

Karakteristik 'Teh Susu' Kombinasi Seduhan Daun Torbangun dan Biji Fenugreek serta Susu Almond yang Berpotensi sebagai Minuman Kesehatan Ibu Menyusui

[Characteristics of 'Milk Tea' Combination of Torbangun Leaves and Fenugreek Seeds Steep along with Almond Milk which has the Potential as a Health Drink for Breast-feeding Mothers]

Pengurangan Minyak pada Produk Gorengan Menggunakan Hidrokoloid dan Pati Tinggi Amilosa

[Reduction of Oil in Fried Products Using Hydrocolloids and High-Amylose Starch]

Evaluasi Formula Gel Kombinasi Buah Lidah Buaya (Aloe vera Burm.f) dan Buah Labu Kuning (Cucurbita moschata Durch) sebagai Pelembap Kulit

[Evaluation of Gel Formula Combinations of Aloe Vera (Aloe vera Burm.f) and Yellow Pumpkin (Cucurbita moschata Durch) as a Skin Moisturizer]

Pengaruh pH dan Suhu terhadap Kemampuan Enzim Bromelin untuk Menggumpalkan Susu

[The Effect of pH and Temperature on the Ability of Bromelin Enzyme to Coagulate Milk]

Karakterisasi Ekstrak Kulit Melinjo (Gnetum gnemon L.) Merah sebagai Komponen Antibakteri

[Characterization of Red Melinjo (Gnetum gnemon L.) Skin Extract as an Antibacterial Compound]

Comparison of Bagging, Boosting, and Stacking Ensemble Models for Airline Customer Satisfaction Analysis

[Perbandingan Model Ensemble Bagging, Boosting, dan Stacking untuk Analisis Kepuasan Pelanggan Maskapai Penerbangan]

Stability and Activity of Lipid A Phosphoethanolamine Transferase from *Neisseria Meningitidis* in the Presence of Sodium Deoxycholate

[Stabilitas dan Aktivitas Lipid A Phosphoethanolamine Transferase dari *Neisseria Meningitidis* terhadap Penambahan Natrium Deoksikolat]

Analisis Efektivitas Penggunaan Alat Bantu Pengangkatan Ply pada Mesin Bangunan di PT AST

[Analysis of the Effectiveness of Using a Ply Lifting Tool on Building Machinery at PT AST]

Rancang Bangun Sistem Monitoring dan Pengendalian Kandang Ayam Pintar dengan Menggunakan Mikrokontroler ESP32 dan Visualisasi Blynk

[Design and Construction of a Smart Chicken Coop Monitoring and Control System using an ESP32 Mi-

*Diterbitkan Oleh Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Pelita Harapan*

EDITORIAL TEAM

Pimpinan Redaksi [*Editor in Chief*]

1. Prof. Dr. Ir. Melanie Cornelia, M.T.

Wakil Pimpinan Redaksi [*Vice Editor in Chief*]

1. Julinda E. F. Pangaribuan, M.T.

Dewan Redaksi [*Editorial Board*]

1. Prof. Dr. Ir. Wiryanto Dewobroto, M.T.
2. Prof. Dr. Ir. Adolf Parhusip, M.Si.
3. Eric Jobiliong, Ph.D.
4. Dr. Nuri Arum Anugrahati, S.Si., M.P.
5. Dr. Laurence, S.T., M.T.
6. Dr. Marincan Pardede, S.Si., M.T.
7. Dr. Reinhard Pinontoan
8. Ratna Handayani, S.TP., M.P.
9. Priskila Christine R., S.Si., M.T.
10. Kie Van Ivanky Saputra, Ph.D.
11. Sadvent Martondang Purba, S.T., M.Sc.
12. Dr. Helena Margaretha, M.Sc.

Staff Redaksi [*Editorial Staff*]

1. Gracio A. Rhizma, M.T.
2. Marcelia Sugata, M.Sc.
3. Gamaliel Jeevan Dewanto, M.T.

Administrasi dan Keuangan [*Administration and Finance*]

1. Sabrina K Whardhani, S.Si., M.Farm.
2. Adelia Lorenza Br. Peranginangin, S.Pd., B.Ed.

DAFTAR ISI

1. Karakteristik 'Teh Susu' Kombinasi Seduhan Daun Torbangun dan Biji Fenugreek serta Susu Almond yang Berpotensi sebagai Minuman Kesehatan Ibu Menyusui [Characteristics of 'Milk Tea' Combination of Torbangun Leaves and Fenugreek Seeds Steep along with Almond Milk which has the Potential as a Health Drink for Breastfeeding Mothers]. Oleh: Titri Siratantri Mastuti, Veronica Angelia Djuarsa, Intan C. Matita 1-20
2. Pengurangan Minyak pada Produk Gorengan Menggunakan Hidrokoloid dan Pati Tinggi Amilosa [Reduction of Oil in Fried Products Using Hydrocolloids and High-Amylose Starch]. Oleh: Regita Ezra Dwiningris Saragih, Ratna Handayani 21-36
3. Evaluasi Formula Gel Kombinasi Buah Lidah Buaya (*Aloe vera* Burm.f) dan Buah Labu Kuning (*Cucurbita moschata* Durch) sebagai Pelembap Kulit [Evaluation of Gel Formula Combinations of Aloe Vera (*Aloe vera* Burm.f) and Yellow Pumpkin (*Cucurbita moschata* Durch) as a Skin Moisturizer]. Oleh: Sherly Angelina Santoso, Nurista Dida Ayuningtyas 37-45
4. Pengaruh pH dan Suhu terhadap Kemampuan Enzim Bromelin untuk Menggumpalkan Susu [The Effect of pH and Temperature on the Ability of Bromelin Enzyme to Coagulate Milk]. Oleh: Nurul Af'idah, Sitti Nur Ilmiah..... 46-58
5. Karakterisasi Ekstrak Kulit Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Merah sebagai Komponen Antibakteri [Characterization of Red Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Skin Extract as an Antibacterial Compound]. Oleh: Veliana Angel, Adolf J. N. Parhusip..... 59-75
6. Comparison of Bagging, Boosting, and Stacking Ensemble Models for Airline Customer Satisfaction Analysis [Perbandingan Model Ensemble Bagging, Boosting, dan Stacking untuk Analisis Kepuasan Pelanggan Maskapai Penerbangan]. Oleh: Melvin Lee 76-90
7. Stability and Activity of Lipid A Phosphoethanolamine Transferase from *Neisseria Meningitidis* in the Presence of Sodium Deoxycholate [Stabilitas dan Aktivitas Lipid A Phosphoethanolamine Transferase dari *Neisseria Meningitidis* terhadap Penambahan Natrium Deoksikolat]. Oleh: Ariela Samantha, Caitlyn Christvania Sihombing, Alice Vrielink 91-105
8. Analisis Efektivitas Penggunaan Alat Bantu Pengangkatan Ply pada Mesin Bangunan di PT AST [Analysis of the Effectiveness of Using a Ply Lifting Tool on Building Machinery at PT AST]. Oleh: Adi Saputra, Agustina Christiani 106-115
9. Rancang Bangun Sistem Monitoring dan Pengendalian Kandang Ayam Pintar dengan Menggunakan Mikrokontroler ESP32 dan Visualisasi Blynk [Design and Construction of a Smart Chicken Coop Monitoring and Control System using an ESP32 Microcontroller and Blynk Visualization]. Oleh: Nadia Noviaro, Henri P. Uranus 116-128

KARAKTERISTIK 'TEH SUSU' KOMBINASI SEDUHAN DAUN TORBANGUN DAN BIJI FENUGREEK SERTA SUSU ALMOND YANG BERPOTENSI SEBAGAI MINUMAN KESEHATAN IBU MENYUSUI

[CHARACTERISTICS OF 'MILK TEA' A COMBINATION OF TORBANGUN LEAVES AND FENUGREEK SEEDS STEEP ALONG WITH ALMOND MILK WHICH HAS THE POTENTIAL AS A HEALTH DRINK FOR BREASTFEEDING MOTHERS]

Titri Siratantri Mastuti¹, Veronica Angelia Djuarsa², Intan C. Matita³

^{1,2,3}Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Pelita Harapan,
Jl. M.H. Thamrin Boulevard 1100, Tangerang, Banten, Indonesia

*Korespondensi penulis: titri.mastuti@uph.edu

ABSTRACT

Torbangun leaves (*Plectranthus amboinicus* L.), fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum* L.), and almond milk are widely used in the form of functional food or beverages to increase breastmilk production and serve as sources of antioxidants. The utilization of torbangun leaves as a functional beverage product is still limited compared to fenugreek seeds and almond milk. This study aimed to create 'milk tea' as a health drink consisting of torbangun leaves, fenugreek seeds, and almond milk, and to analyze the physicochemical characteristics and sensory evaluation results of each mixture. The factors investigated were three types of steeping water, namely torbangun leaf steep, fenugreek seed steep, combination steep. In addition, there were four ratios of almond milk to steeping water (0:1, 1:1, 2:1, 1:2). The analysis parameters were antioxidant activity, total phenolic content, and total flavonoid content. The selected product was a drink with almond milk and a combination of steeping water (torbangun leaves and fenugreek seeds) with a ratio of 1:2. This product was chosen considering the antioxidant activity results with an IC₅₀ value of 793.99 mg/L; total phenolic content of 1441.56 mg/L; and total flavonoid content of 950 mg/L, which were higher compared to functional beverages with different ratios in combined steeping water or torbangun leaf steep, supported by sensory evaluation results. The selected treatment drink had a relatively high mineral content, namely calcium 7.38 mg/100 mL, magnesium 7.28 mg/100 mL, potassium 36.02 mg/100 mL, and iron 0.72 mg/100 mL.

Keywords: torbangun leaves; fenugreek seed; almond milk; health drink; antioxidant activity

ABSTRAK

Daun torbangun (*Plectranthus amboinicus* L.), biji fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.), dan susu almond banyak digunakan dalam bentuk minuman fungsional untuk meningkatkan produksi ASI dan sebagai sumber antioksidan. Pemanfaatan daun torbangun sebagai produk minuman fungsional masih terbatas dibandingkan dengan biji fenugreek dan susu almond. Penelitian ini bertujuan untuk membuat 'teh susu' sebagai minuman kesehatan yang terdiri dari daun torbangun, biji fenugreek, dan susu almond serta menganalisis karakteristik fisikokimia dan hasil uji sensori dari setiap campuran. Faktor yang diteliti adalah tiga jenis air seduhan, yaitu seduhan daun torbangun, seduhan biji fenugreek, dan seduhan kombinasi. Selain itu, terdapat empat rasio susu almond terhadap air seduhan (0:1, 1:1, 2:1, 1:2). Parameter analisis berupa aktivitas antioksidan, total kandungan fenolik, dan total kandungan flavonoid. Produk yang terpilih adalah minuman dengan susu almond dan kombinasi air seduhan dengan rasio 1:2. Produk ini terpilih dengan mempertimbangkan hasil aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ 793,99 mg/L; total kandungan fenolik 1441,56 mg/L;

dan total kandungan flavonoid 950 mg/L yang lebih tinggi dibandingkan dengan minuman fungsional dengan rasio lain pada seduhan air kombinasi atau seduhan daun Torbangun, serta didukung oleh hasil uji sensori. Minuman dengan perlakuan terpilih memiliki kandungan mineral cukup tinggi yaitu kalsium 7,38 mg/100 mL, magnesium 7,28 mg/100 mL, kalium 36,02 mg/100 mL dan zat besi 0,72 mg/100 mL.

Kata kunci: biji fenugreek; daun torbangun; susu almond; minuman kesehatan; aktivitas antioksidan

PENDAHULUAN

Ibu menyusui memerlukan gizi yang cukup agar mampu memberikan ASI dalam jumlah yang cukup bagi bayinya. Untuk itu terkadang banyak wanita meminum suplemen atau susu untuk mencukupi kebutuhan gizinya. Saat ini cukup banyak pula produk yang beredar dan diklaim dapat membantu melancarkan atau menambah produksi ASI yang dikenal dengan istilah *ASI Booster*. Bentuknya bermacam-macam, seperti suplemen kapsul, minuman *juice*, biskuit, teh.

Daun katuk sudah lama dikenal sebagai sumber *Galactagogue*, yaitu bahan pangan yang memiliki senyawa yang dapat membantu merangsang atau meningkatkan produksi ASI sehingga dapat membantu Ibu menyusui menghasilkan ASI dalam jumlah banyak (Wulandari *et al.*, 2020 ; Ryan *et al.*, 2023). Beberapa bahan alami lainnya yang secara tradisional dipercaya dapat digunakan sebagai *galactagogue*, adalah daun kelor, daun torbangun, biji fenugreek, dan berbagai jenis kacang – kacangan seperti kedelai (Puspitasari, 2018). Bahan pangan sumber vitamin dan

protein dapat berpengaruh terhadap kinerja hormon *prolactin* untuk meningkatkan ASI (Prahesti dan Sholihah, 2020).

Saragih (2014) memanfaatkan daun torbangun sebagai minuman teh. Torbangun (*Plectranthus amboinicus* L.) dikenal sebagai tanaman obat yang mengandung banyak mikronutrien. Berdasarkan penelitian oleh Santosa (2005), daun torbangun mengandung vitamin C, vitamin B1, vitamin B12, β -karoten, niasin, carvacrol, kalsium, asam lemak, oksalat, dan serat yang tinggi. Ekstrak etanol bagian daun, dahan bagian atas dan akar tanaman torbangun banyak mengandung senyawa kimia yang berpotensi sebagai antioksidan (Suryowati *et al.*, 2015). Olahan sederhana daun torbangun atau daun bangun-bangun dalam bentuk seduhannya terbukti meningkatkan proliferasi sekresi sel mammae yang berakibat pada peningkatan volume ASI yang dihasilkan oleh Ibu menyusui di daerah Sumatera Utara bahkan satu bulan setelah daun Torbangun berhenti dikonsumsi dan juga pada ibu menyusui di Tanjung Karang pada masa nifas (Damanik

et al., 2008; Marlina et al., 2022). Biasanya, daun torbangun dikonsumsi bersama dengan susu kelapa (santan), maupun diolah menjadi sup serta dapat pula diolah menjadi *snack food bar* (Warsiki & Damanik, 2012; Lutfiani & Nasrulloh, 2023). Walaupun Indonesia memiliki ketersediaan daun torbangun yang melimpah, namun pemanfaatan daun torbangun sebagai minuman fungsional masih sangat terbatas.

Susu almond menjadi salah satu produk susu yang populer disebabkan oleh rasanya yang unik dan ketersediaannya di masyarakat. Banyak ibu – ibu menyusui yang memilih untuk makan almond atau minum susu almond agar kualitas dan kuantitas susu mereka meningkat (Darmasena et al., 2015). Kombinasi almond dan daun kelor dalam bentuk minuman *smoothies* diketahui dapat meningkatkan volume ASI pada ibu menyusui (Oktafiani et al., 2022). Konsumsi air rendaman biji fenugreek juga diketahui berpengaruh pada produksi ASI dan penambahan berat badan pada bayi (Ravi & Yusuf, 2020).

Pemanfaatan daun torbangun sebagai minuman yang dikombinasikan dengan biji fenugreek dan susu almond belum pernah diteliti potensinya sebagai minuman kesehatan. Tujuan dari penelitian ini adalah membuat minuman kesehatan

‘teh susu’ dari seduhan daun torbangun dengan penambahan seduhan biji fenugreek dan susu kacang almond yang berpotensi untuk dimanfaatkan oleh ibu menyusui sebagai minuman kesehatan. Selain itu dilakukan analisis karakteristik fisikokimia dan evaluasi hasil sensori dari produk teh susu yang dibuat.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan pembuatan minuman ‘teh susu’ adalah daun torbangun (*Plectranthus amboinicus*) yang dibeli di Bogor, biji fenugreek (*Trigonella foecum-graecum*), kacang almond mentah, madu Caliandra dan aquadest. Bahan untuk analisis adalah aluminium klorida (AlCl_3), 10% Follin-Ciocalteu, DPPH, quercetin, asam galat, hidrogen peroksida, asam sulfur 98%, kalium sulfat, natrium hidroksida 35%, asam hidroklorik, indikator campuran, heksana, natrium karbonat, kalsium karbonat, kalium hidroksida, asam borat 4%, dan metanol.

Alat utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah pemanas, *steamer*, *blender*, kain penyaringan, gelas beker, Kjeldahl soklet, buret, mikropipet, Mohr pipet, labu takar, *spectrophotometer* UV-Vis, Erlenmeyer, chromameter, pH meter, viskometer, *rotary evaporator*, Buchner vacuum, *hand refractometer* N-1.

Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui karakteristik bahan baku segar, tiga jenis seduhan dan susu kacang almond. Tiga macam seduhan yang digunakan pada penelitian ini yaitu seduhan daun torbangun, seduhan biji fenugreek dan seduhan kombinasi antara daun torbangun dan biji fenugreek.

Pembuatan seduhan daun torbangun diawali dengan penyortiran dan penimbangan daun torbangun secara manual. Setelah itu, sebanyak 800 gram daun dicuci dan ditiriskan untuk dilakukan proses blansir. Untuk melakukan proses blansir digunakan *steam* pada 800 gram daun torbangun selama 2 menit. Setelah itu, daun dikeringkan menggunakan *cabinet dryer* selama 3 jam pada suhu 50°C. Pada proses penyeduhan, dilakukan penambahan air panas (90°C) pada daun torbangun kering dengan rasio 250:3. Seduhan diaduk selama 3 menit, kemudian didinginkan dan disaring sehingga diperoleh seduhan daun torbangun (Nursasanti, 2011).

Penyeduhan biji fenugreek diawali dengan penyortiran dan penimbangan biji fenugreek secara manual. Setelah itu, sebanyak 10 gram biji dicuci dan ditiriskan. Dalam proses penyeduhan, dilakukan penambahan air panas (90°C) pada biji fenugreek dengan rasio 250:4. Seduhan

diaduk selama 3 menit sebelum didinginkan dan disaring sehingga diperoleh seduhan biji fenugreek (Bae *et al.*, 2015).

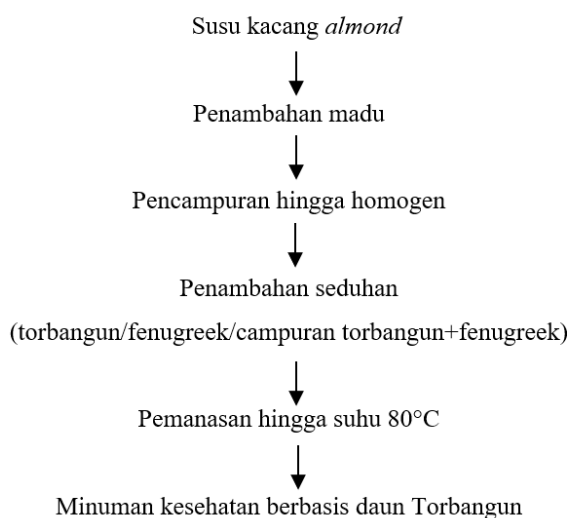
Proses penyeduhan untuk seduhan kombinasi dilakukan secara terpisah. Pada proses penyeduhannya, air panas ditambahkan pada masing-masing daun torbangun dan biji fenugreek dengan rasio 250:3 dan 250:4. Kedua hasil seduhan bahan tersebut didinginkan selama 30 menit dan disaring untuk mendapatkan hasil seduhan. Setelah itu kedua seduhan tersebut dicampur dengan perbandingan 1:1 sehingga diperoleh seduhan kombinasi daun torbangun dan biji fenugreek (Nursasanti, 2011; bae *et al.*, 2015).

Pada pembuatan susu almond digunakan jenis kacang almond. Proses persiapan dimulai dengan sortasi kacang almond sesuai dengan kriteria yang diinginkan (bulat utuh, tidak ada bercak putih, beraroma kacang segar dan memiliki rasa manis). Kacang almond mentah dipilih dan ditimbang sebanyak 250 gram. Setelah itu, kacang almond direndam dalam air dengan rasio 1:10 selama 9 jam, lalu dibilas dan ditiriskan. Pembuatan susu kacang dilakukan menggunakan alat pembuat susu kacang dengan penambahan air dengan rasio 1:5. Kacang almond yang telah diblender kemudian disaring menggunakan kain penyaringan sehingga diperoleh susu

kacang almond yang kemudian dipanaskan atau dipasteurisasi pada suhu 75°C.

Penelitian Utama

Pada penelitian tahap utama dilakukan pembuatan minuman ‘teh susu’ menggunakan tiga jenis seduhan dan susu kacang almond. Rasio susu kacang almond dan tiga jenis seduhan yang digunakan pada penelitian ini adalah 0:1, 1:2, 2:1, 1:0. Susu kacang almond dan madu sebagai pemanis dicampur terlebih dahulu hingga homogen. Setelah itu, seduhan ditambahkan ke dalam campuran tersebut dan dipanaskan hingga suhu 80°C. Proses pembuatan minuman dapat dilihat pada Gambar 1 dan formulasi minuman dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 1. Prosedur pembuatan ‘teh susu’

Rancangan Percobaan dan Analisis Uji

Pada penelitian tahap pendahuluan dilakukan analisis kandungan nutrisi bahan segar, pembuatan seduhan dan susu kacang almond. Pada penelitian ini, pengulangan

dilakukan sebanyak tiga kali (triplo) untuk setiap uji parameter. Data dianalisis berdasarkan hasil rata-rata pengulangan.

