

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERIAL DAN ANTIOKSIDAN ASAP CAIR CANGKANG BUAH KARET (*Hevea brassiliensis*) SERTA IMPLEMENTASINYA SEBAGAI PENGAWET DAN PENGHAMBAT KETENGIKAN DAGING

Sumpono, Haulia Dwi Putri, Lia Retno Sari

Program Studi Pendidikan IPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu

E-mail: sumpono1960@gmail.com

Abstrak

Cangkang buah karet yang merupakan bagian dari buah pohon yang merupakan produk biomasa yang biasanya hanya dibiarkan saja pada lahan perkebunan. Ketersediaan cangkang buah karet di Indonesia sangat. Selain itu, kandungan kimia seperti selulosa, hemiselulosa dan lignin yang terdapat pada cangkang buah karet memiliki potensi untuk dijadikan asap cair. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakterial dan aktivitas antioksidan asap cair cangkang buah karet serta implementasinya sebagai pengawet dan penghambat ketengikan daging. Pembuatan dan pemurnian asap cair dilakukan 4 tahapan yaitu pirolisis, sedimentasi, destilasi, redistilasi. Parameter yang untuk asap cair adalah kadar fenol, asam total, pH dan bobot jenis. Uji antibakteri dilakukan terhadap *bacillus subtilis* dan uji antioksidan dilakukan dengan metoda DPPH. Implementasi asap cair sebagai pengawet daging dilakukan dengan melihat pengaruh perendaman terhadap warna, tekstur dan pH daging. Sedangkan uji ketengikan daging dilakukan dengan mengukur perubahan nilai TBA selama penyimpanan. Hasil penelitian diperoleh bahwa asap cair cangkang buah karet terproduk mengandung fenol 0,84%, asam total 4,725%, pH 2,548 serta bobot jenis 1,004. Pada uji antibakteri pada konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20% dan 25%. Dari kelima perlakuan, diperoleh KHM 20% dengan diameter zona hambat 5,21 mm. Uji aktivitas antioksidan menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 101,27 ppm yang dikategorikan sebagai aktivitas antioksidan yang sedang. Pada perendaman daging dengan asap, pengaruh pada warna, tekstur, dan pH daging diperoleh hasil sebagai berikut: warna daging dari merah segar menjadi cokelat dan pucat, tekstur daging dari kenyal menjadi lembek, dan pH mengalami penurunan. Penambahan asap cair cangkang buah karet ke dalam daging sapi mampu menekan terjadinya ketengikan selama penyimpanan yang ditandai dengan menurunnya nilai TBA pada daging yang diberi perlakuan A1 (asap cair 4%) dan A2 (asap cair 6%). Perlakuan tanpa asap cair (A0) mengalami peningkatan nilai TBA dari 0,05 mgMDA/Kg pada hari ke-0 menjadi 0,615 mgMDA/Kg pada hari ke-6. Perlakuan konsentrasi asap cair 4% (A1) mengalami peningkatan dari 0,039 mgMDA/Kg pada hari ke-0 menjadi 0,395 mgMDA/Kg pada hari ke-6. Sedangkan perlakuan konsentrasi asap cair 6% (A2) mengalami peningkatan dari 0,031 mgMDA/Kg pada hari ke-0 menjadi 0,209 mgMDA/Kg pada hari ke-6.

Kata kunci: cangkang buah karet, asap cair, antibakteri, antioksidan, pengawet, ketengikan

PENDAHULUAN

Cangkang buah karet yang merupakan bagian dari buah pohon yang merupakan produk biomasa yang biasanya hanya dibiarkan saja pada lahan perkebunan [1]. Cangkang buah karet belum dimanfaatkan secara optimal oleh masyarakat. Cangkang buah karet dapat dibuat sebagai kerajinan tangan dan bahan

baku pembuatan arang aktif. Ketersediaan cangkang buah karet di Indonesia sangat banyak yang berdasarkan data statistik perkebunan Indonesia 2000 – 2013, satu ha luas lahan dapat ditanami 500 pohon karet, dan satu pohon menghasilkan 800 buah karet per tahun. Satu buah karet berisi 2 – 4 biji dengan bobot rata-rata ber biji $3,95 \pm 0,96$ g per biji. Selain itu, kandungan kimia

seperti selulosa, hemiselulosa dan lignin yang terdapat pada cangkang buah karet memiliki potensi untuk dijadikan asap cair, namun penggunaannya sebagai bahan untuk membuat asap cair masih sangat terbatas. Komponen pada cangkang buah karet terdiri dari hemiselulosa (18,00%), selulosa (61,04%), dan lignin (21,60%) [2].

Asap cair diperoleh dari pengembunan asap hasil penguraian senyawa-senyawa organik pada proses pirolisis [3]. Hasil pirolisis dari senyawa selulosa, hemiselulosa dan lignin diantaranya akan menghasilkan asam organik, fenol, karbonil yang merupakan senyawa yang berperan dalam pengawetan makanan dan antioksidan [4]. Fenol dan asam asetat merupakan antioksidan utama dalam asap cair. Peran antioksidan dari asap cair ditunjukkan oleh senyawa fenol dan asam asetat yang bertindak sebagai donor hidrogen terhadap radikal bebas dan menghambat reaksi rantai [5]. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat memperlambat proses oksidasi di dalam bahan pangan [6].

Asap cair memiliki keunggulan yaitu memiliki aktivitas antibakteri, yang dikarenakan adanya fenol dan asam asetat[7]

Daging mudah mengalami pembusukan disebabkan adanya aktivitas antibakteri. Daging mudah mengalami kerusakan karena memiliki kadar air yang tinggi (sekitar 68-75%), karbohidrat yang mudah difermentasi, kaya akan mineral, protein, dan pH yang menguntungkan bagi sejumlah bakteri yaitu 5,3-6,5[8]. Daging yang mengalami kerusakan akibat kontaminasi bakteri akan mengalami perubahan warna, bau dan tekstur[9]. Dimana tekstur daging jika ditekan dengan jari akan terasa lunak, apalagi diikuti dengan perubahan warna yang tidak

normal, maka daging tersebut tidak layak dikonsumsi[10]. Pada umumnya daging yang sudah tidak segar mempunyai pH yang lebih tinggi[11]. Salah satu bakteri yang banyak mengkontaminasi daging adalah bakteri *Bacillus subtilis*.

