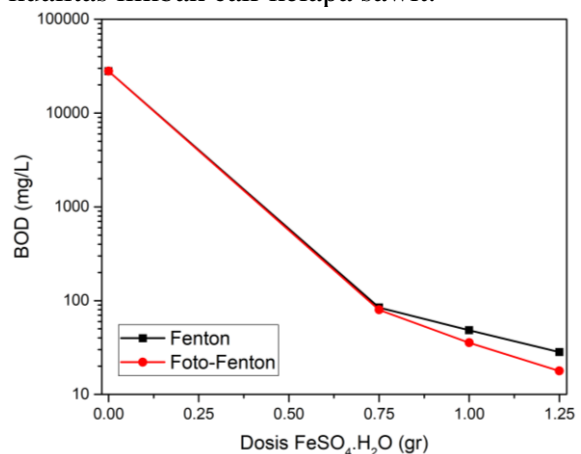
Gambar 2. Pengaruh Dosis FeSO₄.H₂O Terhadap pH Hasil Pengolahan POME

Gambar 3 menunjukkan hasil pengukuran COD dari POME setelah perlakuan Fenton. Mekanisme Fenton sangat efektif dalam menurunkan kadar COD pada POME. Awalnya kadar COD pada POME adalah 55.276 mg/L. Tingginya nilai parameter COD dari POME tersebut sesuai dengan berbagai penelitian lain yang menyatakan bahwa nilai COD POME berkisar dari 40.000 – 60.000 mg/L (Ramadhan *et al.*, 2020). Tampak bahwa perlakuan Fenton dan foto-Fenton berhasil menurunkan COD POME secara signifikan. Penurunan tersebut mencapai 99,91% dari kadar COD mula-mula yang terjadi pada pemberian $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ sebanyak 1,25 gram. Turunnya konsentrasi COD menandakan berkurangnya senyawa organik dalam limbah cair, karena pada dasarnya pengukuran COD bertujuan untuk melihat banyaknya oksigen yang diperlukan untuk mengoksidasi senyawa organik dalam air. Berdasarkan data yang diperoleh, diketahui bahwa perlakuan foto-Fenton lebih efektif daripada perlakuan Fenton dalam penurunan kadar COD POME. Hasil tersebut sesuai penelitian sebelumnya, yang menyatakan bahwa dengan adanya penerangan lampu UV akan meningkatkan efektivitas mekanisme Fenton dalam mendegradasi COD. Metode foto-Fenton dianggap lebih efektif karena proses generasi radikal hidroksil yang sangat reaktif dalam menghancurkan kimia organik (Gusa *et al.*, 2021). Selain itu, tampak dari kedua perlakuan bahwa penambahan dosis FeSO_4 yang semakin tinggi berbanding lurus dengan penurunan COD air limbah. Hal ini terjadi karena ion besi yang lebih banyak dapat menghasilkan radikal hidroksil yang lebih banyak pula. Dengan demikian, tingginya jumlah FeSO_4 sebagai katalis akan mempercepat degradasi polutan pada limbah cair industri limbah sawit.



Gambar 3. Pengaruh Dosis $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ Terhadap COD Hasil Pengolahan POME

Gambar 4 menyajikan kadar BOD pada POME. Nilai awal BOD dari POME dalam penelitian ini adalah 27.980 mg/L dan hal tersebut sesuai dengan penelitian Ramadhan *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa rentang BOD dari POME adalah 20.000 – 30.000 mg/L. Tampak bahwa perlakuan Fenton dan foto-Fenton secara efektif dapat menurunkan BOD dari POME. Setelah perlakuan tersebut nilai BOD dapat mengalami penurunan hingga 99,93%. Penurunan kadar BOD pada limbah cair industri kelapa sawit (POME) sebanding dengan penambahan dosis FeSO_4 . Selain itu, perlakuan foto-Fenton memiliki efek yang lebih baik dibandingkan dengan Fenton. Nilai penurunan BOD dari foto-Fenton secara umum lebih tinggi dibandingkan dengan Fenton. Dengan demikian, mekanisme Fenton dan foto-Fenton dapat mendegradasi bahan organik yang sulit terurai sehingga dapat memperbaiki kualitas limbah cair kelapa sawit.



Gambar 4. Pengaruh Dosis $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ Terhadap BOD Hasil Pengolahan POME

KESIMPULAN

Melalui perendaman dalam H_2SO_4 , FeSO_4 berhasil disintesis dari besi bekas. Mekanisme Fenton sangat efektif dalam pengolahan POME. Hal ini dikarenakan proses Fenton dapat menyisihkan COD mencapai 99,91%, sedangkan efisiensi penyisihan BOD mencapai 99,93%. Semakin banyak FeSO_4 yang ditambahkan ke dalam air limbah, semakin efektif perlakuan Fenton. Secara umum, perlakuan foto-Fenton lebih efektif dibandingkan dengan Fenton. Melalui komparasi dengan standar baku mutu

limbah dari industri minyak pada PERMENLH KEP 51-/MENLH/10/1995 maka dapat dinyatakan bahwa setelah dilakukan perlakuan Fenton dan foto-Fenton maka limbah POME telah memenuhi standar baku mutu..

SARAN

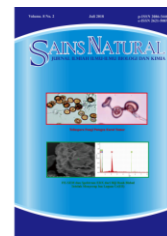
Sesuai dengan PERMENLH KEP 51-/MENLH/10/1995 Tentang limbah cair industri minyak sawit maka disarankan untuk menganalisis beberapa parameter lain seperti minyak dan lemak serta amonia total dari limbah kelapa sawit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih peneliti ucapkan kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi yang telah mendanai penelitian ini melalui Program Kreativitas Mahasiswa (PKM-RE) tahun 2021.

DAFTAR PUSTAKA

- Chandane, P., Ladke, J., Jori, C., Deshmukh, S., Zinjarde, S., Chakankar, M., ... & Jadhav, U. (2019). Synthesis of magnetic Fe₃O₄ nanoparticles from scrap iron and use of their peroxidase like activity for phenol detection. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(3), 103083.
- Chung, C. Y., Selvarajoo, A., Sethu, V., Koyande, A. K., Arputhan, A., & Lim, Z. C. (2018). Treatment of palm oil mill effluent (POME) by coagulation flocculation process using peanut-okra and wheat germ-okra. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 20(9), 1951-1970.
- Direktorat Jenderal Perkebunan [Ditjenbun]. (2019). *Statistik Perkebunan Indonesia Komoditas Kelapa Sawit 2017-2019*. Direktorat Jenderal Perkebunan.
- Ertosun, F. M., Cellat, K., Eren, O., Gül, Ş., Kuşvuran, E., & Şen, F. (2019). Comparison of nanoscale zero-valent iron, fenton, and photo-fenton processes for degradation of pesticide 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid in aqueous solution. *SN Applied Sciences*, 1(11), 1-6.
- Gusa, R. F., Sari, D. N., Afriani, F., Sunanda, W., & Tiandho, Y. (2021). Removing BOD, COD, and Decolorization of Batik Cual Wastewater Using Fenton Mechanism. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Fisika Al-Biruni*, 10(1), 139-148.
- Iskandar, M. J., Baharum, A., Anuar, F. H., & Othaman, R. (2018). Palm oil industry in South East Asia and the effluent treatment technology—A review. *Environmental technology & innovation*, 9, 169-185.
- Paramitadevi, Y. V. (2017). Technical problems of wastewater treatment plant in crude palm oil industry A case study in PT Socfin Indonesia-Kebun Sungai Liput, Nang groe Aceh Darussalam Province. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 65, No. 1, p. 012048). IOP Publishing.
- Ramadhan, M.B., Wardana, Kahar, A. (2020). Pengaruh pH terhadap COD, BOD, dan VFA pada pengolahan limbah cair pabrik kelapa sawit dalam bioreactor anaerobic. *Prosiding Seminar Nasional Kimia Berwawasan Lingkungan 2020*, 69-74.
- Saeed, M.O., Azizli, K.A.M., Isa, M.H., Ezechi, E.H. (2016). Treatment of POME using Fenton oxidation process: removal efficiency, optimization, and acidity condition. *Desalin. Water Treat.* 57 (50), 23750–23759.
- Sajjad, A. A., Teow, Y. H., & Hussain, A. W. M. (2018). Sustainable approach of recycling palm oil mill effluent (POME) using integrated biofilm/membrane filtration system for internal plant usage. *Jurnal Teknologi*, 80 (4).
- Said, M., Hasan, H.A., Tusirin, M., Nor, M., 2016. Removal of COD, TSS and colour from palm oil mill effluent (POME) using montmorillonite. *Desalin. Water Treat.* 3994, 1–8.
- Sitorus, Y. R., & Mardina, V. (2020). Karakteristik kimia dari pengolahan limbah cair kelapa sawit PTPN Y. *Jurnal Enviroment Science*, 4(2), 58-66.
- Suryawan, I. W. K., Septiariva, I. Y., & Sarwono, A. (2020). Energy Conversion of Industrial Wastewater on Microbial Fuel Cell (MFC)-Based with Biocatalysts and Pretreatments: A Review. *Indonesian Journal of Environmental Management and Sustainability*, 4(4), 102-109.



ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF Ag-HYDROXYAPATITE COMPOSITE OF BONE-IN TUNA (*Thunnus albacores*) AGAINST *Streptococcus mutans*

Hendri Faisal*, Rida Evalina Tarigan dan Julkardo Lase

Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi Dan Kesehatan, Institut Kesehatan Helvetia
Jl.Kapten Sumarsono No.107, Medan 21124, Indonesia.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 20 Jan 2022,

Revised 12 Apr 2022

Accepted 18 Apr 2022

Available online 30 Apr 2022

Keywords:

- ✓ Tuna (*Thunnus albacores*)
- ✓ Hydroxyapatite
- ✓ Argentum
- ✓ Antibacterial
- ✓ *Streptococcus mutans*

*corresponding author:

hendrifaisal@helvetia.ac.id

Phone: +62;

[https://doi.org/10.31938/jsn.v](https://doi.org/10.31938/jsn.v12i2.378)

[12i2.378](https://doi.org/10.31938/jsn.v12i2.378)

ABSTRACT

Calcium from fish bones have not been widely used for human needs. Calcium in the medical field is used as a hydroxyapatite compound, such as in the manufacture of bones and dentures, as an additive in the manufacture of toothpaste, and usage in drug delivery. This study aims to determine whether the Ag-Hydroxyapatite composite has an inhibitory capability against *Streptococcus mutans* bacteria. This research is an experimental study through laboratory testing by synthesizing Ag-Hydroxyapatite from tuna fish bones (*Thunnus albacores*) and testing its antibacterial activity against *Streptococcus mutans* bacteria. The results showed that the tuna fish bone samples formed hydroxyapatite compounds and the results of the Ag-Hydroxyapatite composite had antibacterial activity against *Streptococcus mutans* bacteria, the statistical test results showed a significant difference from the negative control group. Ag-hydroxyapatite composite has antibacterial activity against *Streptococcus mutans*

ABSTRAK

Uji Aktivitas Antibakteri Komposit Ag-Hidroksiapatit dari Tulang Ikan Tuna (*Thunnus albacores*) terhadap *Streptococcus mutans*

Kalsium dari tulang ikan, belum banyak dimanfaatkan untuk kebutuhan manusia. Kalsium dalam dunia medis dimanfaatkan menjadi senyawa Hidroksiapatit. seperti pada pembuatan tulang dan gigi palsu, sebagai bahan tambahan dalam pembuatan pasta gigi dan juga digunakan sebagai penghantar obat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah komposit Ag-Hidroksiapatit memiliki daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat eksperimental melalui pengujian laboratorium dengan mensintesis Ag-Hidroksiapatit dari tulang ikan tuna (*Thunnus albacores*) dan menguji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari sampel tulang ikan tuna terbentuk senyawa Hidroksiapatit dan hasil komposit Ag-Hidroksiapatit memiliki aktifitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans*, hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan signifikan terhadap kelompok kontrol negatif. Komposit Ag-hidroksiapatit memiliki aktifitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans*

Keywords: Tuna (*Thunnus albacores*), Hydroxyapatite, Argentum, Antibacterial, *Streptococcus mutans*

PENDAHULUAN

Bentuk limbah dalam industri pengolahan ikan salah satunya adalah tulang ikan, yang memiliki kandungan kalsium tertinggi diantara bagian tubuh ikan lainnya. Unsur utama dari tulang ikan adalah kalsium, fosfor dan karbonat (Trilaksani *et al.*, 2006). Tulang ikan memiliki kandungan 60-70% mineral dengan didominasi senyawa kalsium dan fosfor sedikit kandungan

Mg, Fe, Zn, dan Cu, sedangkan 30% nya adalah protein kolagen. Pemanfaatan kalsium menjadi senyawa Hidroksiapatit, yang merupakan salah satu biomaterial, digunakan untuk pembuatan tulang dan gigi palsu, sebagai bahan tambahan dalam pembuatan pasta gigi, serta digunakan sebagai penghantar obat (Muliati, 2016), memperbaiki bagian tulang dan gigi yang sakit (Handayani *et al.*, 2017) Hidroksiapatit ini bersifat biokompatibel yaitu, memiliki



kemampuan yang dapat beradaptasi dengan jaringan tubuh manusia dan dapat ditanamkan (diimplan) tanpa membahayakan tubuh itu sendiri (Muliati, 2016), (Pandelaki & Aritonang, 2018).