Tabel 1. Formulasi minuman (200 mL)

Bahan	Rasio susu almond: seduhan			
	1	2	3	4
Seduhan				
- Seduhan daun torbangun				
- Seduhan biji fenugreek	0:1	1:2	2:1	1:0
- Seduhan kombinasi daun torbangun dan biji fenugreek (1:1)				
Madu			5%	

Penelitian tahap utama terdiri dari dua faktor, yaitu faktor rasio susu kacang almond:seduhan (empat level) dan faktor jenis campuran (tiga level) dengan tiga kali pengulangan (triplo). Rasio susu kacang almond dan seduhan yang digunakan pada penelitian ini adalah 0:1, 1:2, 2:1, 1:0. Jenis campuran yang digunakan adalah susu kacang almond dan seduhan daun torbangun, susu kacang almond dan seduhan biji fenugreek, serta susu kacang almond dan seduhan kombinasi (daun torbangun dan biji fenugreek). Data dianalisis secara statistik dengan Two-Way Anova menggunakan alat bantu SPSS 25.

Parameter analisis utama yang dilakukan adalah kadar air (AOAC, 2012), kadar protein, kadar lemak, kadar karbohidrat dan kadar abu (AOAC, 2005), zat besi (AOAC, 2011), total flavonoid dan total fenolik (Mahboubi, *et. al.*, 2013), serta aktivitas antioksidan. Uji organoleptik berupa uji hedonik dan skoring.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Kimia Bahan Baku

Hasil analisis kadar air, kadar abu dan kandungan mineral (kalsium, magnesium, besi, kalium) bahan baku dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik kimia bahan baku

Parameter	Daun torbangun	Biji fenugreek	Kacang almond
Kadar air (%bb)	90,51	11,20	7,82
Kadar abu (%bb)	1,83	4,49	3,84
Kalsium (mg/100g)	229,86	211,00	451,57
Magnesium (mg/100g)	64,68	118,00	260,98
Besi (mg/100g)	330,62	8,30	6,82
Kalium (mg/100g)	20,55	690,12	613,05

Kadar air daun torbangun yang digunakan dalam penelitian ini sesuai dengan penelitian Syarief *et al.* (2014) dengan nilai kadar air $91,75 \pm 0,08\%$, sedangkan untuk kadar abu menunjukkan hasil yang lebih tinggi. Hal ini dapat disebabkan oleh kualitas dari bahan awal daun torbangun yang berbeda-beda yang dapat dipengaruhi oleh kondisi tanah dan tingkatan pertumbuhan daun torbangun.

Hasil analisis kandungan kalsium daun torbangun sesuai dengan Iwansyah *et al.* (2016) dengan kadar 223,5 mg/100 g. Namun, kadar magnesium, kalium, dan besi pada penelitian ini lebih rendah. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya interaksi kompleks antara tanaman dan tanah termasuk komposisi tanah, pupuk yang

digunakan, dan produktivitas setiap jenis tumbuhan. Kekurangan nutrisi pada tanah sangat mempengaruhi kandungan mineral, abu dan air pada daun. Selain itu, semakin tua umur daun, semakin tinggi kandungan mineralnya (Flyman & Afolayan, 2008).

Hasil analisis kadar air dan kadar abu biji fenugreek sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan data USDA (2008). Berdasarkan USDA (2008), kadar air dan kadar abu biji fenugreek masing-masing adalah 8,84% dan 3,40%, serta memiliki kandungan kalium 770 mg/100g, kandungan besi 13,6 mg/100g, kadar kalsium 176 mg/100g, dan kandungan magnesium 191 mg/100g.

Kualitas nilai nutrisi biji dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti sumber atau asal biji, kualitas biji, varietas biji, dan faktor tanah (Sulieman *et al.*, 2008; Nwafor, 2017). Beberapa faktor ini juga dibuktikan oleh Miranda *et al.* (2013) yang menemukan bahwa kondisi lingkungan (iklim dan karakteristik tanah) secara signifikan mempengaruhi hasil gabah dan komposisi biji di dataran rendah seperti kandungan karbohidrat, lemak, abu, vitamin B, saponin, dan senyawa fenolik.

Hasil analisis karakteristik kimia kacang almond yang digunakan dalam penelitian ini tidak jauh berbeda dengan data yang diperoleh Folasade & Subomi (2016) dan Sudhakar *et al.* (2018).

Berdasarkan USDA (2018), kacang almond memiliki kandungan kalium 733 mg/100g, kandungan besi 3,71 mg/100g, kandungan kalsium 269 mg/100g, dan kandungan magnesium 270 mg/100g kacang segar. Perbedaan sifat fisik dan mekanik kacang almond dapat mempengaruhi perbedaan kandungan komposisi kimia almond (Olukemi *et al.*, 2021).

Kandungan kalium dan magnesium kacang almond pada penelitian ini lebih rendah, sedangkan kandungan besi dan kalsium dari penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan USDA (2018). Hal ini dapat disebabkan oleh kondisi tingkat

transpirasi air bersama dengan mobilitas floem rendah dari kandungan mineral tertentu seperti kalsium, magnesium, seng, kalium, besi, mangan, dan boron, tergantung pada kondisi pasokan nutrisi tanah. dan penggunaan pupuk (Khajali & Slominski, 2012).

Kandungan Aktif Bahan Baku, Seduhan, dan Susu Almond

Kandungan aktif dari bahan baku, seduhan, dan susu almond pada penelitian ini dianalisis berdasarkan aktivitas antioksidan (dinyatakan sebagai IC₅₀), kandungan total fenolik dan total flavonoid. Hasil analisis dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kandungan aktif bahan baku, seduhan, dan susu almond

	Aktivitas antioksidan (IC₅₀ dalam mg/L)	Fenolik (mg GAE/g)	Flavonoid (mg QE/g)
Daun torbangun	111,08 ± 0,88	21,08 ± 0,37	10,07 ± 0,24
Biji fenugreek	9,79 ± 0,01	168,25 ± 0,89	77,75 ± 0,69
Kacang almond	329,87 ± 6,17	1,41 ± 0,05	1,03 ± 0,47
Seduhan daun torbangun	1358,36 ± 9,12	67,03 ± 0,67	35,93 ± 0,07
Seduhan biji fenugreek	101,03 ± 4,09	198,24 ± 1,49	161,91 ± 11,69
Seduhan kombinasi	775,46 ± 3,32	122,78 ± 0,52	102,21 ± 1,26
Susu almond	1094,22 ± 3,32	1,80 ± 0,06	3,01 ± 0,04

Hasil analisis aktivitas antioksidan dalam penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Hazimah *et al.* (2013) dan Tafzi *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa daun torbangun (ekstrak metanol) memiliki nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 90,96 mg/L dan 155,24 mg/L. Aktivitas antioksidan biji fenugreek pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan hasil dari Yadav & Chowdhury (2017) dengan IC₅₀ sebesar 1,98 ppm. Hal ini dapat disebabkan oleh

perbedaan penanganan pasca panen, kondisi penyimpanan, dan waktu penyimpanan. Aktivitas antioksidan juga dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti panas, cahaya, dan oksigen. Nilai IC₅₀ dari kacang almond sesuai dengan hasil studi dari Barreira *et al.* (2008) yang menyatakan bahwa nilai IC₅₀ dari ekstrak metanol kacang almond bervariasi dari 200 mg/L - 650 mg/L, tergantung pada varietas, kultivar, dan asal kacang almond.

Tabel 3 menunjukkan bahwa biji fenugreek memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC₅₀ terendah, yang masuk dalam kisaran aktivitas antioksidan sangat kuat. Aktivitas antioksidan daun torbangun termasuk kategori sedang dan aktivitas antioksidan kacang almond tergolong lemah.

Seduhan biji fenugreek menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan jenis seduhan lainnya dan susu almond. Namun, aktivitas antioksidan dari seduhan daun torbangun, seduhan biji fenugreek, dan seduhan kombinasi sangat menurun setelah proses seduhan, begitu juga dengan aktivitas antioksidan dari susu almond. Hal ini disebabkan adanya proses pemanasan dan pengeringan daun torbangun, serta pasteurisasi seduhan daun torbangun dan biji fenugreek yang dapat menyebabkan kerusakan beberapa senyawa bioaktif yang berperan dalam menghambat radikal bebas. Meskipun perlakuan panas pada suhu 90°C tidak akan sepenuhnya mengurangi aktivitas antioksidan, tapi dapat menyebabkan sedikit kerusakan dan ketidakstabilan senyawa bioaktif (Syarief, *et al.*, 2014). Dengan demikian, penurunan aktivitas antioksidan juga dipengaruhi oleh perlakuan panas saat penyeduhan dan pembuatan susu. Selama pemrosesan seduhan dan pemrosesan susu, penambahan

air juga dapat menjadi salah satu alasan penurunan aktivitas antioksidan karena adanya senyawa bioaktif yang tidak larut dalam air (Yulianto *et al.*, 2016; Barreira *et al.*, 2008; Ulbrich *et al.*, 2011).

Hasil analisis total kandungan fenolik daun torbangun sesuai dengan penelitian oleh Andarwulan *et al.* (2014) dan Iwansyah *et al.* (2016) yang menyatakan daun torbangun memiliki kandungan total fenolik masing-masing sebesar 18,87 mg GAE/g dan 53,89 mg GAE/g. Untuk biji fenugreek, kandungan total fenolik sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian oleh Gungor *et al.* (2014) yang melaporkan bahwa biji fenugreek memiliki kandungan total fenolik sebesar 150,30 mg GAE/g. Selain itu, kandungan total fenolik kacang almond lebih rendah dibandingkan dengan studi oleh Milburry *et al.* (2007), yang mendapatkan kacang almond memiliki total fenolik sebesar 2,40 mg GAE/g. Varietas almond (*Prunus dulcis*) yang digunakan dalam penelitian tersebut adalah Padre. Varietas dan kultivar kacang almond ini mungkin menjadi salah satu faktor yang mempengaruhi perbedaan hasil. Kondisi, kualitas, dan usia bahan baku mungkin menjadi faktor lain yang mempengaruhi aktivitas antioksidan, kandungan fenolik, dan kandungan flavonoid (Milburry *et al.*, 2007; Syarief, *et al.*, 2014). Dari bahan

baku ini, biji fenugreek memiliki kandungan total fenolik tertinggi.

Hasil analisis kandungan total flavonoid daun torbangun sesuai dengan penelitian oleh Andarwulan *et al.* (2014) dan Iwansyah *et al.* (2016) yang melaporkan daun torbangun memiliki total kandungan flavonoid masing-masing sebesar 6,66 mg QE/g dan 43,63 mg QE/g. Untuk biji fenugreek, hasilnya sesuai dengan penelitian oleh Gungor *et al.* (2014), yaitu kandungan total flavonoid pada biji fenugreek sebesar 72,70 mg QE/g. Kandungan total flavonoid dari kacang almond lebih rendah dibandingkan dengan studi oleh Milburry *et al.* (2007) yang mendapatkan kandungan total flavonoid kacang almond sebesar 2,54 mg QE/g. Kondisi, kualitas, dan usia benih menjadi salah satu dari banyak faktor yang mempengaruhi aktivitas antioksidan, total fenolik, dan total flavonoid (Milburry *et al.*, 2007; Syarief *et al.*, 2014).

Seduhan biji fenugreek memiliki kandungan total fenolik tertinggi dibandingkan dengan seduhan lain dan susu almond. Kandungan total fenolik dari seduhan daun torbangun, seduhan biji fenugreek, dan susu almond meningkat tajam setelah proses seduhan. Seduhan biji fenugreek juga memiliki kandungan total flavonoid tertinggi dibandingkan dengan susu almond dan seduhan lainnya.

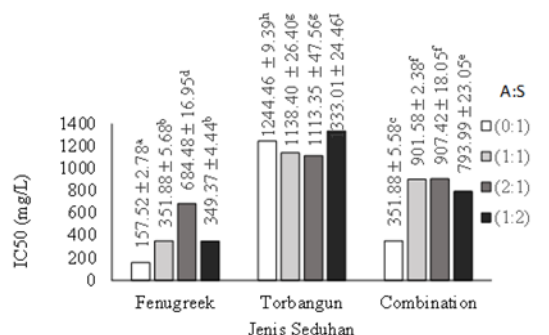
Kandungan total flavonoid dari seduhan daun torbangun, seduhan biji fenugreek dan susu almond meningkat setelah proses seduhan. Hasil ini sesuai dengan penelitian oleh Kim *et al.*, (2013) yang menyatakan bahwa peningkatan kadar senyawa fenolik dan flavonoid setelah pemrosesan panas (blansir) dapat terjadi karena adanya pelepasan senyawa dari matriks bahan, dimana terjadi kerusakan struktur molekul yang mengandung gugus fenolik. Hossain *et al.* (2017) menyatakan bahwa kandungan fenolik dan flavonoid dari sayuran berdaun yang dipanaskan meningkat secara signifikan dibandingkan dengan sayuran berdaun yang tidak dipanaskan karena proses pemanasan melepaskan senyawa fenolik dan flavonoid yang terikat dalam serat sayuran berdaun hijau.

Aktivitas Antioksidan dari ‘Teh Susu’

Aktivitas antioksidan minuman dilihat dari perbedaan rasio campuran susu dan seduhan serta jenis seduhan dapat dilihat pada Gambar 2. Pada penelitian ini seduhan dianalogikan sebagai ‘teh’.

Berdasarkan analisis statistik, aktivitas antioksidan secara signifikan dipengaruhi ($p \leq 0.05$) oleh interaksi antara rasio campuran susu dan seduhan dengan jenis seduhan. Minuman fungsional yang terdiri dari susu almond dan seduhan biji fenugreek dengan rasio 0:1 memiliki nilai IC50 terendah yang berarti memiliki

aktivitas antioksidan tertinggi yaitu $157,52 \pm 2,78$ mg/L. Minuman fungsional yang terdiri dari susu almond dan seduhan daun torbangun dengan rasio 1:2 didapatkan memiliki aktivitas antioksidan terendah yaitu $1333,01 \pm 24,46$ mg/L. Minuman yang diperoleh dari campuran susu almond dan kombinasi seduhan daun torbangun-biji fenugreek masih memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan campuran susu almond dan seduhan daun torbangun saja. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa semakin tinggi rasio seduhan terhadap susu almond, semakin rendah nilai IC50 yang diperoleh dan semakin tinggi potensi antioksidan diperoleh.



Gambar 2. Pengaruh perbedaan rasio dan jenis seduhan terhadap aktivitas antioksidan minuman

Keterangan: A = susu almond, S = tipe seduhan. Perbedaan notasi mengindikasikan perbedaan signifikan ($p \leq 0.05$)

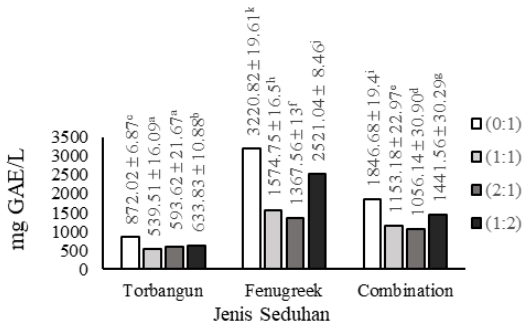
Beberapa senyawa bioaktif seperti asam protocatechuic, asam quinic, α -Terpineol, β -caryophyllene, γ -Terpinene, α -selinene, phenolic, dan flavonoid berperan dalam aktivitas antioksidan yang sangat kuat dari biji fenugreek. Dengan

demikian, hal itu mempengaruhi aktivitas antioksidan dari minuman fungsional dengan penambahan seduhan biji fenugreek. Menurut Ulbrich (2007), biji fenugreek memiliki β -caryophyllene (14,6%) sebagai senyawa antioksidan utama dan menurut Yulianto *et al.* (2016), daun torbangun memiliki γ -Terpinene (5,3%) sebagai senyawa antioksidan utama yang menghambat radikal bebas. Senyawa antioksidan utama daun torbangun masih lebih rendah dibandingkan dengan biji fenugreek yang memiliki γ -Terpinene (7,48%) (Ulbrich, 2007). Rendahnya nilai antioksidan dari minuman dengan seduhan daun torbangun juga dapat disebabkan proses pemanasan blansir selama 3 menit dan proses pengeringan daun selama 3,5 jam yang terkait dengan berkurangnya aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh kenaikan suhu. Semakin tinggi suhunya, semakin tinggi pula perubahan aktivitas antioksidannya (Ross *et al.*, 2011).

Total Kandungan Fenolik ‘Teh Susu’

Kandungan total fenolik dari minuman dilihat dari perbedaan rasio campuran susu dan seduhan serta jenis seduhan dapat dilihat pada Gambar 3. Hasil analisis menunjukkan bahwa minuman fungsional yang terdiri dari campuran susu almond dan seduhan biji fenugreek dengan rasio 0:1 memiliki kandungan total fenolik

tertinggi yaitu $3220,82 \pm 2,78$ mg GAE/L. Minuman fungsional yang terdiri dari susu almond dan seduhan daun torbangun dengan rasio 1:1 memiliki total fenolik terendah yaitu $539,51 \pm 16,09$ mg GAE/L.



Gambar 3. Pengaruh perbedaan rasio dan jenis seduhan terhadap kandungan total fenolik minuman

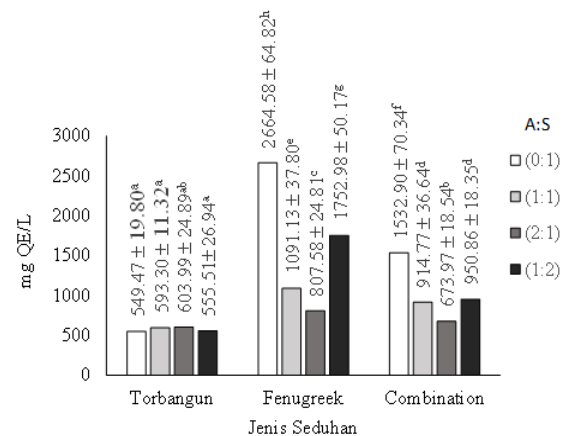
Keterangan: A = susu almond, S = tipe seduhan. Perbedaan notasi mengindikasikan perbedaan signifikan ($p \leq 0.05$)

Hasil analisis menunjukkan bahwa minuman fungsional yang terdiri dari campuran susu almond dan seduhan biji fenugreek dengan rasio 0:1 memiliki kandungan total fenolik tertinggi yaitu $3220,82 \pm 2,78$ mg GAE/L. Minuman fungsional yang terdiri dari susu almond dan seduhan daun torbangun dengan rasio 1:1 memiliki total fenolik terendah yaitu $539,51 \pm 16,09$ mg GAE/L. Hasil ini sesuai dengan total kandungan fenolik dari bahan baku biji dan seduhan biji fenugreek yang lebih tinggi dari daun torbangun dan seduhannya. Oleh karena itu, penambahan seduhan biji fenugreek ke bahan kandungan susu almond dapat meningkatkan total kandungan fenolik dari minuman fungsional dibandingkan dengan seduhan

daun torbangun. Rasio seduhan terhadap susu almond mempengaruhi kadar total fenolik minuman. Semakin tinggi rasio seduhan, semakin tinggi kandungan total fenolik yang diperoleh (Nan *et al.*, 2015).

Total Kandungan Flavonoid 'Teh Susu'

Kandungan flavonoid dari minuman fungsional dilihat dari perbedaan rasio campuran susu dan seduhan serta jenis seduhan dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Pengaruh perbedaan rasio dan jenis seduhan terhadap kandungan total flavonoid minuman

Keterangan: A = susu almond, S = tipe seduhan. Perbedaan notasi mengindikasikan perbedaan signifikan ($p \leq 0.05$)

Minuman fungsional yang terdiri dari susu almond dan seduhan biji fenugreek dengan rasio 0:1 ditemukan memiliki kandungan flavonoid tertinggi yaitu $2664,58 \pm 64,82$ mg QE/L. Minuman fungsional yang terdiri dari susu almond dan seduhan daun torbangun saja pada semua rasio memiliki kandungan flavonoid terendah dibandingkan perlakuan lainnya. Hal ini dapat disebabkan oleh kandungan flavonoid daun torbangun dan seduhannya

yang lebih rendah dibandingkan dengan biji fenugreek dan seduhannya sehingga mempengaruhi total flavonoid minuman yang dihasilkan. Flavonoid sensitif terhadap panas, cahaya, dan oksigen (Nan *et al.*, 2015). Meskipun demikian, minuman yang dihasilkan dari campuran susu almond dan kombinasi seduhan daun torbangun-biji fenugreek masih memiliki kadar total flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan campuran susu almond dan seduhan daun torbangun saja.

Evaluasi Organoleptik ‘Teh Susu’

Uji skoring dan uji hedonik dilakukan untuk mengevaluasi minuman ‘teh susu’ dilihat dari perbedaan rasio campuran susu dan seduhan serta jenis seduhan. Evaluasi ini menggunakan 70 panelis wanita berusia 25 hingga 40 tahun.

Uji Skoring

Ada tiga jenis parameter yang digunakan untuk penilaian skor yaitu rasa, aroma, dan krim dengan rentang skor 1-6. Dari segi rasa, minuman fungsional yang terdiri dari susu almond dan seduhan daun torbangun dengan rasio 1:2 memiliki skor tertinggi yaitu $5,49 \pm 0,61$. Namun, minuman fungsional yang terdiri dari susu almond dan seduhan biji fenugreek (1:1) memiliki rasa berumput/berdaun paling sedikit dengan nilai $3,87 \pm 0,70$. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin tinggi rasio seduhan daun torbangun terhadap susu almond maka

minuman semakin memiliki rasa berumput. Hasil ini disebabkan karena daun torbangun mengandung lebih banyak senyawa aroma yang berkontribusi terhadap rasa dan bau berumput/berdaun dibandingkan dengan kacang almond yang memiliki amygdalin, senyawa pemberi rasa kacang spesifik; dan biji fenugreek yang memiliki sotolon, pemberi rasa kari dan rasa terbakar (Rodriguez *et al.*, 2008).

