

PENGARUH *HIGH TEMPERATURE SHORT TIME* PRODUK FERMENTASI BAKTERI ASAM LAKTAT EKSTRAK DAUN NIPAH

Afrina Kartika Putri*¹, Lulu Setiyabudi², Dini Puspodewi³

^{1,2} Program Studi S1 Farmas, Fakultas Farmasi, Sains dan Teknologi, Universitas Al-Irsyad Cilacap, Indonesia

³ Program Studi D4 Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Farmasi, Sains dan Teknologi, Universitas Al-Irsyad Cilacap, Indonesia

e-mail: 1afrinakartika@gmail.com, 2L.setiyabudi@gmail.com, 3dinipuspodewi93@gmail.com.

ABSTRACT

*Nipah is a type of palm plant that grows in the environment of mangrove forests or tidal areas in brackish mangrove areas and is known to contain high antioxidant activity. Until now, the utilization of nipa palm is still very lacking due to the suspected toxic nature of the secondary metabolite content of saponins. Pasteurization is a thermal process with a medium temperature (Mild Heat Treatment) applied to food products. This study aims to determine the antioxidant activity in nipah leaf extract after the High Temperature Short Time method. The method used is fermentation with *Lactobacillus plantarum* bacteria. Furthermore, the product was pasteurized using the HTST (High Temperature Short Time) method and the antioxidant activity was tested using the FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) method. The results of the antioxidant activity test of fermented nipah leaf products for samples that did not go through the pasteurization process were obtained at 90.5 mg AAE/ml extract, while the samples that went through the pasteurization process using HTST (High Temperature Short Time) obtained 49.4 mg AAE/ml extract. It can be said that the HTST (High Temperature Short Time) method reduces antioxidant levels in the lactic acid bacterial fermentation product of nipah leaf extract.*

Keywords: *Nipah, antioxidant, fermentation, pasteurization, FRAP method*

PENDAHULUAN

Nipah atau *Nypa fruticans* Wumb merupakan tumbuhan *palmae* yang sering dikelompokkan dalam tumbuhan mangrove atau bakau. Nipah merupakan tumbuhan sejenis palma yang tumbuh di daerah pasang-surut hutan bakau atau di daerah airpayau (*brackish*). Pada sebaran pita mangrove, nipah tumbuh di perairan sedikit lebih ke dalam dan tumbuh di tepian sungai air tawar, sehingga pengaruh salinitas berangsur-angsur berkurang [1].

Antioksidan merupakan molekul yang dapat berinteraksi dengan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai sebelum kerusakan sel. Menurut [2] menyatakan bahwa radikal bebas dapat merusak sel yang menyebabkan penyakit inflamasi, arterosclerosis, kanker dan penuaan dini. Radikal bebas ini dapat dihambat dengan antioksidan. Antioksidan memiliki 2 jenis yaitu antioksidan sintesis dan alami.

Fermentasi makanan atau minum biasanya dilakukan dengan menggunakan bantuan bakteri, yaitu bakteri asam laktat (BAL). BAL menghasilkan berbagai macam senyawa seperti asam organik, diasetil, hidrogen peroksida dan bakteriosin atau protein bakterisida selama fermentasi laktat. Deskripsi umum BAL merupakan kelompok bakteri Gram positif, tidak menghasilkan spora, tidak menghasilkan katalase, berbentuk kokus atau batang dan menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir selama fermentasi karbohidrat. Bakteri yang termasuk dalam golongan BAL adalah *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* dan *Streptococcus* [3].

Fermentasi merupakan proses yang melibatkan bakteri. Meski bakteri yang digunakan tidak berbahaya dan sudah banyak dimanfaatkan, tetapi harus tetap dilakukan proses sterilisasi untuk memastikan produk aman. Salah satu sterilisasi yang banyak digunakan dalam bidang

pangan adalah pasteurisasi. Pasteurisasi merupakan proses pemanasan pada suhu 71°C selama 15 detik atau dilakukan pada suhu 61-63°C dengan waktu kurang lebih 30 menit dengan cara susu dalam botol dipanaskan dengan menempatkannya pada wadah yang berisi air (*steam*) lalu dilakukan proses pendinginan [4].