Karies gigi merupakan salah satu penyakit gigi, yang biasanya disebabkan oleh adanya plak gigi. Plak gigi umumnya berupa lengketan yang berisi bakteri dan produk yang terbentuk pada permukaan gigi. Pembentukan plak gigi oleh bakteri yang memiliki kemampuan membentuk polisakarida ekstraseluler, Bakteri *Streptococcus mutans* merupakan jenis Streptococcus yang ditemukan dalam jumlah besar pada plak penderita karies gigi, yang menempel pada permukaan gigi (Handayani *et al.*, 2017).

Pertumbuhan bakteri *S. mutans* dapat dihambat oleh Ag^+ (perak) merupakan unsur yang banyak digunakan pada perawatan luka, dan berbagai produk rumah tangga karena bersifat antibakteri. (Purnamasari, 2016). Kombinasi perak dengan mikroorganisme atau unsur lain yang memiliki efek terhadap pertumbuhan bakteri akan lebih mematenkan daripada penggunaan perak berbasis konvensional (Loher *et al.*, 2008).

Komposit Ag-ikan cod terbukti sebagai antibakteri dan meningkatkan penyembuhan pada tulang (Piccirillo *et al.*, 2015). Penggunaan komposit Ag- tulang ikan cakalang terbukti sebagai antibakteri (Pandelaki & Aritonang, 2018).

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Tulang ikan tuna dengan bakteri uji *Streptococcus mutans*, tablet Ciprofloxacin 500 mg, Nutrient Agar (NA), NaCl 0,9%, $AgNO_3$, phosphate buffer saline (PBS), Aquadest dan larutan standar McFarland. Alat-alat yang digunakan, Spektrofotometer FTIR (Shimadzu), Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), Oven, Magnetik Stirer, Autoklaf.

Metode

Preparasi Sampel

Tulang ikan dibersihkan dari kotoran yang menempel dan dicuci dengan air mengalir hingga bersih kemudian tulang ikan direbus pada suhu $80^\circ C$ selama 30 menit. Tulang ikan dipotong kecil-kecil, dan dipresto selama 2 jam, kemudian tulang ikan direndam dalam 2000 ml NaOH 3 M selama 30 menit. Perendaman dilakukan pada temperatur $121^\circ C$. Sampel dinetralkan

menggunakan akuades hingga mencapai pH 7, selanjutnya tulang ikan dikeringkan menggunakan oven selama 24 jam pada suhu $80^\circ C$. Tulang ikan yang telah kering ditumbuk kemudian diblender dan digerus hingga halus (Anisah *et al.*, 2018; Kusumaningrum *et al.*, 2016).

Sintesis Ag-Hidroksiapatit Dari Tulang Ikan Tuna

Tepung tulang ikan dalam larutan $AgNO_3$ dengan perbandingan molar Perak dan HAp yang digunakan adalah 5:1 ; 4:2 ; dan 3:3. Larutan dengan tulang ikan diaduk dengan magnetik stirer selama 1 jam dengan suhu $70^\circ C$. Selanjutnya campuran larutan tersebut dikalsinasi selama 2 jam dengan suhu $650^\circ C$ (Pandelaki & Aritonang, 2018)

Analisis Fourier Transform InfraRed (FTIR)

a. Pembuatan back ground

Kuvet sampel (lubang yang kecil) diisi dengan pellet KBr, diletakan pada tempat sampel alat FTIR sehingga kuvet dapat terkena sinar lampu IR, ditutup kembali. Kolom file name pada software diisi, lalu diklik icon BKG dan ditunggu hingga selesai.

b. Preparasi sampel

Dicampurkan hidroksiapatit yang akan diukur dengan serbuk KBr dengan perbandingan 1:50, dan digerus homogen. Setelah homogen, dimasukan sampel tersebut pada kuvet hingga penuh, dipadatkan dengan spatula. Dimasukan kuvet hidroksiapatit pada alat FTIR, dan ditutup kembali.

Sterilisasi

Sterilisasi alat dilakukan dengan metode yang dikembangkan oleh Pandelaki & Aritonang, (2018)

Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Sediaan obat tablet Ciprofloxacin 500 mg (kontrol positif) digerus, Pembuatan stok awal Ciprofloxacin 1 mg/ml setara dengan konsentrasi $1000 \mu g/ml$ (Ekakristi *et al.*, 2020). Tablet Ciprofloxacin 500 mg dilarutkan dalam 100 ml aquades untuk memperoleh konsentrasi $5000 \mu g/ml$. Larutan Ciprofloxacin $5000 \mu g/ml$ dipipet 2 mL ditambahkan akuades sampai 100 ml untuk menjadi $100 \mu g/ml$.

Pembuatan Larutan Uji

Komposit HAp – Ag yang dilarutkan distirrer selama 1 jam dengan perbandingan 5:1 ; 4:2 ; dan 3:3 (A1, A2 dan A3), larutan uji HAp dibuat dengan melarutkan 1 g tepung tulang ikan tuna dengan 2 ml PBS (Pandelaki & Aritonang, 2018).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri uji yang telah diinokulasi, disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 10 ml larutan NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan McFarland yang diukur secara Spektrofotometri UV-Vis (Pandelaki & Aritonang, 2018).

Pembuatan Media Nutrient Agar dilakukan dengan metode yang dikembangkan oleh Novita (2019).

Uji Zona Hambat

Uji daya hambat dengan metode difusi menggunakan kertas cakram, masing-masing 0,1 ml suspensi bakteri uji dimasukkan ke cawan petri steril, 30 ml media NA dihomogenkan dan didinginkan hingga mengeras. Tujuh buah kertas cakram dicelupkan ke dalam larutan uji (A1, A2, dan A3), larutan uji Hidroksiapatit, larutan PBS (kontrol negatif), larutan Ciprofloxacin (kontrol positif), dan larutan AgNO₃. Setelah itu diletakkan di atas permukaan media agar secara hati-hati menggunakan pinset dan ditandai setiap letak konsentrasi. Inkubasi dalam inkubator dengan suhu 37 °C selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong. (Novita, 2019).

Teknik Analisa Data

Data yang diperoleh diuji statistik dengan *Analysis of varian* (ANOVA).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persiapan Sampel

Sampel tulang ikan tuna (*Thunnus albacores*) diperoleh dari salah satu pabrik pengolahan ikan tuna yang terletak di Kawasan Industri Medan. Proses perebusan yang bertujuan mempermudah membersihkan tulang ikan dari sisa daging, darah dan lemak yang menempel pada tulang ikan (Kusumaningrum *et al.*, 2016). Perendaman di dalam larutan NaOH 3 M bertujuan untuk mendeproteinisasi atau menghilangkan protein

yang terdapat pada tulang ikan tuna. (Anisah *et al.*, 2018).

Selanjutnya pH dinetralkan menggunakan akuades sebanyak 11-13 kali penetralan hingga mencapai pH 7. Setelah dikeringkan di dalam oven pada temperatur 80°C selama 24 jam, sampel yang dihasilkan sebanyak 177 g dengan rendemen 8,85 %.

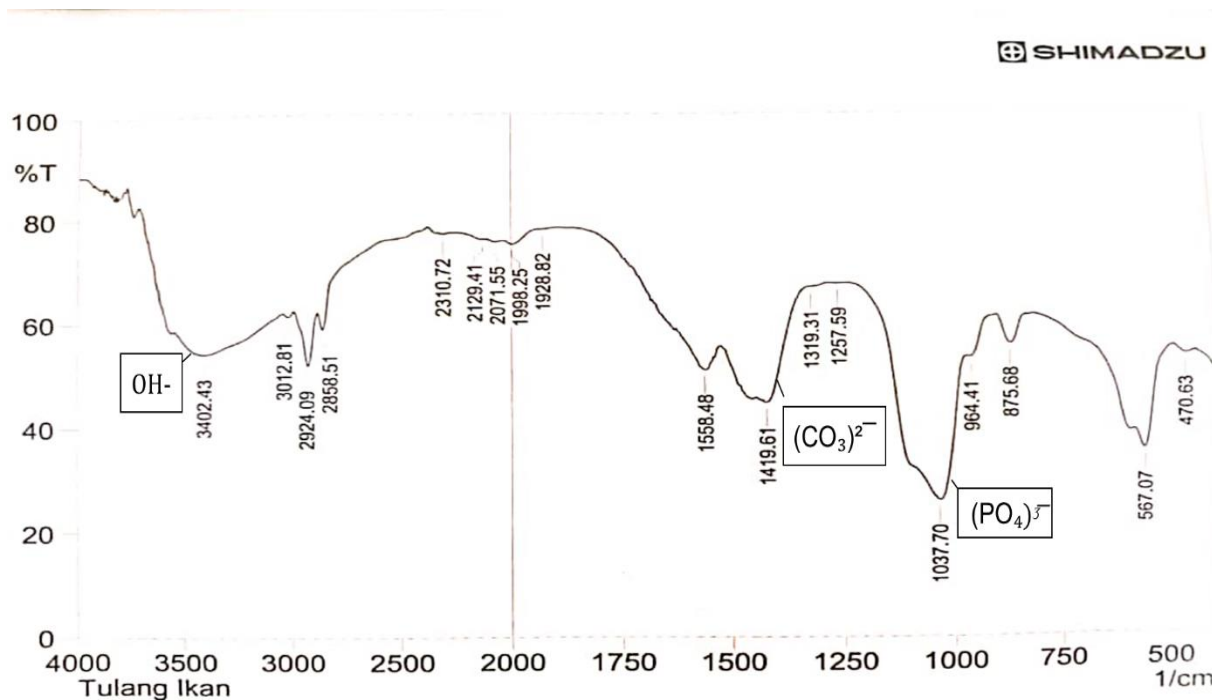
Sintesis Ag-Hidroksiapatit

Sintesis Ag-Hidroksiapatit dengan perbandingan jumlah perak nitrat dan serbuk Hidroksiapatit, dengan variasi komposisinya 5:1 ; 4:2 ; 3:3, dengan perbandingan jumlah 25 ml AgNO₃:5 g HAp ; 20 ml AgNO₃:10 g HAp ; 15 ml AgNO₃:15 g HAp. Sintesis dilakukan dengan cara menstirer masing-masing komposit Ag-Hidroksiapatit selama 1 jam pada temperatur 70°C dengan kecepatan 200 rpm dengan tujuan agar larutan AgNO₃ dan Hidroksiapatit dapat tercampur dengan baik sehingga mengoptimalkan efek antibakterinya (Pandelaki & Aritonang, 2018; Stanić *et al.*, 2011).

