# TOTAL BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL), AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, DAN PENERIMAAN YOGHURT SINBIOTIK DENGAN PENAMBAHAN EKSTRAK DAUN BINAHONG

(Anredera cordifolia (Ten.) Steenis)

#### **Proposal Penelitian**

disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Program Studi Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro



disusun oleh:

RASTRI PUJI LESTARI

22030113120057

PROGRAM STUDI ILMU GIZI
DEPARTEMEN GIZI FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2017

i

#### HALAMAN PENGESAHAN

Proposal penelitian dengan judul "Total Bakteri Asam Laktat (BAL), Aktivitas Antioksidan, dan Penerimaan Yoghurt Sinbiotik dengan Penambahan Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)" telah dipertahankan di hadapan reviewer dan telah direvisi.

#### Mahasiswa yang mengajukan

Nama : Rastri Puji lestari

NIM : 22030113120057

Fakultas : Kedokteran

Program Studi : Ilmu Gizi

Universitas : Diponegoro Semarang

Judul Proposal : Total Bakteri Asam Laktat (BAL), Aktivitas Antioksidan, dan

Penerimaan Yoghurt Sinbiotik dengan Penambahan Ekstrak

Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis)

Semarang, 29 Mei 2017

Pembimbing I, Pembimbing II,

Ninik Rustanti, S.TP, M.Si Choirun Nissa, S.Gz., M.Gizi

NIP. 197806252010122002 NIP. 198505032014042001

# **DAFTAR ISI**

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR LAMPIRAN	v
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Landasan Teori	5
B. Kerangka Konsep	14
C. Hipotesis	14
BAB III METODE PENELITIAN	15
A. Ruang Lingkup Penelitian	15
B. Rancangan Penelitian	15
C. Sampel	16
D. Variabel dan Definisi Operasional	16
E. Tahapan Penelitian	17
F. Pengumpulan Data	19
G. Analisis Data	19
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

# DAFTAR TABEL

Tabel 1. Standart Mutu Karagenan Murni

# **DAFTAR LAMPIRAN**

- Lampiran 1. Alur Kerja
- Lampiran 2. Prosedur Pembuatan Ekstrak Daun Binahong
- Lampiran 3. Pembuatan Yoghurt Sinbiotik dengan Penambahan Ekstrak Daun Binahong
- Lampiran 4. Prosedur Uji Total BAL
- Lampiran 5. Prosedur Uji Aktivitas Antioksidan
- Lampiran 6. Uji Penerimaan

#### **BABI**

#### **PENDAHULUAN**

#### A. Latar Belakang

Prevalensi sindrom metabolik di beberapa negara maju dan berkembang semakin meningkat, yaitu sebesar 7,9 - 43,6% pada pria dan 7 – 56,7% pada wanita¹. Data *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) 2003-2012 prevalensi sindrom metabolik di Amerika Serikat rata-rata sebesar 33%, yaitu kejadian pada perempuan sebesar 35.6%, laki-laki sebesar 30.3%². Prevalensi sindrom metabolik di Jakarta sebesar 24,8%, masing-masing pada perempuan sebesar 30,4%, laki-laki sebesar 25,4 %³. Sindrom metabolik didefinisikan *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III* (NCEP/ATP III), yaitu apabila seseorang memiliki 3 kriteria atau lebih dari data berikut; lingkar pinggang lebih besar dari 102 cm pada pria atau lebih besar dari 88 cm pada wanita, tingkat serum trigliserida dari 150 mg/dL atau lebih besar, tingkat kolesterol *high-density lipoprotein* (HDL) kurang dari 40 mg/dL pada pria atau kurang dari 50 mg/dL pada wanita, tekanan darah sistolik/diastolik dari 130/85 mmHg, atau tingkat glukosa plasma puasa 100 mg/dL atau lebih⁴.

Faktor-faktor risiko yang berperan pada perkembangan sindrom metabolik diantaranya yaitu kelebihan berat badan, kurangnya aktifitas fisik dan diet atau pola makan. Diet yang dilakukan untuk menurunkan angka kejadian sindrom metabolik dapat dilakukan dengan alternatif pemberian diet rendah lemak jenuh dan lemak total; mengurangi konsumsi gula sederhana dan indeks glikemik tinggi; dan peningkatan asupan buah-buahan dan sayuran, serta dapat dilakukan dengan konsumsi makanan atau minuman fungsional <sup>5,6</sup>. Penelitian pengembangan pangan funsional penderita sindrom metabolik sangat diperlukan, terutama dalam hal penggunaan bahan makanan yang terbukti dapat menurunkan berat badan, anti hipertensi, anti hiperlipidemia, dan anti hiperglikemia.

Yoghurt merupakan salah satu minuman fungsional yang terbuat dari susu sapi yang difermentasikan menggunakan bakteri probiotik *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*<sup>7-8</sup>. Probiotik tersebut menghasilkan asam-asam organik seperti asam glukoronat, asam propionat, asam folat, dan asam laktat. Probiotik dalam jumlah 10<sup>6</sup> – 10<sup>8</sup> CFU/g mampu meningkatkan kolesterol HDL, menurunkan kolesterol LDL, kolesterol total dan trigliserida. Prebiotik juga mempunyai efek hipoglikemik sehingga dapat menurunkan status inflamasi pada pasien DM tipe 2<sup>9,10</sup>. Jumlah dan aktivitas BAL dapat ditingkatkan dengan penambahan prebiotik. Kombinasi probiotik dan prebiotik disebut sinbiotik. Pada yoghurt, probiotik dan prebiotik bekerja sinergis<sup>11</sup>. Salah satu prebiotik yaitu inulin. Penambahan inulin dimaksudkan untuk meningkatkan ketahanan hidup dan aktivitas probiotik selama masa simpan. Inulin merupakan serat pangan larut air yang mampu mempengaruhi homeostatis dan penurunan simpanan lemak, trigliserida dan kolesterol<sup>9</sup>.

Penambahan herbal tinggi antioksidan juga diperlukan dalam mencegah progresivitas sindrom metabolik akibat tingginya stress oksidatif karena peningkatan ROS. Antioksidan alami pada bahan pangan yang mengandung komponen flavonoid dapat menghambat enzim yang memproduksi ROS dan mengurangi ROS yang sudah teroksidasi. Pada proses skrining fitokimia diketahui daun binahong (Anredera Cordifolia (ten) Steenis) mengandung flavonoid, saponin, steroid/triterpenoid dan kumarin. Sebuah studi menunjukkan saponin (bousingosida A1) dari daun binahong dapat menghambat pembentukan kolesterol dengan menghambat enzim hidroksi metilglutaril ko-asetat reduktase pada tahap fosforilasi sel. Kandungan saponin pada binahong yaitu sebesar 28.14 mg/g pada daunnya. Pemberian ekstrak daun binahong dapat menurunkan kadar kolestrol darah mencit putih jantan diinduksi makanan tinggi lemak dan propiltiourasil secara signifikan pada dosis 500 mg/kgBBdengan lama pemberian 21 hari<sup>12</sup>.

Bahan tinggi serat juga diperlukan dalam diet sindrom metabolik. Karagenan merupakan jenis polysakarida alami dari rumput laut *Rhodophyceae*. Penelitian pada 344 tikus menunjukkan pemberian pakan yang

mengandung 15% kappa/lambda-carrageenan dari *Gravicela radula* menghasilkan efek penurunan kolestrol secara signifikan<sup>13</sup>. Penambahan karagenan kedalam yoghurt yang bersifat sebagai penstabil, pengemulsi, pengental pembentuk gel dimaksudkan untuk memperbaiki tekstur sehingga meningkatkan penerimaan.

Dengan demikian diperlukan pengembangan produk minuman fungsional bagi penderita sindrom metabolik dalam bentuk yoghurt sinbiotik ditambah dengan ekstrak daun binahong. Penambahan ekstrak daun binahong diharapkan dapat meningkatkan nilai gizi dari yoghurt herbal sinbiotik serta menciptakan sebuah pangan fungsional baru yang bermanfaat bagi penderita sindrom metabolik dengan mutu dan citarasa yang baik.

#### B. Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak daun binahong dalam yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong terhadap total bakteri asam laktat (BAL), aktivitas antioksidan, dan penerimaan?

#### C. Tujuan

#### 1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui total bakteri asam laktat (BAL), aktivitas antioksidan, dan penerimaan yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong

#### 2. Tujuan Khusus

- a. Untuk menganalisis total bakteri asam laktat (BAL) dalam yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ektrak daun binahong.
- b. Untuk menganalisis aktivitas antioksidan dalam yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ektrak daun binahong.
- c. Untuk menganalisis penerimaan dalam yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ektrak daun binahong.

#### D. Manfaat Penelitian

- 1. Memberikan informasi kepada pembaca mengenai yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong sebagai salah satu alternatif minuman fungsional untuk penderita sindrom metabolik.
- 2. Memberikan informasi mengenai inovasi yoghurt herbal sinbiotik.
- 3. Sebagai acuan yang dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya.

#### BAB II

#### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Dasar Teori

#### 1. Sindrom Metabolik

Sindrom metabolik dapat didefinisikan menggunakan kriteria WHO, NCEP/ATP III, dan IDF. Berdasarkan *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III* (NCEP/ATP III), yang telah diperbaharui oleh *American Heart Association*, sindrom metabolik yaitu apabila seseorang memiliki 3 kriteria atau lebih dari data berikut ini; lingkar perut lebih besar dari 102 cm pada pria atau lebih besar dari 88 cm pada wanita; tingkat serum trigliserida lebih dari 150 mg / dL atau lebih besar; tingkat kolesterol *high-density lipoprotein* (HDL) kurang dari 40 mg / dL pada pria atau kurang dari 50 mg / dL pada wanita; tekanan darah sistolik / diastolik dari 130/85 mm Hg; atau tingkat glukosa plasma puasa 100 mg / dL atau lebih<sup>2</sup>.