Bacillus subtilis adalah salah satu bakteri proteolitik gram positif yang berperan dalam pembusukan bahan-bahan berprotein. Pada proses pembusukan daging, mikroorganisme yang menghasilkan enzim proteolitik mampu merombak protein yang biasa disebut denaturasi protein. Protein yang berubah menjadi peptida atau asam-asam amino mengakibatkan bau busuk pada bahan pangan karena terbentuknya sulfida, amonia, methyl sulfida, amin dan senyawa yang lainnya[12].

Daging juga merupakan bahan pangan yang mudah mengalami oksidasi karena terdapat senyawa-senyawa yang bersifat tak jenuh seperti lemak. Hasil oksidasi lemak dalam bahan pangan akan mengakibatkan rasa dan bau tidak enak yang biasa disebut dengan tengik. Selain itu, oksidasi lemak dalam bahan pangan juga dapat menurunkan nilai gizi, karena kerusakan vitamin (karoten dan tokoferol) dan asam lemak esensial [13].

Salah satu cara untuk mengendalikan atau mencegah terjadinya kerusakan oksidatif adalah dengan menambahkan antioksidan dalam bahan pangan tersebut. Antioksidan sintetis yang biasa digunakan dalam industri pangan adalah BHA dan BHT. Namun, antioksidan sintetis tersebut diduga bersifat karsinogenik karena dapat menimbulkan penyakit kanker [14]. Alternatif lain yang dapat digunakan untuk mencegah atau menghambat reaksi oksidasi dalam bahan pangan adalah dengan cara pengasapan. Pengasapan merupakan salah satu cara pengawetan

yang biasa dilakukan guna mengatasi masalah oksidasi terutama pada ikan dan daging [15].

Pengasapan biasanya dilakukan dengan metode tradisional. Namun, metode ini mempunyai banyak sekali kekurangan, antara lain memerlukan waktu yang lama, tidak efisien dalam penggunaan kayu bakar, sulit mengontrol keseragaman warna dan aroma pada bahan pangan yang diasap, pencemaran lingkungan, dan yang paling berbahaya adalah senyawa Polisiklik Aromatik Hidrokarbon yang terdekomposit dalam makanan sehingga dapat membahayakan bagi kesehatan. Sedangkan, pengasapan menggunakan asap cair memiliki beberapa kelebihan diantaranya adalah penggunaannya lebih praktis, aroma produk lebih seragam, dapat digunakan secara berulang-ulang, lebih efisien menggunakan bahan pengasap, dapat diaplikasikan pada berbagai jenis bahan pangan, polusi lingkungan dapat diperkecil, dan yang paling penting adalah senyawa karsinogenik seperti Polisiklik Aromatik Hidrokarbon yang terbentuk dapat diminimalisir atau dihilangkan [16]

Apituley (2013) dalam penelitiannya menyatakan bahwa asap cair kulit batang sagu dengan konsentrasi 4% mampu menghambat kerusakan oksidatif pada lemak ikan tuna selama penyimpanan yang ditandai dengan terjadinya penghambatan laju peningkatan nilai TBA. Hal yang serupa juga dikemukakan oleh Apituley (2014) yang menyatakan bahwa asap cair kayu putih dengan konsentrasi 2,5% dan 5% mampu menghambat laju peningkatan nilai TBA pada ikan tuna. Menurut Siskos *et al.* (2007), asap cair komersial konsentrasi 2% dalam 2 liter air pengukus *fillet* ikan trout (*Salmo gairdnerii*) yang

dikukus selama 30 menit dapat mengawetkan *fillet* ikan trout sampai 25 hari pada suhu penyimpanan $4\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakterial dan aktivitas antioksidan asap cair cangkang buah karet serta implementasinya sebagai pengawet dan penghambat ketengikan daging.

METODE PENELITIAN

Pembuatan Asap Cair

Pembuatan asap cair dilakukan dengan cara pirolisis. Sebelum dipirolisis, cangkang buah karet dibersihkan terlebih dahulu dengan air bersih untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang menempel. Cangkang buah karet dijemur untuk mengurangi kadar air yang terdapat dalam cangkang buah karet. Cangkang buah karet yang telah kering dipotong-potong menjadi bagian-bagian yang lebih kecil kemudian diambil sebanyak 2000 gram untuk dipirolisis menggunakan alat pirolisis (alat rancang bangun Pendid.IPA FKIP UNIB). Proses pirolisis asap cair dilakukan sampai asap berhenti keluar, yang selanjutnya dilakukan tahap pemurnian asap cair dengan cara sedimentasi selama 7 hari agar tar dapat mengendap, kemudian difiltrasi dengan bantuan kertas Whatmann, dan selanjutnya didestilasi pada rentang suhu 200°C . Uap yang terbentuk lalu masuk ke dalam kondensor dan destilat ditampung dalam erlenmeyer. Kemudian dilakukan distilasi ulang (redistilasi) untuk meminimalisir kandungan PAH dalam asap cair.

Uji kualitatif senyawa fenol dilakukan dengan cara menambahkan FeCl_3 1% [10]. Uji positif ditandai dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat [17]. Uji Kadar fenol asap cair

cangkang buah karet dilakukan dengan menggunakan metode Folin-ciocalteu. Penentuan kadar asam total asap cair cangkang buah karet dilakukan dengan menggunakan metode titrasi asam. Pengukuran pH asap cair dilakukan dengan menggunakan pH meter dan pengukuran bobot jenis asap cair menggunakan piknometer.

Uji antibakteri dilakukan menggunakan metode kertas cakram dengan konsentrasi asap cair cangkang buah karet yaitu 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%. Kontrol positif menggunakan kloramfenikol 2%, dan kontrol negatif menggunakan aquadest. Uji antibakteri dilakukan dengan cara menambahkan 10 µl larutan sampel pada kertas cakram yang sudah steril dan selanjutnya diinkubasi dengan posisi terbalik selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya diamati diameter zona bening pada media. Perbedaan yang signifikan dari pengaruh konsentrasi terhadap diameter zona hambat dilakukan uji One Way ANOVA.

