

Aktivitas Antioksidan Yoghurt Susu Sapi Yang Difortifikasi Dengan Ekstrak Sawi Hutan (*Elephantopus scaber* L)

Kristoforus Wilson Kia¹, Aristo Kurniawan Sio^{2*}, Janrigo Klaumegio Mere³

Fakultas Pertanian, Sains dan Kesehatan, Universitas Timor, Kefamenanu, TTU, NTT, Indonesia

*Correspondence Author: aristosio@unimor.ac.id

Article Info

Article history:

Received 30 September 2023

Received in revised form 10 Oktober 2023

Accepted 25 Oktober 2023

DOI:

<https://doi.org/10.32938/ja.v8i4.5341>

Keywords:

Yoghurt Susu Sapi,

Ekstrak Sawi Hutan (*Elephantopus scaber* L)

Aktivitas Antioksidan

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan yoghurt susu sapi yang difortifikasi dengan ekstrak sawi hutan (*Elephantopus scaber* L) dengan volume yang berbeda yaitu 0 mL, 20 mL, 30 mL, dan 40 mL. Pengujian skrining fitokimia menunjukkan bahwa terdapat senyawa flavonoid, saponin, dan polifenol pada tanaman sawi hutan yang merupakan kelompok senyawa antioksidan. Parameter aktivitas antioksidan dan diukur dengan nilai IC_{50} yang artinya besarnya konsentrasi larutan uji yang mampu menurunkan 50% absorbansi DPPH. Metode yang digunakan dalam pembuatan yoghurt adalah menggunakan metode Donkor. Susu sapi yang akan digunakan dipasteurisasi selama 30 menit pada suhu 85-90°C dan diturunkan suhunya sampai suhu mencapai 40-45°C. Starter bakteri ditambahkan ke dalam susu pasteurisasi sesuai perlakuan dengan populasi 1×10^7 CFU/mL. Setelah inokulasi, dilakukan inkubasi selama 16 jam pada suhu 37°C sampai terbentuk koagulan. Selanjutnya ditambahkan ekstrak sawi hutan (*E. scaber* L) sesuai perlakuan yaitu 0 mL, 20 mL, 30 mL, dan 40 mL/250 mL yoghurt dan selanjutnya yoghurt dianalisis. Hasil analisis menunjukkan bahwa yoghurt susu sapi yang difortifikasi dengan ekstrak sawi hutan (*E. scaber* L) memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat (<50 pmm). Kemampuan aktivitas antioksidan terbaik yaitu pada yoghurt susu sapi yang difortifikasi 40 mL ekstrak sawi hutan yaitu 12,89 ppm diikuti 30 mL sebesar 21,35 ppm dan 20 mL sebesar 32,69 ppm. Semakin banyak ekstrak yang ditambahkan pada yoghurt semakin meningkat pula nilai total fenolik dan aktivitas antioksidannya.

1. Pendahuluan

Radikal bebas merupakan sebutan untuk sel-sel rusak yang dapat menyebabkan kondisi negatif tertentu. Disebut 'bebas' karena sel-sel ini kehilangan molekul penting yang membuat mereka dapat mendatangkan kerusakan jika bertemu dengan molekul lain. Menurut Yuslianti (2018), radikal bebas berasal dari dalam tubuh dan luar tubuh seperti radikal bebas endogenus dan eksogenus. Selanjutnya, Werdhasari (2014) menyatakan bahwa jumlah radikal bebas yang sangat tinggi di dalam tubuh manusia dapat mengakibatkan munculnya penyakit kanker, diabetes melitus, penyakit jantung, dan stroke. Pengaruh radikal bebas menimbulkan kondisi stres oksidatif yaitu jumlah radikal bebas melebihi kemampuan detoksifikasi oleh sistem pertahanan antioksidan di dalam tubuh (Sayuti & Yentrina, 2015). Radikal bebas dapat dihambat melalui senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan seperti saponin, tannin serta flavonoid (Astuti, 2012). Seiring dengan berkembangnya teknologi pengolahan pangan, terdapat berbagai inovasi dalam menghasilkan produk pangan yang memiliki aktivitas antioksidan, salah satunya adalah yoghurt yang dapat ditambahkan dengan bahan-bahan alami lainnya sebagai sumber antioksidan.

Yoghurt merupakan fermentasi susu yang dibantu oleh bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* atau bakteri asam laktat (BAL) lain yang sesuai dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain (SNI 2981:2009). Manfaat yoghurt dapat menyehatkan saluran pencernaan, sebagai alternatif menu diet, serta aman dikonsumsi oleh penderita intoleransi laktosa (Donkor et al., 2018). Pemanfaatan yoghurt sebagai pangan fungsional telah banyak diteliti oleh para peneliti. Penambahan ekstrak bahan alam yang mempunyai manfaat kesehatan sering ditambahkan dalam yoghurt. Salah satu bahan alam yang dapat dimanfaatkan untuk menambah nilai fungsional yoghurt adalah sawi hutan (*Elephantopus scaber* L).