Menurut WHO, sindrom metabolik didefinisikan jika seseorang mengalami obesitas sentral, hipertrigliserida(diatas 150 mg/dL), hipertensi (140/90 mmHg), terjadi gangguan toleransi glukosa, glukosa puasa dan adanya resistensi insulin atau DM<sup>14</sup>. IDF mendefinisikan sindrom metabolik jika seseorang mengalami obesitas sentral (lingkar perut laki-laki diatas 90 cm dan perempuan diatas 80 cm) dan mempunyai 2 dari 4 kriteria lain yang berupa level trigliserida lebih dari 150 mg / dL, kadar kolesterol HDL dibawah 40 mg/dL, tekanan darah tinggi (tekanan darah sistolik lebih dari 130, tekanan darah diastolik lebih dari 85 mmHg), gula darah puasa lebih dari 100 mg/dL atau sudah ditetapkan menderita DM tipe 2<sup>15</sup>.

Faktor-faktor risiko yang berperan pada perkembangan sindrom metabolik diantaranya yaitu kelebihan berat badan, kurangnya aktifitas fisik dan diet atau pola makan<sup>5,6</sup>. Resistensi insulin, adipositas viseral, dislipidemia aterogenik, disfungsi endotel, dan hipertensi adalah beberapa faktor yang mempengaruhi kejadian sindrom metabolik. Resistensi insulin pada seseorang dapat menyebabkan terjadinya kegagalan metabolisme

glukosa karena adanya respon abnormal sehingga dapat menaikkan kadar gula darah dan atau mengakibatkan terjadinya hiperglikemia dan diabetes militus tipe 2, hal inilah yang akan meningkatkan risiko terjadinya sindrom metabolik<sup>16</sup>. Resistensi insulin dapat menyebabkan terjadinya dislipidemia aterogenik, pensinyalan kurang insulin meningkatkan lipolisis, hasilnya yaitu peningkatan asam lemak bebas sehingga produksi VLDL meningkat, sedangkan HDL menurun<sup>17</sup>.

Adipositas viseral yaitu akumulasi lemak abnormal di jaringan adiposa viseral yang dapat menyebabkan obesitas sentral. Faktor risiko besitas sentral yaitu peningkatan makanan ringan, makanan tinggi kalori dan penurunan aktifitas fisik. Obesitas sentral dapat menyebabkan overproduksi adipositokin termasuk gliserol, asam lemak, mediator proinflamasi, dan C reaktif protein, sehingga terjadi inflamasi lokal yang berhubungan dengan angka morbiditas dan terjadinya sensitivitas insulin dan stress oksidatif sebagai akibat dari adanya respon inflamasi. Stress oksidatif menyebabkan disfungsi endotel karena adanya peningkatan *reactive oxygen species* secara terus menerus<sup>18</sup>. Hipertensi berhubungan dengan abnormalitas beberapa metabolisme, termasuk obesitas, intoleransi glukosa, dan dislipidemia<sup>19</sup>.

#### 2. Daun Binahong

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) habitus berupa tumbuhan menjalar, berumur panjang, bisa mencapai panjang lebih dari 6 m. Batang lunak, silindris, saling membelit, berwarna merah, bagian dalam solid, permukaan halus, kadang membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun dengan bentuk tak beraturan dan bertekstur kasar. Daun binahong tunggal, bertangkai sangat pendek, tersusun berseling, berwarna hijau, bentuk jantung, panjang 5-10 cm, lebar 3-7 cm, helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal berlekuk, tepi rata, permukaan licin, bisa dimakan<sup>20</sup>. Pada proses skrining fitokimia diketahui daun binahong mengandung flavonoid, saponin, steroid/triterpenoid dan kumarin.

Kandungan saponin pada binahong yaitu sebesar 28.14 mg/g pada daun, 3.65 mg/g pada batang dan 43.15 pada umbi<sup>21</sup>.

Daun binahong diketahui mempunyai manfaat bagi kesehatan. Daun binahong dapat menurunkan kolesterol total dan kadar lemak darah. Saponin pada daun binahong yang disebut bousingide A1 atau lareagenin A dapat menghambat pembentukan kolesterol dengan menghambat enzim hidroksi metilglutaril ko-asetat reduktase pada tahap fosforilasi sel. Enzim itu berperan sebagai penangkap molekul asetil CoA untuk menyambung rantai lemak. Sehingga saponin dan fito-sterol bisa menurunkan tingkat absorpsi kolesterol dan meningkatkan ekskresi, sehingga secara langsung dapat mengurangi kolesterol yang masuk ke dalam tubuh. Pemberian ekstrak daun binahong dapat menurunkan kadar kolestrol darah mencit putih jantan diinduksi makanan lemak tinggi dan propiltiourasil secara signifikan pada dosis 500 mg/kgBB dengan lama pemberian 21 hari<sup>12</sup>. Selain itu, daun binahong terbukti dapat menurunkan glukosa darah. Penelitian pada mencit model diabetes militus yang diberi ekstrak daun binahong dosis 50 mg/kg BB terjadi penurunan glukosa darah yang signifikan dengan lama pemberian 14 hari<sup>22</sup>.

#### 3. Yoghurt Herbal Sinbiotik

Yoghurt merupakan salah satu minuman fungsional<sup>7</sup>. Yoghurt terbuat dari fermentasi bakteri probiotik pada susu. Susu sapi yang difermentasikan menggunakan bakteri Lactobacillus *bulgaricus dan Streptococcus thermophilus*, bakteri ini memfermentasi laktosa susu menjadi asam laktat (*Lactobacillus achidophillus dan Bifidobacterium laktis*) sehingga produk mempunyai cita-rasa yang khas<sup>8</sup>. Berdasarkan komposisinya, yoghurt dibedakan menjadi yoghurt berkadar lemak penuh (kandungan lemak di atas 3.0 persen), yoghurt berkadar lemak medium (kandungan lemaknya 0.5 sampai 3.0 persen) dan yoghurt berkadar lemak rendah (kandungan lemaknya kurang dari 0.5 persen). Berdasarkan cita rasanya yoghurt dibedakan menjadi yoghurt alami atau sederhana dan yoghurt buah. Yoghurt

alami tidak ditambah cita-rasa/flavor yang lain sehingga asamnya tajam. Sedangkan yoghurt buah adalah yoghurt yang ditambah dengan komponen cita-rasa yang lain seperti buah-buahan, sari buah, flavor dintetik dan zat pewarna<sup>24</sup>.

Probiotik dalam yoghurt berperan dalam menurunkan kadar kolesterol non HDL dan bakteri asam laktat yang dihasilkan mempunyai efek hipoglikemik sehingga dapat menurunkan status inflamasi pada pasien DM tipe 2<sup>9,10</sup>. Jumlah dan aktivitas BAL dapat ditingkatkan dengan penambahan prebiotik. Kombinasi probiotik dan prebiotik disebut sinbiotik. Pada yoghurt, probiotik dan prebiotik bekerja sinergis<sup>11</sup>. Salah satu prebiotik yaitu inulin. Inulin merupakan serat pangan yang mampu mempengaruhi homeostatis dan penurunan simpanan lemak, trigliserida dan kolesterol. Inulin bersifat larut air dan tidak dapat dicerna enzim pencernaan sehingga inulin bisa sampai usus untuk kemudian difermentasi usus besar menghasilkan asam lemak rantai pendek yang menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas BAL<sup>9</sup>.

Yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong ditambahkan karagenan. Karagenan ditambahkan sebagai pembentuk gel, proses pembentukan gel terjadi karena adanya ikatan antar rantai polimer sehingga membentuk struktur tiga dimensi yang mengandung pelarut pada celah-celahnya<sup>25</sup>. Standar mutu karagenan murni dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Standart Mutu Karagenan Murni

Kriteria	Karagenan murni
Residu alcohol	< 1%
Viskositas 1,5% pada 75°C	> 5 mPs
pH	8 - 11
Susut pengeringan setelah 4 jam	Maks. 12%
pada 105°C	
Sulfat	15 – 40% (basis kering)
Total abu pada 550°C	15 – 40% (basis kering)
Abu tidak larut asam (1% H2SO4)	< 2%
Logam berat (Pb)	-
E. coli	Negatif dalam 1 gram
Salmonella spp	Negatif dalam 1 gram

Karagenan adalah jenis adalah jenis polysakarida alami dari rumput laut *Rhodophyceae* yang sering digunakan dalam pembuatan jelly. Penelitian pada 344 tikus menunjukkan pemberian pakan yang mengandung 15% kappa/lambda-carrageenan dari *Gravicela radula* menghasilkan efek penurunan kolestrol secara signifikan<sup>13</sup>.

Untuk memberikan rasa manis pada yoghurt herbal siniotik dengan penambahan ekstrak daun binahong, maka digunakan daun stevia sebagai alternatif pengganti gula pasir. Daun Stevia biasanya ditambahkan ke dalam makanan dalam bentuk ekstrak. Ekstrak daun stevia mengandung pemanis glycoside (steviosida, rebausida, dan dulcosida). Dalam 100 g berat kering stevia mengandung karbohidrat 61.93%, protein 11.41%, serat kasar 15.52%, mineral (K, 21.15; Ca, 17.7; Na, 14.93 dan Mg, 3.26 mg/100 g dan Cu, 0.73; Mn, 2.89; Fe, 5.89 dan Zn, 1.26 mg/100 g)<sup>26</sup>. Daun stevia merupakan bahan pemanis rendah kalori dengan tingkat kemanisan 250 - 300 kali dari gula tebu, rasa manis ini berasal dari senyawa steviosida<sup>27</sup>. FDA (*Food and Drug Administration*) mengizinkan ekstrak daun stevia untuk digunakan sebagai bahan tambahan pangan pada tahun 2008. Stevia digolongkan dalam kategori GRAS (*Generally Recognize As Safe*) dengan batas konsumsi ADI (*Acceptable Daily Intake*) menurut WHO sebanyak 4 mg/kg/hari<sup>28</sup>.

#### 4. Total Bakteri Asam Laktat

Probiotik dalam yoghurt berperan dalam menurunkan kadar kolesterol non HDL dan bakteri asam laktat yang dihasilkan mempunyai efek hipoglikemik sehingga dapat menurunkan status inflamasi pada pasien DM tipe 2<sup>9,10</sup>. *Lactobacillus achidophillus* dan *Bifidobacterium lactis* meredam stres oksidatif dan memiliki efek antidiabetes. Antioksidan pada makanan probiotik dapat digunakan untuk meredam senyawa oksigen reaktif, ion logam chelation, penghambatan enzim pro-oksidan dan aktivitas pengurangan dan penghambatan oksidasi askorbat. Peningkatan jumlah *Bifidobacterium spp.* secara signifikan dan berkorelasi positif dengan

peningkatan toleransi glukosa, induksi glukosa sekresi insulin dan normalisasi peradangan. Dalam studi lain terbukti bahwa strain *Lactobacillus achidophillus* dan *Bifidobacterium lactis* dapat menurunkan kadar glukosa darah<sup>29</sup>.