Dari segi aroma, minuman fungsional yang terdiri dari susu almond dan seduhan daun torbangun dengan rasio 0:1 memiliki skor tertinggi ($5,60 \pm 0,55$), diikuti oleh seduhan daun torbangun dengan rasio 1:2 ($5,44 \pm 0,58$). Kedua minuman fungsional tersebut menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan satu sama lain. Minuman ‘teh-susu’ campuran susu almond dan biji fenugreek dengan rasio 1:1 menunjukkan aroma yang paling tidak berumput ($3,70 \pm 0,71$).

Menurut Arumugam *et al.* (2016), senyawa aroma pada daun torbangun adalah *carvacrol* (53% -67%) dan *p-Cymene* (6,5 - 12,6%). *Carvacrol* adalah senyawa fenolik yang merupakan turunan monoterpen alami dari *cymene*. *Carvacrol* bekerja sebagai penggerak potensial dari potensi reseptor sementara saluran ion manusia. Senyawa ini memiliki peran sebagai komponen yang mudah menguap, zat perisa, dan agen antimikroba. Sebagai perisa, *carvacrol*

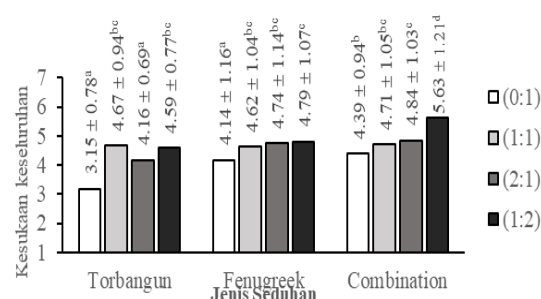
memberi rasa dan aroma pedas dari daun, dan rumput yang berumput, sedangkan *p-cymene* memberi rasa dan aroma timi, oregano, dan rempah lainnya (Rodriguez *et al.*, 2008; Arumugam *et al.*, 2016).

Hasil uji skoring tekstur krim, minuman fungsional yang terdiri dari susu almond dan seduhan biji fenugreek dengan rasio 2: 1 ($5,50 \pm 0,56$) memiliki hasil skor tertinggi. Semua minuman dengan rasio susu almond lebih tinggi dari seduhan memiliki skor tekstur krim lebih tinggi dari perlakuan lainnya. Hal ini disebabkan oleh kandungan lemak susu almond yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan semua jenis seduhan. Kandungan lemak adalah faktor utama yang mempengaruhi tekstur krim dari minuman fungsional ‘teh-susu’. Adanya lemak dari susu almond menghasilkan tekstur dan rasa produk yang lebih berkrim. Semakin tinggi rasio susu almond maka minuman fungsional akan semakin *creamy* (Hayes dan Duffy, 2008).

Uji Hedonik

Parameter yang digunakan untuk uji kesukaan (hedonik) yaitu rasa, aroma, krim, warna, dan kesukaan secara keseluruhan. Skala yang digunakan adalah 1-7 (sangat tidak suka – sangat suka). Hasil analisis menunjukkan minuman fungsional ‘teh-susu’ yang terdiri dari campuran susu almond dan kombinasi seduhan daun torbangun - biji fenugreek dengan rasio 1:2

memiliki nilai kesukaan tertinggi pada rasa ($5,50 \pm 0,56$), aroma ($5,19 \pm 0,83$), *creaminess* ($5,51 \pm 1,05$), warna ($6,14 \pm 0,71$), dan kesukaan keseluruhan ($5,63 \pm 1,21$). Nilai ini menunjukkan bahwa panelis cenderung agak suka – suka terhadap minuman tersebut. Hasil analisis uji kesukaan keseluruhan dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Pengaruh perbedaan rasio dan jenis seduhan terhadap nilai kesukaan keseluruhan

Keterangan: Perbedaan notasi mengindikasikan perbedaan signifikan ($p \leq 0.05$)

Penentuan Perlakuan Terbaik

Perlakuan terbaik ditentukan berdasarkan aktivitas antioksidan, kandungan total fenolik, kadar total flavonoid, uji sensori, dan pemanfaatan bahan baku terutama daun torbangun. Berdasarkan aktivitas antioksidan, kandungan fenolik total, dan kadar flavonoid total, minuman ‘teh susu’ almond dengan seduhan biji fenugreek di semua rasio memiliki hasil tertinggi. Minuman ‘teh susu’ dengan campuran seduhan daun torbangun saja menunjukkan antioksidan yang lebih lemah dibandingkan dengan perlakuan lain.

Berdasarkan hasil analisis dan pertimbangan tujuan penelitian dalam mengoptimalkan penggunaan kombinasi tiga bahan sebagai sumber lactagogue maka perlakuan yang dipilih adalah minuman ‘teh susu’ yang terdiri dari susu almond dan kombinasi seduhan biji fenugreek dan daun torbangun (1:2). Hasil ini juga didukung oleh hasil uji skoring dan hedonik yang memiliki nilai penerimaan paling tinggi. Produk minuman terpilih selanjutnya dianalisis kandungan fisikokimianya seperti dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Analisis fisikokimia sampel terpilih

Parameter	Hasil	SNI 01-3830- 1995
pH	6,50±0,03	6,5-7,0
Kekentalan (cP)	16,20±0,00	-
Color (<i>Lightness</i>)	47,62±0,01	Normal
Color (<i>°Hue</i>)	82,21±0,09	Normal
TPT (<i>°Brix</i>)	7,76±0,07	> 11,5
Kadar air (%)	91,02±0,10	-
Kadar abu (%)	2,16±0,06	-
Kadar lemak (%)	3,65±0,14	> 2%
Kadar Protein (%)	2,11±0,08	> 1%
Kadar karbohidrat (%)	1,06±0,09	-

Sampel terpilih dibandingkan dengan SNI untuk susu nabati dengan komponen utama susu kedelai karena belum terdapat SNI dengan susu almond. Berdasarkan Tabel 4 dapat diketahui bahwa untuk pH minuman, kadar lemak dan protein sampel terpilih telah memenuhi standar SNI (BSN, 1995). Namun untuk nilai total padatan terlarut belum memenuhi persyaratan. Hal ini dapat disebabkan karena minuman terpilih mempunyai rasio

seduhan lebih banyak dibandingkan susu almond, yang kemungkinan akan mengurangi jumlah total padatan terlarut dari minuman fungsional itu sendiri.

Berdasarkan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (Kemenkes, 2011), diet yang direkomendasikan untuk ibu menyusui terdiri dari karbohidrat (nasi, kentang, bihun, mie, roti, dan lain-lain), protein (ayam, ikan, kacang-kacangan, keju, susu, dan lain-lain), zat pengatur (sayuran hijau dan buah), dan air (>8 gelas/hari). Tabel 4 menunjukkan minuman ‘teh susu’ yang dibuat dengan susu almond dan kombinasi seduhan daun torbangun - biji fenugreek dapat direkomendasikan sebagai minuman kesehatan bagi ibu menyusui untuk meningkatkan dan menjaga cairan tubuh, serta meningkatkan kandungan lemak dan protein yang dibutuhkan oleh ibu menyusui.

Hasil analisis mineral minuman terpilih menunjukkan kandungan mineral yang cukup tinggi yaitu kalsium 7,38 mg/100mL, magnesium 7,28 mg/100mL, kalium 36,02 mg/100 mL dan zat besi 0,72 mg/100 mL.

Perbandingan Antara Sampel Terpilih dan Kontrol

Minuman dengan perlakuan terpilih selanjutnya dibandingkan dengan kontrol berupa susu almond dan madu (tanpa seduhan daun torbangun - biji fenugreek)

berdasarkan karakteristik fisikokimia seperti pH, jumlah padatan terlarut, kekentalan dan warna; dan karakteristik antioksidan seperti aktivitas antioksidan, jumlah kandungan fenolik, dan jumlah kandungan flavonoid. Hasil analisis dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil analisis perlakuan sampel dan kontrol

Parameters	Sampel	Kontrol
pH	6,50±0,03 ^a	6,92±0,08 ^a
Viscositas (cP)	16,20±0,00 ^a	22,35±0,07 ^b
Color (<i>Lightness</i>)	47,62±0,01 ^a	66,99±0,02 ^b
Warna (°Hue)	82,21±0,09 ^a	89,96±0,05 ^b
TSS (°Brix)	7,76±0,07 ^a	13,52±0,14 ^b
IC ₅₀ (mg/L)	793,99±23,06 ^a	1031,47±23,12 ^b
Total fenolik (mg GAE/L)	1441,56±30,28 ^a	410,46±32,05 ^b
Total flavonoid (mg QE/L)	950,85±36,64 ^a	688,10±14,83 ^b

Tabel 5 menunjukkan bahwa, nilai pH pada sampel terbaik hampir sama dengan kontrol, sedangkan untuk kontrol memiliki kekentalan yang lebih tinggi. Kontrol hanya terdiri dari susu almond yang banyak mengandung lemak sehingga cenderung lebih kental dibandingkan dengan sampel terpilih yang mengandung lebih banyak air seduhan.

Parameter warna dibagi menjadi dua yaitu *lightness* dan *hue*. Sampel terpilih memiliki *lightness* yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Penambahan seduhan kombinasi seduhan daun torbangun - biji fenugreek memiliki warna yang lebih gelap dibandingkan dengan warna susu almond dan madu memengaruhi kecerahan produk minuman.

Nilai derajat *hue* kontrol adalah 89,96±0,05 yang mendekati rentang dari warna kuning yang berada pada 90-126, sedangkan sampel berada pada rentang 82,21±0,09 yang termasuk pada rentangan warna merah menuju kuning. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh penambahan seduhan biji fenugreek dan daun torbangun. Biji fenugreek memiliki kandungan karotenoid dan *pheophytin* yang tinggi yang berkontribusi terhadap warna kuning dan coklat tua kemerahan. Seduhan daun torbangun mengandung klorofil dan beta karoten yang berkontribusi terhadap warna hijau menuju kuning (Moyano, 2010).

Bila dilihat dari aktivitas antioksidan, total fenolik dan flavonoid, dapat disimpulkan bahwa dengan adanya kombinasi seduhan daun torbangun - biji fenugreek meningkatkan nilai fungsional minuman susu almond. Sampel memiliki nilai IC₅₀ yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol yang berarti sampel memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi. Demikian pula untuk kandungan fenolik dan kandungan flavonoid, sampel memiliki kandungan fenolik dan flavonoid yang lebih tinggi daripada kontrol. Hasil analisis ini membuktikan bahwa penambahan seduhan berhasil meningkatkan aktivitas antioksidan, kandungan fenolik, kandungan flavonoid dari susu almond.

KESIMPULAN

Minuman 'teh susu' yang dibuat dari campuran susu almond dan kombinasi seduhan daun torbangun - biji fenugreek dengan rasio 1:2 memiliki aktivitas antioksidan $793,99 \pm 23,06$ mg/L, total fenolik $1441,56 \pm 30,28$ mg/L, dan total flavonoid $950,85 \pm 36,64$ mg/L. Penambahan seduhan daun torbangun - biji fenugreek berhasil meningkatkan aktivitas antioksidan, kandungan fenolik, dan kandungan flavonoid dari susu almond, serta memiliki nilai kesukaan paling tinggi dengan kisaran agak suka – suka. Berdasarkan kandungan gizi dan karakteristik antioksidannya, produk minuman 'teh susu' yang dibuat dengan susu almond dan kombinasi seduhan daun torbangun - biji fenugreek dapat direkomendasikan untuk ibu menyusui.

SARAN

Penelitian selanjutnya dapat dilakukan untuk mengoptimasi pembuatan minuman 'teh susu' berbasis daun torbangun sehingga dihasilkan aktivitas antioksidan, nilai hedonik dan skoring yang lebih tinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada LPPM UPH yang telah mendanai penelitian ini (P-028/FaST/VI/2018).

DAFTAR PUSTAKA

- Association of Official Analytical Chemistry (AOAC). (2005). *Official Method of Analysis*. Association of Official Analytical Chemistry. AOAC International.
- Association of Official Analytical Chemistry (AOAC). (2011). *Official Method of Analysis*. Association of Official Analytical Chemistry. AOAC International.
- Association of Official Analytical Chemistry (AOAC). (2012). *Official Method of Analysis*. Association of Official Analytical Chemistry. AOAC International.
- Andarwulan, N., Yuliana, N. D., Hasna, E., Aziz, S. A., & Davis, T. D. (2014). Comparative analysis of three torbangun clones (*Plectranthus amboinicus* L.) based on phenolic characteristic and phenolic content. *American Journal of Plant Science*, 5, 3673-368.
- Arumugam, G., Swamy, M. K., & Sinniah, U. R. (2016). *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng: Botanical Phytochemical, Pharmacological, and Nutritional Significance. *Molecules*, 21(4), 369. <https://doi.org/10.3390/molecules21040369>
- Atteh, B., Olukemi, O., & Adelola, O.B. (2021). Effects of Moisture Content Variation on Some Engineering Properties of Almond Seed (*Terminalia Catappa*). *Indonesian Food Science and Technology Journal*, 4(2), 45-55. <https://doi.org/10.22437/iftstj.v4i2.13673>
- Badan Standarisasi Nasional (BSN). (1995). *SNI 01-3830-1995: Susu*

- Kedelai. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Bae, J., Kim, J., Choue, R., & Lim, H. (2015). Fennel (*Foeniculum vulgare*) and fenugreek (*Trigonella faecum-graecum*) tea drinking supresses subjective short-term appetite in overweight women. *Clinical Nutrition Research*, 4(3), 168-174. <https://doi.org/10.7762/cnr.2015.4.3.168>
- Barreira, J. C. M., Ferreira, I. C. F. R., Oliveira, M. B. P. P., & Pereira, J. A. (2008). Antioxidant activity and bioactive compounds of ten Portuguese regional and commercial almond cultivars. *Food and Chemical Toxicology*, 46(6), 2330-2335. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.02.024>
- Damanik, R. (2008). Torbangun (*Coleus amboinicus* Lour): a Batakese traditional cuisine perceived as lactagogue by Batakese lactating women in Simalungun, North Sumatera, Indonesia. *Journal of Human Lactiation*, 25(1), 64-72. <https://doi.org/10.1177/0890334408326086>
- Folasade M., & Oladunni S. (2016). Effects of processing treatments on nutritional quality of raw almond. *Advances in Applied Science Research*, 7(1), 1-7.
- Gungor, S. S. U., Ozay, S. G., Ilcim, A., & Kokdil, G.. (2014). Composition and content of total phenolics and flavonoids, and antioxidant activity of *Trigonella isthmocarpa*. *European Journal of Chemistry*, 4, 2154-2249. <https://doi.org/10.5155/eurjchem.4.1.7-9.719>
- Hayes, J. E., & Duffy, V. B. (2008). Oral sensory phenotype identifies level of sugar and fat required for maximal liking. *Physiology & Behavior*, 95(1-2), 77-87. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2008.04.023>
- Hazimah, Teruna, H. Y., & Jose, C. (2013). Aktivitas antioksidan dan antimikrobal dari ekstrak *Plectranthus amboinicus*. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 1(2), 39-42.
- Hossain, A., Khatun M. A., Islam, M., & Huque, R. (2017). Enhancement of antioxidant quality of green leafy vegetables upon different cooking method. *Preventive Nutrition and Food Science*, 22(3), 216-222. <https://doi.org/10.3746/pnf.2017.22.3.216>
- Iwansyah, A. C., Damanik, R. M., Kustiyah L., & Hanafi M. (2016). Relationship between antioxidant properties and nutritional composition of some galactopoietics herbs used in Indonesia: a comparative study. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(12), 236-243. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2016v8i12.14964>
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia (Kemenkes RI). (2011). *Makanan sehat ibu menyusui*. Direktorat Bina Gizi. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Khajali, F., & Slominski, B. A. (2012). Factors that affect the nutritive value of canola meal for poultry. *Poultry Science*, 91(10), 2564-2575. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02332>
- Kim, M. H., Kim, J. M., & Yoon, K. Y. (2013). Effects of blanching on antioxidant activity and total phenolic content according to type of medicinal

- plants. *Food Science and Biotechnology*, 22, 817-823. <https://doi.org/10.1007/s10068-013-0150-5>
- Lutfiani, L., & Nasrulloh, N. (2020). Total flavonoid dan aktivitas antioksidan food bar torbangun-katuk terhadap efektivitas produksi ASI. *Amerta Nutrition*, 7(1), 88-97. <https://doi.org/10.20473/amnt.v7i1.2023.88-97>
- Mahboubi, M., Kazempour, N., & Nazar, A. R. B. (2013). Total phenolic, total flavonoids, antioxidant and antimicrobial activities of *Scrophularia Striata* Boiss extracts. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 8(1), 15-19. <https://doi.org/10.17795/jjnpp-7621>
- Marlina, Trianingsih, I., & Sari, A. J. (2022). Pengaruh konsumsi daun torbangun terhadap produksi ASI. *Jurnal Kesehatan*, 13(1), 72-79. <https://doi.org/10.26630/jk.v13i1.3094>
- Millbury, P. E., Chen, C. Y., Dolnikowski, G. G., & Blumberg, J. B. (2007). Determination of flavonoids and phenolics and their distribution in almonds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(14), 5027-5033. <https://doi.org/10.1021/jf0603937>
- Miranda, M., Vega-Galves, A., Martinez, E. A., Lopez, J., Marin, R., Aranda, M., & Fuentes, F. (2013). Influence of contrasting environments on seed composition of two quinoa genotypes: nutritional and functional properties. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 73(2), 108-116. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392013000200004>
- Moyano, M. J., Heredia, F. J., & Melendez-Melendez-Martinez, A. J. (2010). The color of olive oils: the pigments and their likely health benefit and visual and instrumental methods of analysis. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(3), 278-291. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00109.x>
- Nan, H. S., Mu, T. H., & Xi, L. S. (2015). Effect of pH, heat, and light treatment on the antioxidant activity of sweet potato leaf polyphenols. *International Journal of Food Properties*, 20(2), 318-332. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1160410>
- Nursasanti, A. (2011). Susu kedelai dengan penambahan ekstrak daun torbangun (*Coleus amboinicus* Lour) sebagai pengembangan produk minuman sumber kalsium [Bachelor's Thesis]. Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
- Oktafiani, H., Sari, D.N., & Valiani, C. (2022). Smoothies almond kelor sebagai nutrisi tambahan ibu nifas untuk meningkatkan kuantitas air susu ibu. *Jurnal Kesehatan Perintis*, 9(2), 131-137. <https://doi.org/10.33653/jkp.v9i2.901>
- Prahesti, R., & Sholihah, N. R. (2020). Daun torbangun (*Coleus amboinicus* L) meningkatkan kadar prolaktin dan produksi ASI pada ibu menyusui. *Media Ilmu Kesehatan*, 9(1), 21-25. <https://doi.org/10.30989/mik.v9i1.335>
- Puspitasari, E. (2018). Pengaruh pemberian susu kedelai terhadap peningkatan produksi ASI pada ibu nifas di RB Bina Sehat Bantul. *Jurnal Kebidanan*, 7(1), 54-60. <https://doi.org/10.26714/jk.7.1.2018.54-60>

- Ravi, R., & Joseph, J. (2020). Effect of fenugreek on breast milk production and weight gain among infants in the first week of life. *Clinical Epidemiology and Global Health*, 8(3), 656–660.
<https://doi.org/10.1016/j.cegh.2019.12.021>
- Ross, C. F., Hoye, C. Jr., & Fernandez-Plotka, V. C. (2011). Influence of heating on the polyphenolic content and antioxidant activity of grape seed flour. *Journal of Food Science*, 76(6), C884-890.
<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02280.x>
- Ryan, R. A., Hepworth, A. D., Lyndon, A., & Bihuniak, J. D. (2023). Use of galactagogues to increase milk production among breastfeeding mothers in the United States: a descriptive study. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 123(9), 1329-1339.
<https://doi.org/10.1016/j.jand.2023.05.019>
- Saragih, R. (2014). Uji kesukaan pada teh daun torbangun (*Coleus amboinicus*). *E-Journal WIDYA Kesehatan Dan Lingkungan*, 1(1), 46-52.
- Sudhakar, P., Priyanka K., Peter, A.B., Sandeep, B.V., Rajeswari, M., Rao, B.G., & Sujatha, P. (2018). A Study on the proximate composition and nutritive value of local tree almonds, *Prunus amygdalus*. *Annals of Plant Sciences*, 7(6), 2363-2372.
<http://dx.doi.org/10.21746/aps.2018.7.6.13>
- Suliman, A. M. E., Ahmed, H. E., & Abdelrahim, A. M. (2008). The chemical composition of fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L) and the antimicrobial properties of its seed oil. *Gezira Journal of Engineering & Applied Science*, 3(2), 52-71.
- Suryowati, T., Rimbawan, Damanik, R. M., Bintang, M., & Handharyani, E. (2015). Identifikasi komponen kimia dan aktivitas antioksidan dalam tanaman torbangun (*Coleus amboinicus* Lour). *Jurnal Gizi dan Pangan*, 10(3), 217-224.
- Syarief, H., Damanik R. M., Sinaga T., & Doloksaribu T. H. (2014). Pemanfaatan daun bangun-bangun dalam pengembangan produk makanan tambahan fungsional untuk ibu menyusui. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 19(1), 38-42.
- Tafzi, F., Andarwulan, N., Giriwonob, P. E., & Dewid, F. N. A. (2015). Efficacy methanol extract of torbangun leaves (*Plectranthus amboinicus*) in epithelial cell of mammary gland MCF-12A. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 15(1), 17-24.
- Ulbricht, C., Basch, E., Burke, D., Cheung, L., Ernst, E., Giese, N., Foppa, I., Hammerness, P., Hashmi, S., Kuo, G., Miranda, M., Mukherjee, S., Smith, M., Sollars, D., Tanguay-Colucci, S., Vijayan, N., & Weissner, W. (2007) Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L. Leguminosae): an evidence-based systematic review by the natural standard research collaboration. *Journal of Herbal Pharmacother*, 7(3-4), 143-77.
<https://doi.org/10.1080/15228940802142852>
- United States Department of Agriculture (USDA). (2008). *Trigonella foenum-graecum*. Germplasm Resources Information Network (GRIN). Agricultural Research Service (ARS).
- United States Department of Agriculture (USDA). (2018). *Almond nut*.