Berdasarkan penelitian, (Khoirudin, 2015) dikalsinasi selama 2 jam pada temperatur 650°C, dengan tujuan mendekomposisi kalsium karbonat (CaCO₃) menjadi kalsium oksida (CaO) dan menghilangkan senyawa organik lainnya. Kalsinasi ini, akan mereduksi kalsium karbonat dan mengoptimalkan pembentukan kristal Hidroksiapatit yang disintesis oleh larutan AgNO₃, yang mana larutan AgNO₃ akan bertindak sebagai kisi atau dopan terhadap Hidroksiapatit.

Analisis Fourier Transform Infrared (FTIR)

Spektrum yang dihasilkan oleh FTIR berupa pita-pita serapan pada bilangan gelombang (cm⁻¹) tertentu, dari sampel komposit Ag-Hidroksiapatit dapat dilihat pada Gambar 1. Pada Gambar 1, bilangan gelombang 2310,72 ; 2129,41 ; 2071,55 ; 1998,25 ; 1928,82 ; 1558,48 ; 1419,61 ; 1319,31 terdapat gugus fungsi karbonat (CO₃)²⁻, ini menunjukkan bahwa pada sampel tulang ikan tuna terdapat gugus fungsi karbonat yang intensitas serapan spektrum tertinggi pada bilangan gelombang 1419.61. Pada bilangan gelombang 1037,7 ; 964,41 ; 875,68 ; 567,07 ; 470,63 terdapat gugus fungsi fosfat dimana intensitas serapan spektrum tertinggi pada bilangan gelombang 1037,7 dan pada bilangan gelombang 3402,43 ; 3012,81 terdapat gugus fungsi hidroksil (OH) dengan intensitas serapan spektrum tertinggi pada bilangan gelombang 3402,43.



Gambar 1. Hasil Spektrum FTIR Komposit Ag-Hidroksiapatit

Hasil analisis FTIR terlihat jelas bahwa terbentuknya gugus fungsi Hidroksiapatit dari tulang ikan tuna (*Thunnus albacores*).

Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri komposit Ag-Hidroksiapatit dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* menggunakan metode difusi cakram, dapat dilihat pada Tabel 1. PBS sebagai kontrol negatif, menunjukkan tidak adanya zona hambat. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Pandelaki & Aritonang, (2018), menandakan bahwa kontrol negatif (akuades) yang digunakan tidak mempengaruhi uji antibakteri

Kontrol positif atau pembanding yang digunakan adalah Ciprofloxacin. Ciprofloxacin merupakan suatu antibakteri sintetik golongan fluorkuinolon yang memiliki spektrum kerja lebih luas. Ciprofloxacin bekerja dengan menghambat dua enzim bakteri (*topo-isomerase*), yaitu DNA-gyrase dan *topo-isomerase IV* (Tjay & Raharja, 2015).

Menurut Davis & Stous (1971), kriteria kekuatan daya hambat bakteri dikategorikan sebagai berikut: diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5 – 10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10 – 20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat.

Tabel 1. Hasil Uji Antibakteri Komposit Ag-Hidroksiapatit Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*.

| Kelompok | Diameter Zona Hambat (mm) | | | Rata-rata |
|-------------------|---------------------------|------|------|-----------|
| | 1 | 2 | 3 | |
| Kontrol (-) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Kontrol (+) | 19,5 | 19,5 | 26,4 | 21,8 |
| AgNO ₃ | 18,7 | 13,4 | 12,2 | 14,77 |
| HAp | 12,9 | 11,0 | 8,9 | 10,93 |
| A1 | 16,2 | 11,4 | 14,2 | 13,93 |
| A2 | 17,1 | 14,3 | 18,1 | 16,5 |
| A3 | 7,8 | 7,3 | 7,7 | 7,6 |

Keterangan : Kontrol (-) = Larutan PBS
 Kontrol (+) = Ciprofloxacin
 HAp = Hidroksiapatit
 A1 = Perbandingan Ag-HAp 5 : 1
 A2 = Perbandingan Ag-HAp 4 : 2
 A3 = Perbandingan Ag-HAp 3 : 3

Sampel komposit Ag-Hidroksiapatit dengan komposisi 5:1 ; 4:2 ; 3:3 memiliki zona hambat terhadap bakteri *S. mutans*. Diameter zona hambat semakin besar maka semakin kuat daya antibakteri dari sampel yang digunakan. Rata-rata hasil pengukuran diameter zona hambat komposit Ag-Hidroksiapatit terhadap bakteri *S. mutans* yaitu: 5:1 (13,93), 4:2 (16,5), dan 3:3 (7,6). Berdasarkan kriteria Davis & Stous (1971), maka pada komposit Ag-Hidroksiapatit perbandingan 4:2 yang paling efektif untuk menghambat bakteri *S. mutans*, komposit tersebut termasuk dalam daya antibakterinya kategori kuat. Pada hasil penelitian ini, dengan lama pencampuran 1 jam aktivitas antibakteri komposit Ag-Hidroksiapatit dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* sangat baik.

Hasil rata-rata pengukuran diameter zona hambat Larutan AgNO₃ terhadap *S. mutans*, sebesar 14,77 termasuk kategori kuat. Serbuk Hidroksiapatit yang terbentuk dari tulang ikan tuna yang dilarutkan dengan larutan PBS diperoleh hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambatnya 10,93 dikategorikan kuat. Menurut kriteria David & Stout, (1971), hal ini menunjukkan bahwa larutan AgNO₃ dan serbuk Hidroksiapatit memiliki daya antibakteri terhadap bakteri *S. mutans*. Argentum bertindak sebagai antibakteri dengan menjadi dopan Hidroksiapatit, dimana Ag akan hadir sebagai Ag₃PO₄ yang mana bakteri akan menyerap fosfat sebagai makanan dan kemudian akan hancur dan melepaskan ion Ag yang menghentikan pengikatan DNA dan menghambat replikasi. Sedangkan Hidroksiapatit bertindak sebagai antibakteri, yang mana gugus fungsi Hidroksiapatit kalsium oksida (CaO) yang telah terdekomposisi dari kalsium karbonat (CaCO₃) terbukti sebagai antibakteri sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Astuti (2019) mengemukakan bahwa CaO memiliki aktivitas antibakteri.

Pengaruh Komposit Ag-Hidroksiapatit Terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri *Streptococcus mutans*

Berdasarkan data yang diperoleh dan diolah secara statistika dengan metode *One Way ANOVA* rata-rata zona hambat kelompok uji terdapat perbedaan diameter zona hambat seperti terlihat dalam Tabel 2 berikut ini :

Tabel 2. Perbedaan Rata-rata Zona Hambat Secara Statistika

| Kelompok Uji | Rata-rata(mm) |
|----------------------|---------------|
| Kontrol negatif | 0,000 |
| Kontrol positif | 21,800±3,98 |
| HAp (Hidroksiapatit) | 10,933±2,00 |
| AgNO ₃ | 14,767±3,46 |
| A1 | 13,933±2,41 |
| A2 | 16,500±1,97 |
| A3 | 7,600±0,26 |

Berdasarkan hasil uji ANOVA yang dapat dilihat pada Tabel 3 diketahui nilai $F_{hitung} = 24,55 > \text{Nilai } F_{tabel} = 2,85$ ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dari tiap-tiap konsentrasi uji.

Berdasarkan hasil uji lanjut *post hoc* secara Turkey HSD yang dapat dilihat pada Tabel 4, dapat disimpulkan, bahwa dengan jumlah perbandingan komposit yang berbeda terdapat perbedaan pengaruh komposit Ag-Hidroksiapatit terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* dimana diameter zona hambat tertinggi adalah kontrol positif dengan diameter zona hambat sebesar 21,80 mm dan campuran Ag-Hidroksiapatit dengan perbandingan 4:2 (komposit A2) dengan diameter zona hambat sebesar 16,50 mm.

Tabel 3. Hasil Uji Anova Rata-rata Zona Hambat Komposit Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 875,532 | 6 | 145,922 | 24,554 | .000 |
| Within Groups | 83,200 | 14 | 5,943 | | |
| Total | 958,732 | 20 | | | |

Tabel 4. Hasil Uji Turkey HSD Pengaruh Komposit Ag-Hidroksiapatit Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*

| Kelompok | N | Subset for alpha = 0.05 | | | |
|-------------------|---|-------------------------|--------|--------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Kontrol Negatif | 3 | 0,000 | | | |
| A3 | 3 | | 7,600 | | |
| Hap | 3 | | 10,933 | 10,933 | |
| A1 | 3 | | 13,933 | 13,933 | |
| AgNO ₃ | 3 | | | 14,767 | |
| A2 | 3 | | | 16,500 | 16,500 |
| Kontrol Positif | 3 | | | | 21,800 |
| Sig. | | 1,000 | 0,075 | 0,145 | ,179 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

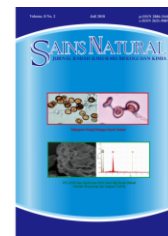
KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa komposit Ag-Hidroksiapatit memiliki aktifitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anisah, A., Delina, M., Aisah, N., & Gustiono, D. (2018). Pembuatan Graft Tulang Dengan Proses Ekstraksi Senyawa Hidroksiapatit dari Tulang Korteks Sapi. *Spektra: Jurnal Fisika Dan Aplikasinya*, 3(1), 31–36. JOUR.
- Astuti, D. S. (2019). Pembuatan Nanosuspensi Kalsium Oksida (CaO) Dari Cangkang Telur Ayam (*Gallus gallus domesticus*) Sebagai Antibakteri Menggunakan Penstabil Crboxyl Methyl Cellulose (CMC) Dengan Metode Sonikasi. *Repository.bku.ac.id*. JOUR.
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay: I. Factors influencing variability and error. *Applied Microbiology*, 22(4), 659–665. JOUR.
- Ekakristi, M. N., Erwiyani, A. R., & Furdianti, N. H. (2020). Perbandingan Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Kasar Dan Ekstrak Terpurifikasi Daging Buah Labu Kuning (*Cucurbita maxima* D.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *repository2.unw.ac.id*.
- Handayani, F., Sundu, R., & Sari, R. M. (2017). Formulasi dan Uji Aktivitas antibakteri *Streptococcus mutans* dari Sediaan Mouthwash Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Sains Dan Kesehatan Unmul*, 1(8), 422–433.
- Hardiyanti, H. (2016). Sintesis dan karakterisasi hidroksiapatit dari limbah tulang ikan Tuna (*thunnus albacores*) dengan metode Hidrotermal. DISS, UIN Alauddin Makassar.
- Khoirudin, M. (2015). Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit (HAp) dari Kulit Kerang Darah (Anadara Granosa) dengan Proses Hidrotermal. DISS, Riau University.
- Kim, J. S., Kuk, E., Yu, K. N., Kim, J. H., Park, S. J., Lee, H. J., ... Hwang, C. Y. (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 3(1), 95. JOUR.
- Kusumaningrum, I., Sutono, D., & Pamungkas, B. F. (2016). Pemanfaatan tulang ikan belida sebagai tepung sumber kalsium dengan metode alkali. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 19(2), 148–155. JOUR.
- Loher, S., Schneider, O. D., Maienfisch, T., Bokorny, S., & Stark, W. J. (2008). Micro-organism-triggered release of silver nanoparticles from biodegradable oxide carriers allows preparation of self-sterilizing polymer surfaces. *Nano Micro Small Wiley Online Library*, 4(6), 824–832. JOUR.