Sawi hutan (*E. scaber* L) merupakan salah satu tanaman obat yang dikenal masyarakat untuk mengobati berbagai penyakit. Menurut Sari et al., (2015), sawi hutan digunakan masyarakat Suku Dayak sebagai salah satu tanaman obat untuk mengobati sakit perut. Selain itu, Dharm et al., (2013) dalam penelitiannya membuktikan bahwa sawi hutan memiliki kemampuan sebagai pereda nyeri yang telah diuji pada mencit putih jantan. Kandungan senyawa metabolit sekunder pada tanaman sawi hutan memiliki sifat antioksidan dan juga antibakteri sehingga dapat berperan sebagai tanaman sumber antioksidan. Senyawa metabolit sekunder organik yang terdapat pada tanaman sawi hutan yang memiliki peran sebagai antioksidan dan antibakteri adalah fenol dan polifenol. Aktivitas senyawa fenol dan polifenol dapat mengikat radikal bebas di dalam tubuh sehingga radikal bebas tersebut tidak diserap ke dalam tubuh (Astuti, 2012).

Eksplorasi mengenai manfaat tanaman sawi hutan bagi kesehatan telah banyak dilakukan, akan tetapi sampai saat ini belum ada penelitian mengenai pemanfaatan ekstrak sawi hutan sebagai sumber antioksidan dalam produk makanan maupun minuman. Oleh sebab itu, perlu dilakukan sebuah studi mengenai pemanfaatan ekstrak sawi hutan sebagai sumber antioksidan yang pada penelitian ini diaplikasikan pada produk olahan susu yaitu yoghurt susu sapi.

2. Metode

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada beberapa tempat yaitu pembuatan yoghurt susu sapi dan ekstrak sawi hutan dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Fakultas Pertanian, Sains, dan Kesehatan, Universitas Timor sedangkan pengujian DPPH (antioksidan) dilakukan di Laboratorium Kimia, Universitas Timor, Kabupaten TTU, Provinsi Nusa Tenggara Timur.

2.2 Alat dan Bahan

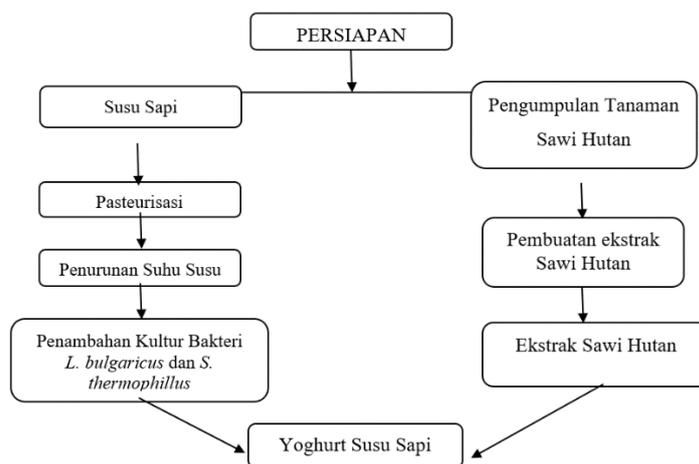
a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari gelas ukur, tabung reaksi, erlenmeyer, mikropipet, blender, rak tabung, bluetip, yellow tip, botol coklat, spatula, cawan petri, timbangan analitik, inkubator, autoclave, laminar, oven, panci, refrigerator, *heatermagnetic stirrer*, *hotplate*, *hand sealer*, dan buret.

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu sapi dan tanaman sawi hutan. Kultur yoghurt yang digunakan antara lain *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* yang dibeli dari Laboratorium Teknologi Hasil Ternak, Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.

2.3 Prosedur Penelitian



Gambar 1. Diagram Alir Prosedur Penelitian

2.3.1 Persiapan Penelitian

Penelitian diawali dengan tahapan tanaman sawi hutan dikeringanginkan selama ± 10 hari dan selanjutnya digiling menjadi serbuk simplisia. Simplisia selanjutnya diproses menjadi ekstrak sawi hutan menggunakan metode evaporasi. Tahap persiapan yang kedua yaitu peremajaan kultur bakteri asam laktat (*L. bulgaricus* dan *S. thermophilus*) yang digunakan sebagai bakteri starter dalam proses pembuatan yoghurt. Susu sapi segar diperoleh dari peternakan sapi perah Halikelen.

2.3.2 Peremajaan Starter Bakteri

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* sebagai starter pada pembuatan yoghurt. Peremajaan starter dilakukan dengan membuat media untuk pertumbuhan bakteri dengan melarutkan MRSB dan ekstrak yeast ke dalam akuades, kemudian dilakukan pemanasan dengan *autoclave* sampai suhu 60°C. Sterilisasi dilakukan pada *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit, setelah itu disimpan dalam refrigerator sampai larutan digunakan. Bakteri yang akan digunakan dimasukkan ke dalam tabung yang berisi media sebanyak 0.5 mL, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Koloni bakteri tersebut dihitung sampai memperoleh bakteri 1x10⁷ CFU/mL.