Analisis total bakteri asam laktat menggunakan metode *Total Plate Count (TPC)*. TPC dimaksudkan untuk menunjukkan jumlah mikroba yang terdapat dalam suatu produk dengan cara menghitung koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media agar. Perhitungan jumlah koloni bakteri yaitu hitung jumlah koloni pada setiap seri pengenceran kecuali cawan petri yang berisi koloni yang menyebar *(spreader colonies)*. Pilih cawan yang mempunyai jumlah koloni 25 sampai dengan 250<sup>30</sup>.

#### 5. Antioksidan

Menurut American Dietetic Association, Antioksidan didefinisikan sebagai zat gizi yang terdapat dalam makanan yang berfungsi melindungi dari radikal bebas<sup>31</sup>. Berdasarkan tubuh fungsinya, antioksidan dikelompokkan menjadi antioksidan primer, sekunder, dan tersier. Antioksidan primer berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru karena memiliki kemampuan untuk menonaktifkan radikal bebas sebelumnya. Contoh antioksidan primer adalah enzim SOD (superoxide dismutase), enzim yang dapat melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Kinerja enzim SOD dipengaruhi oleh beberapa mineral, seperti Zn, Mn, Cu, dan Se. Antioksidan sekunder berfungsi memotong reaksi berantai (propagasi) yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Beberapa contohnya adalah vitamin A (betakaroten), vitamin C, vitamin E, dan senyawa fitokimia. Antioksidan tersier berfungsi memperbaiki kerusakan sel atau jaringan akibat oksidasi radikal bebas, contohnya yaitu metionin sulfoksidan yang mampu memperbaiki kerusakan DNA akibat oksidasi radikal bebas.

Antioksidan dan oksidan harus seimbang dalam tubuh. Apabila jumlah oksidan lebih besar, maka mengganggu keseimbangan dan

menyebabkan penurunan dari antioksidan dan merangsang stress oksidatif<sup>32</sup>. Stres oksidatif juga akan memicu kerusakan DNA <sup>33</sup>. Tubuh itu sendiri sudah memproduksi antioksidan yang dikenal sebagai antioksidan endogen. Antioksidan juga bisa diperoleh dari luar tubuh yang dikenal sebagai antioksidan eksogen. Daun binahong adalah salah satu sumber antioksidan eksogen<sup>34</sup>. Pada proses skrining fitokimia diketahui daun binahong mengandung flavonoid, saponin, steroid/triterpenoid dan kumarin. Kandungan saponin pada binahong yaitu sebesar 28.14 mg/g pada daun, 3.65 mg/g pada batang dan 43.15 pada umbi<sup>21</sup>

Saponin pada daun binahong yang disebut bousingide A1 atau lareagenin A dapat menghambat pembentukan kolesterol dengan menghambat enzim hidroksi metilglutaril ko-asetat reduktase pada tahap fosforilasi sel. Enzim itu berperan sebagai penangkap molekul asetil CoA untuk menyambung rantai lemak. Sehingga saponin dan fito-sterol bisa menurunkan tingkat absorpsi kolesterol dan meningkatkan ekskresi, sehingga secara langsung dapat mengurangi kolesterol yang masuk ke dalam tubuh. Pemberian ekstrak daun binahong dapat menurunkan kadar kolestrol darah mencit putih jantan diinduksi makanan lemak tinggi dan propiltiourasil secara signifikan pada dosis 500 mg/kgBB dengan lama pemberian 21 hari<sup>12</sup>. Selain itu, daun binahong terbukti dapat menurunkan glukosa darah. Penelitian pada mencit model diabetes militus yang diberi ekstrak daun binahong dosis 50 mg/kg BB terjadi penurunan glukosa darah yang signifikan dengan lama pemberian 14 hari<sup>22</sup>

Analisis Antioksidan dilakukan menggunaan metode DPPH, hal ini dikarenakan metode DPPH sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil dan dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama, pada kondisi penyimpanan yang baik. Metode DPPH dapat memberikan informasi mengenai reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal bebas yang stabil. Penangkapan radikal bebas DPPH oleh antioksidan menyebabkan elektron menjadi berpasangan, serta terjadi perubahan warna dari ungu ke

kuning pada panjang gelombang 517 nm. Perubahan warna yang terjadi sebanding dengan jumlah elektron yang diambil oleh radikal bebas. Metode DPPH dapat digunakan untuk sampel padatan maupun larutan. Pengujian aktivitas antioksidan DPPH harus dilakukan secara cepat dan hati-hati, karena reagen DPPH dapat dengan mudah didegradasi oleh cahaya, oksigen, *Point of Hydrogen* (pH), dan jenis pelarut<sup>35</sup>.

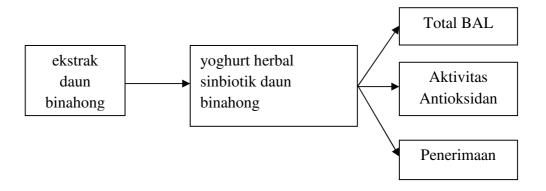
#### 6. Penerimaan

Evaluasi sensori atau organoleptik adalah ilmu pengetahuan yang menggunakan indera manusia untuk mengukur tekstur, penampakan, aroma dan flavor produk pangan. Pengujian sensori berperan penting dalam pengembangan produk dengan meminimalkan resiko dalam pengambilan keputusan. Panelis dapat mengidentifikasi sifat-sifat sensori yang akan membantu untuk mendeskripsikan produk. Pengujian organoleptik dapat menggunakan betbagai macam cara salah satunya yaitu penerimaan<sup>36</sup>.

Penerimaan merupakan suatu kegiatan pengujian yang dilakukan oleh seorang atau beberapa orang panelis dengan tujuan untuk mengetahui tingkat kesukaan atau ketidaksukaan konsumen tersebut terhadap suatu produk tertentu. Panelis diminta tanggapan pribadinya tentang kesukaan atau ketidaksukaan. Tingkat kesukaan ini disebut skala penerimaan contoh tingkat tersebut adalah seperti sangat suka, suka, agak suka, netral, agak tidak suka, tidak suka, dan sangat tidak suka. Skala penerimaan dapat direntangkan atau diciutkan menurut rentangan skala yang dikehendaki. Dalam analisi datanya, skala penerimaan ditransformasikan ke dalam skala angka menurut tingkat kesukaan. Dengan data ini dapat dilakukan analisa statistik<sup>37</sup>.

Jenis panelis yang biasa digunakan untuk melakukan penerimaan ini adalah panelis yang agak terlatih dan panelis tidak terlatih. Penilaian dalam penerimaan ini bersifat spontan. Ini berarti panelis diminta untuk menilai suatu produk secara langsung saat itu juga pada saat mencoba tanpa membandingkannya dengan produk sebelum atau sesudahnya<sup>36</sup>.

# B. Kerangka Konsep



Bagan 1. Kerangka Konsep Penelitian

# C. Hipotesis

Ada pengaruh pemberian ekstrak daun binahong dalam yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong terhadap total bakteri asam laktat (BAL), aktivitas antioksidan, dan penerimaan

#### **BAB III**

#### **METODE PENELITIAN**

#### A. Ruang Lingkup Penelitian

#### 1. Ruang Lingkup Keilmuan

Ruang lingkup keilmuan pada penelitian ini adalah dalam bidang *Food Production*.

#### 2. Ruang Lingkup Waktu

a. Penyusunan proposal : Mei-Juni2016

b. Pengambilan data : Juli 2016

c. Pengolahan data : Juli-Agustus 2016

d. Penyusunan laporan : September-Oktober 2016

#### 3. Ruang lingkup Tempat

Penelitian ini akan dilakukan di UPT Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro untuk pembuatan yoghurt, menganalisis total bakteri asam laktat, dan aktivitas antioksidan. Penerimaan di lakukan di Program Studi Ilmu Gizi Universitas Diponegoro.

#### **B.** Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap satu faktor, yaitu substitusi daun binahong 0% (kontrol), 0,125%, 0,25%, 0,5% yang ditambahkan pada pembuatan yoghurt herbal dengan 4 kelompok perlakuan termasuk kontrol.

# C. Sampel

Besar sampel minimal pada penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus Federer. Pada penelitian ini, terdapat 4 kelompok perlakuan berbeda. Setiap perlakuan dilakukan 5 kali ulangan, sehingga menjadi 20 satuan percobaan yang kemudian akan dilakukan analisis total bakteri asam laktat, aktivitas antioksidan, dan penerimaan. Namun karena keterbatasan hanya dilakukan 3 kali pengulangan untuk analisis total bakteri asam laktat (BAL) dan aktivitas antioksidan, sedangkan untuk penerimaan dilakukan tanpa pengulangan.

#### D. Variabel dan Definisi Operasional Variabel

Dalam penelitian ini, yang merupakan variabel independen adalah ekstrak daun binahong yang digunakan dalam pembuatan yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong. Variabel dependen penelitian ini adalah total bakteri asam laktat, aktivitas antioksidan, dan penerimaan.

#### 1. Kadar ekstrak daun binahong

Ekstrak daun binahong adalah variasi kadar ekstrak daun binahong yang digunakan pada pembuatan yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong.

Hasil ukur : %

Skala : Ordinal

#### 2. Total Bakteri Asam Laktat

Total bakteri asam laktat pada yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong diukur menggunakan Standard Plate Count (SPC)

Hasil ukur : CFU/ml

Skala : Rasio

#### 3. Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan pada variasi kadar ekstrak daun binahong yang digunakan pada pembuatan yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong menggambarkan persentase kemampuan penangkapan radikal bebas diukur dengan spektofotometer pada panjang gelombang  $\lambda$  517 nm dengan metode DPPH (*1*,*1* dhipenyl-1-pycrilhidrazyl).

Hasil ukur : %

Skala : Rasio

#### 4. Penerimaan

Penerimaan meliputi warna, aroma, tekstur dan rasa yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong pada 30 panelis agak terlatih.