- Germplasm Resources Information Network (GRIN). Agricultural Research Service (ARS).
- Warsiki, E., & Damanik, R. M. (2012). Perubahan mutu dan umur simpan sup daun torbangun (*Colues amboinicus* Lour) dalam kemasan. *Jurnal Gizi dan Pangan*, 7(1), 7-10. <https://doi.org/10.25182/jgp.2012.7.1.8-11>
- Wulandari, N., Sugihantoro, H., Inayatilah, F. R., Atmaja, R. R. D., Budiastutie, M. N. E., & Wardani, W. K. (2020). Gambaran penggunaan galaktagog (obat kimia dan herbal) pada ibu menyusui di Kota Malang. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 5(2),85-90. <https://doi.org/10.21776/ub.pji.2020.05.02.3>
- Yulianto, W., Andarwulan, N., Giriwono, P. E., & Pamungkas, J. (2016). Komponen bioaktif tanaman torbangun (*Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng) menghambat viabilitas dan mendorong apoptosis sel kanker payudara MCF-7. *IPB Repository*. Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.

PENGURANGAN MINYAK PADA PRODUK GORENGAN MENGGUNAKAN HIDROKOLOID DAN PATI TINGGI AMILOSA

[REDUCTION OF OIL IN FRIED PRODUCTS USING HYDROCOLLOIDS AND HIGH-AMYLOSE STARCH]

Regita Ezra Dwiningris Saragih¹, Ratna Handayani^{2*}

^{1,2}Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Pelita Harapan,
Jl. M.H. Thamrin Boulevard 1100 Lippo Village, Tangerang, Banten

*Korespondensi penulis: ratna.handayani@uph.edu

ABSTRACT

Consumption of high-fat fried products and high oil absorption in fried products can lead to health problems. The oil absorption can be reduced by utilizing hydrocolloids and high amylose starch as coating materials in food products. The purpose of this study was to determine the best formulation of coating dough (high amylose starch) in oil absorption in fried products, to determine the effect of different types of raw materials and frying time on oil absorption, and to determine the effect of adding high amylose starch and hydrocolloid to absorption of fried oil products. There were 3 formulations in the preliminary study with different high amylose starch concentrations and the coating method used was battering and battering + dry coating. The lowest oil absorption is the battering method using formulation 1 which is 14.53%. In the main study different raw materials (chicken breast fillet, tofu and potato) were used and different frying times (3, 6 and 9 minutes). Oil absorption in fried products with different raw materials shows that oil absorption is also different and increases with increasing length of frying time in raw materials with the lowest moisture content (chicken breast fillets). High amylose starch and HPMC was able to reduce oil absorption in fried products by decreasing oil absorption on fried chicken breast fillets by 12.12%, on fried potatoes by 27.65% and on fried white tofu by 16.31%.

Keywords: *fried products; high amylose starch; hydrocolloids; oil uptake*

ABSTRAK

Konsumsi produk gorengan yang tinggi serta penyerapan minyak yang tinggi pada produk gorengan dapat menyebabkan masalah kesehatan. Penyerapan minyak tersebut dapat dikurangi dengan pemanfaatan hidrokoloid dan pati tinggi amilosa sebagai bahan pelapis pada bahan pangan. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui formulasi terbaik dari adonan pelapis (pati tinggi amilosa) dalam penyerapan minyak pada produk gorengan, untuk mengetahui pengaruh jenis bahan baku dan waktu penggorengan yang berbeda terhadap penyerapan minyak, serta mengetahui pengaruh penambahan pati tinggi amilosa dan hidrokoloid terhadap penyerapan minyak produk gorengan. Terdapat 3 formulasi pada penelitian pendahuluan dengan konsentrasi pati tinggi amilosa yang berbeda-beda dan metode pelapisan bahan yang digunakan adalah *battering* dan *battering + dry coating*. Penyerapan minyak yang paling rendah adalah metode *battering* menggunakan formulasi 1 yaitu 14,53%. Pada penelitian utama digunakan bahan baku yang berbeda (*fillet* dada ayam, tahu dan kentang) dan waktu penggorengan yang berbeda (3, 6 dan 9 menit). Penyerapan minyak pada produk gorengan dengan bahan baku yang berbeda menunjukkan penyerapan minyak yang juga berbeda dan Menenga seiring

semakin lamanya waktu penggorengan pada bahan baku dengan kadar air yang paling rendah (*fillet* dada ayam). Kandungan pati tinggi amilosa dan HPMC mampu mengurangi penyerapan minyak pada produk gorengan dengan penurunan penyerapan minyak pada *fillet* dada ayam goreng sebesar 12,12%, pada kentang goreng sebesar 27,65% dan pada tahu putih goreng sebesar 16,31%.

Kata kunci: hidrokoloid; pati tinggi amilosa; penyerapan minyak; produk gorengan

PENDAHULUAN

Produk gorengan merupakan produk yang digemari masyarakat dengan kandungan minyak yang tinggi. Contoh produk gorengan dengan kandungan minyak mencapai 40% adalah keripik kentang (Bouchon *et al.*, 2003). Kandungan minyak yang tinggi akan menjadi masalah Kesehatan jika dikonsumsi secara terus menerus.

Salah satu cara untuk mengurangi penyerapan minyak pada gorengan adalah penggunaan hidrokoloid. *Hydroxypropyl methyl cellulose* (HPMC) mampu mengurangi penyerapan minyak pada produk gorengan (Jamshidi & Shabanpour, 2013). Ayam goreng yang dilapisi dengan *Hydroxypropyl methyl cellulose* (HPMC) juga menunjukkan pengurangan minyak sebesar 5-12% (Holownia *et al.*, 2000).

Kandungan amilosa yang tinggi mampu mengurangi penyerapan minyak pada produk gorengan (Vongsawasdi *et al.*, 2008). Penggunaan pati jagung yang

merupakan pati dengan amilosa yang tinggi terbukti dapat mengurangi penyerapan minyak pada produk gorengan (Han *et al.*, 2007).

Tujuan penelitian adalah mengetahui formulasi terbaik adonan pelapis gorengan yang menganung hidrokoloid dan pati tinggi amilosa terhadap penyerapan minyak pada gorengan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah *hydroxy-propylmethyl cellulose* (HPMC), pati tinggi amilosa, minyak goreng kelapa sawit “BIMOLI”, tepung beras “ROSE BRAND”, kentang *tess* “SUNRISE”, *fillet* dada ayam, tahu putih “YUNYI”, natrium bikarbonat (soda kue) “KOEPOE-KOEPOE”, garam meja “REFINA”, etanol absolut (*p.a*) “MERCK”, dietil eter (*p.a*) “MERCK”, petroleum eter (*p.a*) “MERCK”, HCl (37%) (*p.a*) “MERCK”, akuades.

Alat yang digunakan adalah neraca analitik, *deep-fryer*, *texture analyzer* “STABLE MICRO SYSTEM TA.XT. PLUS”, *chromameter* “KONICA MINOLTA”, *digital viscometer* “BROOKFIELD LVDFE”.

Metode Penelitian

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui formulasi adonan pelapis serta metode pelapisan terbaik berdasarkan parameter kadar air, kadar lemak, *moisture loss*, penyerapan minyak, warna dan tekstur produk yang digoreng. Pembuatan adonan pelapis dilakukan dengan menggunakan modifikasi metode Altunakar *et al.* (2005). Adonan pelapis terdiri dari bahan kering dan air. Perbandingan bahan kering dan air adalah 3:5. Bahan kering dicampur dengan air menggunakan *hand mixer* dengan kecepatan paling rendah selama 1 menit. Formulasi bahan kering dari adonan pelapis dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Formulasi adonan pendahuluan

Bahan	Formulasi (%)		
	1	2	3
Tepung beras	76,5	71,5	66,5
Pati tinggi amilosa	20	25	30
HPMC	1,5	1,5	1,5
Garam	1	1	1
Natrium bikarbonat	1	1	1
Total	100	100	100

Kentang yang sudah dipotong dengan ukuran 3 x 6 x 1,5 cm kemudian

direndam dalam adonan pelapis selama kurang lebih 10 detik. Terdapat dua metode pelapisan bahan pada penelitian pendahuluan (*battering* dan *battering + dry coating*). Pada metode pelapisan bahan dengan metode *battering*, kentang yang sudah dilapisi adonan pelapis kemudian digoreng menggunakan minyak pada suhu 170°C selama 6 menit dan menggunakan *deep-fryer*. Pada metode pelapisan bahan *battering + dry coating*, kentang yang sudah dilapisi adonan pelapis kemudian dilapisi dengan bahan kering dan setelah itu digoreng menggunakan minyak pada suhu 170°C selama 6 menit dan menggunakan *deep-fryer*. Minyak hanya digunakan untuk satu kali penggorengan. Kentang yang sudah digoreng ditiriskan di atas penyaring selama kurang lebih 10 menit dan kemudian dianalisis meliputi kadar lemak, kadar air, *moisture loss*, penyerapan minyak, warna dan tekstur (Altunakar *et al.*, 2005; Vongsawasdi *et al.*, 2008).

Penelitian Utama

Penelitian Utama Tahap I

Penelitian utama tahap I bertujuan untuk mengetahui penyerapan minyak pada beberapa produk gorengan (*fillet* dada ayam goreng, kentang goreng

dan tahu putih goreng) dengan waktu penggorengan berbeda (3 menit, 6 menit dan 9 menit) dan dilapisi adonan pelapis menggunakan formulasi serta metode terbaik yang diperoleh dari penelitian pendahuluan. Parameter yang diuji pada penelitian utama adalah kadar lemak, kadar air, penyerapan minyak, *moisture loss*, warna, tekstur, dan uji organoleptik. Pembuatan adonan pe-lapis pada penelitian utama sama seperti pembuatan adonan pelapis pada penelitian pendahuluan.

Penelitian Utama Tahap II

Penelitian utama tahap II bertujuan untuk mengetahui penggunaan pati tinggi amilosa dan hidrokoloid terhadap penyerapan minyak beberapa produk gorengan dengan waktu penggorengan yang berbeda. Bahan yang digunakan pada penelitian utama tahap II adalah *fillet* dada ayam, kentang dan tahu putih. Waktu penggorengan yang digunakan adalah 3 menit, 6 menit dan 9 menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Amilosa pada Pati Tinggi Amilosa dan Konsentrasi HPMC yang digunakan

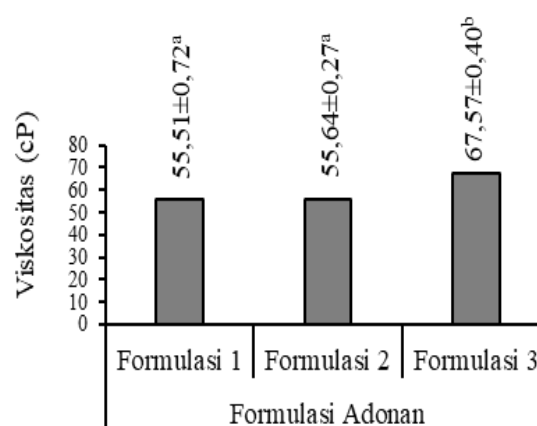
Pati tinggi amilosa yang digunakan pada penelitian ini

merupakan pati jagung yang sudah dimodifikasi sehingga memiliki kandungan amilosa yang tinggi. Kandungan amilosa yang terdapat pada pati tinggi amilosa yang digunakan pada penelitian ini adalah sebesar 72%.

Konsentrasi HPMC yang digunakan pada penelitian ini adalah 1,5%. Pemanfaatan HPMC dengan konsentrasi 1,5% pada adonan pelapis dapat menurunkan penyerapan minyak pada produk gorengan (Anders, 2016).

Viskositas Adonan Pelapis dengan Formulasi yang Berbeda

Hasil analisis dari viskositas adonan pelapis pada penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Gambar 1. Berdasarkan uji statistik menggunakan ANOVA, terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antar perlakuan.



Gambar 1. Viskositas adonan pelapis yang digunakan pada penelitian pendahuluan

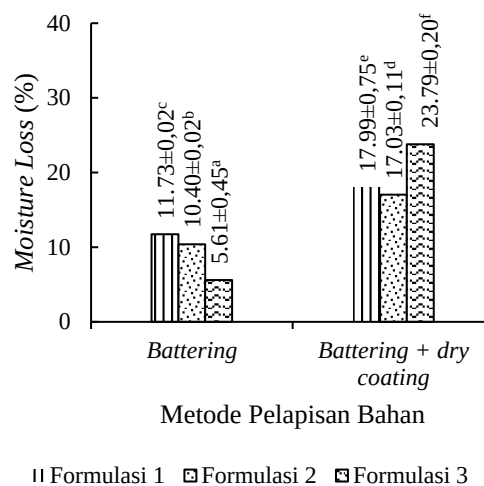
Keterangan: Notasi huruf *superscript* yang berbeda pada diagram batang menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)

Berdasarkan uji viskositas adonan pelapis pada penelitian pendahuluan, dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi pati tinggi amilosa (Formulasi 3), maka semakin tinggi viskositasnya. Pati dengan konsentrasi amilosa tinggi memiliki viskositas yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan pati dengan kandungan amilosa yang lebih rendah (Xie *et al.*, 2009). Semakin meningkatnya konsentrasi pati tinggi amilosa pada adonan pelapis menunjukkan viskositas yang semakin meningkat juga. Menurut Romero-Bastida *et al.* (2018), semakin tinggi konsentrasi pati tinggi amilosa maka semakin tinggi viskositas yang dihasilkan. Adonan pelapis juga ditambahkan hidrokoloid berupa HPMC dengan konsentrasi 1,5%. Hidrokoloid mampu menambah kekentalan adonan pelapis yang disebabkan oleh gugus hidroksil dari hidrokoloid yang mampu mengikat air (Saha & Bhattacharaya, 2010).

Moisture Loss pada Kentang Goreng

Hasil analisis *moisture loss* pada kentang goreng sebagai penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Gambar 2. Berdasarkan uji statistik menggunakan ANOVA, terdapat interaksi yang signifikan ($p < 0,05$) antara

perlakuan dengan formulasi adonan pelapis yang berbeda dan metode pelapisan bahan yang berbeda terhadap *moisture loss* pada kentang goreng.



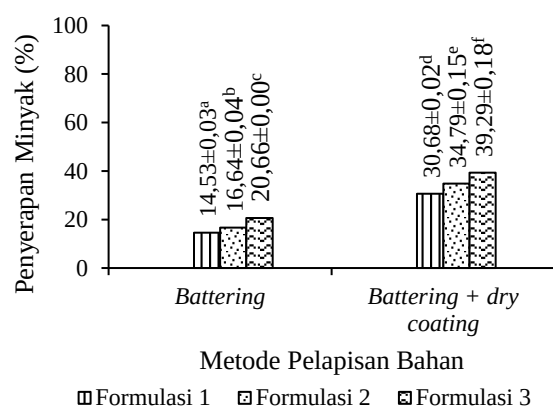
Gambar 2. *Moisture loss* kentang goreng pada penelitian pendahuluan

Keterangan: Notasi huruf *superscript* yang berbeda pada diagram batang menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)

Penyerapan minyak berhubungan dengan *moisture loss* pada produk yang digoreng karena terjadinya perpindahan minyak ke dalam bahan yang digoreng. Air dalam bahan menguap dan minyak masuk ke dalam bahan sehingga memberikan rasa pada bahan yang digoreng (Manjunatha, 2012; Ziaiiifar *et al.*, 2008). Semakin tinggi penyerapan minyak, maka semakin tinggi *moisture loss* pada bahan yang digoreng. Hal ini sesuai dengan data *moisture loss* pada kentang yang digoreng dengan metode pelapisan *battering + dry coating*.

Penyerapan Minyak pada Kentang Goreng

Hasil analisis dari penyerapan minyak pada kentang goreng yang dilakukan pada penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Gambar 3. Berdasarkan uji statistik menggunakan ANOVA, terdapat interaksi yang signifikan ($p < 0,05$) antara perlakuan dengan formulasi adonan pelapis yang berbeda dengan metode pelapisan bahan yang berbeda terhadap penyerapan minyak pada kentang goreng.



Gambar 3. Penyerapan minyak kentang goreng pada penelitian pendahuluan

Keterangan: Notasi huruf *superscript* yang berbeda pada diagram batang menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)

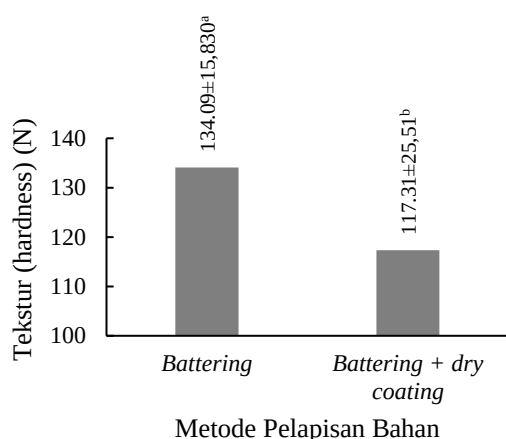
Penyerapan minyak dipengaruhi oleh konsentrasi pati tinggi amilosa yang terdapat pada adonan pelapis yang digunakan. Semakin tinggi konsentrasi pati tinggi amilosa yang terdapat pada adonan pelapis yang digunakan, maka semakin tinggi juga penyerapan minyak pada bahan. Hal ini berkaitan dengan

viskositas dari adonan pelapis yang digunakan yaitu seiring meningkatnya konsentrasi pati tinggi amilosa pada adonan pelapis maka semakin tinggi juga viskositasnya. Semakin tingginya viskositas maka adonan pelapis yang melapisi bahan juga akan semakin banyak sehingga dapat menyebabkan semakin tingginya penyerapan minyak (Han *et al.*, 2007; Sakhale *et al.*, 2011; Norizzah *et al.*, 2016).

Tekstur pada Kentang Goreng

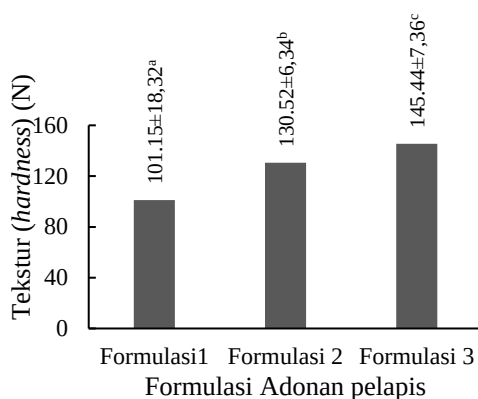
Hasil analisis tekstur kentang goreng yang dilakukan pada penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Gambar 4 dan 5. Berdasarkan uji statistik yang dilakukan, tidak terdapat interaksi yang signifikan ($p > 0,05$) antara perlakuan formulasi adonan pelapis dengan metode pelapisan bahan yang berbeda terhadap tekstur pada kentang goreng.

Hasil analisis tekstur pada kentang goreng yang dilapisi dengan metode pelapisan bahan (*battering* dan *battering + dry coating*) berbeda signifikan (Gambar 4). Semakin rendah *hardness*, maka akan semakin renyah produk yang digoreng (Sothornvit, 2011). Hal tersebut dapat disebabkan lapisan *dry coating* dapat menambah kerenyahan pada produk gorengan (Brannan *et al.*, 2014).



Gambar 4. Pengaruh metode pelapisan bahan terhadap tekstur (*hardness*) kentang goreng pada penelitian pendahuluan

Keterangan: Notasi huruf *superscript* yang berbeda pada diagram batang menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)



Gambar 5. Pengaruh formulasi adonan pelapis terhadap tekstur (*hardness*) kentang goreng pada penelitian pendahuluan

Keterangan: Notasi huruf *superscript* yang berbeda pada diagram batang menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)

Hasil analisis tekstur pada kentang goreng yang dilapisi dengan formulasi adonan pelapis yang digunakan berbeda signifikan (Gambar 5). Nilai *hardness* meningkat seiring meningkatnya konsentrasi pati tinggi amilosa pada adonan pelapis yang

digunakan (Formulasi 3). Pati tinggi amilosa mampu membentuk lapisan film yang kuat pada produk yang dilapisi. Hal tersebut dikarenakan pati tinggi amilosa mampu meningkatkan interaksi antar polisakarida. Semakin tingginya konsentrasi pati tinggi amilosa pada adonan pelapis, nilai *hardness* pada produk gorengan juga semakin tinggi (Karlovic *et al.*, 2009).