2.3.3 Pembuatan Ekstrak Sawi Hutan (*E. scaber* L)

Pembuatan ekstrak sawi hutan mengacu pada Pokhrel (2015), diawali dengan cara mengambil tanaman sawi hutan kemudian dikeringkan. Sawi hutan yang telah kering kemudian digiling menjadi serbuk kering (simplisia). Serbuk sawi hutan yang telah menjadi simplisia diekstraksi menggunakan metode maserasi (perendaman). Simplisia sebanyak 150 g dilarutkan di dalam 1500 mL akuades steril dengan perbandingan 1:10. Campuran tersebut diaduk secara manual selama 30 menit dan didiamkan selama 24 jam pada suhu ruang. Larutan ekstrak kemudian disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh filtrat. Filtrat yang diperoleh selanjutnya diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60°C agar memperoleh ekstrak sawi hutan.

2.3.4 Pembuatan Yoghurt

Metode yang digunakan dalam pembuatan yoghurt adalah menggunakan metode Donkor (Donkor et al., 2006). Susu sapi yang akan digunakan dipasteurisasi selama 30 menit pada suhu 85-90°C dan diturunkan suhunya sampai mencapai 40-45°C. Selanjutnya ditambahkan starter bakteri ke dalam susu pasteurisasi sesuai perlakuan dengan populasi 1x10⁷ CFU/mL. Setelah dilakukan inokulasi, dilakukan inkubasi selama 16 jam pada suhu 37°C sampai terbentuk koagulasi. Selanjutnya, ditambahkan ekstrak sawi hutan sesuai perlakuan yaitu 0 mL, 20 mL, 30 mL dan 40 mL/250 mL yoghurt dan selanjutnya yoghurt dianalisis.

2.3.5 Uji Skrining Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan dengan menggunakan pereaksi pendeteksi golongan pada tabung reaksi. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi:

a. Analisis Alkaloid

Sebanyak 2 mL larutan ekstrak uji diuapkan di atas cawan porselin hingga diperoleh residu. Residu kemudian dilarutkan dengan 5 mL HCl 2N. Larutan yang diperoleh kemudian dibagi ke dalam 3 tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan dengan aquades yang berfungsi sebagai blanko, tabung kedua ditambahkan pereaksi Dragendorff sebanyak 3 tetes, dan tabung ketiga ditambahkan pereaksi Mayer sebanyak 3 tetes. Terbentuknya endapan jingga pada tabung kedua dan endapan kuning pada tabung ketiga menunjukkan adanya alkaloid (Farnsworth, 1966).

b. Analisis Tanin dan Polifenol

3 mL larutan ekstrak uji dibagi ke dalam 3 bagian yaitu tabung A, tabung B, dan tabung C. Tabung A digunakan sebagai blanko, tabung B direaksikan dengan larutan besi (III) klorida 10%; warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin dan polifenol, sedangkan pada tabung C hanya ditambahkan garam gelatin. Apabila terbentuk endapan pada tabung C maka larutan ekstrak positif mengandung tannin (Chandrashekar, 2012).

c. Analisis Flavonoid

Ekstrak sawi hutan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Pada sampel ditambahkan serbuk Magnesium 2 N sebanyak 2 mg dan diberikan 3 tetes HCl pekat. Sampel dikocok dan diamati perubahan yang terjadi; jika terbentuk warna merah, jingga atau kuning pada larutan menunjukkan adanya flavonoid.

d. Analisis Saponin

10 mL larutan ekstrak uji dalam tabung reaksi dikocok vertikal selama 10 detik kemudian dibiarkan selama 10 detik. Pembentukan busa setinggi 1-10 cm yang stabil selama tidak kurang 10 menit menunjukkan adanya saponin. Pada penambahan 1 tetes HCl 2N, busa tidak hilang (Depkes RI, 1995).

e. Analisis Triterpenoid

Sampel ekstrak sawi hutan diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Sampel ditambahkan 2 tetes larutan CHCl₃ dan 3 tetes pereaksi Liebermann Burchard. Perubahan pada sampel diamati, terbentuknya warna merah ungu menunjukkan reaksi positif.

2.3.6 Penentuan Kadar Fenolik

Analisis total fenol dilakukan dengan prosedur [Almey \(2010\)](#), sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diekstrak dengan 5 mL metanol 85%, divortex hingga homogen dan disentrifus 3.000 rpm selama 15 menit kemudian supernatannya disaring, filtrat diencerkan sampai volume 5 mL. Selanjutnya, dipipet sebanyak 0,4 mL filtrat dan dimasukkan dalam tabung reaksi dengan penambahan 0,4 mL reagen Folin-Clocaften, divortex hingga homogen, dan dibiarkan selama 6 menit. Selanjutnya, ditambahkan 4,2 mL 5% larutan sodium karbonat (Na_2CO_3), divortex dan diinkubasi selama 90 menit pada suhu ruang. Pengukuran absorbansi larutan dibaca pada $\lambda_{\text{max}}=760$ nm. Setelah pengukuran absorbansi sampel, dilakukan pembuatan kurva standar dengan melarutkan asam galat dalam metanol 85% dengan berbagai konsentrasi 0-100 mg/L. Kadar total fenol dihitung menggunakan rumus persamaan regresi linier dari asam galat, $y = ax + b$.