- Muliati, M. (2016). Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit dari Tulang Ikan Tuna (*Thunnus sp*) dengan Metode Sol-Gel. DISS, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Novita, R. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pagoda (*Clerodendrum paniculatum L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* Dan *Staphylococcus epidermidis*. DISS, INSTITUT KESEHATAN HELVETIA.
- Pandelaki, E. C. J., & Aritonang, H. F. (2018). Aktivitas Antibakteri Komposit Ag-Tulang Ikan Cakalang pada *Staphylococcus aureus*. *Jurnal MIPA*, 7(2), 29–32. JOUR.
- Piccirillo, C., Pinto, R. A., Tobaldi, D. M., Pullar, R. C., Labrincha, J. A., Pintado, M. M. E., & Castro, P. M. L. (2015). Light induced antibacterial activity and photocatalytic properties of Ag₃PO₄ -based material of marine origin. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 296, 40–47. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2014.09.012>
- Purnamasari, M. D. (2016). Sintesis Antibakteri Nanopartikel Perak Menggunakan Bioreduktor Ekstrak Daun Sirih Dengan Irradiasi Microwave. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 5(2).
- Stanić, V., Janačković, D., Dimitrijević, S., Tanasković, S. B., Mitrić, M., Pavlović, M. S., ... Raičević, S. (2011). Synthesis of antimicrobial monophasic silver-doped hydroxyapatite nanopowders for bone tissue engineering. *Applied Surface Science*, 257(9), 4510–4518. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2010.12.113>
- Tjay, T. H., & Raharja, K. (2015). *Obat-Obat Penting, Edisi Ketujuh*. BOOK, Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Trilaksani, W., Salamah, E., & Nabil, M. (2006). Pemanfaatan Limbah Tulang Ikan Tuna (*Thunnus Sp.*) sebagai Sumber Kalsium dengan Metode Hidrolisis Protein. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 9(2), 34–45. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v9i2.983>



GALANGAL RHIZOME (*Alpinia galanga* (L.) Willd) ESSENTIAL OIL AS A NATURAL PRESERVATIVE OF CHICKEN FILLETS

Rr Pramitha Ika Putri Ayuningtyas, Nia Yuliani*, dan Srikandi
Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Nusa Bangsa Bogor
Jl. K.H. Sholeh Iskandar Km. 4 Cimanggu Tanah Sareal, Bogor 16166

ARTICLE INFO

Article history:

Received 29 Sep 2021,

Revised 28 Mar 2022

Accepted 24 Apr 2022

Available online 30 Apr 2022

Keywords:

- ✓ chicken fillet
- ✓ essential oil galangal rhizome
- ✓ storage time
- ✓ *E.coli*
- ✓ *S aureus*

*corresponding author:

niayuliani0412@gmail.com

Phone: +62; 08121115731

<https://doi.org/10.31938/jsn.v12i2.342>

ABSTRACT

Cold storage and the addition of preservatives are ways of preserving fillet products to maintain their quality. The addition of preservatives to fillet products can be in the form of synthetic or natural ingredients. Galangal rhizome contains essential oils that are active as antifungal and antibacterial. This study aimed to know the concentration of essential oils and effective storage time in maintaining the quality of the broiler chicken fillet. The method used is a laboratory experiment, using the concentration of red galangal essential oil (0; 0.5; 1; 1.5%), storage time (0, 8, 12, 16 days), repeated three times and treatment negative control. Microbiological analysis was carried out based on SNI 3924:2009, including *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella sp* tests. The results showed that 1.5% volatile oil concentration with a storage time of 8 days was the most effective in maintaining the quality of chicken fillet with a total plate count (TPC) of 9×10^5 cfu/g. The number of *Escherichia coli* bacteria is 0×10^4 kol/g, *Salmonella sp* bacteria is negative per 25 grams, the water content is 72.03%, and the pH value is 6.31. The concentration of 1.5% essential oil with a storage time of 16 days obtained the number of *Staphylococcus aureus* bacteria as much as 100 cfu/g. This result does not exceed the maximum limit of SNI 3924:2009, which is 1×10^2 cfu/g. The highest organoleptic value of appearance and taste was found in adding 1% galangal essential oil and a storage time of 0 days. For the odour, the highest value was found in adding 0.5% galangal essential oil and a storage time of 12 days.

ABSTRAK

Minyak Atsiri Lengkuas (*Alpinia galanga* (L.) Willd) sebagai Pengawet Alami Daging Ayam

Penyimpanan suhu dingin dan penambahan pengawet merupakan salah satu cara pengawetan produk *fillet* untuk mempertahankan mutunya. Penambahan bahan pengawet pada produk *fillet* dapat berupa bahan sintetis atau bahan alami. Rimpang lengkuas diketahui memiliki kandungan minyak atsiri lengkuas yang bersifat aktif sebagai antijamur dan antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi minyak atsiri lengkuas dan waktu penyimpanan yang efektif dalam mempertahankan *fillet* daging ayam ras. Metode yang digunakan adalah eksperimen laboratorium, dengan menggunakan konsentrasi minyak atsiri lengkuas (0; 0,5; 1; 1,5%), lama penyimpanan (0, 8, 12, 16 hari), diulang 3 kali dan perlakuan kontrol negatif. Analisis mikrobiologi dilakukan berdasarkan SNI 3924:2009, meliputi uji *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella sp*. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi minyak atsiri lengkuas 1,5% dengan waktu penyimpanan 8 hari merupakan yang paling efektif dalam mempertahankan kualitas *fillet* ayam dengan nilai total plate count (TPC) sebesar 9×10^5 cfu/g. Jumlah bakteri *Escherichia coli* yaitu 0×10^4 kol/g, bakteri *Salmonella sp* yaitu negatif per 25 gram, kadar air yaitu 72,03%, serta nilai pH sebesar 6,31. Konsentrasi minyak atsiri lengkuas 1,5% dengan waktu penyimpanan 16 hari didapatkan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 100 cfu/g, hasil ini tidak melebihi batas maksimum SNI 3924:2009 yaitu 1×10^2 cfu/g. Nilai organoleptik kenampakan dan rasa paling tinggi terdapat pada penambahan minyak atsiri lengkuas 1% dan waktu penyimpanan 0 hari, sedangkan untuk aroma nilai paling tinggi terdapat pada penambahan minyak atsiri lengkuas 0,5% dan waktu penyimpanan 12 hari.

Kata Kunci: filet ayam, minyak atsiri lengkuas, waktu penyimpanan, *E.coli*, *S. aureus*



PENDAHULUAN

Sumber pangan yang berasal dari hewan yang memiliki nilai gizi yang cukup tinggi dengan kandungan protein dan energi diantaranya adalah daging ayam. Bertambahnya jumlah penduduk dan tingkat pendapatan serta perkembangan bidang usaha lain yang menunjang peternakan ayam ras pedaging seperti dibukanya tempat-tempat makan, swalayan serta kesadaran masyarakat akan perlunya gizi, maka permintaan pangan dari hewan juga menjadi tinggi (Nuryati *et al.*, 2015). Daging ayam broiler atau daging ayam ras merupakan pangan yang mengandung sumber protein hewani yang berkualitas tinggi karena terdapat kandungan asam amino esensial yang lengkap, lemak, vitamin dan mineral serta zat lainnya yang penting dibutuhkan oleh tubuh (Wowor *et al.*, 2014). Kualitas daging ayam untuk bisa diterima oleh konsumen meliputi kualitas fisik, kimia dan biologi. Saat ini daging ayam ras dapat disajikan dalam bentuk *fillet*.

Fillet adalah suatu produk olahan dengan cara disayat, dibuang kulitnya, dicuci dan disimpan dalam keadaan segar, bersifat mudah rusak sehingga diperlukan penanganan yang khusus untuk menjaga permasalahan mutu dan keamanan produknya. Kerusakan pada *fillet* dapat disebabkan oleh adanya aktivitas enzim tertentu, serta adanya aktivitas mikroorganisme akibat kondisi lingkungan yang memungkinkan sebagai tempat pertumbuhan mikroba pembusuk. Salah satu cara agar mutu *fillet* dapat dipertahankan yaitu dengan cara pengawetan. Pengawetan yang biasanya dilakukan antara lain dengan cara disimpan pada suhu dingin. Cara yang lainnya yaitu menghambat pertumbuhan mikroba dengan memberikan perlakuan variasi antara penyimpanan suhu rendah dan penambahan bahan pengawet (Anggraeni *et al.*, 2017)

Penambahan pengawet pada produk *fillet* dapat berupa bahan sintetis atau bahan alami. Bahan tambahan pada pangan yang telah diizinkan dan dilarang dalam pangan sudah diatur dalam Peraturan Menteri Kesehatan RI No.033 Tahun 2012, tetapi praktik penyalahgunaan bahan yang dilarang dalam pangan hingga saat ini masih banyak terjadi. Bahan sintetis berbahaya yang sering digunakan diantaranya formalin, penyalahgunaan bahan yang dilarang dalam pangan dapat berdampak bagi kesehatan. Bahan tambahan ini sering digunakan pada bahan makanan yang berasal dari bahan organik yang bersifat mudah diuraikan dan dirusak oleh mikroba. Salah satu cara untuk meningkatkan daya simpan

(menghambat pertumbuhan mikroba) adalah dengan menambahkan bahan pengawet (Widati & Suranto, 2006). Pengawet alami saat ini terus dikembangkan, salah satu diantaranya adalah rempah-rempah yaitu lengkuas (*Alpinia galanga* (L.) Willd). Minyak atsiri yang terkandung dalam rimpang lengkuas diketahui bersifat aktif sebagai antijamur dan antibakteri. Selain kandungan minyak atsiri, lengkuas juga mengandung saponin, tanin serta senyawa flavonoid (Azzahra *et al.*, 2013). Minyak atsiri lengkuas memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan pengawet karena mempunyai daya aktivitas antimikroba, diantaranya terhadap bakteri patogen dan perusak pangan lainnya (Senoaji *et al.*, 2017). Hal ini menyebabkan minyak atsiri lengkuas sangat berpotensi digunakan sebagai bahan pengawet alami.

Daya simpan makanan dapat diperpanjang dengan penambahan bahan pengawet alami yang bersifat bakteriostatik dan bakteriosid. Bahan alam yang banyak mengandung minyak atsiri dan senyawa metabolit sekunder lain diyakini mempunyai aktivitas antimikroba. Hal tersebut dibuktikan dengan penelitian Utami *et al.* (2012) yaitu dengan perlakuan ditambahkan minyak atsiri lengkuas 1% dan disimpan selama 8 hari mampu mempertahankan jumlah *total plate count* (TPC) sebesar $5,50 \times 10^5$ cfu/g dengan pH sebesar 6,77. Tujuan penelitian ini adalah mempelajari kemungkinan pemanfaatan minyak atsiri rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* (L.) Willd) dengan variasi konsentrasi 0; 0,5; 1; 1,5%) sebagai pengawet alami dan lama penyimpanan 0, 8, 12, 16 hari pada *fillet* daging ayam ras.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah rimpang lengkuas berusia 8 bulan yang diperoleh dari Desa Sukadamai Kecamatan Sukamur, Bogor, Jawa Barat, daging ayam ras yang diperoleh dari Pasar Kelapa Dua Kabupaten Tangerang, Na_2SO_4 anhidrat, bakteri *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), serta *Salmonella* sp (ATCC 14028), media NA, larutan *Buffered Peptone Water* (BPW) 0,1%, larutan penyangga pH 7, media *Plate Count Agar* (PCA), media *Baird Parker Agar* (BPA), media *salmonella chromogenic agar*. Alat destilasi sederhana, pisau, kulkas, oven (Heraeus), pH meter (Mettler Toledo).

Metode

Metode yang digunakan adalah eksperimen laboratorium dengan menggunakan konsentrasi minyak atsiri lengkuas (0; 0,5; 1; 1,5%) dan lama penyimpanan (0; 8; 12; 16 hari) dengan pengulangan sebanyak 3 kali dan perlakuan kontrol negatif.