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun nipah mengandung senyawa kimia aktif antara lain; flavonoid, tanin, fenol hidrokuinon, diterpen, steroid dan saponin. Senyawa-senyawa aktif yang umumnya berperan dalam antioksidan dan antibakteri yakni tanin, flavonoid, saponin dan steroid [5]. Dari beberapa senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun nipah dapat memungkinkan bahwa daun nipah memiliki potensi sebagai antioksidan alami. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dalam ekstrak daun nipah setelah dilakukan metode HTST (*High Temperature Short Time*).

METODE PENELITIAN

a. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu alat-alat gelas (*Pyrex*), autoklaf (*Hirayama HG-50*), *water bath*, thermometer, *stopwatch*, neraca analitik (*Pioneer*), pH meter (*pH-09 i a*), *vortex mixer*, Spektrofotometer UV-Vis (*Genesys 10S*), sentrifuge, mikropipet, cawan petri, incubator, bunsen, *colony counter*, kompor listrik.

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu daun nipah (*Nypa fruticans*), *Lactobacillus plantarum* (FNCC-0027) dan *de Man Rogosa Sharpe Broth* (MRSB), laktosa, sukrosa, aquadest, asam askorbat, asam trikloroasetat 10%, FeCl₃, dapar fosfat (0.2 M pH 6.6), dan kalium ferrisianida 1%.

b. Jalannya Penelitian

Preparasi Sampel

Daun nipah yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Kelurahan Tegal Kamulyan, Cilacap Selatan.

Fermentasi BAL (Bakteri Asam Laktat)

Proses ekstraksi daun nipah (*N.fruticans*) dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi enzimatis yaitu dengan penambahan kultur bakteri asam laktat sebagai penghasil enzim. Metode ekstraksi dengan bantuan enzim atau *Enzyme assisted-extraction* (EAE) merupakan salah satu metode ekstraksi non-konvensional untuk mengekstrak suatu senyawa aktif dengan bantuan enzim [6]. Sampel daun nipah yang telah dipreparasi dan dikeringkan kemudian dihaluskan. Selanjutnya diambil 50 gram, ditambahkan laktosa 2%, sukrosa 2%, kultur *starter*, *L. plantarum* 1 ml bakteri dan kemudian ditambahkan aquadest hingga 200 ml. Fermentasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pasteurisasi Produk Fermentasi BAL (Bakteri Asam Laktat)

Proses pasteurisasi dilakukan dengan menyaring produk FerBAL kemudian dilakukan pemanasan. Siapkan dua wadah berisi air, kemudian masukkan produk FerBAL yang sudah disaring dalam wadah terpisah dan masing-masing diletakkan ke dalam wadah berisi air yang sebelumnya sudah disiapkan dan dipanaskan. Ditunggu hingga suhu 72°C selama 15 detik kemudian angkat dan dinginkan.

Uji Antioksidan

Pembuatan Larutan Asam Askorbat

Larutan stok 1000 ppm dibuat dengan melarutkan 25 mg asam askorbat yang dilarutkan dengan asam oksalat 1% hingga 50 mL. Selanjutnya dari larutan stok 1000 ppm dilakukan pengenceran dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 ppm. Diamati absorbansinya pada panjang gelombang 700 nm

Penentuan Absorbansi Sampel

Panjang gelombang maksimum diperoleh melalui pengukuran absorbansi dari larutan standar asam askorbat pada panjang gelombang 700nm. Sebanyak 1 ml ekstrak dilarutkan dalam 50 mL aquadest, lalu dipipet 1 mL ditambahkan 1 mL dapar fosfat 0,2 M (pH 6.6) dan 1 mL $K_3Fe(CN)_6$ 1% setelah itu, diinkubasi selama 20 menit dengan suhu 50°C. Setelah diinkubasi, diambil sebanyak 0,9 mL dan ditambahkan 1 mL TCA lalu disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Setelah disentrifuge dipipet 1 mL lapisan bagian atas kedalam tabung reaksi, dan ditambahkan 11 mL aquades dan 0,5 mL $FeCl_3$ 0,1%. Larutan didiamkan selama beberapa menit dan diukur absorbansinya pada 700 nm. Nilai FRAP dinyatakan dalam mg AAE/mL Ekstrak.