2.3.7 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sawi Hutan

DPPH ditimbang sebanyak 4 mg kemudian dilarutkan dalam 100 mL etanol 80%. Larutan dikocok hingga homogen dan diperoleh DPPH dengan konsentrasi 40 ppm. Larutan blangko dibuat dengan cara sebanyak 3 mL larutan DPPH dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan dengan 3 mL etanol 80%.

Pembuatan larutan induk vitamin C dilakukan dengan penimbangan 1 mg vitamin C yang dilarutkan ke dalam 10 mL etanol 80% (100 ppm), kemudian dibuat larutan seri (2, 4, 6, 8 ppm). Pembuatan larutan seri 2 ppm dilakukan dengan larutan induk dipipet sebanyak 0,2 mL kemudian ditambah dengan etanol 80% sampai volumenya 10 mL, kemudian diambil 3 mL dari 10 mL tersebut dan dicampur dengan 3 mL larutan DPPH. Pembuatan larutan seri 4 ppm; larutan induk dipipet sebanyak 0,4 mL kemudian ditambah dengan etanol 80% sampai volumenya 10 mL, kemudian diambil 3 mL dari 10 mL tersebut dan dicampur dengan 3 mL larutan DPPH. Pembuatan larutan seri 6 ppm; larutan induk dipipet sebanyak 0,6 mL kemudian ditambah dengan etanol 80% sampai volumenya 10 mL, kemudian diambil 3 mL dari 10 mL tersebut dan dicampur dengan 3 mL larutan DPPH. Pembuatan larutan seri 8 ppm; larutan induk dipipet sebanyak 0,8 mL kemudian ditambah dengan etanol 80% sampai volumenya 10 mL, kemudian diambil 3 mL dari 10 mL tersebut dan dicampur dengan 3 mL larutan DPPH.

Ekstrak ditimbang 50 mg, dilarutkan ke dalam 5 mL etanol etanol 80% (10.000 ppm kemudian dibuat larutan seri (1, 10, 100, 1.000 ppm). Pembuatan larutan seri 1 ppm; larutan induk dipipet sebanyak 0,01 mL kemudian ditambah dengan etanol 80% sampai volumenya 100 mL, kemudian diambil 3 mL dari 100 mL tersebut dan dicampur dengan 3 mL larutan DPPH. Pembuatan larutan seri 10 ppm; larutan induk dipipet sebanyak 0,01 mL kemudian ditambah dengan etanol 80% sampai volumenya 10 mL, kemudian diambil 3 mL dari 10 mL tersebut dan dicampur dengan 3 mL larutan DPPH. Pembuatan larutan seri 100 ppm; larutan induk dipipet sebanyak 0,1 mL kemudian ditambah dengan etanol 80% sampai volumenya 10 mL, kemudian diambil 3 mL dari 10 mL tersebut dan dicampur dengan 3 mL larutan DPPH. Pembuatan larutan seri 1.000 ppm Larutan induk dipipet sebanyak 1 mL kemudian ditambah dengan etanol 80% sampai volumenya 10 mL, kemudian diambil 3 mL dari 10 mL tersebut dan dicampur dengan 3 mL larutan DPPH.

Pengukuran absorbansi terhadap larutan blanko, ekstrak daun katuk, dan kontrol positif (vitamin C) diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dalam keadaan gelap, kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Kemudian, setelah nilai absorbansinya diperoleh, dihitung persentase hambatan atau persentase inhibisi pada masing-masing larutan yang dihitung menggunakan rumus Hanani ([Hanani et al., 2005](#)). Setelah mendapatkan persentase aktivitas hambatan, kemudian dicari nilai IC50

2.4 Peubah yang diamati

2.4.1 Uji Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia diamati berdasarkan ada atau tidaknya perubahan warna setelah diberi perlakuan. Uji skrining dilakukan untuk mendeteksi keberadaan polifenol, saponin, flavonoid, tanin, alkaloid, dan triterpenoid.

2.4.2 Kadar Fenolik

Pengukuran absorbansi larutan dibaca pada $\lambda_{\text{max}}=760$ nm. Setelah pengukuran absorbansi sampel, dilakukan pembuatan kurva standar dengan melarutkan asam galat dalam metanol 85% dengan berbagai konsentrasi 0 - 100 mg/L. Kadar total fenol dihitung menggunakan rumus persamaan regresi linier dari asam galat, $y = ax + b$.