Warna pada Kentang Goreng

Nilai L^* (*lightness*) yang tinggi pada kentang goreng dapat berhubungan dengan *moisture loss* dari produk. Meningkatnya nilai L^* pada kentang goreng dapat disebabkan oleh *moisture loss* yang juga tinggi pada produk. Hal tersebut dapat disebabkan oleh terjadinya reaksi Maillard pada produk gorengan. Pada penelitian ini, perlakuan *battering + dry coating* dan menggunakan formulasi 3 menunjukkan *moisture loss* yang paling tinggi dan diperoleh juga nilai L^* (*lightness*) yang tinggi pada perlakuan tersebut (Manjunatha, 2012).

Nilai a^* (*redness*) pada produk gorengan dapat dipengaruhi oleh *moisture loss* dari produk gorengan. Tingginya nilai a^* dapat disebabkan oleh *moisture loss* yang juga tinggi, namun hal ini tidak terbukti pada penelitian ini.

Hal ini dapat disebabkan oleh terdapat perbedaan kandungan gula pereduksi dari bahan yang digunakan. Kandungan gula pereduksi merupakan faktor penting dalam terjadinya proses Maillard (Sobukola *et al.*, 2008).

Nilai b^* (*yellowness*) pada produk gorengan dapat dipengaruhi oleh kondisi penggorengan. Kondisi penggorengan

pada tekanan atmosfer menunjukkan nilai b^* yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan produk yang digoreng pada kondisi vakum (Garayo dan Moreira, 2002). Hal ini sesuai dengan yang diperoleh pada penelitian ini bahwa nilai b^* yang dihasilkan cukup tinggi (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil uji warna pada kentang goreng

Formula	L*		a*		b*	
	Battering	Battering + dry coating	Battering	Battering + dry coating	Battering	Battering + dry coating
1	51,31±0,26 ^c	48,61±0,22 ^b	-3,19±0,16 ^a	-1,72±0,03 ^b	25,45±0,10 ^d	24,00±0,12 ^b
2	44,34±0,53 ^a	51,58±0,43 ^c	-3,27±0,36 ^a	-1,49±0,07 ^b	23,38±0,18 ^a	24,57±0,23 ^c
3	56,74±0,22 ^d	47,71±0,44 ^b	-0,88±0,04 ^c	-1,41±0,16 ^b	25,56±0,17 ^d	27,21±0,24 ^e

Keterangan: Notasi huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata ($p<0,05$)

Penelitian Utama

Penelitian Utama Tahap I

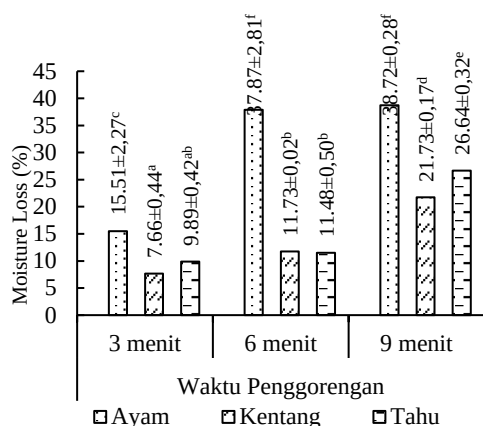
Penelitian utama tahap I berdasarkan hasil penelitian pendahuluan yaitu penyerapan minyak dari beberapa jenis produk gorengan (ayam, kentang dan tahu).

Moisture Loss pada Produk Gorengan

Hasil analisis *moisture loss* produk gorengan yang dilakukan pada penelitian utama dapat dilihat pada Gambar 6. Berdasarkan uji statistik menggunakan ANOVA, terdapat interaksi yang signifikan ($p<0,05$) antara perlakuan dengan waktu penggorengan yang berbeda dengan bahan baku dengan

kadar air yang berbeda terhadap *moisture loss* pada produk gorengan.

Moisture loss pada produk gorengan dapat dipengaruhi oleh beberapa hal. Kadar air dari bahan yang digoreng dapat mempengaruhi *moisture loss* yang terjadi pada produk gorengan. Semakin tinggi kandungan air yang terdapat pada bahan baku yang digoreng, maka akan semakin tinggi juga *moisture loss* dari produk yang digoreng. *Moisture loss* terjadi saat proses penggorengan terjadi, air yang terdapat pada bahan akan menguap dan akan digantikan oleh minyak yang diserap ke dalam bahan (Fan *et al.*, 2005).



Gambar 6. *Moisture loss* pada beberapa produk gorengan

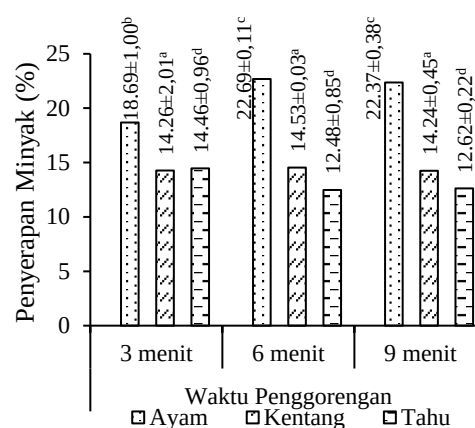
Keterangan: Notasi huruf *superscript* yang berbeda pada diagram batang menunjukkan beda nyata ($p<0,05$)

Moisture loss juga meningkat seiring semakin lamanya waktu penggorengan. Pada Gambar 6 dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan *moisture loss* yang signifikan pada tahu yang digoreng dengan waktu penggorengan 6 menit dan 9 menit. Terdapat hubungan antara *moisture loss* dan waktu penggorengan dari bahan. Semakin lama waktu penggorengan, maka *moisture loss* akan semakin tinggi. Hal ini disebabkan oleh air yang terdapat pada bahan akan menguap lebih banyak seiring lamanya waktu penggorengan (Kassama & Ngadi, 2016).

Penyerapan Minyak pada Produk Gorengan

Hasil analisis penyerapan minyak produk gorengan yang dilakukan pada penelitian utama dapat dilihat pada Gambar 7. Berdasarkan uji statistik

menggunakan ANOVA, terdapat interaksi yang signifikan ($p<0,05$) antara perlakuan dengan waktu penggorengan yang berbeda dengan bahan baku dengan kadar air yang berbeda terhadap penyerapan minyak pada produk gorengan.



Gambar 7. Penyerapan minyak pada beberapa produk gorengan

Keterangan: Notasi huruf *superscript* yang berbeda pada diagram batang menunjukkan beda nyata ($p<0,05$)

Perbedaan karakteristik bahan baku yang digoreng mempengaruhi penyerapan minyak pada produk gorengan (Bouchon, 2009). Penyerapan minyak pada produk gorengan juga dapat dipengaruhi oleh kadar air dari bahan baku yang digoreng. Hal ini berhubungan dengan semakin banyaknya air yang keluar dari bahan saat bahan digoreng, sehingga menyebabkan minyak yang terserap ke dalam bahan semakin tinggi (Saguy *et al.*, 1998). Penyerapan minyak juga meningkat seiring semakin lamanya

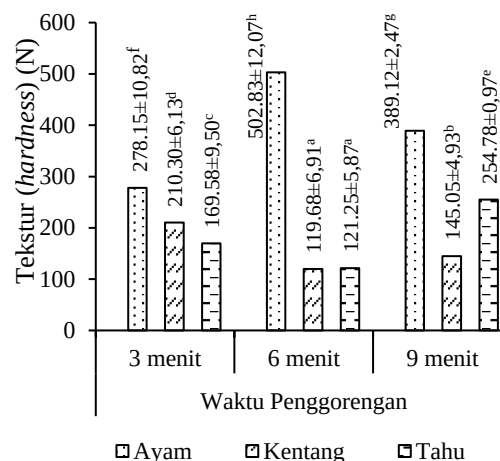
waktu penggorengan. Hal ini terjadi pada bahan baku dengan kadar air paling rendah yaitu *fillet* dada ayam. Terjadi peningkatan penyerapan minyak yang signifikan pada ayam goreng dengan waktu penggorengan yang berbeda. Semakin lamanya waktu penggorengan, penyerapan minyak ayam goreng semakin meningkat (Bouchon, 2009; Pinthus *et al.*, 1995).

Tekstur pada Produk Gorengan

Tekstur dari produk gorengan dapat dipengaruhi oleh *moisture loss* dari produk. Semakin tingginya *moisture loss* pada produk gorengan akan menyebabkan semakin renyahnya produk saat digoreng.

Kerenyahan produk meningkat seiring menurunnya nilai *hardness* dari produk yang digoreng tersebut. Waktu penggorengan mempengaruhi kerenyahan dari produk yang digoreng. Semakin lamanya waktu penggorengan, maka produk yang digoreng akan semakin renyah. Tekstur pada kentang goreng dengan waktu penggorengan 3 menit memiliki nilai *hardness* yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan produk gorengan dengan waktu penggorengan 6 menit dan 9 menit (Gambar 8). Hal ini dapat disebabkan produk yang kurang matang

pada waktu penggorengan 3 menit sehingga menghasilkan nilai *hardness* yang tinggi (Sanz *et al.*, 2007; Miranda & Aguilera, 2007).



Gambar 8. Tekstur (*hardness*) produk gorengan pada penelitian utama

Keterangan: Notasi huruf *superscript* yang berbeda pada diagram batang menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)

Uji Warna pada Produk Gorengan

Perubahan warna dapat terjadi akibat reaksi Maillard yang terjadi pada produk yang digoreng. Waktu penggorengan mempengaruhi karakteristik warna pada produk gorengan. Semakin lama waktu penggorengan maka masing-masing nilai L^* dan a^* dari produk gorengan akan meningkat (Manjunatha *et al.*, 2012). Pada penelitian ini tidak terdapat peningkatan nilai L^* maupun a^* seiring semakin lamanya waktu penggorengan (Tabel 4, Tabel 5, Tabel 6). Hal ini dapat disebabkan oleh waktu penggorengan yang digunakan tidak memberikan

pengaruh secara signifikan terhadap karakteristik warna dari produk gorengan. Penggunaan jenis bahan dengan kadar air yang berbeda memberikan perubahan warna yang juga

berbeda pada masing-masing perlakuan. Hal tersebut disebabkan oleh kadar air merupakan faktor yang penting dalam terjadinya reaksi Maillard (Brannan *et al.*, 2014; Zeng *et al.*, 2016).

Tabel 4. Nilai L* produk gorengan pada penelitian utama

Waktu penggorengan	L*		
	<i>Fillet</i> dada ayam	Kentang	Tahu putih
3 menit	73,57±2,27 ^f	52,68±2,76 ^{ab}	65,63±1,02 ^e
6 menit	60,89±1,97 ^d	52,16±1,46 ^{ab}	59,95±1,20 ^d
9 menit	50,40±1,99 ^a	57,49±0,13 ^{cd}	55,18±1,50 ^{bc}

Keterangan: Notasi huruf *superscript* yang berbeda pada tabel menunjukkan beda nyata (p<0,05)

Tabel 5. Nilai a* produk gorengan pada penelitian utama

Waktu penggorengan	a*		
	<i>Fillet</i> dada ayam	Kentang	Tahu putih
3 menit	1,52±0,17 ^d	-6,01±0,17 ^a	1,68±0,09 ^d
6 menit	6,25±0,34 ^f	-3,19±0,16 ^c	7,32±0,17 ^g
9 menit	10,49±0,03 ^h	-4,44±0,03 ^b	4,92±0,14 ^e

Keterangan: Notasi huruf *superscript* yang berbeda pada tabel menunjukkan beda nyata (p<0,05)

Tabel 6. Nilai b* produk gorengan pada penelitian utama

Waktu penggorengan	b*		
	<i>Fillet</i> dada ayam	Kentang	Tahu putih
3 menit	21,29±1,38 ^b	15,14±1,01 ^a	31,33±1,30 ^{de}
6 menit	32,92±0,±01 ^e	25,45±0,10 ^c	38,89±0,24 ^f
9 menit	30,27±0,00 ^d	26,57±0,43 ^c	32,61±0,31 ^e

Keterangan: Notasi huruf *superscript* yang berbeda pada tabel menunjukkan beda nyata (p<0,05)

Tabel 7. Uji organoleptik pada produk gorengan

Jenis Bahan	Penampakan berminyak	Kerenyahan	Hedonik keseluruhan
<i>Fillet</i> dada ayam goreng	2,50±0,68 ^a	3,00±0,72 ^b	4,55±0,50 ^a
Kentang goreng	2,50±0,78 ^a	2,70±0,79 ^{ab}	4,75±0,63 ^a
Tahu putih goreng	2,53±0,78 ^a	2,40±0,98 ^a	4,35±0,66 ^a

Keterangan: Notasi huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata (p<0,05)

Uji Organoleptik pada Produk Gorengan

Penampakan berminyak pada masing-masing sampel tidak berbeda signifikan. Hal ini dapat disebabkan oleh

kemampuan pati tinggi amilosa dan HPMC dalam membentuk lapisan gel. Lapisan gel yang terbentuk selama proses penggorengan berlangsung, mampu menahan masuknya minyak ke

dalam bahan (Dana & Saguy, 2006; Primo Martin *et al.*, 2010).

Kerenyahan merupakan salah satu parameter penting dalam produk gorengan. Semakin renyah produk, maka semakin produk gorengan tersebut disukai. Hasil uji sensori kerenyahan, diperoleh nilai kerenyahan pada sampel masih rendah (Tabel 7). Hal ini dapat disebabkan oleh nilai viskositas dari adonan pelapis yang melapisi bahan masih rendah. Rendahnya kekentalan dari adonan pelapis dapat mempengaruhi hasil akhir dari kerenyahan produk (Ballard, 2003). Nilai hedonik tidak berbeda signifikan antar sampel. Hal ini disebabkan, mayoritas masyarakat menyukai produk gorengan (Dana & Saguy, 2006).

Penelitian Utama Tahap II

Penelitian utama tahap II merupakan tahap lanjutan dari Penelitian Utama Tahap I. Pada masing-masing jenis sampel tidak terdapat interaksi antara waktu penggorengan dan penambahan HPMC dan pati tinggi amilosa ($p < 0,05$).

Penambahan HPMC dan pati tinggi amilosa pada masing-masing jenis sampel memberikan pengaruh nyata terhadap penyerapan minyak. Tingkat penyerapan minyak pada bahan yang

digoreng dengan perlakuan penambahan HPMC dan pati tinggi amilosa pada adonan pelapis memiliki nilai penyerapan minyak yang lebih rendah.

Penyerapan minyak pada ayam goreng dengan adonan yang ditambahkan pati tinggi amilosa dan HPMC memiliki penurunan penyerapan minyak sebesar 12,12% jika dibandingkan dengan ayam goreng yang dilapisi adonan tanpa penambahan pati tinggi amilosa dan HPMC. Kadar lemak dari ayam goreng yang dilapisi oleh pati tinggi amilosa dan HPMC juga lebih rendah yaitu $10,68 \pm 1,86\%$ jika dibandingkan dengan ayam goreng tanpa pelapisan adonan yaitu 17,67% (Zahra *et al.*, 2013).

Penyerapan minyak pada kentang goreng dengan adonan yang ditambahkan pati tinggi amilosa dan HPMC memiliki penurunan penyerapan minyak sebesar 27,65% jika dibandingkan dengan kentang goreng yang dilapisi adonan tanpa penambahan pati tinggi amilosa dan HPMC. Kadar lemak dari kentang goreng yang dilapisi oleh pati tinggi amilosa dan HPMC juga lebih rendah yaitu $4,39 \pm 0,39\%$ jika dibandingkan dengan kentang goreng tanpa pelapisan adonan yaitu 11,02% (Parikh & Nelson, 2013).

Penyerapan minyak pada tahu putih goreng dengan adonan yang ditambahkan pati tinggi amilosa dan HPMC memiliki penurunan penyerapan minyak sebesar 16,31% jika dibandingkan dengan tahu putih goreng yang dilapisi adonan tanpa penambahan pati tinggi amilosa dan HPMC. Kadar lemak dari tahu putih goreng yang dilapisi oleh pati tinggi amilosa dan HPMC lebih rendah yaitu $14,49 \pm 1,59\%$ jika dibandingkan dengan tahu putih goreng tanpa pelapisan adonan yaitu 15,65% (Sundari *et al.*, 2015).

Pati tinggi amilosa dan HPMC memiliki kemampuan untuk mengurangi penyerapan minyak pada produk gorengan. Selama proses penggorengan, amilosa membentuk lapisan film yang dapat mengurangi penyerapan minyak pada bahan yang digoreng (Lusas dan Rooney, 2001). Selama proses penggorengan berlangsung, HPMC yang terdapat pada adonan pelapis yang melapisi bahan akan membentuk lapisan film yang mampu mengurangi penyerapan minyak pada bahan (Holownia *et al.*, 2000).

KESIMPULAN

Formulasi adonan pelapis yang terbaik adalah formulasi 1 yang

mengandung pati tinggi amilosa sebesar 20% dan metode pelapisan bahan *battering*. Kentang goreng yang dilapisi adonan formulasi 1 dengan metode *battering* memiliki nilai penyerapan minyak paling kecil karena amilosa menurunkan penyerapan minyak dengan membentuk lapisan film dalam menahan minyak. Penyerapan minyak dipengaruhi oleh viskositas adonan pelapis yang melapisi produk gorengan. Semakin tinggi viskositas dari adonan pelapis maka semakin tinggi juga penyerapan minyak.

Penyerapan minyak pada penelitian utama dipengaruhi oleh jenis bahan dan waktu penggorengan. Penyerapan minyak meningkat seiring lamanya waktu penggorengan pada bahan baku dengan kadar air yang paling rendah yaitu *fillet* dada ayam. Penambahan HPMC dan pati tinggi amilosa pada adonan pelapis mampu menurunkan penyerapan minyak pada produk gorengan. Dengan demikian, penambahan HPMC dan pati tinggi amilosa terbukti dapat diaplikasikan pada produk gorengan dengan kadar air bahan baku yang berbeda. Penurunan penyerapan minyak yang paling tinggi adalah pada bahan baku kentang yaitu sebesar 27,65%.

DAFTAR PUSTAKA

- Altunakar, B., Sahin S., & Summu S. (2005). Functionality of batters containing different starch types for deep-fat frying of chicken nuggets. *European Food Research and Technology*, 218, 318–322. <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0854-5>
- Ballard, T. (2003). *Application of edible coatings in maintaining crispness of breaded fried foods* [Master's Thesis]. Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Bouchon, P., Aguilera, J. M., & Pyle, D. L. (2003). Structure oil absorption relationships during deep-fat frying. *Journal of Food Science*, 68, 2711-2716. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb05793.x>
- Brannan, R. G., Myers A. S., & Herrick C. S. (2013). Reduction of fat content during frying using dried egg white and fiber solutions. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(8), 946-955. <https://doi.org/10.3390/foods11213369>
- Brannan, R. G., Mah E., Schott M., Yuan S., Casher K. L., Myers A., & Herrick C. (2014). Influence of ingredients that reduce oil absorption during immersion frying of battered and breaded foods. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116, 240-254. <https://doi.org/10.1002/lite.201500022>
- Dana, D., & Saguy S. I. (2006). Review: Mechanism of oil uptake during deep-fat frying and the surfactant effect-theory and myth. *Advances in Colloid and Interface Science*, 128-130, 267-272. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2006.11.013>
- Fan, L., Zhang, M., Xiao, G., Sun, J., & Tao, Q. (2005). The optimization of vacuum frying to dehydrated carrot chips. *International Journal of Food Science and Technology*, 40, 911-919. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.00985.x>
- Han, J. A., Lee M. J., & Lim S. T. (2007). Utilization of oxidized and cross-linked corn starches in wheat flour batter. *Cereal Chemistry*, 84(6), 582-586. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-84-6-0582>
- Holownia, K. I., Chinnan, M. S., Erickson M. C., & Mallikarjunan, P. (2000). Quality evaluation of edible film-coated chicken strips and frying oils. *Journal of Food Science*, 65, 1087-1090. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb09423.x>
- Jamshidi, A., & Shabanpour, B. (2013). The effect of hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) gum added to predest and batters of Talang queenfish (*Scomberoides commersonianus*) nuggets on the quality and shelf life during frozen storage (-18°C). *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 5(4), 382-391. <https://doi.org/10.5829/idosi.wjfm.2013.05.04.7361>
- Kassama, L. S., & Ngadi M. (2016). Relationship between oil uptake and moisture loss during deep fat frying of deboned chicken breast meat. *Advances in Chemical Engineering and Science*, 6, 324-334. <https://doi.org/10.4236/aces.2016.64033>