Hasil ukur : Skoring 4 skala penerimaan

Sangat suka : 4
Suka : 3
Tidak Suka : 2
Sangat tidak suka : 1

Skala : Ordinal

# E. Tahapan Penelitian

#### 1. Persiapan Penelitian

Tahap persiapan dalam penelitian ini adalah dengan ekstraksi daun binahong. Daun binahong dipisahkan dari batangnya, kemudian pilih daun binahong yang segar. Daun binahong segar dipotong menjadi bentuk dadu kecil-kecil di maserasi selama 5 hari pada suhu kamar. Proses selanjutnya yaitu penyaringan hasil maserasi. Hasil saring di *freeze drying* di ruangan dingin dengan bantuan kipas angin kurang lebih 24 jam sampai pelarut dan airnya hilang dan didapatkan ekstraknya. Ulangi metode beberapa kali hingga mendapatkan jumlah ekstrak yang diinginkan.

 Pembuatan Yoghurt Herbal Sinbiotik dengan Penambahan Ekstrak Daun Binahong

Proses pembuatan yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong yaitu dengan pasteurisasi susu sapi segar pada suhu 75°C selama 15 detik kemudian didinginkan hingga suhu 40°C. Kemudian ditambahkan 4% inulin sebagai prebiotik, 0,2% stevia, dan 10% starter *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*. Kemudian diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah proses inkubasi ditambahkn 6% karagenan dan ekstrak daun binahong, selanjutnya dilakukan homogenisasi. Alur kerja dan prosedur pembuatan terdapat pada Lampiran 1,2 dan 3.

3. Analisis Total Bakteri Asam Laktat Yoghurt Herbal Sinbiotik dengan Penambahan Ekstrak Daun Binahong

Analisis total bakteri asam laktat diukur dengan metode *total plate count*. Prosedur analisis terdapat pada Lampiran 4.

4. Analisis Aktivitas Antioksidan Yoghurt Herbal Sinbiotik dengan Penambahan Ekstrak Daun Binahong

Analisis aktivitas antioksidan diukur dengan spektofotometer pada panjang gelombang  $\lambda$  517 nm dengan metode DPPH (2,2 *dhipenyl-1-pycrilhidrazyl*). Prosedur analisis terdapat pada Lampiran 5.

 Penerimaan Yoghurt Herbal Sinbiotik dengan Penambahan Ekstrak Daun Binahong

Penerimaan yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong dilakukan oleh panelis agak terlatih sebanyak 30 mahasiswa S1 Ilmu Gizi FK Undip. Penerimaan meliputi warna, aroma, tekstur dan rasa. Yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong disajikan satu-persatu dengan jumlah yang sama untuk masing-masing perlakuan. Formulir penerimaan terdapat pada Lampiran6.

#### F. Pengumpulan Data

Pada penelitian kali ini didapatkan data dari data primer. Data analisis total BAL, aktivitas antioksidan, dan penerimaan dalam yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong kelompok kontrol dan perlakuan adalah data primer.

#### G. Pengolahan dan Analisis Data

#### 1. Pengolahan Data

Data yang dikumpulkan merupakan hasil dari total bakteri asam laktat, aktifitas antioksidan dan peneriamaan. Data yang terkumpul kemudian di edit, di coding, dan di entry untuk diolah menggunakan *software* statistik komputer.

#### 2. Analisis Data

#### a. Analisis Univariat

Analisis univariat digunakan untuk mendeskripsikan rerata, standar deviasi, nilai maksimum dan nilai minimun variabel yang diambil, yaitu total bakteri asam laktat, aktifitas antioksidan dan penerimaan.

#### b. Analisis Bivariat

Analisis Bivariat untuk mengetahui pengaruh signifikan pemberian ekstrak daun binahong terhadap total bakteri asam laktat, aktivitas antioksidan dan penerimaan yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong. Apabila data normal maka menggunakan uji statistik ANOVA (*Analysis of Varians*) satu arah, sedangkan jika data berdistribusi tidak normal maka menggunakan uji *Kruskal-Waliis*.

Data analisis penerimaan yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong dilakukan dengan mendiskripsikan rata-rata penerimaan dalam bentuk tabel dan dilakukan skoring yang telah ditentukan. Data analisis penerimaan yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun

binahongditabulasikan dalam bentuk tabel kemudian dirata-rata. Data dianalisis menggunakan uji anova *repeated measure* bila berdistribusi normal, menggunakan uji non parametrik *Friedman* bila data tidak berdistribusi normal.

Pengujian dilakukan dengan derajat kepercayaan sebesar 95% dengan p value 0.05 dengan  $\alpha$  = 0.05. Jika p value <0.05 maka Ho ditolak, artinya ada pengaruh penambahan ekstrak daun binahong terhadap total bakteri asam laktat, aktivitas antioksidan, dan penerimaan yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong.

c. Uji Lanjut/ Analisis Multiple Comparation (posthoc test)

Uji lanjut dilakukan jika dalam pengujian ANOVA dihasilkan ada pengaruh yang bermakna. Untuk menentukan uji yang digunakan perlu dilihat koefisien keragaman. Koefisien keragaman adalah deviasi baku per unit percobaan. Koefisien keragaman menunjukkan derajat kejituan.

$$KK = \frac{\sqrt{RKD}}{Y} X 100\%$$

Keterangan:

KK : Koefisien keragaman

RKD : Rata-rata kuadrat dalam

Y : Rata-rata keseluruhan

Uji beda yang sebaiknya digunakan adalah:

- 1) Jika KK besar (minimal 10%) dalam kondisi homogen. Uji yang digunakan adalah uji *Duncan*.
- 2) Jika KK sedang (antara 5-10%) dalam kondisi homogen. Uji yang digunakan adalah uji BNT (Beda Nyata Terkecil) atau LSD (*Least Significance Different*).
- 3) Jika KK kecil (maksimal 5%) dalam kondisi homogen. Uji yang digunakan adalah uji BNJ (Beda Nyata Jujur) atau *Tukey*.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

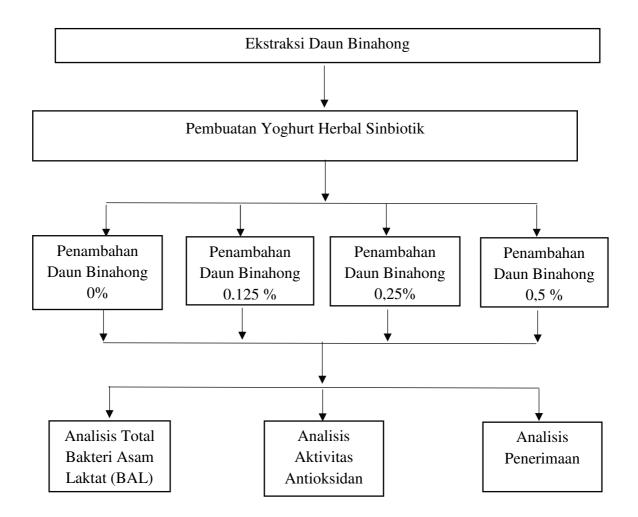
- 1. Cameron AJ, Shaw, J E, Zimmet PZ. The Metabolic Syndrome:Prevalence in Worldwide Populations. Endocrinol Metab Clin North Am. 2004;33(doi:10.1016):351–75.
- 2. Aguiler M, Bhuket T, Torres S, Liu B, Wong RJ. Prevalence of Metabolic Syndrome in the United State, 2003-2012. J Am Med Assos. 2015;313.
- 3. Soewondo P, Purnamasari D, Oemardi M, Waspadji S, Soegondo S. Prevalence of metabolic syndrome using NCEP/ATP III criteria in Jakarta, Indonesia: the Jakarta primary non-communicable disease risk factors surveillance 2006. Acta Med Indones. 2010;42(4):199–203.
- 4. Grundy SM, Becker D, T. Clark L. Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Natl Cholest Educ Progr Natl Hear Lung, Blood Inst Natl Institutes Heal. 2002;3(02).
- 5. Kaur J. A Comprehensive Review on Metabolic Syndrome. Hindawi Publ Corp Cardiol Res Pract. 2014;20(12):21.
- 6. Nels M, Lacey K, Rorth SL, Sucher K. Nutrition Therapy and Pathophysiology. 2nd ed. Cosio Y, editor. USA: Cengange Learning; 2011.
- 7. AY T, RK R. Tamime and Robinson's Science and Technology. 3rd ed. Woodhead Publishing Limited; 2010. 302 p.
- 8. Presetyo H. Pengaruh Penggunaan Starter Yoghurt pada Level Tertentu Terhadap Karakteristik Yoghurt yang Dihasilkan. Fak Pertan UNS, Surakarta. 2010;
- Ooi LG ML. Cholesterol Lowering Effects of Probiotics and Prebiotics. Int J Mol Sci. 2010;
- 10. Mohamadshasi M, Veissi M, Haidari F, Shahbazian H. Effect of probiotic yogurt consumtion on inflamatory biomarkers in patients eith type 2 diabetes. Bioimpact. 2014;83–8.
- 11. Roberfroid MB. Prebiotics and probiotics- are they functional foods? 2000;71:1682–7.
- 12. Fauziah F, Arifin H, Elisma AN. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun

- Binahong (Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis) Terhadap Kadar Kolesterol Total Darah Pada Mencit Putih Jantan Hiperkolesterolemia. Prosiding. 2014;
- 13. Prajapati V, Maheriya P, Jani G, Solanki H. Carrageenan: A natural seaweed polysaccharide and its applications. Elsevier Ltd. 2014;97–112.
- 14. Consultation Who. Obesity: Preventing And Managing The Global Epidemic. Who Tech Rep Ser. 2000;
- 15. IDF. The IDF Concencus Worldwide Definition of the Metabolic Syndrome. J Am Med Assoc. 2005;1.
- 16. Gill H, Mugo M, Whaley-Chonnell A, Stump C, Sowers J. The Key Role of Insulin Resistance in the Cardiometabolic syndrome. Am J Med Sci. 2005;330:290–4.
- 17. Lewis G., Steiner G. Acute Effects of Insulin in the Control of VLDL production in humans: Implications for Insulin Resistance State. Diabetes Care. 1996;19:390–3.
- 18. Halberg N, Wernstedt-Asterholm I, Scherer P. The Adipocyte as an endocrine cell " Endocrinology and Metabolism Clinics of North America. J Clin Endocrinol. 2008;37:753–68.
- 19. Ferrannini E, Natali A. Essential Hypertention, Metabolic disorder, and insulin Resistance. Am Heart J. 1991;121:1274–82.
- Badan BPOM RI. Anredera cordifolia (Ten.) Steenis. Direktorat Obat Asli Indones. 2008;
- 21. Astuti SM, Sakinah A.M M, Andayani B.M R, Risch A. Determination of Saponin Compound from Anredera cordifolia (Ten) Steenis Plant (Binahong) to Potential Treatment for Several Diseases. J Agric Sci [Internet]. 2011;3(4):p224. Available from: http://www.ccsenet.org/journal/index.php/jas/article/view/9087
- 22. Sukandar Ey, Qowiyyah A, Larasari, Lady. Effect Of Methanol Extract Hearhleaf Madeiravine (Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis) Leaves On Blood Sugar Ii Diabetes Mellitus Model Mice. 2011;1(4):1–10.
- 23. Widyaningsih TD. Pangan Fungsional: Makanan Untuk Kesehatan.