2.3 Analisis Data

Data hasil uji antioksidan Nilai FRAP dinyatakan dalam mg ekuivalen asam askorbat/ mL ekstrak (AAE). Kandungan vitamin C pada masing-masing sampel dinyatakan sebagai ekuivalen asam askorbat atau *Ascorbic Acid Equivalent* (AAE). Hasil regresi linier dari konsentrasi (x) dengan nilai absorbansi (y) larutan pembanding asam askorbat, menggunakan program microsoft excel, metode analisis data menggunakan analisis deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Daun nipah yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Kelurahan Tegal Kamulyan, Cilacap Selatan. Sampel daun nipah tua yang didapat kemudian dipisahkan antara daun dan tulangnya kemudian dirajang/potong kecil-kecil, dicuci bersih menggunakan air mengalir kemudian dibilas menggunakan aquades steril kemudian ditimbang dan dikeringkan dengan lemari pengering pada suhu 38-40°C selama 7 hari.

Fermentasi BAL (Bakteri Asam Laktat)

Fermentasi dilakukan dengan menggunakan Bakteri Asam Laktat (BAL) *Lactobacillus plantarum*. Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram positif, katalase negatif yang dapat memproduksi asam laktat dengan cara memfermentasi karbohidrat. *Lactobacillus plantarum* merupakan salah satu spesies bakteri asam laktat karena mampu mengubah senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan hasil akhir yaitu asam laktat [7].

Fermentasi dilakukan menggunakan Bakteri Asam Laktat dengan tujuan agar senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada suatu tanaman akan terdegradasi lebih sederhana. Selain dapat mendegradasi senyawa agar lebih sederhana, bakteri asam laktat juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain seperti bakteri pembusuk dan bakteri patogen pada produk pangan serta produk fermentasi lainnya [8].

Proses fermentasi yang terjadi memecah senyawa glukosida menjadi senyawa yang lebih sederhana. Saponin merupakan suatu glukosida, apabila dihidrolisis maka menghasilkan gula (glikon) dan saponin (aglikon). Bakteri asam laktat heterofermentatif seperti *Lactobacillus plantarum* mampu memecah glukosa, maupun gula lainnya seperti laktosa, galaktosa, fruktosa, sukrosa, dan maltosa menjadi asam laktat [9].

Pasteurisasi Produk Fermentasi BAL (Bakteri Asam Laktat)

Proses pasteurisasi pada penelitian dilakukan dengan menyaring produk FerBAL kemudian dilakukan pemanasan. Selanjutnya disiapkan dua wadah berisi air, kemudian masukkan produk FerBAL yang sudah disaring dalam wadah terpisah dan masing-masing diletakkan ke dalam wadah berisi air yang sebelumnya sudah disiapkan dan dipanaskan. Ditunggu hingga suhu 72°C selama 15 detik dan dinginkan sampai suhunya menurun hingga 25°C. Tujuan dari pemanasan ini selain untuk menghomogenkan juga untuk memperpanjang umur simpan namun mempertahankan nilai gizi yang terkandung dalam susu beras. Pengolahan dengan menggunakan suhu yang tidak terlalu tinggi dan dengan waktu pemanasan yang singkat ini membuat kandungan protein, lemak, dan vitamin dalam produk yang dibutuhkan oleh tubuh tidak berkurang [10].

Uji Antioksidan

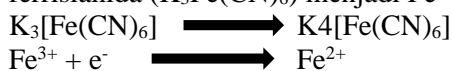
Pengukuran uji aktivitas antioksidan menggunakan metode FRAP meliputi tahap pembuatan larutan standar dan kurva baku serta pengukuran total antioksidan dalam sampel menggunakan alat Spektroskopi Uv-Vis. Asam askorbat digunakan sebagai pembanding karena memiliki gugus hidroksil bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas dan jika mempunyai gugus polihidroksil akan meningkatkan aktivitas antioksidan [11].