- Manjunatha, S. S., Ravi N., Negi P. S., Raju P. S., & Bawa A. S. (2012). Kinetics of moisture loss and oil uptake during deep fat frying of Gethi (*Dioscorea ka-moonensis* Kunth) strips. *Journal of Food Science and Technology*, 51(11), 3061-3071. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0841-6>
- Miranda, M. L., & Aguilera J. M. (2007). Structure and texture properties of fried potato products. *Food Reviews International*, 22(2), 173-201. <https://doi.org/10.1080/87559120600574584>
- Norizzah, A. R., Junaida A. R., & Maryam 'Afifah, A. L. (2016). Effects of repeated frying and hydrocolloids on the oil absorption and acceptability of banana (*Musa acuminata*) fritters. *International Food Research Journal*, 23(2), 694-699.
- Parikh, A. A., & Nelson D. C. (2013). Fat absorption in commercial french fries depending on oil type and coating. *Hospitality Review*, 30(2), 1-13.
- Pinthus, E. J., Weinberg P., & Saguy I. S. (1995). Oil uptake in deep-fat frying as affected by porosity. *Journal of Food Science*, 60(4), 767-769. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb06224.x>
- Primo-Martin, C., Sanz, T., Steringa, D. W., Salvador, A., Fisman S. M., & van Vliet T. (2010). Performance of cellulose derivatives in deep-fried battered snacks: Oilbarrier and crispy properties. *Food Hydrocolloids*, 24(8), 702-708. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.04.013>
- Romero-Bastida, C. A., Gutierrez M. G., Bello-Perez L. A., Abarca-Ramirez E., Velzquez G., & Mendez-Montevalvo G. (2018). Rheological properties of nanocomposite-forming solutions and film based on montmorillonite and corn starch with different amylose content. *Carbohydrates Polymers*, 188, 121-127. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.01.089>
- Saha, D., & Bhattacharya S. (2010). Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: A critical review. *Journal of Food Science Technology*, 47(6), 587-597. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0162-6>
- Sakhale, B. K., Badgujar, J. B., Pawar, V. D., & Sananse S. L. (2011). Effect of hydrocolloids incorporation in casing of samosa on reduction of oil uptake. *Journal of Food Science and Technology*, 48, 769-772. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0333-0>
- Sanz, T., Primo-Martin C., & van Vliet T. (2007). Characterization of crispness of french fries by fracture and acoustic measure-ments, effects of pre-frying and final frying times. *Food Research International*, 40(1), 63-70. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.07.013>
- Sundari, D., Almahsyuri, & Lamid A. (2015). Pengaruh proses pemasakan terhadap komposisi zat gizi bahan pangan sumber protein. *Media Litbangkes*, 25(4), 235-242. <https://doi.org/10.22435/mpk.v25i4.4590.235-242>

- Vongsawasdi, P., Nopharatana M., Srisuwatchree W., Pasuk-charoenying S., & Wongkitcharoen N. (2008). Using modified starch to decrease the oil absorption in fried battered chicken. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 1(03), 174-183.
- Xie, F., Yu L., Su B., Liu P., Wang J., Liu H., & Chen L. (2009). Rheological properties of starches with different amylose/amylopectin ratios. *Journal of Cereal Science*, 49, 371-377.
<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2009.01.002>
- Zahra, S. L., Dwiloka B., & Mulyani S. (2013). Pengaruh penggunaan minyak goreng berulang terhadap perubahan nilai gizi dan mutu hedonik pada ayam goreng. *Animal Agriculture Journal*, 2(1), 253-260.
- Zeng, H., Chen J., Zhai J., Wang H., Xia W., & Xiong Y. L. (2016). Reduction of the fat content of battered and breaded fish balls during deep-fat frying using fermented bamboo shoot dietary fiber. *LWT*, 73, 425-431.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.052>
- Ziaiifar, A. M., Achir N., Courtois F., Trezzani I., & Trystram G. (2008). Review of mechanisms, conditions, and factors involved in the oil uptake phenomenon during the deep-fat frying process. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(8), 1410-1423.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01664.x>

EVALUASI FORMULA GEL KOMBINASI BUAH LIDAH BUAYA (*Aloe Vera* Burm.f) DAN BUAH LABU KUNING (*Cucurbita moschata* Durch) SEBAGAI PELEMBAP KULIT

[EVALUATION OF GEL FORMULA COMBINATIONS OF ALOE VERA (*Aloe Vera* Burm.f) AND YELLOW PUMPKIN (*Cucurbita moschata* Durch) AS A SKIN MOISTURIZER]

Sherly Angelina Santoso¹, Nurista Dida Ayuningtyas^{2*}

¹Program Studi DIII Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Nusaputera,
Jl. Medoho III No.2, Semarang, Jawa Tengah;

²Program Studi Sarjana Farmasi, Universitas Pelita Harapan,
Jl. M.H.Thamrin Boulevard No. 1100, Tangerang, Banten, Indonesia

*Korespondensi penulis: nurista.ayuningtyas@uph.edu

ABSTRACT

Skin moisturizers are popular in the form of gel products. Natural ingredients that can be used to moisturize the skin are aloe vera and pumpkin, because they contain β -carotene which has strong antioxidant activity and flavonoids that can bond the water content in the stratum corneum. The combination of HPMC and carbopol 940 in the formulation of gel preparations is used as a gelling agent. The purpose of this study was to determine the effect of variations in the concentration of aloe vera and pumpkin on the physical characteristics of gel preparations and effectiveness in moisturizing the skin. The research steps of the extract were made by maceration method. Moisturizing gel was produced with LB:LK ratio in F1, F2, and F3 respectively (10:10), (12.5:7.5) and (15:5) and F0 as negative without extract. The evaluation included organoleptic test, adhesion, spreadability, pH, viscosity, and testing the effectiveness of the preparation in moisturizing the skin on respondents measured using Skin Moisture Oil Content Analyzer CR-302 Data analysis using one-way ANOVA. The results of the physical evaluation of the gel product organoleptically F0 is transparent, F1-3 is yellow to brownish, semi-solid, and has a distinctive smell of extracts. Analysis of spreadability, adhesion, pH, and viscosity tests showed significant differences between formulas. Formula 3 with LB:LK (15%:5%) ratio produced a moisture value of 51-62% on day 14 which was higher than the other formulas.

Keywords: aloe vera; gel; moisture; pumpkin

ABSTRAK

Pelembab kulit yang digemari oleh masyarakat umumnya dalam bentuk sediaan gel. Bahan alam yang dapat digunakan untuk melembapkan kulit yaitu lidah buaya (LB) dan labu kuning (LK), karena kandungan β -karoten yang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan flavonoid yang dapat mengikat kandungan air pada *stratum korneum*. Kombinasi HPMC dan karbopol 940 dalam formulasi sediaan gel digunakan sebagai *gelling agent*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi lidah buaya dan labu kuning terhadap karakteristik fisik sediaan gel dan efektivitas dalam melembapkan kulit. Tahapan penelitian ekstrak dibuat dengan metode maserasi. Sediaan gel pelembab dibuat dengan perbandingan LB:LK pada F1, F2, dan F3 secara berturut-turut (10:10), (12,5:7,5) dan (15:5) serta F0 sebagai kontrol negatif tanpa ekstrak. Evaluasi yang dilakukan meliputi uji organoleptis, daya lekat, daya sebar, pH, viskositas, dan pengujian efektivitas sediaan dalam melembapkan kulit pada responden yang diukur menggunakan *Skin Moisture Oil Content Analyzer CR-302*. Analisis data dilakukan menggunakan *one-way ANOVA*. Hasil evaluasi fisik sediaan gel secara

organoleptis F0 transparan, F1-3 berwarna kuning sampai kecoklatan, berbentuk setengah padat, dan berbau khas ekstrak. Analisis uji daya sebar, daya lekat, pH, dan viskositas menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar formula. Formula 3 dengan perbandingan LB:LK (15%:5%) menghasilkan nilai kelembapan 51-62% pada hari ke 14 yang lebih tinggi dibandingkan formula lainnya.

Kata kunci: gel; kelembapan; lidah buaya; labu kuning

PENDAHULUAN

Kulit berperan penting dalam regulasi keseimbangan homeostatis temperatur, komposisi air dan elektrolit dalam tubuh. Lapisan kulit terdiri dari *stratum corneum*, dermis, dan endodermis. Lapisan *stratum corneum* berperan sangat penting untuk menjaga keseimbangan homeostatis antara tingkat hidrasi dan lapisan lipid di atasnya sehingga kulit dapat dalam kondisi sehat (Goh *et al.*, 2019). Kerusakan kulit salah satunya yaitu kulit kering yang disebabkan kurangnya produksi minyak dari kelenjar *sebaceous*. Oleh karena itu, sangat penting menjaga keseimbangan minyak dan kelembapan kulit (Meilinda & Astuti, 2023).

Pemanfaatan pelembap alami yang berasal dari alam dapat digunakan untuk meningkatkan kelembapan kulit dan akan lebih aman dari produk sintetis karena efek samping yang kecil (Wijayadi & Kelvin, 2022). Bahan alam yang dapat dikembangkan sebagai kosmetika adalah lidah buaya (*Aloe vera* L.) yang dapat menghidrasi kulit dari sinar UV dan radiasi gamma. Lidah buaya mengandung polimer

manosa dengan berbagai gula termasuk glukosa. Lidah buaya juga memiliki kandungan lignin yang terdapat pada lendirnya dan berpotensi memberikan efek kulit tidak cepat kering (Aryantini *et al.*, 2020). Penggunaan lidah buaya berdasarkan penelitian didapatkan pada konsentrasi 6-15% dapat efektif untuk kelembapan kulit (Ardini & Sumardilah, 2021).

Labu kuning memiliki aktifitas sebagai antioksidan karena mengandung senyawa flavonoid, hal ini dapat dimanfaatkan untuk memperbaiki kerusakan pada kulit yang kering (Sunnah *et al.*, 2019). Buah labu kuning pada konsentrasi 2,5-10% telah dibuktikan efektif untuk mengurangi penguapan air pada kulit (Leny *et al.*, 2021)

Sediaan yang digemari masyarakat sebagai pelembap kulit adalah bentuk gel. Gel merupakan bentuk sediaan semipadat yang terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikel organik kecil atau molekul organik besar yang berpenetrasi oleh suatu cairan. Sediaan gel banyak dipilih sebagai pelembap kulit karena memiliki penyebaran

yang baik pada kulit, memberikan efek dingin saat digunakan akibat lambatnya penguapan air pada kulit, serta kadar air yang tinggi pada sediaan gel dapat menghidrasi permukaan kulit atas (Siva & Afriadi, 2018).

Berdasarkan latar belakang tersebut pada penelitian ini dilakukan pembuatan sediaan gel dengan bahan aktif lidah buaya dan labu kuning yang berfungsi untuk melembabkan kulit. Pengujian yang dilakukan yaitu uji sifat fisik sediaan meliputi organoleptis, uji daya sebar, uji daya lekat, pH, dan uji viskositas, serta kemampuan untuk melembabkan kulit.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan yaitu daging buah lidah buaya diperoleh di Tidar Campur, Kelurahan Tidar Selatan, dan labu kuning diperoleh di Kecamatan Getasan, Kabupaten Jawa Tengah. Akuadest, HPMC (*Brataco*), karbopol 940 (*Brataco*), Propilenglicol (*Brataco*), Gliserin (*Brataco*), TEA (*Brataco*), Na.Metabisulfit (*Brataco*), dan Alkohol 96% (*Merck*).

Alat yang digunakan yaitu timbangan analitik (*Ohaus*), pH meter (*Hanna*), Viskometer rion RT-04F, alat uji daya lekat, rotary evaporator (*Scilogex*), dan *Skin Moisture Oil Content Analyzer CR-302*.

Metode Penelitian

Preparasi Bahan Baku

Lidah buaya yang telah dipisahkan dari kulitnya disiapkan sebanyak 400 gram, dihaluskan sampai seperti bubur gel dan dilakukan maserasi dengan etanol 70% sebanyak 1500 mL. Maserasi sampel selama 24 jam kemudian disaring dan dipekatkan dengan rotary evaporator suhunya 60°C (Fatimah *et al.*, 2021). Labu kuning dipisahkan dari kulitnya dan dilakukan perajangan lalu dikeringkan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam hingga diperoleh kadar air <10%. Labu kuning yang telah kering kemudian di haluskan dan diayak kemudian 1000 gram dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% sampai terendam seluruhnya selama 24 jam, dilakukan penyaringan sebanyak 3 kali dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental (Hasanah & Novian, 2020). Ekstrak yang diperoleh kemudian dilakukan pengujian organoleptis yang meliputi bentuk, bau, warna, dan rasa dan rendemen ekstrak. Persentase rendemen ekstrak diperoleh dengan membandingkan bobot ekstrak yang diperoleh dengan bobot simplisia kering yang digunakan.

Formulasi Sediaan Gel Pelembap Kulit

Sediaan gel dibuat dengan variasi lidah buaya (LB) dan labu kuning (LK),

gelling agent HPMC dan karbopol 940, propilenglikol sebagai humektan, gliserin sebagai emolien, TEA untuk membantu proses pengembangan karbopol dalam suasana basa, pengawet Na. Metabisulfit, alkohol 70% dan akuadest sebagai *solvent* (Rowe *et al.*, 2009). Beberapa formula gel lidah buaya dan labu kuning dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Formula gel lidah buaya dan labu kuning

Bahan	Konsentrasi (%)			
	F0	F1	F2	F3
LB	-	10	12,5	15
LK	-	10	7,5	5
HPMC	3	3	3	3
Karbopol	1,5	1,5	1,5	1,5
Propilenglikol	10	10	10	10
Gliserin	10	10	10	10
TEA	0,4	0,4	0,4	0,4
Na. Metabisulfit	0,2	0,2	0,2	0,2
Alkohol 70%	10	10	10	10
Akuadest	sampai 100 %			

Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Gel

Evaluasi sifat fisik sediaan gel meliputi:

- Organoleptis yang diamati menggunakan panca indera secara visual meliputi bau, warna, dan bentuk (konsistensi). Pengamatan homogenitas juga dilakukan untuk melihat homogenitas penyebaran partikel.
- Uji Daya Sebar: Gel sebanyak 0,5 gram diletakkan diatas kaca lalu diletakkan kaca lain dan dibiarkan selama 1 menit. Tambahkan beban 50, 100, 150, 200, dan 250 gram dan diamkan selama 1 menit (Safriani *et al.*, 2017).

- Uji Daya Lekat: Gel sebanyak 0,5 gram diletakkan ke objek glass alat uji daya lekat dan diberi beban 500 gram selama 1 menit, kemudian ditarik tuas dengan beban 80 gram. Dicatat waktu hingga kedua gelas terlepas (Saryanti *et al.*, 2019).
- Uji pH: 0,5 gram sediaan gel dilarutkan dalam 5 mL akuadest, dan dilakukan pengujian pH menggunakan pH meter (Safriani *et al.*, 2017).
- Uji Viskositas: Pengujian dilakukan menggunakan Viscometer Rion VT-04F dengan menyiapkan sampel dalam *cup* hingga spindle terendam dan diatur kecepataannya pada 50 rpm (Saryanti *et al.*, 2019).

Uji Kelembapan Kulit

Uji dilakukan pada responden berjumlah 10 orang dengan kriteria usia 18-25 tahun, memiliki tekstur kulit yang kering, pecah-pecah dengan tingkatan ringan hingga sedang. Seluruh subjek diminta mengoleskan sediaan sebanyak ujing jari pada punggung tangan dilokasi berbeda untuk F0-F3. Nilai kelembapan kulit diukur dengan *Skin Moisture Oil Content Analyzer CR-302* pada hari ke-0 dan pada hari ke-14 (Ariani & Suharsanti, 2018).

Analisis Data

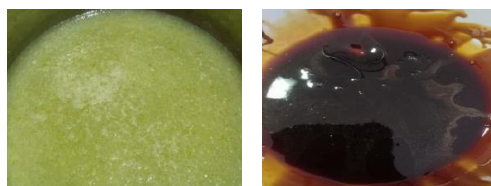
Analisis data dilakukan terhadap hasil uji sifat fisik sediaan seperti uji daya

sebar, daya lekat, pH dan viskositas. Uji dilakukan normalitas dan homogenitas. Jika data yang diperoleh normal homogen, maka dilanjutkan dengan uji *one-way ANOVA*. Jika data tidak normal atau tidak homogen maka dilakukan uji *Kruskal Wallis*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Bahan Baku

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Proses maserasi merupakan metode ekstraksi untuk mengambil senyawa aktif dengan pemanasan rendah atau tanpa adanya proses pemanasan (Chairunnisa *et al.*, 2019). Metode maserasi dipilih supaya senyawa aktif yang tertarik tidak rusak saat ekstraksi karena panas. Ekstrak lidah buaya dan ekstrak labu kuning yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 1.



(a) (b)

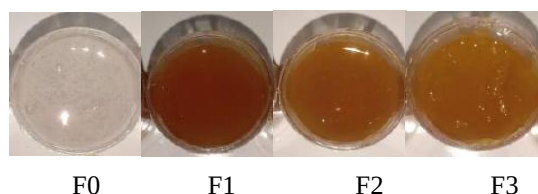
Gambar 1. (a) Ekstrak lidah buaya (LB);
(b) Ekstrak labu kuning (LK)

Hasil uji organoleptis untuk ekstrak LB berbau anyir, sedikit kental dan berlendir, berasa pahit dan berwarna hijau. Sedangkan ekstrak LB berbau manis, kental seperti gulali, berasa sedikit manis-pahit, dan berwarna kecoklatan gelap. Hasil rendemen ekstrak LB 54,10% dan LK

48,20%. Tingginya nilai rendemen mengindikasikan tingginya kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak. Rendemen yang diperoleh juga tinggi dikarenakan etanol dapat menarik senyawa-senyawa polar dalam ekstrak (Leny *et al.*, 2021)

Formulasi Sediaan Gel Pelembap Kulit

Proses formulasi dilakukan dengan mengembangkan *gelling agent* dengan TEA dan akuadest sampai terbentuk basis gel, ekstrak ditambahkan sesuai dengan komposisi pada formula dan ditambahkan eksipien lainnya (Gambar 2).



Gambar 2. Sediaan gel ekstrak lidah buaya dan labu kuning

Keterangan: F0 = LB:LK (0%:0%)
F1 = LB:LK (10%:10%)
F2 = LB:LK (12,5%:7,5%)
F3 = LB:LK (15%:5%)

Evaluasi Sifat Fisik Gel

Berikut adalah hasil evaluasi sifat fisik dari berbagai formula gel:

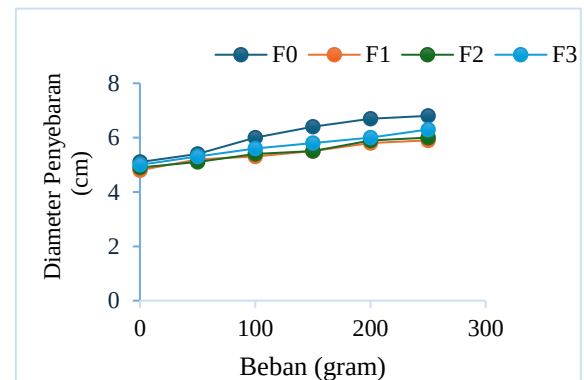
a) Organoleptis: F0 merupakan kontrol negatif atau hanya basis, sehingga secara organoleptis tidak berwarna, sedangkan F1-F3 berwarna kuning sampai kecoklatan. Hal ini disebabkan konsentrasi penambahan ekstrak labu kuning pada basis. Sediaan berbentuk setengah padat dan berbau khas ekstrak.

Sediaan yang diperoleh juga homogen yang terlihat bahwa partikel tidak menggumpal, terlihat bercampur dan tidak terdapat butiran kasar (Ariani & Suharsanti, 2018)

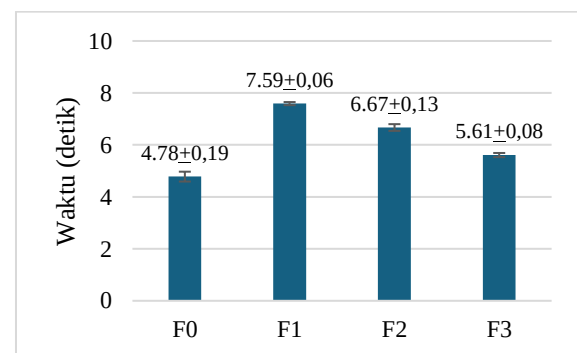
b) Uji Daya Sebar: pengujian ini digunakan untuk mengamati kemampuan sediaan menyebar ketika dioleskan pada kulit (Sani *et al.*, 2021). F0 menunjukkan penyebaran tertinggi, sedangkan F1 menunjukkan penyebaran terendah (Gambar 3), karena F0 hanya berisi basis tanpa ekstrak. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka sediaan yang terbentuk semakin kental. Hasil yang diperoleh memenuhi syarat daya sebar 5-7 cm (Ulaen *et al.*, 2012). Dari analisis data uji daya sebar menggunakan *Kruskal-Wallis* dengan beban 250 gram didapatkan *p-value* 0,025 (<0,05) sehingga dinyatakan perbedaan konsentrasi ekstrak berpengaruh signifikan terhadap daya sebar.

c) Uji Daya Lekat: Uji ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan sediaan melekat pada permukaan kulit. Semakin lama daya lekat sediaan maka semakin lama kontak dengan permukaan kulit dan memberikan efek pada kulit. Syarat dari pengujian daya lekat untuk sediaan topikal adalah tidak kurang dari 4 detik (Gambar 4), sehingga semua formula dinyatakan memenuhi persyaratan uji

daya lekat (Ulaen *et al.*, 2012). Hasil analisis *one-way ANOVA* menghasilkan *p-value* 0,000 (<0,05), yang mengindikasikan perbedaan konsentrasi ekstrak berpengaruh signifikan terhadap daya lekat.