- Malang: Universitas Brawijaya; 2006.
- 24. Koswara S. Tekno pangan dan agroindustri tepat guna. 1st ed. Bogor: Institut pertanian Bogor; 60-63 p.
- 25. Hapsari AP. Formulasi dan Karakterisasi Minuman Fungsional Fruity Jelly Yoghurt Berbasis Kappa Karagenan sebagai Sumber Serat Pangan. Bogor: Program Studi Teknologi Hasil Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor; 2011.
- 26. Mirshra N. An Analysis of Antidiabetic Activity of Stevia Rebaundiana Extract on Diabetic Patient. J Nat Sci Res. 2011;1:1–10.
- 27. Abou-arab A, Abou-arab A, Abu Salem M. Physico-Chemical Assessment of Natural Sweeteners Steviosides Produced from Stevia Rebaudiana Bertoni Plant. African J Food Sci. 2010;269–81.
- 28. Raini M, Isnawati R. Kajian: Khasiat dan Keamanan Stevia Sebagai Pemanis Pengganti Gula. Media Litbang Kesehatan; 2011. 145-156 p.
- 29. Naydenov I K, Anastasov A, Avramova M, Mindov. I I, Tacheva T. Probiotics and Diabetes Mellitus. J Sci. 2012;10:300–6.
- 30. Standar Nasional Indonesia, Badan Standar Nasional. Metode pengujian cemaran mikroba dalam daging, telur dan susu, serta hasil olahannya. 2008;
- 31. American Dietetic Association. Antioxidants. 2010;
- 32. Konig D, Berg A. Exercise and Oxidative Stress: is there a need for additional antioxidant. Osterr J Fur Sport. 2002;3:6–15.
- Braunwald E. Approach to the Patient With Cardiovascular. 2nd ed. Kasper
   D., Longo S., Hauser, editors. New York: Harrison's Principles Internal
   Medicine; 2005. 208 p.
- 34. Manoi F. Binahong (Anredera cordifolia) Sebagai Obat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. 15th ed. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Bulletin Warta; 2009.
- 35. Hardiningsih R, Nurhidayat N. Pengaruh pemberian pakanhiperkolesterolemia terhadap bobot badan tikus putih wistar yang diberibakteri asam laktat. Biodiversitas; 2006. 127-130 p.
- 36. Ebook. (Evaluasi Sensori) Dalam Industri Pangan. Ebookpangan. 2006;7.

37. Ayustaningwarno F. Teknologi Pangan. 1st ed. Yogyakarta: Graha Ilmu; 2014. 6 p.

Lampiran 1. Alur Kerja



# Lampiran 2. Prosedur Pembuatan Ekstrak Binahong (Metode Maserasi)

#### A. Alat:

- 1. Pipet tetes
- 2. Beker glass
- 3. Gelas ukur
- 4. Corong

- 5. Kertas saring
- 6. Neraca analitik
- 7. Erlemeyer
- 8. Cawan porselen

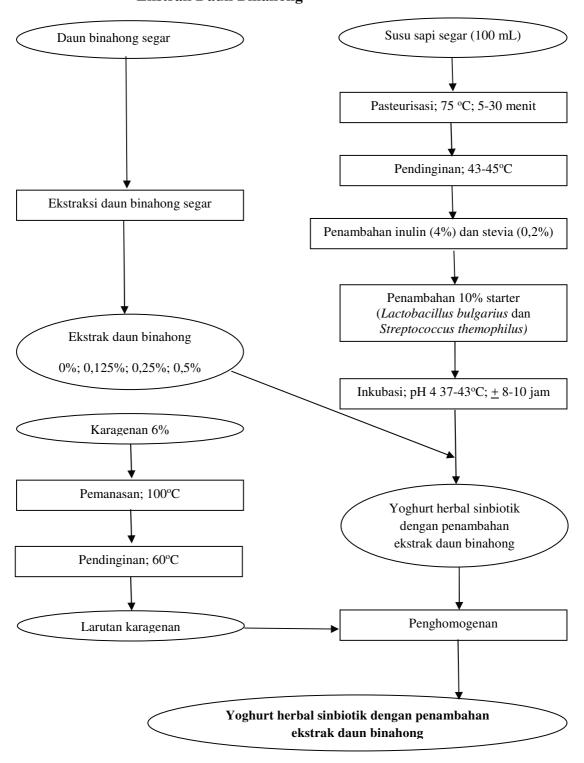
# B. Bahan:

- 1. Daun Binahong Segar
- 2. Pelarut etanol 95 %

#### C. Cara Kerja

- 1. Pisahkan daun binahong dengan batangnya, kemudian pilih daun binahong yang segar.
- 2. Cuci daun binahong segar, kemudian tiriskan sampai tidak ada air yang menetes.
- 3. Potong daun binahong segar menjadi bentuk dadu kecil-kecil.
- 4. Tibang  $\pm$  250 gram daun binahong yang telah dipotong.
- 5. Masukkan daun binahong yang telah ditimbang ke dalam beker glass ukuran 500 ml.
- 6. Masukkan perlahan pelarut etanol 95% sebanyak 28 ml ke dalam beker glass berisi daun binahong yang telah dipotong.
- 7. Aduk-aduk rata sampai semua daun terlarut etanol.
- 8. Tutup beker glass menggunakan plastic wrap, kemudian tutup lagi dengan alumunium foil, selanjutnya ikat dengan benang.
- 9. Daun binahong di maserasi selama 3 hari pada suhu kamar. Sesekali aduk kembali.
- 10. Setelah 3 hari, saring daun binahong. Pisahkan hasil saring 1 dan simplisia 1.
- 11. Simplisia 1 dilarutkan kembali menggunakan etanol 95% sebanyak 20 ml. Maserasi kembali selama 2 hari.
- 12. Setelah dua hari, peras dan saring hasil maserasi. Buang simplisia 2. Hasil saring 2 kemudian dicampukan dengan hasil saring 1
- 13. Tuangkan campuran saring 1 dan 2 dalam cawan porselin, lalu diangin-anginkan di ruangan dingin dengan bantuan kipas angin kurang lebih 24 jam sampai pelarut dan airnya hilang dan didapatkan ekstraknya.
- 14. Ulangi metode beberapa kali hingga mendapatkan jumlah ekstrak yang diinginkan.

Lampiran 3. Pembuatan Yoghurt Herbal Sinbiotik dengan Penambahan Ekstrak Daun Binahong



# Lampiran 4. Penetapan Total Bakteri Asam Laktat (BAL) dengan Metode TPC (*Total Plate Count*)

#### Prosedur

:

- 1. Sebanyak 1 ml sampel diencerkan dalam 9 ml larutan garam fisiologus (NaCl 0,85%) hingga pengenceran tertentu.
- 2. Setiap sampel yang sudah diencerkan dipipet dan dimasukkan ke cawan petri steril.
- 3. Tambah MRSA steril ke masing-masing cawan.
- 4. Sesaat setelah *jelly* membeku, inkubasi cawan petri dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.
- 5. Total koloni bakteri asam laktat (BAL) dihitung dengan menggunakan metode SPC (*Standard Plate Count*) dan dinyatakan dengan satuan CFU/ml atau log CFU/ml.

#### Lampiran 5. Prosedur Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

#### Prosedur:

- 1. Timbang 0,1 gram sampel lalu tambahkan 1 mL methanol kemudian di sentrifuge 4500 rpm selama 5-7 menit.
- Ambil ekstrak sebanyak 0,5 mL lalu tambahkan larutan DPPH sebanyak
   1,5 divortex lalu diinkubasi pada ruang tertutup dengan suhu kamar selama 30 menit.
- 3. Larutan diukur absorbsinya pada panjang gelombang 517 nm.
- 4. Hitung aktivitas antioksidan sampel berdasarkan kurva standar.
- Larutan kontrol dibuat dengan mengganti sampel dengan 100 μL aquades, sedangkan untuk larutan standar dibuat dengan mengganti larutan sampel dengan larutan asam askorbat 10 ppm, 30 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm dan 500 ppm.
- 6. Kapasitas antioksidan dinyatakan dalam *Ascorbic Acid Equivalent Antioksidant Capacity* (AEAC) menggunakan persamaan:

Aktivitas antioksidan (%) = <u>(absorbansi kontrol – absorbansi sampel)</u> x 100 Absorbansi kontrol

#### Lampiran 6. Uji Penerimaan

#### FORMULIR UJI PENERIMAAN

Yoghurt Herbal Sinbiotik dengan Penambahan Ekstrak Daun Binahong

Tanggal	:
Nama Panelis	:
Instruksi	: Berikan tanda $(\sqrt{\ })$ pada pernyataan yang sesuai dengan
	penilaian Anda dan tuliskan pendapat Anda pada kolom
	komentar/ saran.

Sebelum menilai, sebaiknya Anda memahami terlebih dahulu hal-hal berikut:

Warna : terang/ sesuai/ gelap, merata/tidak

Aroma : kurang/ sesuai/ terlalu menyengat, menarik/ tidak menarik selera

makan.

Tekstur : keras, lembut, padat,

Rasa : hambar, kurang manis, manis, atau terlalu manis

Sebaiknya Anda melakukan uji penerimaan <u>tidak</u> bersamaan pada saat makan dan lapar. Minumlah dengan air putih dalam melakukan uji penerimaan untuk <u>setiap</u> sampel. Terimakasih atas partisipasi Anda.