Pembuatan Fillet Ayam

Daging ayam bagian dada dicuci menggunakan air bersih dengan tujuan menghilangkan kontaminan yang menempel seperti darah dan bulu. Daging ayam dipotong menjadi beberapa bagian dan ditimbang sebanyak 200 gram *fillet* ayam untuk tiap perlakuan dan selama penyimpanan (0, 8, 12, dan 16 hari).

Pembuatan Minyak Atsiri Rimpang Lengkuas (Azzahra et al, 2013)

Rimpang lengkuas disortasi basah, dilakukan pencucian dan penirisan. Selanjutnya dilakukan perajangan dan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C. Rimpang yang telah kering ditimbang terlebih dahulu sebanyak 1000 gram, dan dimasukkan ke dalam alat destilasi. Setelah proses destilasi, pemurnian minyak atsiri lengkuas dilakukan dengan menambahkan Na₂SO₄ anhidrat untuk memisahkan minyak atsiri lengkuas yang masih bercampur dengan air. Minyak atsiri lengkuas yang sudah diperoleh disimpan dalam botol vial pada suhu penyimpanan 4°C. Minyak atsiri lengkuas hasil penyulingan (100%) dilarutkan dengan akuades steril untuk memperoleh variasi konsentrasi yaitu 0,5, 1, dan 1,5%, agar minyak atsiri lengkuas larut sempurna dalam akuades maka ditambahkan etanol 0,5% sebanyak 5ul.

Peremajaan Bakteri Uji dan Pembuatan Suspensi bakteri (Lely et al., 2017)

Biakan bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, serta *Salmonella* sp masing-masing diremajakan, diinokulasikan ke dalam media NA miring. Biakan bakteri diinkubasi dengan menggunakan suhu 35° - 37°C selama 24 jam. Bakteri yang telah diremajakan diinokulasikan menggunakan jarum ose, selanjutnya disuspensikan ke dalam 9 ml larutan BPW 0,1%, dan dihomogenkan.

Aplikasi Penambahan Minyak atsiri lengkuas Pada Fillet Ayam

Minyak atsiri dari rimpang lengkuas (0; 0,5; 1; 1,5%) diaplikasikan pada *fillet* daging ayam ras yang dilakukan dengan cara mencelupkan *fillet* ke

dalam masing-masing konsentrasi larutan minyak atsiri, selama 60 detik. Setelah itu, *fillet* yang telah dicelup diletakkan dalam plastik dan ditandai dengan memberi label. *Fillet* yang telah siap dan disimpan dalam kulkas dengan suhu 4°C selama waktu yang telah ditentukan untuk pengujian yaitu hari ke 0, 8, 12, dan 16 hari.

Pengujian Kadar Air Fillet Ayam (Badan Standardisasi Nasional, 2006)

Cawan kosong dipanaskan di dalam oven pada suhu 105°C selama 2 jam, dan dilakukan pendinginan dalam desikator selama 30 menit, bobot cawan kosong ditimbang. Sampel *fillet* ayam sebanyak 1-2 gram dimasukkan ke dalam cawan kosong tersebut dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 16 jam. Pengeringan dilakukan setelah tercapai berat konstan.

Analisis Derajat Keasaman (AOAC, 2005)

pH meter dikalibrasi dengan menggunakan larutan penyangga pH 7, 4, dan 9. Elektroda pada pH meter dibilas dengan akuades lalu dikeringkan. Sampel daging ayam sebanyak 5 gram, dihaluskan, dicampur dengan 20 mL akuades, dikocok sampai homogen. Selanjutnya diukur nilai pH nya dengan pH meter.

Total Plate Count (TPC) (Badan Standardisasi Nasional, 2008)

Sampel sebanyak 10 gram dilarutkan dalam 100 mL BPW 0.1% steril (10⁻¹) dan dihomogenkan, dilakukan pengenceran bertingkat 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵, masing-masing pengenceran diambil sebanyak 1 mL, dimasukkan ke dalam cawan petri, dan ditambahkan 20 mL medium PCA kedalam cawan petri tersebut. Sampel diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 35-37°C. Jumlah koloni dihitung menurut *standart plate count* (25-250 koloni) pada setiap cawan petri.

Pengujian Bakteri *Escherichia coli* Metode Uji Cepat (Ayunina et al., 2016)

Sampel sebanyak 10 gram dilarutkan dalam 100 mL BPW 0,1% steril (10⁻¹) dan dihomogenkan. Sampel uji sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam lembar uji cepat (petrifilm 3M), diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Koloni berwarna merah-ungu menunjukkan bakteri *E.coli*.

Pengujian Bakteri *Staphylococcus aureus* (Badan Standarisasi Nasional, 2008)

10 gram sampel dilarutkan dalam 100 mL BPW 0,1 %, lalu dihomogenkan. Suspensi sebanyak 1 mL dipindahkan dari setiap pengenceran, masing-masing sampel diinokulasikan sebanyak 0,4; 0,3; dan 0,2 mL pada 3 cawan petri yang telah berisi media BPA dengan tambahan *egg yolk tellurite emulsion*. Suspensi diratakan di atas permukaan media agar dengan menggunakan batang gelas (*hockey stick*) dan dibiarkan sampai suspensi terserap selama 10 menit dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 48 jam dengan posisi terbalik. Koloni berwarna hitam pekat, bundar, licin dan halus menunjukkan bakteri *Staphylococcus* dan dilanjutkan perhitungan koloni pada cawan petri.

Pengujian Bakteri *Salmonella* sp (Badan Standarisasi Nasional, 2008)

Sampel sebanyak 25 gram dilarutkan ke dalam 225 mL larutan BPW dalam wadah steril dan dilakukan inkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam (pra-pengayaan) diaduk perlahan. Biakan pra-pengayaan diambil dan dipindahkan sebanyak 1 mL ke dalam cawan petri dan tambahkan 20 media *salmonella chromogenic agar*. Sampel diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Koloni berwarna magenta menunjukkan bakteri *Salmonella* sp.

Pengujian Organoleptik (Badan Standardisasi Nasional, 2006)

Pengujian organoleptik dilakukan dengan menggunakan panelis (tidak terlatih) sebanyak 10 orang terdiri 1 orang laki-laki dan 9 orang

perempuan dengan kisaran usia 40 tahun dan dalam kondisi tidak dalam keadaan lapar atau kenyang, dilakukan sekitar pukul 09.00-11.00 dan pukul 14.00-16.00. Penilaian contoh yang diuji berdasarkan tingkat kesukaan panelis.

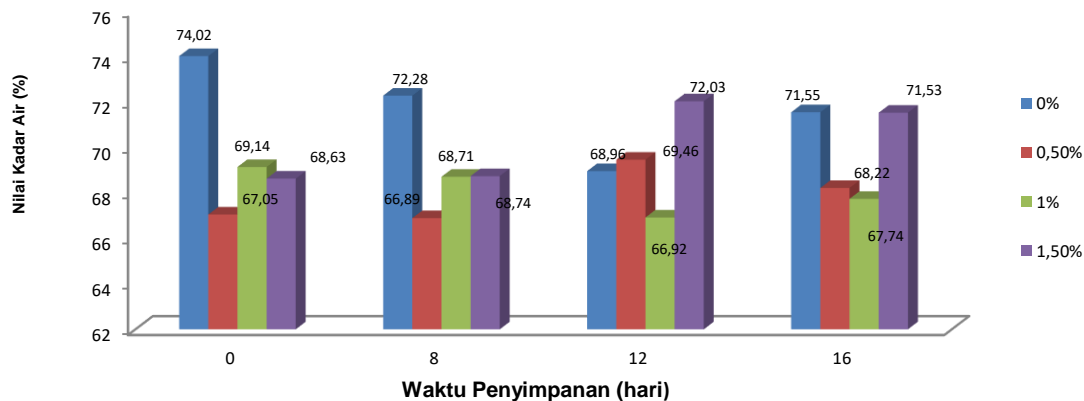
HASIL DAN PEMBAHASAN

Minyak Atsiri Rimpang Lengkuas

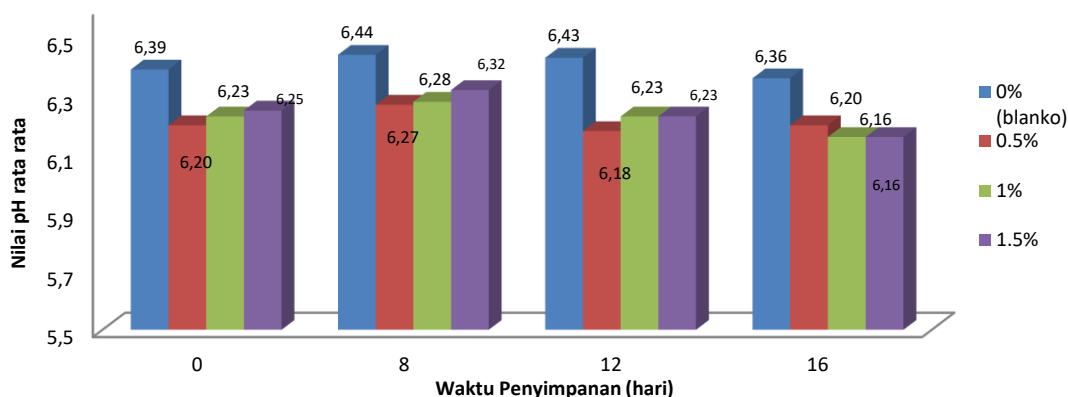
Volume minyak atsiri lengkuas yang diperoleh dari 1000 gram rimpang lengkuas (umur 8 bulan setelah tanam) sebanyak 6,3 mL dengan kandungan minyak atsiri lengkuas sebesar 0,79%. Minyak atsiri lengkuas yang didapat berwarna kuning pucat, memiliki rasa pedas, berbau khas lengkuas serta mempunyai berat jenis sebesar 0,93 g/mL. Kadar minyak atsiri lengkuas minimum menurut Farmakope Herbal Indonesia (FHI) Depkes tahun 2008 untuk simplisia lengkuas adalah 0,5% (Bermawie *et al.*, 2012). Nilai bobot jenis minyak atsiri umumnya berkisar antara 0,696-1,188 g/mL (Lely *et al.*, 2017), sehingga nilai kadar minyak atsiri lengkuas dan nilai bobot jenis yang diperoleh dalam penelitian ini masih memenuhi persyaratan.

Kadar Air Fillet Ayam Dengan Perlakuan Minyak Atsiri

Karakteristik yang sangat penting pada bahan pangan salah satunya adalah kadar air, karena penampakan, tekstur, citarasa bahan pangan, kesegaran dan daya awet bahan pangan dapat dipengaruhi oleh air (Rasydta *et al.*, 2015). Hasil penelitian kadar air rata-rata pada *fillet* ayam dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengaruh Penambahan Minyak Atsiri Lengkuas Terhadap Kadar Air



Gambar 2. Pengaruh Penambahan Minyak Atsiri Lengkuas Terhadap Nilai pH

Nilai kadar air rata-rata *fillet* ayam dengan perlakuan penambahan minyak atsiri lengkuas selama penyimpanan yaitu 66,89% - 72,28%. Kadar air dengan nilai terendah terdapat pada penambahan minyak atsiri lengkuas 0,5% dan penyimpanan selama 8 hari yaitu 66,89% , sedangkan kadar air tertinggi terdapat pada perlakuan tanpa penambahan minyak atsiri lengkuas (0%) pada 0 hari sebesar 74,2%. Kadar air merupakan salah satu indikator kerusakan pangan, semakin lama pangan disimpan maka kadar air cenderung meningkat. Selama proses penyimpanan akan terjadi proses penguapan yang berlangsung terus menerus sampai tercapai kesetimbangan air dan hal ini terjadi karena tekanan uap dalam daging tidak sama dengan tekanan uap di sekitarnya. Penurunan dan peningkatan nilai kadar air dikarenakan air digunakan oleh mikroba untuk pertumbuhan dan aktivitasnya (Wala *et al.*, 2016). Pada fase pertumbuhan, mikroba akan mencapai tahap konstan dan akan dihasilkan senyawa bermolekul kecil yang mengandung air. Semakin lama daging ayam disimpan zat-zat makanan yang terdapat dalam daging akan terurai terutama air yang terikat akan terlepas sehingga menyebabkan bertambahnya air bebas (Puspitasari *et al.*, 2013).