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Dipipet 1 mL asap cair dengan berbagai konsentrasi ditambahkan 1 mL DPPH 40 ppm dan ditambahkan 2 mL metanol. Kemudian larutan uji diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan diukur panjang gelombang maksimum.

Pada tahap selanjutnya yaitu implementasi asap cair sebagai pengawet daging yang bertujuan untuk melihat pengaruh perendaman asap cair terhadap warna, tekstur dan pH. Daging direndam asap cair dengan variasi waktu selama 5 menit, 10 menit, dan 15 menit dan diamati pada waktu 2 jam, 4 jam, 6 jam, dan 24 jam.

Uji ketengikan pada setiap sampel penelitian yang telah diberi perlakuan

adalah dengan menggunakan analisis intensitas ketengikan dengan metode TBA yang dinyatakan dalam jumlah Malonaldehid (MDA)/kg sampel dalam unit awal [18].

Angka TBA dihitung dan dinyatakan dalam mg malonaldehid/kg sampel. Perhitungan angka TBA sesuai dengan rumus:

$$\text{Angka TBA} = \frac{3 \times A \times 7,8}{\text{Massa Sampel (g)}}$$

Keterangan:

Bilangan TBA : 7,8

A : Absorbansi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Asap Cair

Sampel kering cangkang buah karet sebanyak 2 kg dipirolisis membutuhkan waktu selama ±12 jam. Hasil kondensasi berupa asap cair yang masih bercampur dengan tar dan banyaknya asap cair yang dihasilkan dari pirolisis adalah 815 mL Hasil pirolisis ini kemudian dilakukan pengendapan dan selanjutnya dilakukan destilasi dan redestilasi. Produk asap cair dilihat dari warna, volume, dan rendemen dapat dilihat pada tabel 1.

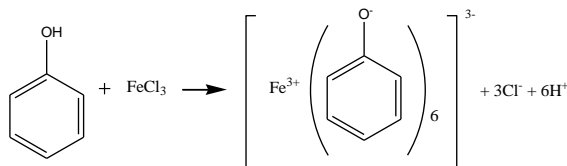
Tabel 1. Hasil Asap Cair Dari Berbagai Proses

Proses	Warna	Volume	Rendemen
Pirolisis	Cokelat kehitaman	815 mL	42,1%
Sedimentasi	Cokelat terang	800 mL	42%
Destilasi	Kuning keruh	736 mL	37,5%
Redestilasi	Kuning bening	716 mL	36,2%

Asap cair dari berbagai proses mengalami perubahan warna, volume, dan rendemen asap cair. Hal ini diduga berkurangnya senyawa PAH dan tar yang terkandung dalam asap cair.

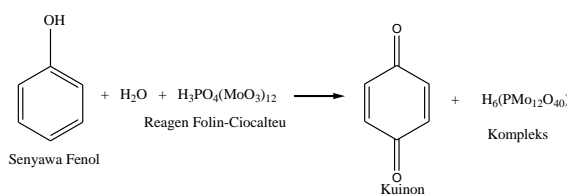
Hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa sampel asap cair mengandung

senyawa fenol karena memberikan warna hitam ketika ditambahkan larutan FeCl_3 . Perubahan warna terjadi ketika penambahan FeCl_3 yang bereaksi dengan gugus hidroksil yang ada pada senyawa fenol.



Gambar 1. Reaksi Antara Fenol Dengan FeCl_3 [19]

Penentuan kadar fenol ini dilakukan menggunakan reagen Folin Ciocalteu dan sebagai standarnya digunakan fenol murni. Penentuan kandungan total fenol dengan metode Folin-Ciocalteu dilakukan berdasarkan kemampuan reagen Folin-Ciocalteu mengoksidasi gugus hidroksil (OH) dari senyawa golongan fenol.



Gambar 2. Reaksi Senyawa Fenol dengan Reagen Folin-Ciocalteu [20]

Prinsip uji ini adalah reaksi oksidasi-reduksi dalam suasana basa menggunakan reagen Folin-Ciocalteu dan natrium karbonat. Senyawa fenol akan berubah menjadi ion fenolat dalam suasana basa. Ion fenolat dibentuk melalui disosiasi proton dalam suasana basa yang didapatkan dari suatu senyawa alkali. Senyawa alkali yang digunakan adalah natrium karbonat. Ion fenolat yang terbentuk akan mereduksi asam fosfomolibdat-fosfotungstat dalam reagen Folin-Ciocalteu selama proses oksidasi fenol menjadi senyawa kompleks *molybdenum-tungsten* berwarna biru [21]. Pada saat reaksi berlangsung terjadi

reduksi ion molybdenum (Mo^{6+}) menjadi Mo^{5+} yang menyebabkan warna larutan berubah dari kuning menjadi biru [22]. Perubahan warna inilah yang akan digunakan sebagai indikator adanya senyawa fenol dalam sampel.

Penentuan kadar fenol asap cair cangkang buah karet dilakukan dengan mengukur panjang gelombang maksimum terlebih dahulu menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengukur absorbansi pada rentang panjang gelombang 600-800 nm. Rentang panjang gelombang tersebut dipilih karena larutan yang warna komplementernya berwarna biru-hijau berada pada rentang panjang gelombang 600-800 nm. Panjang gelombang maksimum terdapat pada panjang gelombang 766 nm. Panjang gelombang 766 nm yang akan digunakan untuk pengukuran absorbansi sampel. Selanjutnya, dibuat kurva standar fenol dari fenol murni. Kurva standar ini dibuat sebagai pembanding ekivalen senyawa fenol yang terdapat pada sampel yang diuji. Pembuatan kurva standar berguna untuk menentukan kadar fenol dalam sampel melalui persamaan regresi yang didapat dari kurva standar.

Total kandungan senyawa fenol pada asap cair ditentukan berdasarkan persamaan regresi yang telah didapatkan pada kurva standar fenol. Berdasarkan persamaan yang telah didapatkan, dapat diketahui nilai x atau konsentrasi fenol total dengan memasukkan nilai absorbansi sampel asap cair rata-rata ke $-y$. Didapatlah kadar fenol sebesar 4800 ppm atau 0,84%.