Spesifik	Nilai	Aspek Penilaian Warna			
		351	149	217	632
Sangat suka	4				
Suka	3				
Tidak suka	2				
Sangat tidak suka	1				

mentar/ saran :	
:	••••
):	
7.	
).	
	••••

Spesifik	Nilai .	Aspek Penilaian Aroma			
		351	149	217	632
Sangat suka	4				
Suka	3				
Tidak suka	2				
Sangat tidak suka	1				

Komentar/ saran :	
351:	
149:	
217:	
632:	

Spesifik	Nilai	Aspek Penilaian Tekstur			
		351	149	217	632
Sangat suka	4				
Suka	3				
Tidak suka	2				
Sangat tidak suka	1				

Komentar/ sa	aran :		
351:	•••••	 	 
149:		 	 
217:		 	 
632:		 	 

Spesifik	Nilai	Aspek Penilaian Rasa			
		351	149	217	632
Sangat suka	4				
Suka	3				
Tidak suka	2				
Sangat tidak suka	1				

Komentar/ saran :		
351:	 	 
149:	 	 
217:	 	 
632:	 	 

# TOTAL BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL), AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, DAN PENERIMAAN YOGHURT SINBIOTIK DENGAN PENAMBAHAN EKSTRAK DAUN BINAHONG

(Anredera cordifolia (Ten.) Steenis)

# **Artikel Penelitian**

disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Program Studi Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro



disusun oleh:

RASTRI PUJI LESTARI

22030113120057

# PROGRAM STUDI ILMU GIZI DEPARTEMEN GIZI FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO SEMARANG

2017

# SURAT PERNYATAAN SIAP UJIAN AKHIR

Yang bertandatangan dibawah ini:

1. Nama : Ninik Rustanti, S.TP, M.Si

NIP : 197806252010122002

Jabatan/Gol. : Asisten Ahli/IIIb

Sebagai : Pembimbing I

2. Nama : Choirun Nissa, S.Gz., M.Gizi

NIP : 198505032014042001

Jabatan/Gol. : Penata Muda TK 1/IIIb

Sebagai : Pembimbing II

Menyatakan bahwa:

Nama : Rastri Puji lestari

NIM : 22030113120057

Angkatan : 2013

Judul Proposal : Total Bakteri Asam Laktat (BAL), Aktivitas Antioksidan,

dan Penerimaan Yoghurt Sinbiotik dengan Penambahan

Ekstrak Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.)

Steenis)

Telah siap untuk melaksanakan Ujian Akhir

Demikian surat pernyataan ini dibuat untuk menerbitkan surat undangan Ujian Akhir.

Semarang, 2 Juni 2017

Pembimbing I, Pembimbing II,

Ninik Rustanti, S.TP, M.Si NIP. 197806252010122002 Choirun Nissa, S.Gz., M.Gizi NIP. 198505032014042001 Total Bakteri Asam Laktat (BAL), Aktivitas Antioksidan, dan Penerimaan Yoghurt Sinbiotik dengan Penambahan Ekstrak Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis)

Rastri Puji Lestari<sup>1</sup>, Ninik Rustanti<sup>1</sup>, Choirun Nissa<sup>1</sup>

#### **ABSTRAK**

Latar Belakang: Alternatif penanganan kejadian sindrom metabolik dapat dilakukan dengan pemberian diet makanan atau minuman fungsional. Yoghurt sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong tinggi antioksidan dan serat dapat menjadi alternatif untuk menurunkan risiko sindrom metabolik.

**Tujuan:** Mengetahui pengaruh penambahan ekstrak daun binahong dalam yoghurt sinbiotik terhadap total bakteri asam laktat, aktivitas antioksidan, dan penerimaan.

**Metode:** Merupakan penelitian *true experimental* dengan rancangan acak lengkap satu faktor, yaitu penambahan ekstrak daun binahong 0% (kontrol); 0,12%; 0,25%; 0,5% dalam yoghurt sinbiotik. Analisis total bakteri asam laktat menggunakan uji *Total Plate Count* (TPC), aktivitas antioksidan menggunakan *1-1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH), sedangkan penerimaan menggunakan uji hedonik.

**Hasil:** Penambahan ekstrak daun binahong dalam berbagai dosis pada yoghurt sinbiotik menurunkan total bakteri asam laktat tanpa pengaruh signifikan (p= 0,145), tetapi masih memenuhi syarat probiotik berdasarkan Standar Nasional Indonesia yaitu lebih dari  $10^7$  CFU/ml. Tidak ada pengaruh penambahan ekstrak daun binahong pada aktivitas antioksidan (p=0,297). Penambahan ekstrak daun binahong berpengaruh pada penerimaan warna, namun tidak pada aroma, terkstur dan rasa. Produk terbaik yaitu yoghurt sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong 0,12%.

**Simpulan:** Penambahan ekstrak daun binahong pada yoghurt sinbiotik tidak berpengaruh signifikan terhadap total bakteri asam laktat, aktivitas antioksidan, aroma, tekstur dan rasa; namun berpengaruh signifikan terhadap warna.

**Kata kunci:** yoghurt sinbiotik, minuman fungsional, total bakteri asam laktat, aktivitas antioksidan, daun binahong, karagenan.

Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Total Lactic Acid Bacteria (LAB), Antioxidant Activity, and Acceptance of Sinbiotic Yoghurt with Binahong Leaf Extract (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis)

Rastri Puji Lestari<sup>1</sup>, Ninik Rustanti<sup>1</sup>, Choirun Nissa<sup>1</sup>

#### **ABSTRACT**

**Background:** Alternative treatment for metabolic syndrome can be done by providing a diet consist of functional foods or beverages. Synbiotic yoghurt with binahong leaves extract high of antioxidant, fiber and total lactic acid bacteria can be selected to help reduce the risk of metabolic syndrome.

**Objective:** To determine the effect of binahong leaf extract in sinbiotic yoghurt against total lactic acid bacteria, antioxidant activity, and acceptance.

**Method:** It was true experimental research with one factor complete randomized design, specificially the addition of binahong leaf extract 0% (control); 0.12%; 0.25%; 0.5% in sinbiotic yoghurt. Analysis of total lactic acid bacteria using Total Plate Count (TPC) test, antioxidant activity using *1-1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH), while acceptance were analyzed by hedonic test.

**Result:** The addition of binahong leaf extract in various doses in sinbiotic yoghurt decreased total lactic acid bacteria without significant influence (p = 0.145), but still fulfilled probiotic requirement based on Indonesian National Standard that is more than  $10^7$  CFU/ml. There was no effect of addition binahong leaf extract on antioxidant activity (p = 0.297). The addition of binahong leaf extract had an effect on color, but not on aroma, texture and taste. The best product was yoghurt sinbiotik with 0.12% binahong leaf extract addition.

**Conclusion:** The addition of binahong leaf extract to sinbiotic yogurt did not significantly affect the total lactic acid bacteria, antioxidant activity, aroma, texture and taste; but had a significant effect on color.

**Keywords:** sinbiotic yoghurt, functional drink, total lactic acid bacteria, antioxidant activity, binahong leaf, carrageenan.

Departement of Nutrition Science Medical Faculty, University of Diponegoro, Semarang

#### **PENDAHULUAN**

Prevalensi sindrom metabolik di beberapa negara maju dan berkembang semakin meningkat, yaitu sebesar 7,9 - 43,6% pada pria dan 7 - 56,7% pada wanita¹. Data *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) 2003-2012 prevalensi sindrom metabolik di Amerika Serikat rata-rata sebesar 33%, yaitu kejadian pada perempuan sebesar 35.6%, laki-laki sebesar 30.3%². Prevalensi sindrom metabolik di Jakarta sebesar 24,8%, masing-masing pada perempuan sebesar 30,4%, laki-laki sebesar 25,4 %³. Sindrom metabolik didefinisikan *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III* (NCEP/ATP III), yaitu apabila seseorang memiliki 3 kriteria atau lebih dari data berikut; lingkar pinggang lebih besar dari 102 cm pada pria atau lebih besar dari 88 cm pada wanita, tingkat serum trigliserida dari 150 mg/dL atau lebih besar, tingkat kolesterol *high-density lipoprotein* (HDL) kurang dari 40 mg/dL pada pria atau kurang dari 50 mg/dL pada wanita, tekanan darah sistolik/diastolik 130/85mmHg, atau tingkat glukosa plasma puasa 100 mg/dL atau lebih⁴.

Faktor-faktor risiko yang berperan pada perkembangan sindrom metabolik diantaranya yaitu kelebihan berat badan, kurangnya aktifitas fisik dan diet atau pola makan. Diet memberikan kontribusi pada penurunan beberapa marker sindrom metabolik, salah satu alternatif yaitu pemberian diet makanan atau minuman fungsional <sup>5,6</sup>. Penelitian pengembangan pangan funsional penderita sindrom metabolik sangat diperlukan, terutama dalam hal penggunaan bahan makanan yang salah satunya mampu menurunkan berat badan, anti hipertensi, anti hiperlipidemia, dan anti hiperglikemia.

Yoghurt merupakan minuman fungsional yang terbuat dari susu sapi yang difermentasikan menggunakan bakteri probiotik *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*<sup>7-8</sup>. Probiotik menghasilkan asam-asam organik seperti asam glukoronat, asam propionat, asam folat, dan asam laktat yang berpotensi menurunkan kadar kolesterol non HDL. Penurunan kolesterol oleh strain *Lactobacillus* secara anaerobik dapat mencapai 27-38%. Probiotik juga mempunyai efek hipoglikemik sehingga dapat menurunkan status inflamasi pada

pasien DM tipe 2<sup>10,11</sup>. Probiotik memberikan efek kesehatan pada tubuh manusia yaitu pada jumlah minimum 10<sup>7</sup> CFU/ml sebelum dikonsumsi<sup>12</sup>. Jumlah dan aktivitas BAL dapat ditingkatkan dengan penambahan prebiotik. Kombinasi probiotik dan prebiotik disebut sinbiotik. Pada yoghurt, probiotik dan prebiotik bekerja sinergis<sup>13</sup>. Salah satu prebiotik yaitu inulin. Penambahan inulin dimaksudkan untuk meningkatkan ketahanan hidup dan aktivitas probiotik selama masa simpan. Sebagai serat pangan larut air, inulin mampu mempengaruhi homeostatis dan penurunan simpanan lemak, trigliserida dan kolesterol<sup>10</sup>.