Derajat Keasaman (pH) *Fillet* Ayam

Perubahan pH pada *fillet* ayam ras diindikasikan dengan perubahan-perubahan yang terjadi selama masa penyimpanan, baik perubahan secara kimia ataupun akibat aktivitas mikroorganisme yang terdapat didalamnya (Utami *et al.*, 2013). Perubahan nilai pH pada *fillet* ayam dapat dilihat pada Gambar 2.

Nilai pH rata-rata *fillet* ayam dengan perlakuan tanpa penambahan minyak atsiri lengkuas (0%) dan penambahan minyak atsiri

lengkuas (0,5, 1, 1,5 %) serta lama penyimpanan 0, 8, 12 dan 16 hari berkisar 6,16 – 6,44. *Fillet* ayam dengan penambahan minyak atsiri lengkuas menunjukkan pH yang lebih rendah dibandingkan tanpa penambahan minyak atsiri lengkuas. Penambahan minyak atsiri lengkuas dengan berbagai variasi konsentrasi dan lama penyimpanan menunjukkan nilai pH yang tidak jauh berbeda, tetapi nilai pH dengan penambahan minyak atsiri lengkuas 1% dan 1,5% dengan lama penyimpanan 16 hari memiliki nilai pH yang paling rendah yaitu 6,16. Hal ini menunjukkan bahwa adanya penurunan pH pada daging ayam disebabkan adanya perombakan glikogen melalui proses glikolisis secara anaerob yang menyebabkan terbentuknya asam laktat, ion hidrogen yang dibebaskan pada proses glikolisis tidak dapat diikat oleh oksigen sehingga terjadi akumulasi ion hidrogen dalam otot. Ion hidrogen mengubah asam piruvat menjadi asam laktat. Penimbunan asam laktat dalam daging akan menyebabkan peningkatan keasaman, sehingga terjadi penurunan pH pada daging (Wowor *et al.*, 2014). Adanya peningkatan nilai pH daging yang semakin tinggi juga dapat disebabkan oleh mikroba yang mendeaminasi asam-asam amino dalam daging dan menghasilkan senyawa-senyawa bersifat basa seperti amoniak atau NH_4 (Wala *et al.*, 2016).

Total Plate Count (TPC) *Fillet* Ayam

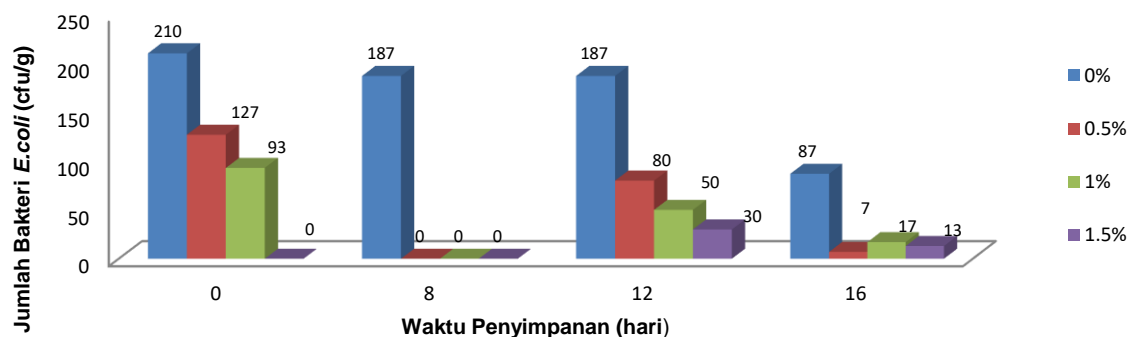
Hasil analisis TPC dari *fillet* ayam yang diberi perlakuan penambahan minyak atsiri lengkuas mempengaruhi nilai TPC pada *fillet* ayam (Tabel 1.) Jumlah bakteri pada perlakuan tanpa penambahan minyak atsiri lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan penambahan minyak atsiri. Hal ini tidak terlepas dari peran minyak atsiri lengkuas sebagai pengawet yang memiliki aktivitas antimikroba.

Tabel 1. Nilai *Total Plate Count* (TPC) *Fillet* Ayam

| Konsentrasi Minyak Atsiri | Jumlah Koloni (cfu/g) | | | |
|---------------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | 0 hr | 8 hr | 12 hr | 16 hr |
| 0 % | 1,4x10 ⁷ | 1,24x10 ⁷ | 1,18x10 ⁷ | 1,25x10 ⁷ |
| 0,5% | 1,32x10 ⁷ | 1,6x10 ⁶ | 1,6x10 ⁶ | 1,6x10 ⁶ |
| 1% | 1,22x10 ⁷ | 1,3x10 ⁶ | 1,2x10 ⁶ | 1,2x10 ⁶ |
| 1,5% | 1,15x10 ⁷ | 9,1x10 ⁵ | 9x10 ⁵ | 1,2x10 ⁶ |

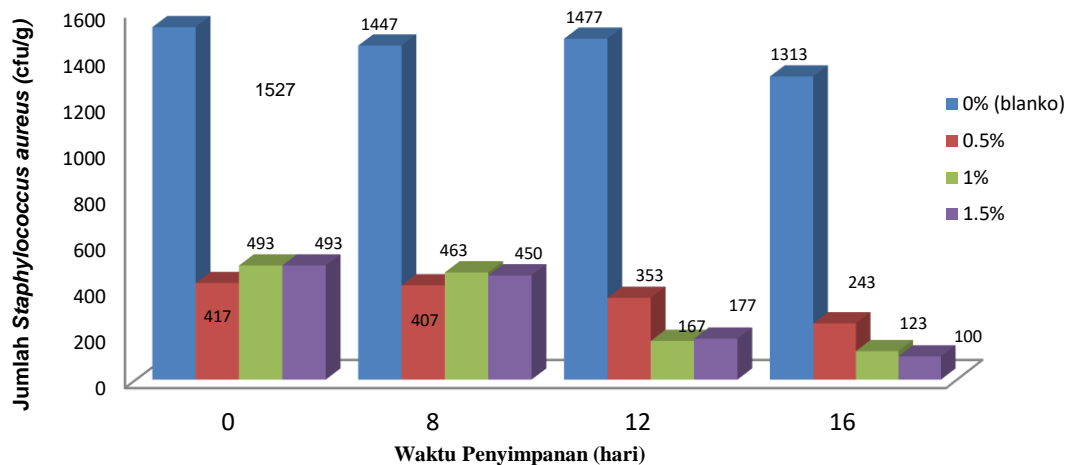
Nilai TPC tertinggi terdapat pada perlakuan konsentrasi 0,5% dengan waktu penyimpanan 0 hari yaitu 1,32x10⁷cfu/g, dan nilai terendah terdapat pada konsentrasi 1,5% dengan waktu penyimpanan 12 hari yaitu 9,0x10⁵ cfu/g. Hal ini menunjukkan besarnya kandungan minyak atsiri lengkuas pada *fillet* ayam dapat menghambat pembentukan dinding sel bakteri, sehingga mencegah terurainya protein akibat aktivitas bakteri. Adanya senyawa antibakteri pada minyak atsiri lengkuas berupa senyawa fenol yang dapat menghambat pembentukan dinding sel bakteri (Rahmah *et al.*, 2018). Lama penyimpanan juga akan mengakibatkan kenaikan total mikroba dalam daging. Berdasarkan hasil pengujian nilai TPC, perlakuan penambahan minyak atsiri lengkuas konsentrasi 1,5% dengan waktu penyimpanan 8 hari (9,1x10⁵cfu/g) dan 12 hari (9x10⁵cfu/g) memenuhi persyaratan mutu SNI 3924:2009 tentang Mutu Karkas dan Daging Ayam (maksimum 1x10⁶ cfu/g).

Cemaran *Escherichia coli* Pada *Fillet* Ayam

Gambar 3. Pengaruh Minyak Atsiri Lengkuas Terhadap *Escherichia coli*

Uji cemaran bakteri *E.coli* pada *fillet* ayam yang telah diberi perlakuan penambahan minyak atsiri lengkuas, menunjukkan hasil yang baik dibanding dengan kontrol terlihat pada jumlah koloni bakteri *E.coli* yang diamati. Hasil dapat dilihat pada Gambar 3.

Berdasarkan Gambar 3, jumlah bakteri *E.coli* tertinggi pada perlakuan penambahan minyak atsiri lengkuas konsentrasi 0,5% dengan waktu penyimpanan 0 hari yaitu sebesar 127 cfu/g. Jumlah *E.coli* terendah pada penambahan minyak atsiri lengkuas dengan lama penyimpanan 8 hari yaitu sebesar 0x10¹ cfu/g. Penambahan minyak atsiri lengkuas mengakibatkan penurunan jumlah bakteri *E.coli*, hal ini dikarenakan terdapatnya senyawa antibakteri pada minyak atsiri lengkuas dan diketahui juga adanya senyawa fenol dalam lengkuas yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* (Aprianti, 2011). Senyawa fenol dapat menghambat pertumbuhan bakteri dimana proses pembentukan dinding sel dan membran sel bakteri akan terganggu (Ernawati *et al.*, 2018). *Fillet* daging ayam tanpa penambahan minyak atsiri lengkuas dan lama penyimpanan (0, 8, 12,16 hari) menunjukkan penurunan jumlah bakteri *E.coli*. Hal ini disebabkan *fillet* daging ayam disimpan di suhu yang dingin, sehingga akibat pendinginan maka dapat menghambat pertumbuhan bakteri, karena suhu dingin akan menurunkan energi kinetik semua molekul dalam sistem, sehingga menurunkan kecepatan reaksi kimia termasuk aktivitas metabolisme sel bakteri (Pestariati, 2002). Berdasarkan hasil pengujian maka penambahan minyak atsiri lengkuas 0,5; 1; dan 1,5% dengan lama penyimpanan 8 hari memenuhi persyaratan mutu SNI 3924:2009 tentang Mutu Karkas dan Daging Ayam (maksimum 1x10¹ cfu/g).



Gambar 4. Pengaruh Minyak Atsiri Lengkuas Terhadap *Staphylococcus aureus*

Cemaran *Staphylococcus aureus* Pada Fillet Ayam

Hasil uji cemaran bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan adanya pengaruh pada sampel yang diberi perlakuan dengan penambahan minyak atsiri lengkuas. Lama penyimpanan fillet ayam menunjukkan penurunan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil uji cemaran bakteri *Staphylococcus aureus* pada fillet ayam dapat dilihat pada Gambar 4.

Jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* pada fillet ayam yang tanpa perlakuan dan diberi perlakuan penambahan minyak atsiri lengkuas 0; 0,5; 1; 1,5% dan waktu penyimpanan 0,8,12,16 hari menunjukkan penurunan. Jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* yang tertinggi terdapat pada 0 hari tanpa penambahan minyak atsiri lengkuas (1527 cfu/g), sedangkan yang terendah yaitu pada penyimpanan 16 hari dan penambahan minyak atsiri lengkuas 1,5% (100 cfu/g). Penurunan jumlah bakteri dikarenakan fillet ayam disimpan pada suhu rendah juga adanya senyawa antibakteri dari minyak atsiri lengkuas yang dapat mengikat protein bakteri dan senyawa ini dapat menghambat aktivitas enzim yang pada akhirnya mengganggu proses metabolisme bakteri (Ernawati, 2011). Berdasarkan hasil pengujian jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* perlakuan konsentrasi 1,5% dengan waktu penyimpanan 16 hari yaitu 100 cfu/g telah memenuhi persyaratan mutu SNI 3924:2009 tentang Mutu Karkas dan Daging Ayam (maksimum 1×10^2 cfu/g).