Nilai pH merupakan salah satu parameter kualitas dari asap cair yang dihasilkan. Nilai pH ini menunjukkan tingkat proses

penguraian komponen cangkang buah karet untuk menghasilkan asam organik pada asap cair. Semakin tinggi kadar fenol dan asam asetat dari asap cair, maka semakin rendah pula nilai pH dari asap cair tersebut. Bila asap cair memiliki nilai pH yang rendah, maka kualitas asap cair yang dihasilkan tinggi karena secara keseluruhan berpengaruh terhadap nilai awet dan daya simpan daging sapi yang diasap menggunakan asap cair. Pengukuran nilai pH ini dilakukan dengan menggunakan alat pH meter. Hasil pengukuran pH pada asap cair cangkang buah karet 2,548.

Kadar asam merupakan salah satu sifat kimia yang menentukan kualitas dari asap cair. Senyawa asam organik terbentuk dari pirolisis komponen-komponen kayu seperti hemiselulosa dan selulosa pada suhu tertentu [23]. Pada penelitian ini kadar asam ditentukan dengan metode asam tertitrisasi yang dihitung sebagai kadar asam asetat dalam asap cair karena asam asetat merupakan kandungan utama asam. Asam organik yang berperan sebagai antioksidan pada asap cair adalah asam asetat. Senyawa –senyawa asam pada asap cair memiliki sifat sebagai antioksidan karena mampu mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas. Pada penelitian ini kadar asam yang diperoleh adalah sebesar 4,725%.

Hasil pengukuran kadar fenol, pH, dan kadar asam total asap cair dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Uji Kuantitatif Asap Cair

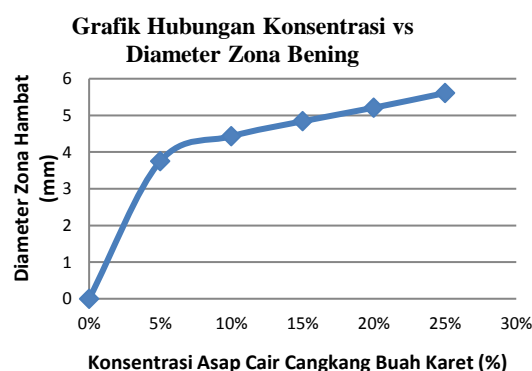
Parameter Asap Cair	Hasil
pH	2,548
Kadar fenol	0,84%
Kadar asam total	4,725%
Bobot jenis	1,004

Pada pengukuran pH asap cair dan bobot jenis asap cair sudah mengikuti

persyaratan wood vinegar Jepang. Menurut wood vinegar Jepang persyaratan pH asap cair yaitu antara 1,5-3,7 dan bobot jenis asap cair yaitu 1,001-1,004.

Uji Antibakteri

Hubungan konsentrasi asap cair terhadap diameter zona bening dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Grafik Hubungan Konsentrasi Asap Cair Dengan Diameter Zona Bening

Pada gambar 1, diameter zona bening meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi asap cair. Semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar diameter zona beningnya. Dari diameter zona bening dapat ditentukan respon hambatan pertumbuhan bakterinya berdasarkan tabel 3.

Berdasarkan tabel 3 dapat diklasifikasikan bahwa pada kontrol positif memiliki respon hambatan bakteri sangat kuat dengan diameter zona bening 31,44 mm, sedangkan pada kontrol negatif tidak memiliki respon hambatan bakteri. Pada penambahan konsentrasi asap cair 5% memiliki respon hambatan bakteri tergolong lemah dengan diameter zona bening 3,75 mm, pada konsentrasi asap cair 10% memiliki respon hambatan bakteri tergolong lemah dengan diameter zona bening 4,43 mm, pada konsentrasi asap 15% memiliki respon hambatan bakteri tergolong lemah dengan diameter zona bening 4,84 mm.

Tabel 3. Respon Hambatan Bakteri

Diameter Zona Bening	Respon Pertumbuhan Bakteri
< 5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
10-20 mm	Kuat
>20 mm	Sangat kuat

Pada konsentrasi asap 20% memiliki respon hambatan bakteri tergolong sedang dengan diameter zona bening 5,21 mm dan untuk konsentrasi asap cair 25% memiliki respon bakteri tergolong sedang dengan diameter zona bening 5,61 mm.

Berdasarkan data yang diperoleh, telah diketahui bahwa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada konsentrasi 20% memiliki respon hambatan bakteri tergolong sedang. Selain itu setelah diketahui KHM dari asap cair ini selanjutnya akan diimplementasi pada daging sehingga pemilihan KHM asap cair yaitu pada konsentrasi 20%.

Terjadinya dayaambat pertumbuhan bakteri dapat dijelaskan karena adanya kandungan senyawa fenol dan asam dalam asap cair. Senyawa fenol dapat merusak dinding bakteri dengan memutuskan ikatan peptidoglikan. Fenol diduga dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan sel bakteri, sehingga lapisan sel tidak terbentuk secara utuh. Senyawa fenol dan turunannya mudah membentuk kompleks protein melalui ikatan hidrogen. Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein-fenol dengan ikatan lemah dan segera mengalami penguraian ke dalam sel sehingga terjadinya denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan sel mengalami lisis [24]. Asam asetat dalam asap cair juga mempunyai peranan penting sebagai antibakteri. Hal ini dikarenakan asam asetat dapat menyebabkan destabilisasi

bermacam-macam fungsi dan struktur komponen sel.

Berdasarkan uji ANOVA, diperoleh Fhitung (10,96) > Ftabel (3,49), Maka H_0 ditolak, yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan dari pengaruh konsentrasi terhadap diameter zona hambat. Semakin tinggi asap cair cangkang buah karet, maka semakin besar zona hambat dari pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

Uji Antioksidan Asap Cair

Metode yang digunakan pada penentuan aktivitas antioksidan asap cair cangkang buah karet adalah menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil). Metode DPPH ini menggunakan DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil) sebagai radikal bebas. Metode ini dipilih karena metodenya sederhana, cepat, dan mudah untuk skrining aktivitas penangkapan radikal beberapa senyawa, selain itu metode ini terbukti akurat dan praktis [25].