Tabel I. Hasil Pengukuran Absorbansi Asam Askorbat

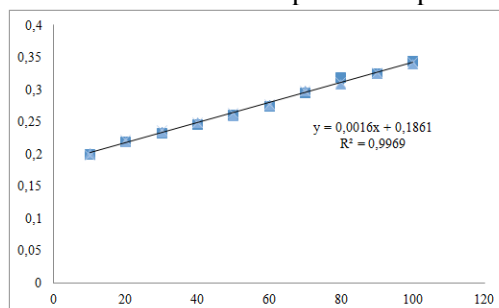
| Konsentrasi ppm | Absorbansi |
|-----------------|------------|
| 10 | 0,197 |
| 20 | 0,221 |
| 30 | 0,236 |
| 40 | 0,249 |
| 50 | 0,263 |
| 60 | 0,277 |
| 70 | 0,298 |
| 80 | 0,311 |
| 90 | 0,326 |
| 100 | 0,342 |

Proses uji aktivitas antioksidan dilakukan penambahan TCA yang bertujuan agar kompleks kalium ferrisianida mengendap. Penambahan FeCl_3 dalam reagen yaitu untuk membentuk senyawa kompleks berwarna hijau sampai biru (biru berlin). Sedangkan penambahan buffer fosfat adalah karena buffer ini memiliki pH efektif 6,4-7,4. Dimana telah diketahui bahwa kompleks ini stabil pada pH asam, maka digunakan pH 6,6 dalam penelitian ini. Penggunaan pH rendah dimaksudkan untuk memudahkan proses reduksi Fe^{3+} [11].

Kemampuan suatu ekstrak tanaman sebagai antioksidan dapat diwakili dengan suatu besaran TAC (*Total Antioxidant Capacity*). TAC adalah kapasitas antioksidan kumulatif yang terdapat dalam suatu sampel tanpa menunjukkan jenis senyawa aktifnya. Penentuan TAC dilakukan dengan metode FRAP. Pengujian aktivitas antioksidan metode FRAP mengikuti prosedur dengan menggunakan kompleks kalium ferrisianida ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$). Dalam penentuan daya reduksi, reduktor (antioksidan) dalam sampel yang mereduksi Fe^{3+} kompleks kalium ferrisianida ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) menjadi Fe^{2+} (bentuk ferro) [11].



Hasil dari persamaan regresi linier dari konsentrasi (x) dan hasil absorbansi (y) larutan pembanding asam askorbat diperoleh persamaan yaitu $y = 0,0016x + 0,1861$ dengan nilai $R^2 = 0,9969$. Kurva baku larutan standar asam askorbat dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva Standar Asam Askorbat

Nilai aktivitas antioksidan diperoleh dengan dimasukkannya nilai absorbansi sampel kedalam persamaan regresi linier. Nilai FRAP dinyatakan dalam mg ekuivalen asam askorbat/gr ekstrak (AAE). *Ascorbatic Acid Equivalent* (AAE) atau ekuivalen asam askorbat merupakan acuan umum untuk mengukur sejumlah vitamin C yang terdapat pada sebuah bahan.

Tabel II. Nilai Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Nipah

| No | Sampel | Aktivitas Antioksidan (mgAAE/ml ekstrak) |
|----|--------|--|
| 1 | X | 90,5 |
| 2 | HTST | 49,4 |

Hasil nilai aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa sampel X memiliki aktivitas antioksidan sebesar 90,5 mg AAE/mL ekstrak, . Tabel hasil aktivitas antioksidan menunjukkan mengalami penurunan setelah dilakukan HTST. Hal tersebut seperti dituliskan pada penelitian [12] yaitu hasil uji pada metode FRAP menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan pada suhu pasteurisasi 65°C berbeda nyata dengan suhu pasteurisasi 75°C, 85°C, dan 95°C. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu pasteurisasi memperlihatkan penurunan nilai aktivitas antioksidan.