Penambahan herbal tinggi antioksidan juga diperlukan dalam mencegah progresivitas sindrom metabolik akibat tingginya stress oksidatif karena peningkatan ROS. Antioksidan alami pada bahan pangan yang mengandung komponen flavonoid dapat menghambat enzim yang memproduksi ROS dan mengurangi ROS yang sudah teroksidasi. Proses skrining fitokimia daun binahong (Anredera Cordifolia mengandung (ten) Steenis) flavonoid, saponin, steroid/triterpenoid dan kumarin. Saponin (bousingosida A1) daun binahong menghambat pembentukan kolesterol dengan menghambat enzim hidroksi metilglutaril ko-asetat reduktase pada tahap fosforilasi sel. Kandungan saponin daun binahong segar yaitu sebesar 28.14 mg/g. Pemberian ekstrak daun binahong menurunkan kadar kolestrol darah mencit putih jantan diinduksi makanan tinggi lemak dan propiltiourasil secara signifikan pada dosis 500 mg/kgBBdengan lama pemberian 21 hari<sup>14</sup>.

Bahan tinggi serat juga diperlukan dalam diet sindrom metabolik.Karagenan merupakan jenis polysakarida alami dari rumput laut *Rhodophyceae*. Penelitian pada 344 tikus menunjukkan pemberian pakan yang mengandung 15% kappa/lambda-carrageenan dari *Gravicela radula* menghasilkan efek penurunan kolestrol secara signifikan<sup>15</sup>. Penambahan karagenan kedalam yoghurt yang bersifat sebagai penstabil, pengemulsi, pengental pembentuk gel dimaksudkan untuk memperbaiki tekstur. Selain karagenan, ditambahkan stevia sebagai pemanis untuk meningkatkan penerimaan.

Pengembangan produk minuman fungsional dalam bentuk yoghurt sinbiotik ditambah dengan ekstrak daun binahong tinggi antioksidan, serat, total bakteri asam laktat diharapkan dapat menjadi alternatif untuk penanganan sindrom metabolik. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak daun binahong terhadap total bakteri asam laktat, antioksidan dan penerimaan.

# **METODE**

Ruang Lingkup Keilmuan pada penelitian ini adalah dalam bidang Food Production. Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus hingga September 2016 di UPT Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro.Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* dengan rancangan acak lengkap satu faktor, yaitu penambahan ekstrak daun binahong dalam yoghurt herbal sinbiotik sebesar 0%, 0,12%, 0,25%, dan 0,5%. Masing-masing perlakuan dilakukan 3 kali ulangan untuk analisis total bakteri asam laktat dan aktivitas antioksidan, sedangkan untuk penerimaan tidak dilakukan pengulangan. Penentuan formulasi yoghurt herbal sinbiotik untuk penambahan inulin berdasarkan penelitian sebelumnya yaitu produk minuman fungsional *jelly drink* yoghurt srikaya. Penambahan stevia dan karagenan ditentukan berdasarkan uji pendahuluan. Proses pembuatan ekstrak daun binahong dilakukan berdasarkan penelitian sebelumnya menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 95% selama 5 hari.

Proses pembuatan yoghurt herbal sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong dimulai dari pasteurisasi susu sapi segar pada suhu 85°C selama 15 menit kemudian didinginkan hingga suhu 40°C. Susu yang telah di pasteurisasi ditambahkan 4% inulin sebagai prebiotik, 0,2% stevia, dan 10% starter *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*. Diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Proses inkubasi ditambahkan 6% karagenan dan ekstrak daun binahong, selanjutnya dilakukan homogenisasi.

Susu sapi segar didapatkan dari Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, inulin didapatkan dari Laboratorium Teknologi Pangan Ilmu Gizi Universitas Diponegoro, karagenan didapatkan dari UKM Suket Segoro

Semarang, dan bakteri *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* didapatkan dari PAU Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

Penelitian ini dilakukan analisis total bakteri asam laktat menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC), aktivitas antioksidan dianalisis menggunakan metode DPPH dan penerimaan dilakukan dengan metode hedonik pada 30 panelis agak terlatih yaitu mahasiswa Program Studi Ilmu Gizi Uiversitas Diponegoro.

Data yang didapatkan diolah menggunakan *software* statistik. Sebelum dianalisis semua data diuji kenormalannya menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel <30. Pengaruh perlakuan ekstrak daun binahong terhadap total bakteri asam laktat dan aktivitas antioksidan dianalisis dengan *One Way Anova*. Analisis peneriman dilakukan dengan uji *Friedman* dan dilanjutkan dengan uji *Wilcoxon* apabila ada pengaruh yang signifikan.

# **HASIL**

### Total Bakteri Asam Laktat

Tidak ada pengaruh yang signifikan dari penambahan ekstrak daun binahong terhadap total bakteri asam laktat yoghurt sinbiotik (p=0,145), walaupun ada penurunan total bakteri asam laktat. Total bakteri asam laktat pada yoghurt sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong masih memenuhi kriteria probiotik menurut Standar Nasional Indonesia yaitu lebih dari  $10^7$  CFU/ml.

Tabel 1. Hasil Analisis Total Bakteri Asam Laktat (BAL)

Perlakuan	Total BAL ( <b>10<sup>13</sup></b> CFU/ml) <sup>1</sup>			
0%	90,37±65,02			
0,12%	86,96±53,13			
0,25%	42,60±22,56			
0,5%	8,93±5,22			
	p=0,145			

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>=Uji One Way Anova

# Aktivitas Antioksidan

Penambahan ekstrak daun binahong berbagai dosis tidak berpengaruh signifikan terhadap aktivitas antioksidan yoghurt sinbiotik (p=0,297). Aktivitas antioksidan tertinggi pada yoghurt sinbiotik yaitu dengan penambahan ekstrak daun binahong sebanyak 0,5% dengan kandungan antioksidan sebesar 8,66%.

Tabel 2. Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan

Penambahan Ekstrak Daun Binahong	Aktivitas Antioksidan(%) <sup>1</sup>			
0%	5,63±4,08			
0,12%	4,33±1,52			
0,25%	5,33±3,05			
0,5%	8,66±0,57			
	p=0,297			

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>= Uji *One Way Anova* 

# Penerimaan

Penerimaan yoghurt sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong meliputi aspek penilaian terhadap aroma, warna, tekstur dan rasa. Penambahan ekstrak daun binahong secara signifikan berpengaruh pada penerimaan warna(p=0,001), tetapi tidak pada aroma, tekstur dan rasa.

Tabel 3. Hasil Analisis Penerimaan pada Yoghurt Sinbiotik dengan Penambahan Ekstrak Daun Binahong

Perlakuan	Aroma		Warna		Tekstur		Rasa	
	Rerata	Ket	Rerata	Ket	Rerata	Ket	Rerata	Ket
0%	2,93±0,82	Suka	3,30±0,59a	Suka	2,46±0,68	Suka	2,40±0,62	Tidak suka
0,12%	2,90±0,60	Suka	3,13±0,51 <sup>a</sup>	Suka	$2,86\pm0,73$	Suka	2,53±0,57	Suka
0,25%	2,96±0,66	Suka	$2,63\pm0,55^{a}$	Suka	$2,60\pm0,67$	Suka	2,50±0,86	Suka
0,5%	$2,60\pm0,93$	Suka	$1,76\pm0,67^{b}$	Tidak	2,53±0,89	Suka	2,50±1,16	Suka
				Suka				
	p=0,346		p=0,001		p=0,062		p=0,877	

#### Aroma

Aroma yoghurt sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong yaitu aroma asam khas fermentasi. Penambahan ekstrak daun binahong berbagai dosis tidak berpengaruh signifikan terhadap penerimaan aroma (p=0,346). Semakin banyak penambahan ekstak daun binahong tidak menurunkan tingkat kesukaan terhadap aroma.

### Warna

Semakin banyak penambahan ekstrak daun binahong pada yoghurt sinbiotik menurunkan tingkat kesukaan terhadap warna. Warna yoghurt sinbiotik akan semakin coklat jika jumlah ekstrak yang ditambahkan semakin banyak. Penambahan ekstrak daun binahong sebesar 0% dan 0,12% memiliki tingkat kesukaan tertinggi, dengan ekstrak binahong 0% sebesar 3,30 dan ekstrak binahong 0,12% sebesar 3,13. Warna produk tidak disukai pada penambahan ekstrak 0,5%.

## **Tekstur**

Tekstur yoghurt sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong yaitu homogen. Tidak ada pengaruh yang signifikan antara penambahan ekstrak daun binahong dengan tingkat penerimaan tekstur (p=0,062). Semakin tinggi kadar ekstrak daun binahong yang ditambahkan pada yoghurt sinbiotik tidak menurunkan tingkat kesukaan tekstur.

# Rasa

Penambahan ekstrak daun binahongberbagai dosis tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap penerimaan rasa yoghurt sinbiotik (p=0,877). Rasa yoghurt sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong yaitu rasa asam khas yoghurt. Kontrol yoghurt sinbiotik (0%) paling tidak disukai dibandingkan dengan tiga perlakuan lainnya.

#### **PEMBAHASAN**

# **Total Bakteri Asam Laktat**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun binahong tidak berpengaruh terhadap total bakteri asam laktat walaupunterjadi penurunan total bakteri asam laktat ketika ditambahkan jumlah ekstrak daun binahong. Penurunan jumlah bakteri asam laktat dapat disebabkan oleh adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun binahong seperti flavonoid, steroid saponin, dan terpenoid. Senyawa metabolit sekunderini terbukti berperan sebagai antibakteri, sehingga semakin banyak ekstrak daun binahong yang ditambahkan akan menyebabkan penurunan jumlah total bakteri asam laktat. Kandungan saponin pada daun binahong segar yaitu sebesar 28.14 mg/g. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun binahong terhadap bakteri gram positif menunjukkan bahwa flavonoid ekstrak daun binahong mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*<sup>16</sup>.

#### Aktivitas Antioksidan

Penambahan ekstrak daun binahong berbagai dosis tidak berpengaruh secara signifikan pada aktivitas antioksidan (p=0,297). Dibandingkan dengan kontrol, penambahan ekstrak binahong 0,12% menurunkan nilai aktivitas antioksidan, tetapi perlahan naik ketika ditambahkan ekstrak daun binahong 0,25% dan 0,5%.