Absorbansi DPPH yang terukur adalah absorbansi dari DPPH yang tersisa setelah direaksikan dengan larutan uji. Dari nilai absorbansi DPPH sisa dapat diketahui aktivitas antioksidan tiap larutan uji dalam menghambat radikal bebas DPPH. Dari nilai absorbansi yang diperoleh lalu dihitung persen inhibisi (peredaman) terhadap radikal bebas DPPH, yaitu besarnya aktivitas senyawa antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas DPPH. Nilai absorbansi yang diperoleh dihitung persen inhibisinya dengan rumus:

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{abs DPPH kontrol} - \text{Abs DPPH sisa}}{\text{Abs DPPH kontrol}} \times 100\%$$

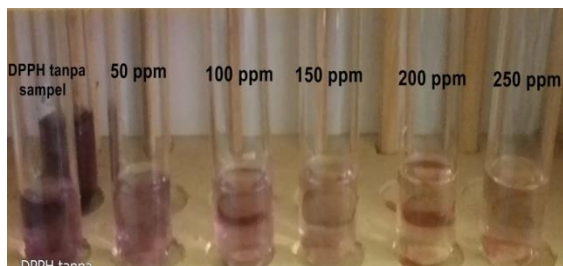
Absorbansi kontrol (blanko) = absorbansi DPPH tanpa penambahan larutan uji
 Absorbansi DPPH sisa = absorbansi DPPH setelah penambahan larutan uji

Besar aktivitas antioksidan asap cair cangkang buah karet dapat ditentukan dari

nilai *inhibitor concentration* 50% (IC_{50}). IC_{50} merupakan nilai yang menunjukkan konsentrasi sampel yang mampu menghambat aktivitas radikal sebesar 50% [26]. Masing-masing nilai % inhibisi dan konsentrasi yang telah diketahui diplot pada grafik sehingga didapat persamaan linier $y = mx + c$ dengan mengganti nilai y dengan 50 dari persamaan garis linier, maka akan didapat nilai x yang merupakan nilai IC_{50} .

Nilai IC_{50} yang didapatkan dari persamaan garis lurus sebesar 101,27 ppm. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin kuat aktivitas antioksidan senyawa tersebut. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} bernilai kurang dari 50 ppm, aktif jika bernilai 50-100 ppm, sedang jika bernilai 101-250 ppm dan lemah jika bernilai 250-500 ppm. Nilai IC_{50} yang diperoleh dapat dikatakan bahwa asap cair cangkang buah karet mempunyai aktivitas antioksidan yang sedang.

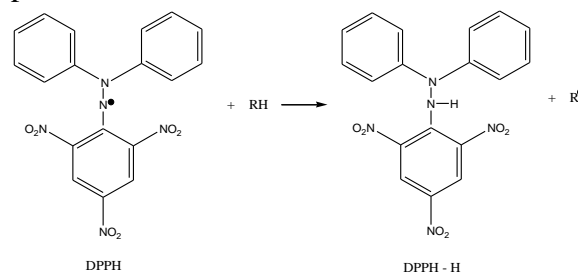
Perubahan warna sampel uji juga dapat dijadikan parameter untuk melihat aktivitas antioksidan dari suatu sampel.



Gambar 3. Warna Larutan Uji (Asap Cair Cangkang Buah Karet) Setelah Direaksikan Dengan DPPH.

Terjadinya penurunan absorbansi dan perubahan warna pada sampel uji menandakan adanya elektron atau atom hidrogen yang disumbangkan larutan uji sebagai antioksidan ke DPPH. Semakin tinggi konsentrasi larutan uji berarti semakin banyak elektron atau atom

hidrogen yang akan disumbangkan kepada radikal bebas DPPH. Reaksi yang terjadi antara radikal DPPH dan senyawa antioksidan secara umum dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Reaksi Peredaman Radikal DPPH oleh Senyawa Antioksidan

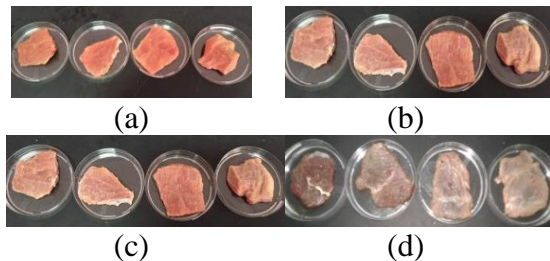
Berdasarkan Gambar 4 menunjukkan bahwa senyawa antioksidan (RH) melepas atom hidrogen menjadi radikal senyawa antioksidan (R^*). DPPH merupakan radikal bebas yang direaksikan dengan senyawa antioksidan dan menjadi DPPH bentuk tereduksi (DPPH-H). Mekanisme penangkapan radikal DPPH, yaitu melalui donor atom H dari senyawa antioksidan yang menyebabkan peredaman warna radikal pikrihidrazil yang berwarna ungu menjadi pikrihidrazil berwarna kuning yang nonradikal.

Uji Asap Cair Sebagai Pengawet Daging

Pada tahap selanjutnya yaitu implementasi asap cair sebagai pengawet daging yang bertujuan untuk melihat pengaruh perendaman asap cair terhadap warna, tekstur dan pH daging yang direndam asap cair dengan variasi waktu selama 5 menit, 10 menit, dan 15 menit dan diamati pada waktu 2 jam, 4 jam, 6 jam, dan 24 jam. Berdasarkan penelitian diperoleh pengaruh perendaman asap cair terhadap warna daging dapat dilihat pada gambar 2 dan tabel 4.5

Dapat dilihat pada tabel 5 pengaruh perendaman asap cair terhadap warna yaitu warna daging berubah menjadi cokelat dan pucat. Perubahan warna menjadi pucat dikarenakan senyawa karbonil didalam asap

cair yang merupakan komponen utama dalam menghasilkan warna coklat sehingga ketika daging direndam menggunakan daging maka senyawa karbonil diserap oleh daging sehingga daging berubah warna menjadi coklat. Perubahan daging menjadi pucat yaitu protein mioglobin yang berperan dalam pembentukan warna daging yang cerah terlarut bersama larutan asap cair yang mengandung senyawa volatil yaitu asam dan fenol. Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh perendaman asap cair terhadap tekstur dapat dilihat pada tabel 6