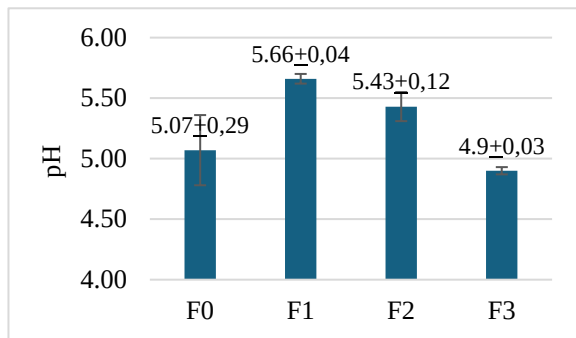


Gambar 3. Hasil uji daya sebar



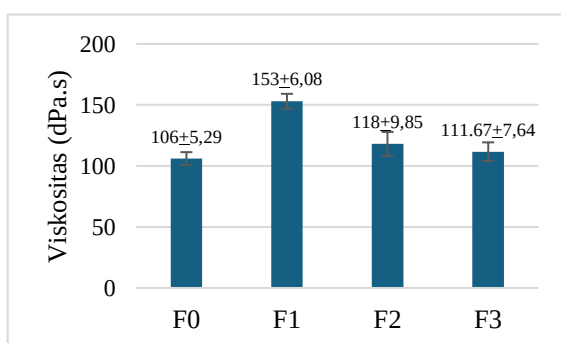
Gambar 4. Hasil uji daya lekat

d) Uji pH: Nilai pH dari sediaan topikal yang sesuai dengan pH fisiologi kulit akan memberikan kenyamanan pada saat digunakan. pH F3 dengan konsentrasi ekstrak LB paling tinggi mengakibatkan sediaan bersifat asam. Dari hasil analisis *one-way ANOVA* diperoleh *p-value* 0,000 (<0,05) sehingga dinyatakan perbedaan konsentrasi ekstrak berpengaruh signifikan terhadap pH sediaan (Gambar 5).



Gambar 5. Hasil uji pH

e) Uji Viskositas: Uji viskositas sediaan akan berpengaruh dengan uji daya sebar sediaan. Jika viskositas tinggi maka daya sebar sediaan akan rendah. Dari hasil analisis *one-way ANOVA* diperoleh *p-value* 0,02 ($< 0,05$) sehingga dinyatakan perbedaan konsentrasi ekstrak berpengaruh signifikan terhadap viskositas sediaan. Evaluasi sifat fisik sediaan dilakukan pada hari ke 0, perlu dilakukan pengujian stabilitas untuk melihat ketahanan fisik sediaan pada kurun waktu tertentu (Gambar 6).

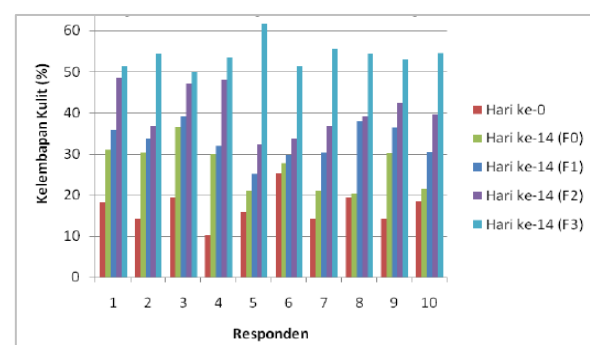


Gambar 6. Hasil uji viskositas

Uji Kelembapan Kulit

Uji kelembapan kulit dilakukan pada 10 responden pada hari ke 0 dan ke 14. Berdasarkan hasil uji kelembapan, F3 memiliki kelembapan paling tinggi karena

mengandung ekstrak lidah buaya dengan konsentrasi yang tinggi (Gambar 7). Kandungan lignin yang terdapat pada lender lidah buaya memiliki potensi besar dalam penyerapan ke kulit sehingga memudahkan peresapan kandungan air dan menahan hilangnya cairan dari permukaan kulit (Ariani & Suharsanti, 2018). Pada uji kelembapan, responden tidak mengalami iritasi, tetapi perlu dilakukan uji lanjutan untuk melihat apakah sediaan mengakibatkan iritasi pada kulit.



Gambar 7. Hasil uji kelembapan kulit

KESIMPULAN

Sediaan gel pelembap kulit dengan variasi konsentrasi lidah buaya dan labu kuning berpengaruh terhadap uji sifat fisik sediaan meliputi organileptis, daya sebar, daya lekat, pH, dan viskositas. Sediaan gel pelembap kulit dengan F3 LB:LK (15%:5%) memberikan kelembapan kulit yang paling tinggi.

SARAN

Perlu dilakukan pengujian stabilitas sediaan dan iritasi untuk menghasilkan sediaan aman dan bermutu.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada tim peneliti dan Laboratorium Teknologi Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Nusaputera, Semarang sebagai tempat dilakukan kegiatan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardini, D., & Sumardilah, D. S. (2021). Efek *lip balm* ekstrak lidah buaya (*Aloe vera*) sebagai pelembab bibir. *Jurnal Kesehatan Metro Sai Wawai*, 14(1), 10–18. <http://dx.doi.org/10.26630/jkm.v13i1.2677>
- Ariani, L. W., & Suharsanti, R. (2018). Pelembab alami sediaan *shooting gel* kombinasi lidah buaya dan buah rambutan. *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 3(1), 50-54.
- Aryantini, D., Agustina, L., Kristianingsih, I., Kurniawati, E., & Khawarizmy, I. (2020). Formulasi dan karakteristik fisik *soothing gel* kombinasi lidah buaya dan buah naga. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(1), 1-9. <https://doi.org/10.31596/cjp.v4i1.51>
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). Pengaruh suhu dan waktu maserasi terhadap karakteristik ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai sumber saponin. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroundustri*, 7(4), 551-560. <https://doi.org/10.24843/JRMA.2019.v07.i04.p07>
- Fatimah, S., Prasetyaningsih, Y., & Baru, H. Y. (2021). Uji efektivitas ekstrak gel lidah buaya (*Aloe vera*) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*. *Forte Journal*, 1(2), 25–32. <https://doi.org/10.51771/fj.v1i2.120>
- Goh, J. X. H., Tan, L. T., Yew, H. C., Pusparajah, P., Lingham, P., Long, C. M., Lee, L., & Goh, B. (2019). Hydration effects of moisturizing gel on normal skin: A pilot study. *Progress in Drug Discovery & Biomedical Science*, 2(1), 1-6. <http://dx.doi.org/10.36877/pddbs.a0000023>
- Hasanah, N., & Novian, D. R. (2020). Analisis ekstrak etanol buah labu kuning (*Cucurbita moschata* D.). *Parapemikir: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 9(1), 54-59. <https://doi.org/10.30591/pjif.v9i1.1758>
- Leny, Ginting, I., Sitohang, T. N., Hanum, S. F., Hafiz, I., & Iskandar, B. (2021). Formulasi dan uji efektivitas sediaan *body scrub* labu kuning (*Curcubita moschata*). *Majalah Farmasetika*, 6(4), 375-385. <https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v6i4.35776>
- Meilinda, F. R., & Astuti, M. (2023). The effect of using a traditional mask of Moringa leaves for dry facial skin care. *International Journal of Natural Science and Engineering*, 7(1), 40–48. <https://doi.org/10.23887/ijnse.v7i1.58199>
- Rowe, R. C. Sheskey, P. J., & Quinn, M. E. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipient* (6th ed.). Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association.
- Safriani, R., Sugihartini, N., & Yuliani, S. (2017). Physical characteristic and irritation index of *Syzigium aromaticum* essential oil in O/W and

- W/O creams. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 259(1), 012005. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/259/1/012005>
- Sani, L. M. M., Subaidah, W. A., & Andayani, Y. (2021). Formulasi dan evaluasi karakteristik fisik sediaan gel ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*). *Sasambo Journal of Pharmacy*, 2(1), 1–6. <https://doi.org/10.29303/sjp.v2i1.57>
- Saryanti, D., Nugraheni, D., Astuti, N. S., Pertiwi, N. I. (2019). Optimasi karbopol dan HPMC dalam formulasi gel antijerawat nanopartikel ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn). *Jurnal Ilmiah Manuntung Sains Farmasi dan Kesehatan*, 5(2), 192-199. <https://doi.org/10.51352/jim.v5i2.293>
- Siva, J., & Afriadi (2018). Formulasi gel dari sari buah strawberry (*Fragaria X Ananassa Duchesne*) sebagai pelembab alami, *Jurnal Dunia Farmasi*, 3(1), 9-15. <https://doi.org/10.33085/jdf.v3i1.4416>
- Sunnah, I., Erwiyani, A. R., Pratama, N. M., & Yunisa, K. O. (2019). Efektivitas komposisi polivinyl alkohol, propilenglikol dan karbomer terhadap optimasi masker gel *peel-off* nano ekstrak daging buah labu kuning (*Cucurbita maxima* D). *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 4(2), 82-94. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v4i2.34399>
- Ulaen, S. P. J., Banne, Y., & Suatan, R. A. (2012). Pembuatan salep anti jerawat dari ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(2), 45-49.
- Wijayadi, L. J., & Kelvin. (2022). The role of essential oils on improving elderly skin hydration. *Science Midwifery*, 10(4), 3104-3111. <https://doi.org/10.35335/midwifery.v10i4.769>

PENGARUH pH DAN SUHU TERHADAP KEMAMPUAN ENZIM BROMELIN UNTUK MENGGUMPALKAN SUSU

[THE EFFECT OF pH AND TEMPERATURE ON THE ABILITY OF BROMELIN ENZYME TO COAGULATE MILK]

Nurul Af'idah^{1*}, Sitti Nur Ilmiah²

^{1,2}Program Studi Biologi, Universitas Billfath, Lamongan, Indonesia

*Korespondensi penulis: nurulafidah59@gmail.com

ABSTRACT

Pineapple (*Ananas comosus* L.) is a fruit belonging to the Bromeliaceae family. The pineapple plant (*Ananas comosus* L.) contains bromelin enzyme which can be used as a substitute for the enzyme renin (rennet) as a milk coagulant agent. This research aims to determine the effect of pH and temperature on the speed of the bromelin enzyme's ability to coagulate milk, as well as determine the best pH and temperature on the speed of the bromeline enzyme's ability to coagulate milk. This research uses a factorial with a Completely Randomized Design (RAL-F) pattern consisting of 2 factors, the first factor is pH (K), K1 = pH 6 (acid)/ test tube; K2 = pH 7 (neutral)/ test tube; K3 = pH 8 (alkaline)/ test tube. Furthermore, the second treatment is temperature (D), D1 = temperature 60°C/test tube; D2 = temperature 40°C/test tube; D3 = temperature 50°C/test tube. Each factor consists of 3 treatment levels, the total number of treatment combinations is 9 and each treatment combination is repeated 3 times. The results of the research show that there is an influence between providing variations in pH and temperature on the speed of the bromelin enzyme's ability to coagulate milk. The fastest average speed of milk coagulation time was in the K2D3 treatment (pH 7 temperature 50°C), namely 19.33 minutes, so it can be said that the best treatment was the pH and temperature in the K2D3 treatment (pH 7 temperature 50°C).

Keywords: bromelin enzyme; coagulation; pH; pineapple humps; temperature

ABSTRAK

Nanas (*Ananas comosus* L.) merupakan salah satu buah yang termasuk dalam famili Bromeliaceae. Tanaman nanas (*Ananas comosus* L.) mengandung enzim bromelin yang dapat dijadikan sebagai pengganti enzim renin (rennet) untuk agen koagulan susu. Penelitian ini bertujuan menentukan pengaruh pH dan suhu terhadap kecepatan kemampuan enzim bromelin dalam koagulasi susu, serta menentukan pH dan suhu terbaik terhadap kecepatan kemampuan enzim bromein dalam koagulasi susu. Penelitian ini menggunakan faktorial dengan pola Rancangan Acak Lengkap (RAL-F) yang terdiri atas 2 faktor, faktor pertama yaitu pH (K), K1 = pH 6 (asam)/tabung reaksi; K2 = pH 7 (netral)/tabung reaksi; K3 = pH 8 (basa)/tabung reaksi. Selanjutnya, perlakuan kedua yaitu suhu (D), D1 = suhu 60°C/tabung reaksi; D2 = suhu 40°C/tabung reaksi; D3 = suhu 50°C/tabung reaksi. Masing-masing faktor terdiri atas 3 taraf perlakuan, jumlah total kombinasi perlakuan sebanyak 9 dan setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat pengaruh antara pemberian variasi pH dan suhu terhadap kecepatan kemampuan enzim bromelin dalam koagulasi susu. Rata-rata kecepatan waktu koagulasi susu tercepat terdapat pada perlakuan K2D3 (pH 7 suhu 50°C) yaitu 19,33 menit, sehingga dapat dikatakan bahwa perlakuan terbaik adalah pH dan suhu pada perlakuan K2D3 (pH 7 suhu 50°C).

Kata kunci: bonggol nanas; enzim bromelin; koagulasi; pH; suhu

PENDAHULUAN

Susu merupakan makanan alami yang mengandung protein 3,5%, air 87,5%, laktosa (gula susu) 5%, dan lemak 3-4%. Susu juga merupakan sumber kalsium, fosfor, dan vitamin A (Rinanty, 2019). Untuk mempertahankan umur simpan susu agar tahan lama maka perlu dilakukan pengolahan terhadap susu. Salah satu cara pengolahan susu adalah dengan pembuatan keju (Hutagalung *et al.*, 2017).

Keju merupakan salah satu produk pangan yang dihasilkan dari proses penggumpalan atau koagulasi protein susu, proses pengolahan susu menjadi produk keju memerlukan bantuan kerja enzim yang akan berperan untuk mengubah susu menjadi gumpalan (*curd*) melalui proses koagulasi (Rakhmah & Suryani, 2016). Komponen utama penyusun keju yaitu kasein (protein utama susu), selebihnya terdiri atas protein *whey*, lemak, laktosa, mineral, vitamin dan air (Purwadi, 2019).

Kebutuhan keju di Indonesia semakin meningkat hingga sebagian besar kebutuhan keju di Indonesia dipenuhi dengan cara import dari luar, salah satunya dari Amerika Serikat yaitu sebanyak 2.726 ton yang mengalami peningkatan berkelanjutan hingga meningkat sebesar 5,95% per tahun (Badan Pusat Statistik, 201). Hal ini menyebabkan sebagian masyarakat Indonesia menganggap keju sebagai makanan yang mahal dengan proses

produksi yang sulit. Permasalahan ini disebabkan dalam proses produksi keju dilakukan dengan menambahkan enzim renin (rennet) atau proteolitik lain yang dihasilkan dari bakteri (Sari *et al.*, 2014). Enzim renin berasal dari lambung hewan ruminansia (memamah biak) diantaranya termasuk lambung anak sapi. Selain dari lambung anak sapi, lambung babi juga merupakan sumber enzim renin (Rakhmah & Suryani 2016). Hal ini menyebabkan tingginya biaya yang diperlukan jika enzim renin ini akan digunakan sebagai enzim dalam produksi keju secara massal dan berdampak pada mahalanya harga keju karena enzim renin tersedia dalam jumlah yang terbatas.

Selain ketersediaannya yang terbatas, kendala lain pada penggunaan enzim renin ini adalah kehalalannya jika menggunakan enzim renin yang berasal dari lambung babi. Oleh karena itu, perlu dicari alternatif yang berpotensi untuk menggantikan enzim renin sekaligus yang mampu menekan biaya produksi, mudah diperoleh, dan halal. Salah satu enzim proteolitik yang berpotensi memiliki kemampuan dalam proses koagulasi susu yaitu enzim bromelin (Salsabila, 2023).

Enzim bromelin merupakan salah satu jenis enzim protease seperti halnya renin (rennet), papain, dan fisin yang mempunyai sifat mampu menghidrolisis protein. Proses hidrolisis yang terjadi pada

enzim protein adalah pemutusan ikatan peptida dari ikatan substrat, enzim protease berperan sebagai katalisator di dalam sel. Enzim bromelin dapat ditemukan pada tanaman nanas (*Ananas comosus* L.) (Masri, 2014).

Nanas (*Ananas comosus* L.) merupakan salah satu buah yang termasuk dalam famili *Bromeliaceae*. Nanas mengandung gula, vitamin A, vitamin B, asam sitrat, asam malat, dan bromelin (Hossain *et al.*, 2015). Enzim bromelin dari buah nanas (*Ananas comosus* L.) merupakan ekstrak kasar (*crude extract*) yang dapat diperoleh dari batang, buah, mahkota bunga, bonggol, dan kulit nanas (Wiyati & Tjitraresmi., 2018).

Pada penelitian Ilyas *et al.*, (2020), bonggol nanas memiliki aktivitas enzim bromelin yang tinggi sebesar 0,33 U/mg dibandingkan dengan aktivitas enzim pada bagian buah nanas yakni sebesar 0,24 U/mg. Selain mengandung aktivitas paling tinggi, pemanfaatan bonggol nanas sebagai enzim bromelin akan dapat mengurangi banyaknya limbah bonggol nanas yang melimpah karena sebagian besar masyarakat tidak memanfaatkan bonggol nanas tersebut melainkan dibuang. Limbah bonggol nanas yang melimpah tersebut dapat dimanfaatkan secara optimal sebagai sumber enzim bromelin untuk proses koagulasi susu.

Aktivitas enzim bromelin sebagai agen koagulan susu salah satunya

dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pH dan suhu. Kondisi pH dan suhu yang berbeda akan menyebabkan perbedaan laju waktu koagulasi selama proses penggumpalan susu. Oleh karena itu, untuk menentukan laju waktu koagulasi susu, perlu ditentukan adanya kondisi pH dan suhu terbaik agar enzim bromelin dapat melakukan aktivitasnya (Wiyati & Tjitraresmi, 2018).

Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan pengaruh pH dan suhu terhadap kecepatan kemampuan enzim bromelin dalam koagulasi susu, serta menentukan pH dan suhu terbaik terhadap kecepatan kemampuan enzim bromelin dalam koagulasi susu.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bonggol nanas (*Ananas comosus* L.) varietas madu yang diperoleh dari pasar Desa Wide (Kec. Brondong, Kab. Lamongan Provinsi Jawa Timur), pH buffer powder, alkohol 96%, air, aquades, larutan NaOH 10%, larutan Pb-asetat 5%, natrium dihidrogen fosfat, di-natrium hidrogen fosfat, buffer Tris, HCl 0,2 M, dan susu bubuk *full cream* merek “*Frisian flag*”.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau *stainless steel*, timbangan analitik, baskom, parutan, saringan, kertas saring, corong gelas,

erlenmeyer, *beaker glass*, pH meter, botol kaca, *box ice*, *freezer*, *micropipette*, tip, pipet tetes, gelas ukur, batang pengaduk, tabung reaksi, penjepit tabung reaksi, rak tabung reaksi, kompor listrik, termometer air raksa, kertas label, dan *stopwatch*.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan faktorial dengan pola Rancangan Acak Lengkap (RAL-F) yang terdiri dari 2 faktor, yaitu faktor pH (K), K1 = pH 6; K2 = pH 7; K3 = pH 8. Dan suhu (D), D1 = suhu 60°C; D2 = suhu 40°C; D3 = suhu 50°C. Masing-masing faktor terdiri atas 3 taraf perlakuan, jumlah total kombinasi perlakuan sebanyak 9 dan setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 3 kali, sehingga total percobaan adalah $3 \times 3 \times 3 = 27$ tabung reaksi.

Pembuatan Larutan Buffer

Larutan Buffer Na Phosphat

Pada pembuatan larutan buffer Na Phosphat 0,2 M terdiri dari dua macam yakni dibasik atau Di-Natrium Hidrogen Phosphat (Na_2HPO_4), dan monobasik atau Natrium Dihidrogen Phosphat (NaH_2PO_4). Proses pembuatan larutan dibasik 0,2 M dibuat berdasarkan rumus molaritas yakni serbuk dibasik diambil dan ditimbang sebanyak 2,84 gram lalu dimasukkan ke dalam gelas beaker. Kemudian dilarutkan dengan aquades 100 mL dan diaduk hingga homogen. Setelah homogen, larutan dibasik diukur pHnya menggunakan pH meter dan hasilnya menunjukkan pH 8,89.

Proses pembuatan larutan monobasik 0,2 M dibuat berdasarkan rumus molaritas yakni serbuk monobasik diambil dan ditimbang sebanyak 2,45 gram lalu dimasukkan ke dalam gelas beaker. Kemudian dilarutkan dengan aquades 100 mL dan diaduk hingga homogen. Setelah homogen, larutan monobasik diukur pHnya menggunakan pH meter dan hasilnya menunjukkan pH 3,90.

Selanjutnya yaitu pembuatan larutan buffer Na Phosphat 0,2 M pH 6, caranya yaitu dengan melihat larutan mana yang paling mendekati pH 6, maka itulah yang akan digunakan untuk pembuatan larutan buffer pH 6. Dan yang mendekati pH 6 adalah larutan dibasik (pH 8,89). Larutan stok dibasik dituang sebagian ke dalam gelas beaker, lalu ditambahkan dengan larutan monobasik untuk menurunkan pHnya menggunakan pipet tetes dan diteteskan sedikit demi sedikit ke dalam larutan sambil diukur pHnya menggunakan pH meter dan diamati hingga larutan menunjukkan pH 6.

Sama halnya dengan pembuatan larutan buffer Na Phosphat 0,2 M pH 6, pada pembuatan larutan buffer Na Phosphat 0,2 M pH 7 caranya yaitu dengan melihat larutan mana yang paling mendekati pH 7, maka itulah yang akan digunakan untuk pembuatan larutan buffer pH 7. Dan yang mendekati pH 7 adalah larutan dibasik (pH 8,89). Larutan stok dibasik dituang sebagian ke dalam gelas beaker, lalu ditambahkan

dengan larutan monobasik untuk menurunkan pHnya menggunakan pipet tetes dan diteteskan sedikit demi sedikit ke dalam larutan sambil diukur pHnya menggunakan pH meter dan diamati hingga larutan menunjukkan pH 7.