Pada penelitian pendahuluan diketahui rata-rata aktivitas antioksidan ekstrak daun binahong murni yaitu sebesar 30%. Yoghurt sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong mempunyai kandungan antioksidan dari ekstrak daun binahong. Daun binahong mengandung flavonoid, saponin, steroid/triterpenoid dan kumarin. Flavonoid tidak stabil terhadap perubahan pengaruh oksidasi, cahaya, dan perubahan kimia, sehingga apabila teroksidasi strukturnya akan berubah dan fungsinya sebagai bahan aktif akan menurun bahkan hilang dan kelarutannya rendah<sup>17</sup>. Penurunan antioksidan dikarenakan adanya interaksi antagonis dari antioksidan ekstrak daun binahong dengan komponen yoghurt sinbiotik.

#### Penerimaan

#### Aroma

Penambahan ekstrak daun binahong tidak menurunkan tingkat kesukaan terhadap aroma. Hal ini disebabkan adanya kesamaan aroma khas dari yoghurt yaitu beramoma asam khas fermentasi<sup>18</sup>.Penerimaan terhadap aroma fluktuatif, tetapi tidak menurunkan skala tingkat penerimaan aroma. Tingkat kesukaan terhadap aroma yaitu penambahan ekstrak daun binahong dengan kadar 0,25%.

Aroma khas fermentasi didapatkan dari aktivitas bakteri *Lactobacillus* bulgaricus yang berperan penting dalam menghasilkan flavour aroma pada yoghurt<sup>18</sup>. Aroma yoghurt sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong yaitu beraroma asam khas fermentasi. Aroma ekstrak daun binahong ketika dicampurkan kedalam yoghurt sinbiotik tidak memberikan pengaruh yang signifikan (p=0,346).

# Warna

Analisis statistik terhadap penerimaan warna berpengaruh signifikan dengan pemberian kadar ekstrak daun binahong (p=0,001). Penerimaan warna tertinggi yaitu pada yoghurt sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong 0%.

Hasil menunjukkan penurunan penerimaan warna pada penambahan ekstrak daun binahong yang semakin tinggi. Hal ini disebabkan dari warna coklat ekstrak daun binahong hasil maserasi segar. Ekstrak daun binahong akan berwarna hijau ketika menggunakan metode ekstraksi dengan cara sokletasi dan maserasi kering, sedangkan pada maserasi segar ekstrak daun binahong akan berwarna cokklat. Perendaman dalam larutan etanol 95% menyebabkan perubahan warna daun hijau menjadi coklat akibat reaksi pencoklatan pada proses maserasi<sup>19-17</sup>.

#### **Tekstur**

Anasisis statistik menunjukkan penambahan ekstrak daun binahong tidak berpengaruh secara signifikan terhadap penerimaan tekstur (p=0,062). Hal ini dikarenakan penambahan karagenan disetiap perlakuan sama yaitu sebesar 6%. Penambahan karagenan 0,6% berdasarkan hasil uji pendahuluan yang telah dilakukan sebelumnya.

#### Rasa

Penambahan ekstrak daun binahong tidak berpengaruh secara signifikan terhadap penerimaan rasa (*p*=0,877). Yoghurt sinbiotik diberikan gula stevia dengan jumlah yang sama pada setiap perlakuan, yaitu sebesar 0,2%, tetapi tidak berpengaruh pada rasa yoghurt sinbiotik. Rasa yoghurt sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong yaitu rasa asam khas yoghurt. Fermentasi susu dengan menggunakanbakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*akan menghasilkan asam laktat. Kedua macam bakteri tersebut akan menguraikan laktosa (gula susu) menjadi asam laktat danberbagai komponen aroma dan citarasa. *Lactobacillus bulgaricus* lebih berperanpada pembentukan aroma, sedangkan*Streptococcus thermophilus* lebih berperanpada pembentukan citarasa yoghurt<sup>18</sup>.

# PRODUK TERBAIK

Berdasarkan total bakteri asam laktat, aktivitas antioksidan dan penerimaan maka produk terbaik yaitu yoghurt sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong sebesar 0,12%, yaitu memiliki total bakteri asam laktat sebesar 86,966x10<sup>13</sup> CFU/ml memenuhi kriteria jumlah probiotik minimum berdasarkan Standar Nasional Indonesia yaitu lebih dari 10<sup>7</sup> CFU/ml, aktivitas antioksidan 4,33% dan penerimaan aroma, warna, tekstur dan rasa yang disukai oleh panelis daripada kadar penambahan ekstrak daun binahong lainnya.

#### **KESIMPULAN**

Penambahan ekstrak daun binahong pada yoghurt sinbiotik berpengaruh terhadap penerimaan warna, namun tidak berpengaruh secara signifikan pada aroma, tekstur dan rasa; aktivitas antioksidan dan total bakteri asam laktat. Penambahan ekstrak daun binahong dalam berbagai dosis pada yoghurt sinbiotik menurunkan total bakteri asam laktat, tetapi masih memenuhi syarat probiotik berdasarkan Standar Nasional Indonesia yaitu lebih dari 10<sup>7</sup> CFU/ml. Tidak ada pengaruh penambahan ekstrak daun binahong pada aktivitas antioksidan. Pada penerimaan memberikan pengaruh terhadap warna, namun tidak pada aroma, terkstur dan rasa. Produk terbaik yaitu yoghurt sinbiotik dengan penambahan ekstrak daun binahong dengan jumlah sebesar 0,12%.

# **SARAN**

Pada penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan penambahan gula dalam batas aman untuk dikonsumsi penderita sindrom metabolik pada yoghurt sinbiotik agar meningkatkan daya terima. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai metode ektraksi menggunakan pelarut air agar ekstrak daun binahong lebih larut pada yoghurt sinbiotik dan lebih efisien dari segi waktu dengan tetap menghasilkan ekstrak daun binahong dengan aktivitas antioksidan yang tinggi.

# **UCAPAN TERIMAKASIH**

Penulis mengucapkan terimakasih atas didanainya penelitian ini oleh Riset Pengembangan dan Penerapan PNBP Undip Anggaran 2016.

#### DAFTAR PUSTAKA

- 1. Cameron Aj, Shaw, JE, Zimmet Pz. The Metabolic Syndrome:Prevalence in Worldwide Populations. Endocrinology and Metabolism Clinics of North America. 2004;33(Doi:10.1016):351–75.
- 2. Aguiler M, Bhuket T, Torres S, Liu B, Wong Rj. Prevalence of Metabolic Syndrome in The United State, 2003-2012. The Journal of the American Medical Assosiation. 2015;313.
- 3. Soewondo P, Purnamasari D, Oemardi M, Waspadji S, Soegondo S. Prevalence of Metabolic Syndrome Using NCEP/ATP III Criteria in Jakarta, Indonesia: The Jakarta Primary Non-Communicable Disease Risk Factors Surveillance 2006. Acta Med Indones. 2010;42(4):199–203.
- 4. Grundy Sm, Becker D, T. Clark L. Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). National Cholesterol Education Program National Heart, Lung, and Blood Institute National Institutes of Health. 2002;3(02).
- 5. Kaur J. A Comprehensive Review On Metabolic Syndrome. Hindawi Publishing Corporation Cardiology Research and Practice. 2014;20(12):21.
- 6. Nels M, Lacey K, Rorth Sl, Sucher K. Nutrition Therapy and Pathophysiology. 2nd Ed. Cosio Y, Editor. USA: Cengange Learning; 2011.
- 7. AY Tamime, RK Robinson. Tamime And Robinson's Science And Technology. 3rd Ed. Woodhead Publishing Limited; 2010.p. 302.
- 8. Presetyo H. Pengaruh Penggunaan Starter Yoghurt pada Level Tertentu terhadap Karakteristik Yoghurt yang Dihasilkan [Skripsi]. Surakarta:Universitas Sebelas Maret;2010.
- Orviyanti, Gerin. Perbedaan Pengaruh Yoghurt Susu, Jus Kacang Merah, dan Yoghurt Kacang Merah terhadap Kadar Kolesterol LDL dan Kolesterol HDL Serum pada Tikus Dislipidemia[Skripsi]. Semarang:Universitas Diponegoro;2012.

- 10. Ooi L-G, Liong M-T. Cholesterol Lowering Effects of Probiotics and Prebiotics: A Review of *in Vivo* and *in Vitro* Findings. International Journals of Molecular Sciences. 2010; 11:2499-522
- 11. Mohamadshasi M, Veissi M, Haidari F, Shahbazian H. Effect of Probiotic Yogurt Consumtion on Inflamatory Biomarkers in Patients Eith Type 2 Diabetes. Bioimpact. 2014; 4(2) 83–88.
- 12. FAO/WHO. Guidelines For Evaluation On Probiotics In Food. Report of joint FAO/WHO Working Group on drafting Guidelines for the evaluation of probiotics in food. 2002
- 13. Roberfroid MB. Prebiotics And Probiotics- Are They Functional Foods? American Journal of Clinical Nutririon.2000;71:1682–7.
- 14. Fauziah F, Arifin H, Elisma An. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Binahong (Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis) terhadap Kadar Kolesterol Total Darah Pada Mencit Putih Jantan Hiperkolesterolemia. Prosiding. 2014.
- 15. Prajapati V, Maheriya P, Jani G, Solanki H. Carrageenan: A Natural Seaweed Polysaccharide And Its Applications. Elsevier Ltd. 2014;97–112.
- 16. Makalunsenge F, K. Salimi Y, Duengo S. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus [Skripsi]. Gorontalo: Universitas Negeri Gorontalo; 2014.
- 17. Selawa W, Revolta M, Runtuwene J, Citraningtyas G. Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong (Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis). PHARMACON.Manado: UNSRAT; 2016;1–7.
- 18. Widodo W. Bioteknologi Fermentasi Susu.Pusat Pengembangan Bioteknologi Universitas Muhammadiyah Malang. Malang. 2002;
- Murni Astuti S. Skrining Fitokimia dan Uji Aktifitas Antibiotika Ekstrak Etanol Daun, Batang, Bunga dan Umbi Tanaman Binahong (Anredera Cordifolia (Ten) Steenis) [Skripsi]. Malaysia: Universits Malaysia Pahang;2016