2.4.3 Uji Pendahuluan Antioksidan

Uji ini dilakukan dengan metode DPPH yaitu dengan melihat perubahan warna yang terjadi. Reaksi ini ditandai dengan adanya perubahan warna larutan DPPH yang berwarna ungu menjadi kuning.

2.4.4 Pengujian Antioksidan

Pengujian antioksidan juga dilakukan pada yoghurt susu sapi yang difortifikasi dengan ekstrak sawi hutan menggunakan uji penghambatan terhadap radikal bebas DPPH. Pengujian antioksidan dilakukan dengan cara yoghurt susu sapi diambil sebanyak 150 μL dicampurkan dengan 0.9 mL DPPH dalam larutan metanol. Campuran tersebut didiamkan selama 20 menit dan ukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm dengan metanol sebagai kontrolnya. Presentasi penghambatan radikal bebas dinyatakan sebagai antioksidan, yang dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Penghambatan} = (A \text{ control} - A \text{ sampel}) \times 100 / A \text{ control}$$

Efektivitas antioksidan yang baik ditunjukkan dari presentasi penghambatan yang lebih tinggi ([Adnan et al., 2011](#)).

2.5 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap ([Steel and Torrie, 1995](#)). Faktor yang diamati yaitu perlakuan yoghurt tanpa penambahan ekstrak sawi Hutan, yoghurt dengan penambahan ekstrak sawi hutan 20 mL, yoghurt dengan penambahan ekstrak sawi hutan 30 mL, dan yoghurt dengan penambahan ekstrak sawi hutan 40 mL, kontrolnya adalah yoghurt tanpa ekstrak sawi hutan. Peubah yang diamati yaitu efektivitas antioksidan yang diukur melalui pengujian DPPH dengan setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Model linier rancangan yang digunakan adalah seperti berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan:

Y_{ij} : Respon pengamatan karena perlakuan ke-i pada ulangan ke-j.

μ : Nilai Tengah Populasi

τ_i : Pengaruh aditif dari perlakuan ke-i.

ϵ_{ij} : Galat percobaan dari perlakuan ke-i, ulangan ke-j.

2.6 Analisis Data

Data dianalisis menggunakan analisis sidik ragam (*Analisis of Variance/ANOVA*) untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap peubah yang diamati. Jika perlakuan berbeda nyata terhadap peubah yang diukur maka dilanjutkan dengan uji Duncan. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan SPSS 25.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Uji Kualitatif Fenolik

Prinsip dari uji ini adalah reaksi oksidasi-reduksi pada suasana basa. Penambahan natrium karbonat akan memberikan suasana basa yang akan mengubah senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Ion fenolat yang terbentuk akan dioksidasi oleh asam fosfomolibdat-fosfotungstat dalam reagen Folin-Ciocalteu yang menyebabkan larutan berubah menjadi warna biru. Keberadaan senyawa fenolik dalam sampel positif apabila terjadi perubahan warna pada reagen Folin- Ciocalteu yang berwarna kuning menjadi biru. Pada uji pendahuluan ini, fraksi etil asetat ekstrak sawi hutan menunjukkan hasil positif dengan adanya perubahan larutan menjadi berwarna biru, sehingga dapat dikatakan mengandung senyawa fenolik.



Gambar 1. Hasil uji pendahuluan fenolik

(A = reagen Folin-Ciocalteu + larutan fraksi etil asetat ekstrak sawi hutan,
B = kontrol positif [reagen Folin-Ciocalteu + asam galat],
C = blanko [reagen Folin- Ciocalteu + natrium karbonat].

3.2 Uji Skrining Fitokimia

Tabel 1. Uji Skrining Fitokimia

No	Senyawa Kimia	Pereaksi	Hasil	Keterangan
1	Alkaloid	- Mayer - Wanger - Dragendrof	- Endapan Putih - Endapan Coklat - Endapan Merah Jingga	- - -
2	Flavonoid	Penambahan HCl Pekat	Pembentukan warna merah atau orange	+
3	Saponin	Ditetesi dengan HCl 2N	Buih tidak hilang	+
4	Triterpenoid	2 ml kloroform dan 3 ml asam sulfat pekat	Merah kecoklatan pada antar permukaan	-
5	Tannin	Penambahan FeCl ₃	Warna biru tua atau hitam	-
6	Polifenol	Besi (III) Klorida	Warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan	+

Uji skrining fitokimia adalah serangkaian tes atau analisis kimia yang digunakan untuk mengidentifikasi dan menentukan keberadaan senyawa kimia dalam tumbuhan atau bahan tumbuhan tertentu. Tujuan utama dari uji skrining fitokimia antara lain untuk mengidentifikasi senyawa aktif, mengkarakterisasi senyawa kimia, dan untuk menentukan aktivitas biologis. Uji skrining dalam penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia dari tanaman sawi hutan dan potensinya untuk digunakan dalam berbagai aplikasi, termasuk dalam pengembangan produk makanan dan minuman seperti yoghurt.