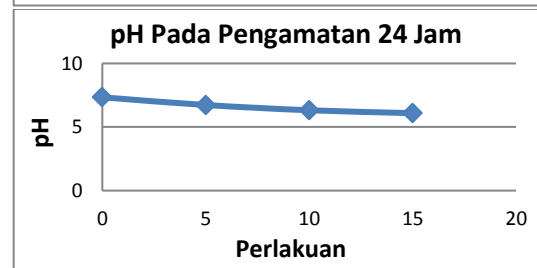
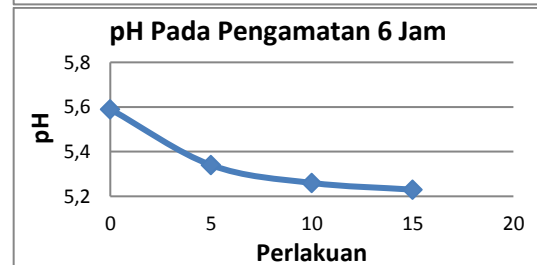
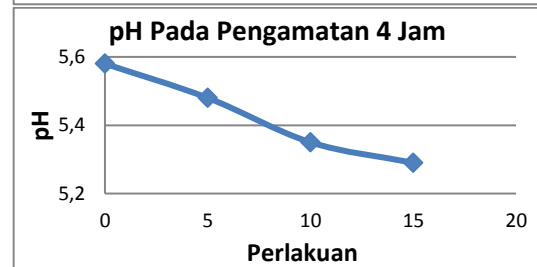
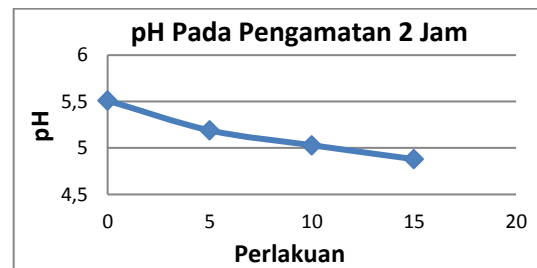
Gambar 4.14 Pengamatan Daging Pada Waktu 2 Jam (a), 4 Jam (b), 6 Jam (c), 24 Jam (d) yang Dilihat Dari Kiri ke Kanan (Perlakuan Kontrol, Perendaman 5 Menit, Perendaman 10 Menit, dan Perendaman 15 Menit)

Tabel 5. Pengaruh Perendaman Asap Cair Terhadap Warna Daging

Perlakuan	Warna daging			
	2 jam	4 jam	6 jam	24 jam
Kontrol	Merah terang	Merah terang	Merah terang	Merah terang
5 menit	Merah pucat	kecoklatan dan sedikit pucat	kecoklatan dan sedikit lebih pucat	kecoklatan dan lebih pucat
10 menit	Merah dan berwarna lebih pucat	Kecoklatan dan sedikit pucat	Kecoklatan dan sedikit lebih pucat	Kecoklatan dan lebih pucat
15 menit	coklat kehijauan	Coklat kehitaman dan pucat	Coklat kehitaman dan pucat	Coklat kehitaman dan sedikit lebih pucat

Tabel 6. Pengaruh Perendaman Asap Cair Terhadap Tekstur Daging

Perlakuan	Warna daging			
	2 jam	4 jam	6 jam	24 jam
Kontrol	Kenyal	Kenyal	Sedikit lembek	Lunak dan hancur
5 menit	Kenyal	Kenyal	Sedikit lembek	Lembek
10 menit	Kenyal	Kenyal	Sedikit lembek	Lembek
15 menit	Kenyal	Kenyal	Sedikit lembek	Lembek



Gambar 4.15 Grafik pH Daging Yang Diamati Pada Waktu 2 Jam (a), 4 Jam (b), 6 Jam (c), dan 24 Jam (d)

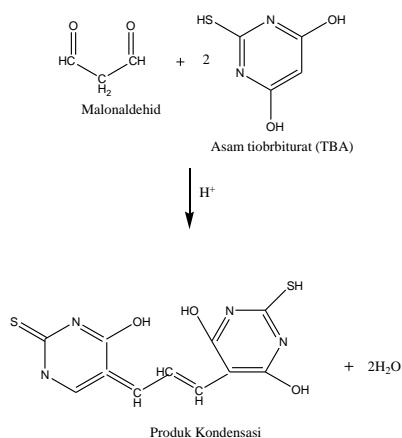
Dapat dilihat pada tabel 6 pengaruh perendaman asap cair terhadap tekstur daging yaitu dengan seiringnya waktu menjadi lembek. Hal ini berarti terjadinya

penurunan tekstur yang disebabkan oleh oleh aktivitas mikroorganisme yang mendegradasi protein menjadi senyawa yang lebih sederhana dan menyebabkan kemampuan protein untuk mengikat air akan semakin menurun. Untuk melihat pengaruh perendaman asap cair terhadap pH daging yaitu dapat dilihat pada gambar 3.

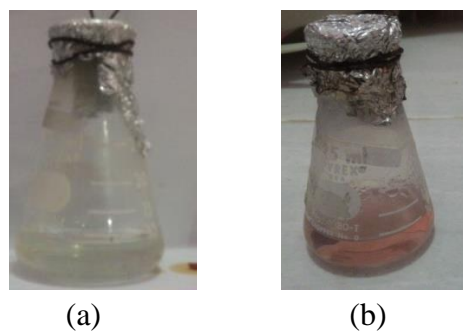
Dapat dilihat pada gambar 3 secara keseluruhan pengaruh perendaman asap cair terhadap pH daging yaitu mengalami penurunan. Hal ini dikarenakan terdapat senyawa asam yang terkandung dalam asap cair mampu menurunkan pH daging, karena komponen asap yang melekat pada daging mempunyai sifat asam

Uji Ketengikan Daging

Uji ketengikan pada setiap sampel penelitian adalah menggunakan analisis intensitas ketengikan dengan metode TBA. Uji TBA merupakan uji spesifik yang dipakai untuk menentukan ketengikan. Lemak yang tengik akan bereaksi dengan asam tiobarbiturat menghasilkan warna merah muda. Pengujian yang dilakukan berdasarkan atas terbentuknya pigmen berwarna merah muda sebagai hasil dari reaksi kondensasi antara 2 molekul TBA dengan 1 molekul malonaldehid.