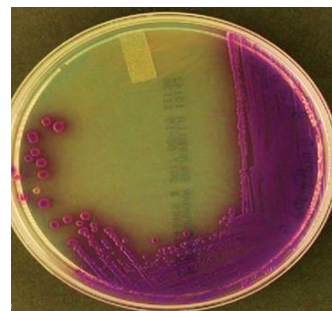
Cemaran Bakteri *Salmonella* sp

Hasil penelitian menunjukkan bahwa cemaran bakteri *Salmonella* sp pada sampel

perlakuan penambahan minyak atsiri lengkuas dan kontrol memberikan hasil negatif yaitu tidak ditemukan adanya bakteri *Salmonella*, hasil tersebut memenuhi standar SNI 3924:2009 tentang Mutu Karkas dan Daging Ayam untuk cemaran *Salmonella* sp (Negatif/25 g). Hasil uji cemaran bakteri *Salmonella* sp tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengamatan Bakteri *Salmonella* sp

| Konsentrasi minyak atsiri lengkuas (%) | Jumlah <i>Salmonella</i> | | | |
|--|--------------------------|---------|---------|---------|
| | 0 hari | 8 hari | 12 hari | 16 hari |
| 0 | Negatif | Negatif | Negatif | Negatif |
| 0,5 | Negatif | Negatif | Negatif | Negatif |
| 1 | Negatif | Negatif | Negatif | Negatif |
| 1,5 | Negatif | Negatif | Negatif | Negatif |



Gambar 5. Kontrol Positif Bakteri *Salmonella*

Salmonella sp termasuk bakteri patogen yang dapat menyebabkan keracunan pangan. Berdasarkan hasil pengamatan dari awal penyimpanan (0 hari) baik kontrol maupun sampel tidak teridentifikasi bakteri *Salmonella*. Hal ini dapat disimpulkan bahwa sampel fillet ayam tersebut sebelum diberi perlakuan dalam

kondisi penanganan yang baik, mulai dari pemotongan hingga menjadi bentuk olahan *fillet*. Hasil tersebut memenuhi standar SNI 3924:2009 tentang Mutu Karkas dan Daging Ayam untuk cemaran *Salmonella* sp (Negatif/25 g). Kontrol positif dari koloni bakteri *Salmonella* sp pada media *Chromogenic Salmonella Agar* ditandai dengan warna magenta (Gambar 5).

Fillet ayam tanpa disimpan pada suhu dingin merupakan bahan yang cocok untuk tempat tumbuhnya bakteri *Salmonella*. Bahan pangan sebaiknya disimpan pada kondisi yang sesuai karena suhu yang tidak tepat dapat memungkinkan tumbuhnya bakteri *Salmonella* sp. Untuk itu bahan pangan yang disimpan pada suhu dingin harus disimpan dibawah suhu 5°C (Hasrawati, 2017).

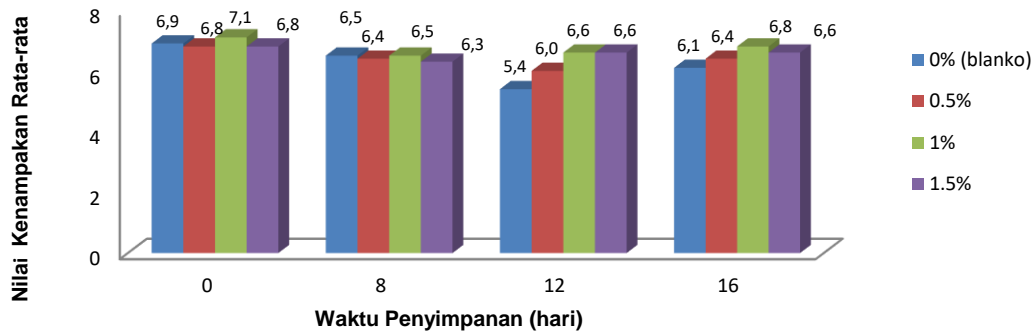
Uji Organoleptik Kenampakan

Hasil penelitian dalam penentuan tingkat kesukaan terhadap kenampakan dapat dilihat pada Gambar 6. Berdasarkan gambar tersebut tampak bahwa *fillet* ayam yang mempunyai kenampakan suka adalah perlakuan konsentrasi 1% untuk setiap penyimpanan.

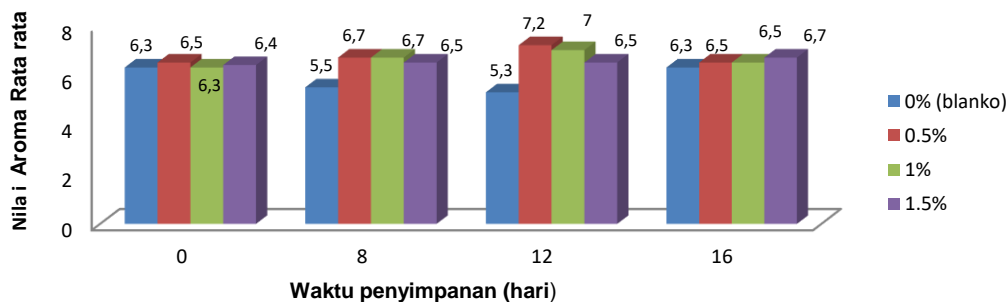
Berdasarkan hasil uji kenampakan didapat tingkat kesukaan kenampakan tertinggi yaitu pada penambahan minyak atsiri lengkuas 1% dengan waktu penyimpanan 0 hari sebesar 7,1 dan terendah adalah pada perlakuan tanpa penambahan minyak atsiri lengkuas dengan waktu penyimpanan 12 hari yaitu sebesar 5,4. Penambahan minyak atsiri lengkuas dan penyimpanan dalam waktu yang lama akan memberikan efek penurunan intensitas kecerahan penampakan fillet daging ayam karena sifat dari kandungan minyak atsiri lengkuas yang berwarna kuning. Disamping itu, selama penyimpanan terjadi perubahan kenampakan yang disebabkan oleh oksidasi asam lemak, sehingga kenampakan menjadi kusam. Hal tersebut sesuai dengan Rahmah *et al.*, (2018) bahwa selama penyimpanan juga dapat terjadi perubahan warna yang diakibatkan oleh oksidasi asam lemak tak jenuh sehingga warna menjadi pucat.

Aroma

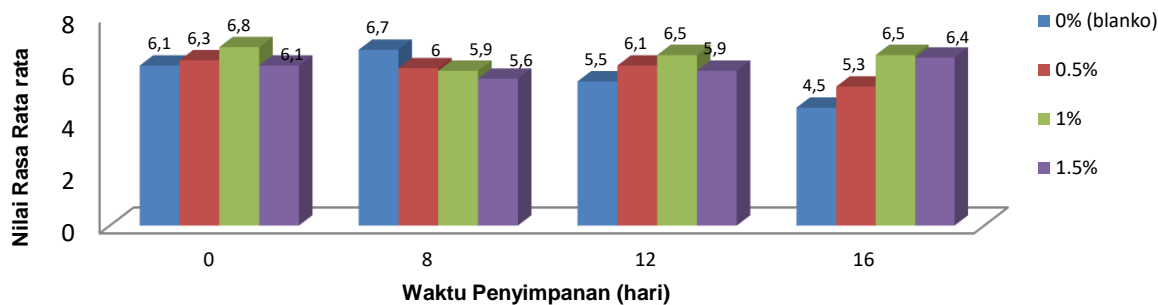
Pengamatan terhadap aroma *fillet* dilakukan dengan cara penentuan tingkat kesukaan aroma secara sensorik dengan indera pembau. Hasil penelitian penentuan tingkat kesukaan aroma terlihat pada Gambar 7.



Gambar 6. Nilai Organoleptik Kenampakan



Gambar 7. Grafik Nilai Organoleptik Aroma



Gambar 8. Nilai Organoleptik Rasa

Hasil penelitian menunjukkan nilai tingkat kesukaan aroma tertinggi terdapat pada penambahan minyak atsiri lengkuas dengan konsentrasi 0,5% dan waktu penyimpanan 12 hari yaitu memiliki nilai sebesar 7,2 dan terendah terdapat pada *fillet* tanpa penambahan minyak atsiri lengkuas dan waktu penyimpanan 8 hari yaitu sebesar 5,5. Adanya penambahan minyak atsiri lengkuas yang diberikan maka *fillet* daging ayam yang dihasilkan semakin memiliki bau khas dan disukai oleh panelis. Hal ini terkait dengan kandungan kimia yang terdapat dalam lengkuas. Kandungan utama dari minyak atsiri yang memberikan aroma khas pada tumbuhan adalah senyawa terpenoid yang bersifat mudah larut dalam air (Florensia *et al.*, 2012)

Rasa

Pengamatan terhadap rasa dilakukan dengan cara penentuan tingkat kesukaan rasa. Hasil menunjukkan bahwa secara umum panelis menerima rasa *fillet* daging ayam baik perlakuan penambahan minyak atsiri lengkuas maupun tanpa penambahan minyak atsiri lengkuas pada penyimpanan hari ke-0 hingga ke-16. Hasil dapat dilihat pada Gambar 8.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa nilai tingkat kesukaan rasa tertinggi diperoleh pada penambahan minyak atsiri lengkuas 1% pada penyimpanan 0 hari yaitu sebesar 6,8 sedangkan nilai terendah adalah 4,5 pada perlakuan tanpa penambahan minyak atsiri lengkuas (0%) dengan waktu penyimpanan 16 hari. Penambahan minyak atsiri lengkuas 1,5% pada berbagai waktu penyimpanan cenderung kurang disukai karena ada rasa pedas. Hal ini sesuai dengan penelitian Budiarti (2007), bahwa kandungan minyak atsiri lengkuas berwarna kuning, dengan kandungan komponen utama metilsinamat 48%, sineol 20-30%, 1% kamfer, dan sisanya galangin serta eugenol yang menyebabkan rasa pedas pada lengkuas.