Dari hasil skrining fitokimia pada tanaman sawi hutan, diketahui bahwa tanaman ini mengandung senyawa polifenol, saponin, dan flavonoid. Berbagai penelitian telah mengemukakan bahwa ketiga senyawa ini memiliki aktivitas antioksidan (Hasan, 2022). Ketiga senyawa ini merupakan senyawa kimia yang dapat ditemukan di berbagai tumbuhan dan memiliki sifat sebagai antioksidan karena mampu melawan kerusakan sel oleh radikal bebas. Ketiga senyawa ini berperan penting dalam menjaga kesehatan dan membantu melindungi sel-sel dari kerusakan oksidatif yang dapat menyebabkan berbagai penyakit.

3.3 Uji Kuantitatif Total Fenolik

Tabel 2. Asam Galat

Uraian Uji	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 4
Bobot Kertas	0,2114 g	0,2057 g	0,2106 g	0,2112 g
Bobot Kertas + Asam Galat	0,2162 g	0,2109 g	0,2155 g	0,2128 g
Bobot Kertas + Sisa	0,2113 g	0,2058 g	0,2109 g	0,2109 g
Bobot Asam Galat	0,0052 g	0,0053 g	0,0051 g	0,0052 g

Asam galat adalah senyawa kimia yang termasuk dalam kelompok senyawa fenolik yang ditemukan secara alami dalam berbagai tumbuhan. Asam galat memiliki sifat antioksidan yang kuat. Kaitan antara asam galat dan kadar antioksidan terletak pada kemampuannya untuk melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas. Asam galat bertindak sebagai antioksidan dengan menangkap radikal bebas sehingga dapat membantu mengurangi kerusakan sel dan jaringan di dalam tubuh. Karena sifat antioksidannya, asam galat sering dianggap sebagai komponen penting dalam menjaga kesehatan. Semakin tinggi kadar asam galat dalam suatu bahan, semakin tinggi kapasitasnya untuk melawan radikal bebas.

Tabel 3. Penetapan Kandungan Fenolik Total

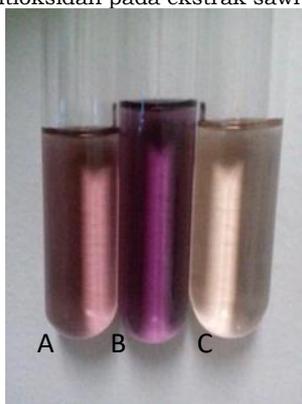
Sampel	Volume Ekstrak (mL)	Absorbansi	Kandungan Fenolik Total (µg/mL)	Kandungan Fenolik Total (mg ekuivalen asam galat per g fraksi)	Rata-Rata (mg ekuivalen asam galat per g fraksi)	SD (mg ekuivalen asam galat per g fraksi)
1	0	-	-	-	4,632	0,023
2	20	0,448	92,148	4,607		

3	30	0,452	92,401	4,620	
4	40	0,459	93,408	4,629	

Berdasarkan Tabel 3, kadar total fenolik terendah terdapat pada sampel 1 dan tertinggi terdapat pada perlakuan R4 yaitu sebesar 93,408 µg/mL. Semakin tinggi volume ekstrak sawi hutan yang digunakan maka semakin besar nilai total fenolik yoghurt. Hal ini membuktikan bahwa sawi hutan memiliki senyawa organik yang dapat direkomendasikan sebagai bahan tambahan alternatif pada produk olahan yang tidak membahayakan konsumen. Semakin tingginya total fenolik dalam suatu bahan pangan, semakin kuat aktivitas antioksidannya. Bahan pangan yang mengandung aktivitas antioksidan yang kuat dapat mencegah berbagai penyakit akibat radikal bebas.

3.4 Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan

Uji pendahuluan merupakan langkah awal dalam penentuan aktivitas antioksidan yang bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat ekstrak sawi hutan secara kualitatif. Uji ini dilakukan dengan mereaksikan DPPH 0,4 mM dengan larutan sampel uji yang dibandingkan dengan kontrol negatif (hanya larutan DPPH) dan kontrol positif (larutan DPPH yang direaksikan dengan larutan baku pembanding, yaitu karoten). Apabila senyawa uji memiliki aktivitas antioksidan, ketika direaksikan dengan DPPH maka radikal DPPH akan menangkap elektron yang menyebabkan berkurangnya ikatan rangkap konjugasi karena tidak adanya kesempatan elektron untuk beresonansi. Reaksi ini ditandai dengan adanya perubahan warna larutan DPPH yang berwarna ungu menjadi kuning. Pada hasil uji pendahuluan (Gambar 2) ini menunjukkan hasil positif untuk larutan rutin yang ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi kuning, sedangkan untuk larutan sampel uji juga menunjukkan hasil positif dengan ditandai dengan adanya penurunan intensitas warna ungu. Walaupun tidak terjadi perubahan warna menjadi kuning dan hanya penurunan intensitas warna, tetap ada kemungkinan terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak sawi hutan.