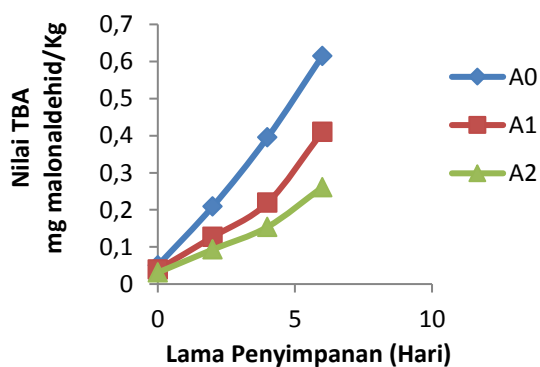


Gambar 5. Reaksi Antara Asam 2-Tiobarbiturat (TBA) Dengan Malonaldehid (MA) Menghasilkan Senyawa Berwarna [27]



Gambar 6 (a) Distilat Daging Direaksikan Dengan Reagen TBA Sebelum Dipanaskan **(b)** Setelah Dipanaskan

Salah satu faktor terjadinya pembentukan malonaldehid adalah banyaknya lemak jenuh pada jaringan daging sapi. Semakin banyak lemak jenuh pada jaringan daging sapi maka akan semakin banyak malonaldehid yang terbentuk. Besar kecilnya nilai TBA dipengaruhi oleh banyaknya malonaldehid yang terbentuk. Semakin banyak malonaldehid yang terbentuk maka semakin banyak pula malonaldehid yang akan bereaksi dengan reagen TBA. Reaksi antara 1 molekul malonaldehid dengan 2 molekul TBA akan membentuk warna merah muda. Intensitas warna merah muda yang terbentuk akan menentukan ketengikan suatu sampel. Semakin pekat warna merah muda yang terbentuk maka akan semakin tengik suatu sampel tersebut. Hal ini bisa diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 528 nm.



Gambar 7. Kenaikan Nilai TBA

Berdasarkan Gambar 7 dapat dilihat bahwa peningkatan nilai TBA pada daging sapi yang tidak diberi perlakuan (kontrol/A0) berlangsung lebih cepat dibandingkan dengan yang diberi perlakuan pengasapan asap cair cangkang buah karet dengan konsentrasi 4% (A1) dan 6% (A2). Nilai TBA daging sapi tanpa asap cair (Kontrol/A0) dengan yang diberi perlakuan konsentrasi asap cair 4% (A1) dan 6% (A2) mengalami peningkatan selama penyimpanan. Perlakuan tanpa asap cair (A0) mengalami peningkatan nilai TBA dari 0,05 pada hari ke-0 menjadi 0,615 pada hari ke-6. Perlakuan konsentrasi asap cair 4% (A1) mengalami peningkatan dari 0,039 pada hari ke-0 menjadi 0,395 pada hari ke-6 sedangkan perlakuan konsentrasi asap cair 6% (A2) mengalami peningkatan dari 0,031 pada hari ke-0 menjadi 0,209 pada hari ke-6. Terjadinya peningkatan nilai TBA pada perlakuan A0 tersebut menunjukkan bahwa selama waktu penyimpanan telah terjadi degradasi atau kerusakan lemak pada jaringan daging sapi yang dapat menghasilkan malonaldehida (MDA), sedangkan daging sapi yang diberi perlakuan A1 dan A2 jika dibandingkan dengan A0 menunjukkan menurunnya nilai TBA hal ini disebabkan antioksidan yang terdapat dalam asap cair cangkang buah karet berikatan dengan senyawa peroksida yang dihasilkan dari proses oksidasi lemak yang menyebabkan terbentuknya senyawa yang stabil dan tidak reaktif. Akibatnya, pembentukan senyawa hidroperoksida yang menyebabkan ketengikan daging sapi dapat dihambat yang ditunjukkan dengan rendahnya nilai TBA. Batas ambang nilai TBA yaitu 1-2 mgMDA/Kg. [27], Angka TBA yang diterima pada makanan adalah tidak lebih dari 2,0 mgMDA/Kg sampel

[28]. Tipe makanan yang berbeda memiliki angka TBA yang berbeda pula untuk ambang batang ketengikan sebagai contoh nilai TBA daging sapi dan babi adalah 0,5-1,0 dan 0,6-2,0 mgMDA/Kg [29].

Daging sapi yang tidak diberi perlakuan (A0) sudah mengalami ketengikan dengan nilai TBA sebesar 0,615 mgMDA/Kg pada hari ke-6 sedangkan daging sapi yang diberi perlakuan pengasapan cair dengan konsentrasi asap cair sebesar 4% (A1) dan 6% (A2) belum mengalami ketengikan dengan nilai TBA berturut-turut sebesar 0,395 mgMDA/Kg dan 0,209 mgMDA/Kg pada hari ke-6. Berdasarkan data tersebut dapat dikatakan bahwa cangkang buah karet mampu menekan terjadinya ketengikan daging sapi selama penyimpanan yang ditandai dengan rendahnya nilai TBA.

SIMPULAN

1. Cangkang buah karet dapat dibuat menjadi asap cair dengan hasil Kadar fenol yaitu sebesar 8400 ppm, Kadar asam total sebesar 4,725%, dan untuk pH asap cair yaitu 2,548 dan bobot jenis 1,004.
2. Pemberian asap cair cangkang buah karet (*Hevea brasiliensis*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Semakin tinggi konsentrasi asap cair maka semakin besar daya hambatnya.
3. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) asap cair cangkang buah karet terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* yaitu pada konsentrasi 20% dengan diameter zona bening 5,21 mm.
4. Asap cair cangkang buah karet mampu menurunkan jumlah radikal bebas DPPH dengan IC₅₀ sebesar 101,27. Berdasarkan nilai IC₅₀ yang didapatkan

dapat dikatakan bahwa antioksidan asap cair cangkang buah karet tergolong sedang.