KESIMPULAN

Kandungan rendemen minyak atsiri lengkuas didapatkan sebesar 0,79% dengan karakteristik berwarna kuning pucat, memiliki rasa pedas, berbau khas lengkuas serta mempunyai berat jenis sebesar 0,93 g/mL. Penambahan minyak atsiri lengkuas konsentrasi 1,5% dengan waktu penyimpanan 8 hari memberikan hasil yang efektif terhadap penyimpanan *fillet* daging ayam ras dengan hasil analisis mikrobiologi yang diperoleh sesuai SNI 3924:2009. Nilai organoleptik kenampakan dan rasa paling tinggi terdapat pada penambahan minyak atsiri lengkuas 1% dan waktu penyimpanan 0 hari, sedangkan untuk aroma nilai paling tinggi terdapat pada penambahan minyak atsiri lengkuas 0,5% dan waktu penyimpanan 12 hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraeni, D.H, Evi L., Rusky I.P., Rostini, I. (2017). Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Daun Jambu Biji Terhadap Masa Simpan Filet Patin Berdasarkan Jumlah Mikroba. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, VIII(2), 145–151.
- AOAC. (2005). Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. In *Aoac* (18th ed.). Maryland USA.
- Aprianti, D. (2011). *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Picung (Pangium Edule Reinw) Dan Pengaruhnya Terhadap Stabilitas Fisiko Kimia, Mikrobiologi Dan Sensori Ikan Kembung (Rastrelliger neglectus)* Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta. Retrieved from <http://repository.uinjkt.ac.id/dspace/handle/123456789/4840>
- Ayunina, Y. Q., Purnawarman, T., & Setyaningsih, S. (2016). Verifikasi Uji Cepat Komersial *Escherichia coli* pada

- Contoh Uji Daging Sapi Beku. *Jurnal Kedokteran Hewan - Indonesian Journal of Veterinary Sciences*, 10(2), 157–161.
- Azzahra, F.A., Rohula U., Nurhartadi, E. (2013). Pengaruh Penambahan Minyak Atsiri Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*) pada Edible Coating terhadap Stabilitas pH dan Warna Fillet Ikan Patin Selama Penyimpanan Suhu Beku. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 2(4), 32–38.
- Badan Standardisasi Nasional. (2006). *Cara Uji Kimia-Bagian 2: Penentuan Kadar Air pada Produk Perikanan*. 4.
- Badan Standardisasi Nasional. (2008). SNI 2897:2008 Metode Pengujian Cemarkan Mikroba Dalam Daging, Telur Dan Susu, Serta Hasil Olahannya. *Badan Standardisasi Nasional*, (SNI 2897:2008), 36.
- Bermawie, N., Purwiyanti, S., Melati, & Meilawati, N.W. (2012). Karakter Morfologi, Hasil Dan Mutu Enam Genotif Lengkuas Pada Tiga Agroekologi. *Bul. Litro*, 23(2), 125–135.
- Budiarti, R. (2007). Pemanfaatan Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K Schum) Sebagai Bahan Antijamur dalam Sampo (*Skripsi*). Institut Pertanian Bogor.
- Ernawati, F, Imaningsih, N., Nurjanah, N., Sahara, E., Sundari, D., Arifin, A.Y., Prihatini, M. (2018). Nilai pH dan Kualitas Zat Gizi Makro Daging Beku, Dingin dan Segar Pada Pasar Tradisional dan Pasar Swalayan. *Penelitian Gizi Dan Makanan*, 41(1), 21–30.
- Florensia, S., Dewi, P., & Utami, N. R. (2012). Pengaruh Ekstrak Lengkuas pada Perendaman Ikan Bandeng terhadap Jumlah Bakteri Pengaruh Ekstrak Lengkuas pada Perendaman Ikan Bandeng terhadap Jumlah Bakteri. *Life Science*, 1(2), 113–118.
- Hasrawati. (2017). Tingkat Cemarkan Bakteri *Salmonella* sp pada Daging Ayam yang Dijual di Pasar Tradisional Makasar. *Jurusan Ilmu Peternakan Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Alauddin. Makasar*.
- Lely, N., Nurhasana, F., & Azizah, M. (2017). Aktivitas Antibakteri Atsiri Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) Terhadap Bakteri Penyebab Diare. *Scientia : Jurnal Farmasi Dan Kesehatan*, 7(1), 42.
<https://doi.org/10.36434/scientia.v7i1.104>
- Nuryati, L. Noviaty, Budi W, R. W. (2015). *Outlook Komoditas Pertanian Sub Sektor Peternakan Daging Ayam*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Sekretariat Jenderal Kementerian Pertanian.
- Pestariati. (2002). *Pengaruh Lama Penyimpanan Daging Ayam Pada Suhu Refrigerator Terhadap Jumlah Total Kuman Salmonella sp, Kadar Protein dan Derajat Keasaman*. Surabaya: Tesis Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga.
- Puspitasari, I., Nuhriawangsa, A.M.P., Swastike, W. (2013). Pengaruh Pemanfaatan Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) terhadap Kualitas Mikrobial dan Fisiko-kimia Daging Sapi. *Topical Animal Husbandry*, 2(1), 58–64.
- Rahmah, R., Wijaya, M., & Mustarin, A. (2018). Pengaruh Penambahan Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*) Terhadap Kualitas Dendeng Sayat Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) Selama Penyimpanan. *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*, 3(2), 180–194.
<https://doi.org/10.26858/jptp.v3i2.5707>
- Rasyda, H.P., Sunarto, W. & Haryani, S. (2015). Penggunaan Asap Cair Tempurung Kelapa Dalam Pengawetan Ikan Bandeng. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 4(1), 11–14.
- Senoaji F B, Agustini, T.W., & Purnamayati, L. (2017). Aplikasi Minyak Atsiri Rimpang Lengkuas Pada Edible Coating Karagenan Sebagai Antibakteri Pada Bakso Ikan Nila. *J. Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(2), 380–391. Retrieved from file:///C:/Users/user/AppData/Local/Temp/18106-54906-2-PB.pdf
- Wala, J., Ransaleleh, T., Wahyuni, I., & Rotinsulu, M. (2016). Kadar air, pH dan Total Mikroba Daging Ayam yang Ditambahkan Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Val.). *Zootec*, 36(2), 405–416.
- Widati, R.R., & Suranto, A. P. (2006). Pengaruh Penambahan Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Terhadap Kualitas Fillet Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Selama Penyimpanan Suhu Dingin. *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*, 4(1), 22–26.
- Wowor, A. K. ., Ransaleleh, T. A., Tamasoleng, M., & Komansilan, S. (2014). Lama Penyimpanan Broiler yang Diberi Perasan Jeruk Kasturi (*Citrus madurensis* Lour.). *Zootec*, 34(2), 148–158.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih dan penghargaan diberikan kepada para pakar/mitra bestari/rekan setara yang telah diundang sebagai penelaah oleh *Jurnal Sains Natural* dalam Volume 12 No. 2, Tahun 2022. Berikut ini adalah daftar nama pakar/mitra bestari/rekan setara yang berpartisipasi :

1. Prof. Dr. Mustanir, M.Sc (Kimia Organik, Universitas Syiah Kuala)
2. Prof. Dr. Adi Santoso, M.Si (Kimia Analitik, Puslitbang Kehutanan)
3. Prof. Dr. Ir. Hamim, M.Si (Plant Physiology and Genetics, IPB University)
4. Dr. Agung Abadi Kiswandono, M.Sc (Kimia Analitik dan lingkungan, Universitas Lampung)
5. Dr. I Made Siaka, M.Sc (Kimia Analitik, Universitas Udayana)
6. Drs. Djadjat Tisnadjala, M.Tech (Bioteknologi, Puslit Bioteknologi, LIPI)
7. Drs. Agus Taufiq, M.Si (Kimia Anorganik, Politeknik AKA Bogor)
8. Dra. Lilis Sugiarti, M.Si (Bioteknologi, STIKES Cendekia Utama)
9. Mamay Maslahat, M.Si (Kimia Analitik, Universitas Nusa Bangsa)
10. Srikandi, S.Si., M.Si (Mikrobiologi Tanah dan Lingkungan, Universitas Nusa Bangsa)
11. Nina Ariesta, M.Si (Kimia Analitik, Universitas Nusa Bangsa)

PEDOMAN PENULISAN

A. Pedoman Umum

1. Naskah merupakan hasil penelitian otentik yang belum dipublikasikan di media publikasi atau penerbitan lainnya.
2. Naskah tidak mengandung unsur plagiarisme. Dewan redaksi akan langsung menolak teks yang terindikasi plagiarisme.
3. Naskah yang telah ditulis berdasarkan pedoman Sains Natural (dalam format MS Word, sesuai template), harus dikirim melalui Sistem Submission Online dengan menggunakan Open Journal System (OJS) di portal e-jurnal Sains Natural (<http://ejournalunb.ac.id/index.php/JSN>). Kemudian, daftarkan diri sebagai salah satu penulis atau reviewer.
4. Naskah yang tidak sesuai dengan pedoman penulisan Sains Natural akan dikembalikan kepada penulis sebelum proses *review*.
5. Naskah bisa ditulis baik dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris dengan bahasa standar. Naskah harus terdiri dari sepuluh (10) sampai tiga belas (13) halaman termasuk gambar dan tabel. Naskah ditulis di atas kertas ukuran A4 (210x297 mm), dengan margin 3 cm (kiri, kanan, bawah dan atas).
6. Teks naskah harus menggunakan huruf Times New Roman, ukuran huruf 11pt, 1 spasi baris, dalam satu kolom.
7. Kata-kata yang tidak umum atau dari bahasa asing dituliskan dengan format *Italic*. Untuk naskah dalam Bahasa Indonesia, sebaiknya hindari istilah asing. Setiap paragraf dimulai 10 mm dari sisi kiri perbatasan sementara tidak ada spasi di antara paragraf.
8. Tabel dan gambar ditempatkan di grup teks setelah teks. Setiap gambar harus diberi judul (Gambar) di bawah gambar dan diberi nomor dalam format penomoran Arab yang diikuti oleh judul gambar. Setiap tabel harus diberi judul tabel dan diberi nomor dalam format penomoran arab di atas tabel diikuti dengan judul tabel. Gambar lampiran jelas (ukuran font, resolusi dan ruang garis terlihat jelas). Gambar, tabel, dan bagan harus ditempatkan di tengah antara kelompok teks. Jika memiliki ukuran lebih besar, bisa diletakkan di tengah halaman. Tabel tidak boleh berisi garis vertikal, sedangkan garis horisontal hanya diijinkan untuk hal penting.

B. Teks Naskah

1. Judul

Judul harus ringkas dan informatif. Judul naskah harus ditulis dengan maksimal 12 (dua belas) kata (dalam Bahasa Indonesia) dan 10 (sepuluh) kata dalam bahasa Inggris, font berukuran 12pt, UPPERCASE, BOLD, dan dalam format teks rata tengah.

2. Nama penulis dan afiliasinya

Nama dari masing-masing penulis dicantumkan dengan jelas dan harus menunjukkan penulis yang berperan sebagai koresponden. Alamat afiliasi penulis (tempat kerja sebenarnya dilakukan) dicantumkan di bawah nama. Tanggung jawab koresponden ini mencakup menjawab pertanyaan tentang Metodologi dan Bahan. Penulis juga mencantumkan alamat e-mail dan rincian kontak.

3. Abstrak

Abstrak ditulis dalam bahasa Indonesia dan bahasa Inggris. Teks ditulis dalam format Times New Roman, ukuran huruf 9pt, 1 spasi baris, sebanyak 75-250 kata dan diikuti oleh lima kata kunci. Abstrak harus menyatakan secara singkat tujuan penelitian, hasil utama, dan kesimpulan utama.

4. Pendahuluan

Pada pendahuluan, sebutkan tujuan dan latar belakang yang memadai. Hindari survei literatur terperinci atau ringkasan hasilnya.

5. Bahan dan Metode

Metode ini diimplementasikan untuk memecahkan masalah, termasuk metode analisis. Metode yang digunakan dalam pemecahan masalah penelitian dijelaskan pada bagian ini.

6. Hasil dan Pembahasan

Hasil harus jelas dan ringkas. Pembahasan harus mengeksplorasi signifikansi hasil kerja, bukan mengulanginya. Hindari kutipan yang luas dan diskusi literatur yang dipublikasikan.

7. Kesimpulan

Kesimpulan utama penelitian ini dapat disajikan dalam bagian Kesimpulan singkat.

8. Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih dicantumkan pada bagian terpisah di bagian akhir artikel sebelum referensi. Pada ucapan terima kasih dicantumkan nama/organisasi/institusi yang memberikan bantuan selama penelitian (misal, Memberikan bantuan bahasa, menulis bantuan atau bukti membaca artikel, dll.).

9. Referensi dan kutipan

Semua referensi yang digunakan harus diambil dari sumber utama (jurnal ilmiah dan yang paling sedikit adalah 80% dari semua referensi) yang diterbitkan dalam sepuluh tahun terakhir. Setiap naskah harus memiliki setidaknya sepuluh referensi. Referensi harus menggunakan "Mendeley" sebuah aplikasi manajemen referensi. Format penulisan yang digunakan dalam Sains Natural mengikuti format yang diterapkan oleh APA 6th Edition (American Psychological Association).