Gambar 2. Hasil uji pendahuluan aktivitas antioksidan (A = larutan DPPH + larutan fraksi etil asetat ekstrak sawi hutan, B = kontrol negatif [larutan DPPH], C = kontrol positif [larutan DPPH + larutan rutin]).

3.5 Uji Aktifitas Antioksidan

Dalam menganalisis aktivitas antioksidan yoghurt susu sapi yang ditambahkan ekstrak sawi hutan, digunakan persamaan regresi linier untuk mendapatkan nilai Inhibitory Concentration (50%) IC₅₀. Menurut Artanti dan Lisnasari (2018), besarnya aktivitas penangkap radikal bebas dinyatakan dengan IC₅₀ yaitu besarnya konsentrasi larutan uji yang mampu menurunkan 50% absorbansi DPPH.

Sampel dinyatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ < 50 ppm, kuat jika nilai IC₅₀ 50-100 ppm, sedang jika nilai IC₅₀ 100-150 ppm, lemah jika nilai IC₅₀ 151-200 ppm, dan dinyatakan tidak aktif jika mempunyai nilai IC₅₀ > 200 ppm. Semakin kecil nilai IC₅₀ menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Uji aktivitas antioksidan yoghurt susu sapi yang difortifikasi dengan ekstrak sawi hutan berdasarkan IC₅₀ dengan volume masing masing 0 mL, 20 mL, 30 mL, dan 40 mL dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Aktivitas antioksidan yoghurt susu sapi yang difortifikasi dengan ekstrak sawi hutan berdasarkan IC₅₀.

Sampel	Ln Konsentrasi	Rataan Perlakuan	Abs Sampel	% Inhibisi	Regresi linier	IC ₅₀ (ppm)
0 ML	20	8,59	7,55	12,68	y= 8,75x + 12,92	69,34 ^d
	40	8,65	7,61	12,77		
	60	8,77	7,73	12,95		
	80	8,98	7,94	13,28		
20 ML	20	10,08	9,04	14,99	y=10,05x + 14,94	32,69 ^c
	40	10,13	9,09	15,06		
	60	10,20	9,16	15,17		
	80	9,80	8,76	14,55		
30 ML	20	10,35	9,31	15,40	y= 10,73x + 17,15	21,35 ^b
	40	10,85	9,80	16,17		
	60	10,36	9,32	15,42		
	80	11,36	10,32	16,97		
40 ML	20	12,45	11,41	18,66	y= 12,33x + 18,47	12,89 ^a
	40	12,35	11,30	18,49		
	60	12,56	11,52	18,82		
	80	11,98	10,94	17,92		

Hasil analisis pada Tabel 4 menunjukkan bahwa, yoghurt susu sapi yang difortifikasi dengan ekstrak sawi hutan (*E. scaber L*) memiliki aktivitas antioksidan. Yoghurt susu sapi dengan penambahan ekstrak sawi hutan 20 mL, 30 mL, dan 40 mL memiliki kemampuan antioksidan sangat kuat (<50 ppm) dibandingkan yoghurt susu sapi tanpa penambahan ekstrak sawi hutan (*E. scaber L*). Aktivitas antioksidan terbaik yaitu pada perlakuan yoghurt susu sapi yang ditambahkan ekstrak sawi hutan (*E. scaber L*) 40 mL sebesar 12,89 ppm diikuti perlakuan yoghurt susu sapi dengan penambahan ekstrak sawi hutan 30 mL sebesar 21,35 ppm dan 20 mL sebesar 32,69 ppm.

Yoghurt susu sapi tanpa penambahan ekstrak sawi hutan memiliki aktivitas antioksidan yang lebih rendah yaitu 69,34 ppm. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak sawi hutan (*E. scaber L*) dapat meningkatkan kemampuan antioksidan yoghurt susu sapi. Semakin tinggi volume ekstrak yang digunakan semakin tinggi pula aktivitas antioksidan pada yoghurt susu sapi. Gaja et al., (2020) dalam penelitiannya menyatakan bahwa penambahan ekstrak sari buah meningkatkan kemampuan antioksidan yoghurt yang berbeda.

Hasil analisis sidik ragam (Anova) dan uji lanjut Duncan menunjukkan adanya perbedaan sangat nyata ($P < 0,05$) antar perlakuan tersebut. Pada perlakuan penambahan ekstrak sawi hutan (*Elephantopus Scaber L* 40 mL berbeda nyata dengan perlakuan penambahan ekstrak sawi hutan (*Elephantopus Scaber L*) 30 mL, berbeda nyata dengan 20 mL dan 0 mL. Dengan demikian, semakin tinggi volume ekstrak yang diberikan semakin besar pula aktivitas antioksidan pada yoghurt susu sapi. Aktivitas antioksidan pada yoghurt susu sapi yang ditambahkan ekstrak sawi hutan disebabkan oleh adanya kandungan senyawa-senyawa metabolisme sekunder dari tanaman tersebut. Dengan adanya aktivitas antioksidan pada yoghurt yang ditambahkan ekstrak sawi hutan, maka produk ini dapat dijadikan minuman fungsional sumber antioksidan selain manfaat yang didapatkan dari yoghurt itu sendiri yaitu memelihara kesehatan usus dan manfaat lainnya. Aslam *et al.*, (2016) dalam penelitiannya menyatakan bahwa tanaman sawi hutan mengandung senyawa-senyawa fitokimia seperti senyawa flavonoid yang cukup tinggi. Selanjutnya, Arifin dan Ibrahim (2018) menyatakan bahwa senyawa flavonoid memiliki aktivitas antiinflamasi dan antioksidan yang baik.

4. Simpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan menunjukkan bahwa sawi hutan memiliki kandungan senyawa fenolik seperti flavonoid, saponin, dan polifenol. Yoghurt susu sapi yang difortifikasi dengan ekstrak sawi hutan 20 mL, 30 mL, 40 mL memiliki kemampuan antioksidan sangat kuat (< 50 ppm). Kemampuan terbaik ditunjukkan pada yoghurt susu sapi dengan penambahan ekstrak sawi hutan 40 mL yaitu 12,89 ppm. Semakin banyak ekstrak sawi hutan yang ditambahkan pada yoghurt menunjukkan semakin tinggi juga total fenolik dan aktivitas antioksidan dari yoghurt tersebut. Hasil analisis sidik ragam (Anova) dan uji lanjut Duncan menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan tersebut. Semakin tinggi ekstrak sawi hutan semakin besar pula aktivitas antioksidan pada yoghurt susu sapi tersebut.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Timor yang telah memberikan dana Penelitian Dosen Pemula (PDP) tahun akademik 2023/2024 kepada tim peneliti yaitu Kristoforus Wilson Kia, S.Pt., M.Si. selaku Ketua Tim peneliti serta Aristo Kurniawan Sio, S.Pt M.Si. dan Janrigo Klaumegio Mere, S.Si.,M.Si. selaku Anggota.

Pustaka

- Adnan, A.Z., Noer, Z., and Zulzannah. 2011. Analysis of Essential Oil Components from Fresh Leaves of Piper crocatum Ruiz & Pav. and Curcuma domestica. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 15(1): 17–22.
- Almey, A., Khan, A.J., Zahir, S., Suleiman, M., and Aisyah, R.K. 2010. Total phenolic content and primary antioxidant activity of methanolic and ethanolic extract of aromatic plants leaves. *International Food Research*. 17: 1077-1088.
- Arifin, B. dan Ibrahim S. 2018. Struktur, Bioaktivitas, dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*. 6(1): 21-29. DOI: <https://doi.org/10.31629/zarah.v6i1.313>
- Artanti, A.N. dan Lisnari, R. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Ethanol Daun Family Solanum Menggunakan Metode Reduksi Radikal Bebas DPPH. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*. 3(2): 62-69. DOI: 10.20961/jpscr.v3i2.15378.
- Aslam, M.S., Ahmad, M.S., and Mamat, A.S. 2016. Phytochemical Evaluation of Polyherbal Formulation of *Clinacanthus nutans* and *Elephantopus scaber* to Identify Flavonoids. *Pharmacognosy Journal*. 8(6): 534-541. DOI: 10.5530/pj.2016.6.4
- Astuti, S. 2012. Isoflavon Kedelai Dan Potensinya Sebagai Penangkap Radikal Bebas. *Jurnal Teknologi & Industri Hasil Pertanian*. 13(2): 126–136.
- Chandrashekar, R. and Rao, S.N. 2012. Phytochemical Analysis of Ethanolic Extract of Leaves of *Clerodendrum viscosum* (EELCV). *World J Pharm and Pharm Sci*. 1(3): 1092-1099.
- Depkes RI. 1995. Farmakope Indonesia. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Donkor, O.N., Henriksson, A., Vasiljevic, T., and Shah, N.P. 2006. Effect of acidification on the activity of probiotic sin yoghurt during cold storage. *J Intern Dairy*. 16: 1181–1189.
- Farnsworth, N.R. 1966. Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 55(3).
- Gaja, A., dan Silalahi, J. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Probiotik Dalam Minuman Yoghurt dengan Berbagai Cita Rasa. *Repositori Intituti Universitas Sumatera Utara (USU)*. <http://repositori.usu.ac.id/handle/123456789/2658>.
- Hanani, E., Mun'im, A., dan Sekarini, R. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons *Callyspongia Sp* dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 11(3): 130-131.
- Sari, A., Linda R., dan Lovadi, I. 2015. Pemanfaatan Tumbuhan Obat Pada Masyarakat Suku Dayak Jangkang Tanjung di Desa Ribau Kecamatan Kapuas Kabupaten Sanggau. *Jurnal Protobiont*. 4(2): 1-8.
- Sayuti, K. dan Yenrina, R. 2015. Antioksidan Alami dan Sintetik. Padang: Andalas University Press.
- Werdhasari, A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. 1(2): 59-68.