KESIMPULAN

Dari hasil uji aktivitas antioksidan produk fermentasi daun nipah untuk sampel yang melalui proses pasteurisasi secara HTST (*High Temperature Short Time* diperoleh sebesar 49,4 mg AAE/ml ekstrak. Hasil tersebut menunjukkan terjadinya penurunan jika dibandingkan dengan sampel yang tidak melalui proses pasterusasi yang diperoleh nilai sebesar 90,5 mg AAE/ml ekstrak. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemanasan mempengaruhi aktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Subiandono, E., Heriyanto, N. M., & Karlina, E. (2016). Potensi Nipah (*Nypa fruticans* (Thumb.) Wurmb.) sebagai Sumber Pangan dari Hutan Mangrove. *Buletin Plasma Nutfah*, 17(1), 54. <https://doi.org/10.21082/blpn.v17n1.2011.p54-60>
- [2] Gazali, M., Nufus, H., Nurjanah, N., & Zuriat, Z. (2019). Eksplorasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Daun Nipah (*Nypa Fruticans* Wurmb) Asal Pesisir Aceh Barat Sebagai Antioksidan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 22(1), 155. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v22i1.25892>
- [3] Fachrial, E. (2018). Isolasi Dan Aktivitas Anti Mikroba Bakteri Asam Laktat Dari Fermentasi Nira Kelapa Sawit. *Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, Kesehatan*, 5(1).
- [4] Sugiyanto, M. K., Sumual, M. F., Djarkasi, G. S. S., Gizi, J., Kemenkes, P., Taman, G. J., No, P. 36, & Kota, G. (2020). Pengaruh Suhu Pasteurisasi Terhadap Profil Dan Aktivitas Antioksidan Puree Buah Naga Merah. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 11 (2), 100–107.
- [5] Imra, Tarman, K., & Desniar. (2016). Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Nipah (*Nypa fruticans*) Terhadap *Vibrio* Sp . Isolat Kepiting Bakau (*Scylla* sp .) *Maspari Journal*, 19(3), 241–250. <https://doi.org/10.17844/jphpi.2016.19.3.241>
- [6] Wirajana, Sutono, & Andin. (2019). Suhu Dan Waktu Optimum Proses Ekstraksi Antosianin Dalam Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) Dengan α -L- Arabinofuranosidase I. *Jurnal Kimia (Journal Of Chemistry)*, 13 (1), 88–94.
- [7] Mari, J. R. W., & Fidyasari, A. (2020). Pengaruh Konsentrasi Bakteri *Lactobacillus plantarum* Terhadap Mutu Fisik dan Kimia Hasil Fermentasi Tepung Bental (*Colocasia esculenta* (L.) Schoott). *Akademi Farmasi Putera Indonesia Malang*, 1–9.
- [8] Nuraida, L. (2015). A review: Health promoting lactic acid bacteria in traditional Indonesian fermented foods. *Food Science and Human Wellness*, 4(2), 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2015.06.001>
- [9] Sintasari, R. A., Kusnadi, J., & Ningtyas, D. W. (2014). Pengaruh Penambahan Konsentrasi Susu Skim dan Sukrosa terhadap Karakteristik Minuman Probiotik Sari Beras Merah. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 2(3), 65–75.
- [10] Shintya, R., & Enceng, S. (2018). Homogenisasi Susu Beras Menggunakan Metode

- Pasteurisasi. *Industrial Research Workshop and National Seminar*, 9, 187–193.
- [11] Pratama, M., Muflihunna, A., & Octaviani, N. (2018). Analisis Aktivitas Antioksidan Sediaan Propolis Yang Beredar Di Kota Makassar Dengan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 10(1), 11–18. <https://doi.org/10.33096/jifa.v10i1.312>
- [12] Sugiyanto, M. K., Sumual, M. F., Djarkasi, G. S. S., Gizi, J., Kemenkes, P., Taman, G. J., No, P. 36, & Kota, G. (2020). Pengaruh Suhu Pasteurisasi Terhadap Profil Dan Aktivitas Antioksidan Puree Buah Naga Merah. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 11 (2), 100–107.