5. Perendaman asap cair cangkang buah karet dapat mempengaruhi warna, tekstur, dan pH daging. Warna daging yang direndam asap cair menjadi kecoklatan dan pucat. Tekstur daging yang direndam asap cair menjadi sedikit lembek dan daging yang direndam menggunakan asap cair mengalami penurunan pH.
6. Penambahan asap cair cangkang buah karet ternyata mampu menekan terjadinya ketengikan daging sapi selama penyimpanan yang ditandai dengan menurunnya nilai TBA. Konsentrasi asap cair cangkang buah karet sebesar 4% sudah mampu menekan tingkat ketengikan daging sapi.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Koharudin, Ilman. 2016. *Pembuatan Papan Partikel dari Cangkang Buah Karet (Hevea Brasiliensis) dengan Perekat Limbah Plastik Polipropilena*. Skripsi. Bengkulu: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu.
- [2] Prasetyo Amrih dan endriyanto. 2010. *Kualitas Daging Sapi Dan Domba Segar Yang Disimpan Pada Suhu Dingin Dengan Pengawet Asap Cair*. *Teknologi Peternakan*.
- [3] Prasetyowati, dkk. 2014. *Pembuatan Asap Cair dari Cangkang Buah Karet Sebagai Koagulan Lateks*. *Jurnal Teknik Kimia* No. 4, Vol. 20: 14-17.
- [4] Darmadji, Purnama dan Huda Triyudiana. 2006. *Proses pemurnian Asap Cair dan Simulasi Akumulasi Kadar Benzopyrene pada Proses Perendaman Ikan*. *Agritech* Vol.26 No. 2: 74-82.
- [5] Tamaela, P. 2003. *Efek Antioksidan Asap Cair Tempurung Kelapa untuk Menghambat Oksidasi Lipid pada Steak Ikan Cakalang (Katsuvonus pelamis) Asap Selama Penyimpanan*. *Journal Ichtryos*. Vol. 2 No. 2 Hal 59-62.
- [6] Cahyadi, Wisnu. 2012. *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta: Bumi Aksara. ISBN 979-010-464-8.
- [7] Soeparno. 1994. *Ilmu dan Teknologi Pangan*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada Press ISBN 978-602-262-212-3.
- [8] Astawan, M. 2008. *Khasiat Warna Warni Makanan*. Jakarta. PT. GramediaPustaka Utama ISBN 9789792236071.
- [9] Ray, B. 1993. *Food Biopreservative of Microbiology Origins*. CRC, Tokyo. P :1-201.
- [10] Haryuni, R. Dini., Suranto., Ratna Setyaningsih. 2003. *Pengaruh Rempah-Rempah terhadap Kualitas Fillet Ikan Mas (Cyprinus carpio L.)*. *Enviro* 3(1):10-17.
- [11] Arniansyah, Yulien., Dede Z. Arif., Sumartini. 2016. *Respon Daya Hambatan Bakteri Bacillus subtilis dan Pseudomonas aeruginosa dengan Menggunakan Lengkuas Merah (Alpina purpurata) yang Diaplikasikan Pada Ikan Nila (Oreochromis niloticus)*. *Fakultas Teknik UNPAS*. <http://repository.unpas.ac.id>
- [12] Suryaningsih lilis., Wendry S Putranto dan Eliza Prima Tiarasari. 2003. *Perendaman Daging Domba Garut dengan Berbagai Konsentrasi Asap Cair Tempurung Kelapa Terhadap Jumlah Total Bakteri, Daya Awet dan Akseptabilitas*. *Faculty of Animal Husbandry*

- University of Padjadjaran.
<http://repository.unpad.ac.id>
- [13] Ketaren, S. 1986. Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan. Jakarta: Universitas Indonesia (UI-Press). ISBN 979-8034-05-8.
- [14] Kumalaningsih, Sri. 2006. Antioksidan Alami. Surabaya: Trubus Agrisarana. ISBN 979-3842-30-X.
- [15] Apituley, D.A.N dan Darmadji P.(2013). Daya Hambat Asap Cair Kulit Batang Sagu Terhadap Kerusakan Oksidatif Lemak Ikan Tuna (*Thunnus sp*) Asap. AGRITECH Vol.33 No.2: 162-163.
- [16] Utomo, Bagus Sediadi Bandul., Singgih Wibowo., Tri Nugroho Widiyanto. 2012. Asap Cair. Jakarta. Penebar Swadaya.
- [17] Harborne. 1987. Metode Fitokimia. Bandung: Penerbit ITB.
- [18] Sudarmadji, Slamet, et al. 2007. Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada. ISBN 979-499-227-5.
- [19] Arum, Y.P, Supartono dan Sudarmin.2012. Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) Jurnal MIPA 35(2)165-174. ISSN NO 0215-9945.
- [20] Hardiana, Ricki., Rudiyanasyah., Zaharah, Titin Anita. 2012. Aktivitas Antioksidan Senyawa Golongan Fenol dari Beberapa Jenis Tumbuhan Famili Malveceae. JKK 1(1) 8-13 ISSN 2303-1077.
- [21] Hacı, I.A.E., Didi, A., Bekkara, F.A., Gherib,M. 2009. In Vitro Antioxidant Activiy and Total Phenolic Contents in Methanol Crude Extrack From The Algerian Medicinal Plant *Limoniastrum feii*. Scientific Study and Research
- [22] Prior, R.L., Wu, x., Schaich, K. 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements J. Agric. Food Chem, 53, 4290-4302.
- [23] Arizona, Rizki., S, Edi., E, Yuni. 2011. Pengaruh Konsentrasi Asap Cair dan Lama Penyimpanan terhadap Kualitas Kimia dan Fisik Daging. Buletin Peternakan Vol.35(1): 50-56 ISSN 0126-4400.
- [25] Prakash, A., Rigelhof, F., Miller, E. 2001. Antioxidant Activity. Medallion Laboratories: Analithycal Progress. Vol.19 NO. 2:1-4.
- [26] Molyneux P. 2004. The Use of Stable Free Radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. Songklanakarın J Sci Technol Vol.26 No. 2: 211-219.
- [27] Rohman, Abdul. 2013. Analisis Komponen Makanan. Yogyakarta: Graha Ilmu. ISBN 978-979-756-920-4.
- [28] Shambareger, R.S, B.A Shamberger, C.E Willis. 1997. Malonaldehyde Content of Food. J.Nurt, 107,1404-1409.
- [29] xoTarladgis, B.G, B.M. Watts, M.T. Younathan. 1960. A Distillation Method for The Quantitative Determination of Malonaldehyde in Rancid Foods. Journal Amer. Oil Chem.Sol; 37-34.

Sumpono,
Uji Aktivitas Antibakterial