Larutan Buffer Tris-HCl

Pada pembuatan larutan buffer Tris-HCl 0,2 M terdiri dari dua larutan yakni larutan Tris dan HCl. Proses pembuatan larutan Tris 0,2 M dibuat berdasarkan rumus molaritas yakni serbuk Tris diambil dan ditimbang sebanyak 2,42 gram lalu dimasukkan ke dalam gelas beaker. Kemudian dilarutkan dalam aquades 100 mL dan diaduk hingga homogen. Setelah homogen, larutan Tris diukur pHnya menggunakan pH meter dan hasilnya menunjukkan pH 10,08.

Selanjutnya yakni pembuatan buffer Tris HCl 0,2 M pH 8 dikarenakan HCl sudah tersedia dalam bentuk 0,2 M dengan pH 3,31. Caranya yaitu larutan Tris dituang sebagian ke gelas beaker, lalu ditambahkan dengan larutan HCl 0,2 M untuk menurunkan pHnya menggunakan pipet tetes dan diteteskan sedikit demi sedikit ke dalam larutan sambil diukur pHnya menggunakan pH meter dan diamati hingga larutan menunjukkan pH 8.

Ekstraksi Enzim Bromelin Kasar

Pada tahap ini mengacu pada Silaban *et al.*, (2014) yang telah dimodifikasi yakni ekstraksi enzim

bromelin kasar dilakukan dengan cara menyiapkan buah nanas yang mengkal (tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua) ditandai dengan warna kulitnya hijau kekuningan, kemudian buah nanas dikupas kulitnya, lalu dipotong bagian bonggolnya. Selanjutnya bonggol nanas dicuci, ditimbang, dan diparut. Hasil parutan disaring dua kali, yang pertama menggunakan saringan dan yang kedua menggunakan kertas saring untuk memperoleh filtratnya. Filtrat yang diperoleh kemudian diukur volume dan pH. Setelah itu ekstrak bonggol nanas dipindahkan dalam botol kaca dan disimpan dalam lemari pendingin.

Uji Identifikasi Enzim Bromelin Kasar

Uji identifikasi enzim bromelin kasar dilakukan melalui uji belerang (PbS). Cara identifikasi dilakukan dengan menyiapkan larutan ekstrak nanas sebanyak 2 mL, kemudian ditambahkan NaOH 10% sebanyak 5 mL dan dipanaskan selama 5 menit di atas kompor listrik. Selanjutnya ditambahkan larutan Pb-asetat 5% sebanyak 2 tetes. Pemanasan dilanjutkan hingga terjadi perubahan warna pada larutan. Hasil uji ini dinyatakan positif atau terdapat enzim bromelin jika terbentuknya larutan kecoklatan dan endapan hitam pada larutan (Silaban *et al.*, 2014).

Pembuatan Larutan Susu

Susu bubuk *full cream* ditimbang sebanyak 12 gram lalu dimasukkan ke dalam

gelas beaker dan ditambahkan aquadest sebanyak 100 mL hingga mencapai kepekatan 12% (Poba *et al.*, 2019).

Pemberian Variasi pH Pada Enzim Bromelin Kasar

Pada tahap ini mengacu pada penelitian Ilyas *et al.*, (2020) yang telah dimodifikasi yaitu larutan ekstrak nanas yang telah dilakukan uji identifikasi enzim bromelin selanjutnya diberikan perlakuan pH (K) yaitu K1 = pH 6 (asam)/ tabung reaksi; K2 = pH 7 (netral)/ tabung reaksi; K3 = pH 8 (basa)/ tabung reaksi dengan menggunakan buffer Na Phosphat 0,2 M untuk pH 6 dan 7, dan menggunakan buffer Tris-HCl 0,2 M untuk pH 8. Masing-masing perlakuan terdiri atas 1,5 mL larutan enzim bromelin dan 1,5 mL larutan buffer sehingga didapatkan 3 mL campuran enzim dan buffer, namun yang ditambahkan ke susu pada tahap selanjutnya hanya 1,5 mL.

Pemberian Variasi Suhu

Hasil ekstraksi nanas yang telah diberi perlakuan variasi pH selanjutnya digunakan untuk proses koagulasi susu. Larutan susu dengan kepekatan 12% diambil sebanyak 10 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan larutan enzim bromelin (yang sebelumnya telah diberi perlakuan variasi pH 6; pH 7; dan pH 8) sebanyak 1,5 mL. Lalu mengatur kerja enzim dengan diberi faktor perlakuan kedua yaitu variasi suhu (D), D1 = suhu 60°C/ tabung reaksi; D2 =

suhu 40°C/ tabung reaksi; D3 = suhu 50°C/ tabung reaksi dengan cara dipanaskan diatas kompor listrik dan suhunya disesuaikan dengan perlakuan menggunakan termometer air raksa (Poba *et al.*, 2019).

Pengamatan Koagulasi Susu

Tahapan selanjutnya yaitu melihat kecepatan koagulasi susu bubuk *full cream* yang telah ditambahkan ekstrak enzim bromelin (dengan variasi pH dan suhu yang sudah ditentukan sebagai perlakuan). Reaksi dihentikan pada saat susu mulai membentuk gumpalan. Aktivitas enzim ini dilihat dari seberapa cepat kemampuan enzim bromelin dalam menggumpalkan susu dan dihitung menggunakan *stopwatch*, *stopwatch* ditekan dan diberhentikan tepat saat larutan susu mulai membentuk gumpalan. Proses penggumpalan susu diamati dan dicatat untuk dianalisis kecepatan kemampuan enzim bromelin dalam menggumpalkan susu (Poba *et al.*, 2019).

Metode Analisis Data

Data hasil pengamatan pengaruh pH dan suhu terhadap kemampuan enzim bromelin dalam koagulasi susu diolah terlebih dahulu dengan uji normalitas dan uji homogenitas untuk mengetahui varian populasinya berdistribusi normal dan homogen. Kemudian dilakukan analisis statistika dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dan analisis ragam menggunakan *Analisis of Varians* (ANOVA) *two way*. Jika hasil uji menunjukkan H_0

diterima (tidak ada perbedaan), maka uji lanjut tidak dilakukan. Sebaliknya jika pada hasil uji menunjukkan H_0 ditolak (ada perbedaan), maka uji lanjut harus dilakukan. Untuk menguji perbedaan antar perlakuan dari hasil penelitian, maka dilakukan uji lanjut dengan metode Uji Jarak Berganda Duncan atau DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) pada taraf 5% untuk menunjukkan perbedaan pada masing-masing perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Enzim Bromelin Kasar

Ekstraksi enzim bromelin kasar dari bonggol nanas diperoleh volume akhir larutan ekstrak nanas 150 mL dengan pH 3,90. Hasil ekstraksi enzim bromelin kasar dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil ekstraksi enzim bromelin kasar
Keterangan: Ekstraksi berasal dari 6 bonggol nanas varietas madu

Sesuai dengan Santi *et al.*, (2017) ekstrak enzim bromelin kasar memiliki kisaran pH yang rendah karena ekstrak enzim bromelin kasar mengandung asam-asam diantaranya asam sitrat, asam malat dan asam oksalat. Asam-asam yang terkandung pada ekstrak nanas tersebut yang

menyebabkan pH menjadi rendah. Hal ini sejalan dengan penelitian Poba *et al.*, (2019) menyatakan, asam amino pada enzim bromelin memiliki gugus sistein dan histidin (-SH) yang bersifat asam.

Uji Identifikasi Enzim Bromelin Kasar

Hasil uji identifikasi enzim bromelin kasar melalui uji belerang (PbS) dapat dilihat pada Gambar 2. Berdasarkan hasil uji identifikasi enzim bromelin kasar dapat diketahui bahwa ekstrak bonggol nanas positif mengandung enzim bromelin dengan ditandai adanya endapan hitam, larutan enzim bromelin mengalami perubahan warna dari semula kuning muda menjadi kecoklatan dan membentuk endapan hitam pada dasar tabung reaksi.



Gambar 2. Hasil uji identifikasi enzim bromelin kasar

Keterangan: Uji identifikasi menunjukkan positif mengandung enzim bromelin

Sesuai dengan penelitian Silaban *et al.*, (2014), ketika larutan ekstrak nanas ditambahkan larutan NaOH kemudian dipanaskan, larutan menjadi keruh. Selanjutnya, ketika larutan tersebut diteteskan Pb-Asetat kemudian pemanasan dilanjutkan, larutan mengalami perubahan warna dan terdapat endapan hitam di bawah.

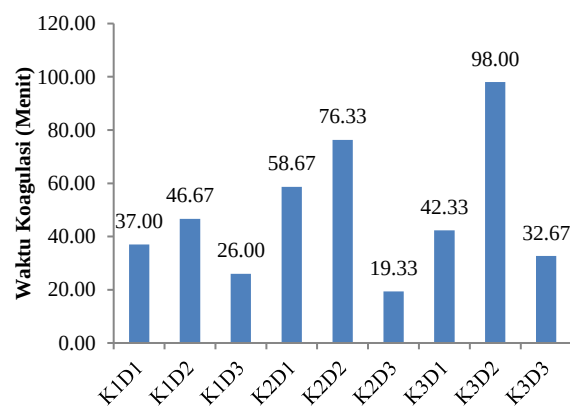
Silaban *et al.*, (2014) menyatakan bahwa enzim bromelin merupakan kelompok glikoprotein dengan rantai peptida sehingga dapat diidentifikasi berdasarkan gugus protein. Sisi aktif enzim bromelin mengandung gugus sistein dan histidin (-SH) yang keberadaannya dapat diidentifikasi dengan menggunakan uji PbS. Uji ini dilakukan untuk mengetahui keberadaan unsur belerang dalam asam amino sistein. Proses pengujian dilakukan dengan penambahan larutan NaOH dan larutan Pb-Asetat. Penambahan NaOH menyebabkan belerang pada asam amino sistein akan terurai menjadi ion sulfida. Selanjutnya, dengan penambahan Pb-Asetat, ion sulfida yang terlepas dari sistein akan bereaksi dengan ion Pb^{2+} dari Pb-Asetat yang kemudian membentuk endapan hitam.

Kecepatan Koagulasi

Gambar 3 menunjukkan bahwa perhitungan rata-rata pengaruh pH dan suhu tercepat terdapat pada perlakuan K2D3 (pH 7 suhu 50°C) yaitu 19,33 menit, sedangkan pengaruh pH dan suhu terlama yaitu 98 menit terdapat pada perlakuan K3D2 (pH 8 suhu 40°C). Enzim memiliki batas kondisi pH dan suhu optimum yang berbeda terhadap kemampuan aktivitasnya dalam koagulasi susu, kondisi pH dan suhu yang berbeda akan menyebabkan kecepatan waktu koagulasi yang berbeda pula selama proses koagulasi susu.

Hasil analisis menggunakan uji

Analisis of Varians (ANOVA) two-way pada parameter kecepatan koagulasi susu menunjukkan bahwa terdapat pengaruh secara signifikan ($p < 0,05$) antara pH dan suhu. Selanjutnya, dilakukan uji lanjut dengan uji Jarak Berganda *Duncan* atau DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*), juga terdapat interaksi antara pH dan suhu terhadap kecepatan kemampuan enzim bromelin dalam koagulasi susu. Hasil uji Jarak Berganda *Duncan* atau DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 3. Grafik rata-rata waktu koagulasi (menit)
Keterangan: K1 = pH 6; K2 = pH 7; K3 = pH 8
D1 = suhu 60°C; D2 = suhu 40°C;
D3 = suhu 50°C

Tabel 1. Hasil uji Jarak Berganda *Duncan* / DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) untuk rata-rata waktu koagulasi

Perlakuan	Waktu Koagulasi (menit)
K1D1	37,00 ± 2,00 ^{bc}
K1D2	46,67 ± 3,05 ^c
K1D3	26,00 ± 4,00 ^{ab}
K2D1	58,67 ± 2,51 ^d
K2D2	76,33 ± 9,07 ^e
K2D3	19,33 ± 4,93 ^a
K3D1	42,33 ± 2,51 ^c
K3D2	98,00 ± 9,84 ^f
K3D3	32,67 ± 3,51 ^b

Keterangan: Notasi huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata.

Berdasarkan hasil uji lanjut Jarak Berganda *Duncan* atau DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*), pengaruh interaksi antara pH dan suhu terhadap kecepatan kemampuan enzim bromelin dalam koagulasi susu menunjukkan hasil yang berbeda nyata secara signifikan, ditandai dengan pemberian notasi yang berbeda pada setiap perlakuan. Tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan K2D3 dan K1D3 berbeda nyata dengan perlakuan K3D1, K1D2, K2D1, K2D2, dan K3D2. Selanjutnya, perlakuan K2D2 dan K3D2 berbeda nyata dengan perlakuan K3D3 dan K1D1.

Hasil penelitian ini sejalan dengan Ilyas *et al.*, (2020) yang melaporkan bahwa pemberian perlakuan pH 7 pada enzim bromelin dari bonggol nanas (*Ananas comosus* L.) yang melewati proses fraksinasi mampu menghasilkan aktivitas enzim yang lebih optimal dibandingkan dengan perlakuan pH lainnya. Masri (2014) menyatakan bahwa pH optimum enzim bromelin yang diekstrak dari bonggol nanas (*Ananas comosus* L.) berada pada pH 7. Penelitian ini juga sesuai dengan hasil penemuan Martin *et al.*, (2014) yang menyatakan enzim bromelin dari kulit batang, batang, dan daun nanas meningkat pada suhu sampai 50°C dan menurun setelah suhu 60°C.

Selanjutnya, terdapat peningkatan aktivitas enzim pada pH 7,0 dan penurunan aktivitas enzim pada pH 10. Poba *et al.*,

(2019) melaporkan bahwa pemberian perlakuan suhu 55°C pada enzim bromelin dari bagian buah nanas dapat meningkatkan aktivitasnya dalam penggumpalan susu. Selain itu, enzim bromelin bekerja secara maksimal dengan menunjukkan penggumpalan susu secara cepat apabila berada pada kondisi pH yang optimum. Pada kondisi pH yang optimum enzim bromelin akan bekerja secara aktif. pH optimum ini akan menunjukkan bahwa proses penggumpalan susu terjadi dengan sangat cepat. Namun, kondisi pH yang belum mencapai atau bahkan melebihi batas optimum dapat menyebabkan terjadinya denaturasi enzim sehingga terjadi penurunan aktivitas proteolitik enzim. Winarno (1986) juga menyatakan bahwa enzim tertentu mempunyai kisaran pH optimum yang sangat sempit, dan enzim di sekitar pH optimum mempunyai stabilitas yang tinggi.

Berdasarkan Gambar 3, aktivitas optimum bromelin ditunjukkan pada pH 7 suhu 50°C. Penurunan aktivitas enzim pada pH yang lebih rendah atau lebih tinggi disebabkan oleh rantai samping beberapa asam amino yang berperan sebagai asam atau basa lemah melakukan fungsi kritis pada sisi aktif enzim sehingga enzim menjadi inaktif (Lehninger, 2009). pH yang berbeda akan mengubah derajat ionisasi dari gugus rantai samping (R) residu asam amino pada protein. Hal ini menyebabkan enzim kehilangan aktivitasnya dan enzim akan

terdenaturasi. Perubahan besar gugus R residu asam amino pada sisi aktif enzim mampu menghancurkan kemampuan enzim untuk membentuk kompleks antara enzim-substrat (Azhar, 2016). Aktivitas enzim bromelin pada nanas dapat menurun karena lingkungan di sekitar sisi aktif enzim mengalami kekurangan jumlah proton (Wirahadikusumah, 2001).

pH optimum adalah pH ketika pemberi atau penerima proton berperan penting dalam sisi katalitik enzim atau pengikat substrat berada pada tingkat ionisasi yang stabil sehingga substrat akan lebih efektif berinteraksi dengan sisi katalitik enzim (Nuraeni *et al.*, 2021). Pernyataan tersebut sesuai dengan Faizah (2017) yang melaporkan bahwa enzim menyediakan tempat untuk pengikatan proton karena enzim adalah protein yang tersusun oleh asam amino yang dapat mengikat proton pada gugus amino, karboksil, dan gugus fungsional lainnya. Gugus fungsional pada sisi aktif enzim yang dapat terionisasi memegang peranan penting pada suatu reaksi yang dikatalis oleh enzim (Whittaker, 1994).

Derajat keasaman (pH) lingkungan memengaruhi kecepatan aktivitas enzim dalam mengkatalis suatu enzim yang disebabkan oleh konsentrasi ion H^+ dalam memengaruhi struktur tiga dimensi enzim dan aktivitasnya. Setiap enzim memiliki pH optimum, pada pH optimum tersebut

pengikatan substrat oleh struktur tiga dimensi enzim terjadi secara kondusif. Namun, apabila konsentrasi ion H^+ berubah dari konsentrasi optimal, maka aktivitas enzim akan hilang secara progresif hingga akhirnya enzim menjadi tidak fungsional (Lehninger, 2009). Dengan kata lain, rendahnya aktivitas enzim bromelin dalam koagulasi susu pada pH 6 dan 8 disebabkan oleh adanya perubahan struktur tiga dimensi protease, sehingga protein tidak dapat berikatan dengan sisi aktif protease.

Selain pH, faktor lain yang memengaruhi aktivitas enzim bromelin dalam koagulasi susu yang diuji adalah suhu. Poba *et al.*, (2019) menyatakan bahwa enzim bromelin mampu bekerja secara maksimal pada kondisi suhu yang optimum. Jika suhu semakin tinggi (masih dalam batas optimum) maka enzim akan semakin aktif. Pada suhu optimum, enzim bromelin bekerja secara optimal karena terjadi tumbukan secara cepat antara molekul-molekul protein dengan enzim bromelin yang menyebabkan penggumpalan atau koagulasi susu terjadi dengan sangat cepat. Sebaliknya, suhu yang melebihi batas optimum dapat aktivitas enzim bromelin mulai berkurang karena sisi aktif enzim kurang mampu bekerja terhadap substrat. Setelah suhu naik di atas suhu optimum energi sistem juga semakin tinggi sehingga ikatan peptida dan ikatan disulfida akan terganggu dan mengakibatkan enzim menjadi tidak aktif (Martin *et al.*, 2014).

Sejalan dengan Faizah (2017), suhu yang semakin tinggi akan menyebabkan peningkatan energi kinetik sehingga menambah intensitas tumbukan antara substrat dan enzim. Pada suhu optimum, tumbukan antara enzim dan substrat sangat efektif sehingga mempermudah pembentukan kompleks enzim-substrat dan produk yang dihasilkan meningkat. Namun, peningkatan suhu lebih lanjut akan menurunkan aktivitas enzim karena enzim mengalami denaturasi atau perubahan konformasi enzim pada suhu yang terlalu tinggi sehingga substrat terhambat dalam memasuki sisi aktif enzim.

Kecepatan kemampuan enzim bromelin dalam koagulasi susu meningkat seiring dengan bertambahnya suhu dan mencapai aktivitas optimum pada suhu 50°C dengan menghasilkan waktu koagulasi 19,33 menit, 26 menit, dan 32,67 menit. Selanjutnya, pada suhu 60°C terjadi penurunan aktivitas enzim yang ditandai dengan proses koagulasi susu menjadi lebih lama dibandingkan dengan suhu 50°C. Peningkatan suhu pada reaksi enzim memiliki dua pengaruh yaitu dapat meningkatkan laju reaksi atau dapat meningkatkan laju inaktivasi enzim. Semua enzim bekerja dalam rentang suhu tertentu. Umumnya, setiap peningkatan suhu sebesar 10°C di atas suhu minimum akan menyebabkan peningkatan aktivitas enzim sebanyak dua kali lipat hingga mencapai

optimum, namun laju inaktivasi akan meningkat 64 kali lipat (Faiza, 2017). Pada suhu maksimum enzim akan terdenaturasi karena struktur protein terbuka dan gugus nonpolar di dalam molekul menjadi terbuka keluar, kelarutan protein di dalam air yang polar menjadi turun sehingga aktivitas enzim juga akan turun (Faiza, 2017).

Berdasarkan nilai aktivitas keseluruhan perlakuan, interaksi pH 7 suhu 50°C menghasilkan aktivitas protease terbaik dari enzim bromelin untuk koagulasi susu dibandingkan dengan perlakuan interaksi lainnya. Pada pH optimum, enzim mempunyai konformasi yang paling sesuai dengan substratnya sehingga mampu membentuk kompleks enzim-substrat yang tepat dan menghasilkan produk secara maksimal (Nuraeni *et al.*, 2021). Menurut Palmer (1991), suhu optimum dapat meningkatkan energi kinetik serta mempercepat gerak vibrasi, translasi dan rotasi balik enzim maupun substrat sehingga memperbesar peluang reaksi antara enzim dengan substrat. Tumbukan yang sering terjadi antara enzim dan substrat ini membentuk banyak kompleks enzim-substrat sehingga banyak produk terbentuk.

KESIMPULAN

Terdapat pengaruh antara pemberian variasi pH dan suhu terhadap kecepatan kemampuan enzim bromelin dalam koagulasi susu. Pada kondisi pH dan suhu

yang optimum enzim bromelin akan bekerja secara aktif dan menunjukkan proses penggumpalan susu terjadi dengan sangat cepat. Namun pada kondisi pH dan suhu yang belum mencapai atau bahkan melebihi batas optimum akan menyebabkan terjadinya denaturasi enzim sehingga akan terjadi penurunan aktivitas proteolitik enzim. Berdasarkan rata-rata pada kecepatan waktu kemampuan enzim bromelin dalam koagulasi susu, dapat dikatakan bahwa perlakuan terbaik adalah pH dan suhu pada perlakuan K2D3 (pH 7 suhu 50°C) yaitu 19,33 menit.

SARAN

Penelitian dapat dilanjutkan hingga tahap pembuatan keju dan dilakukan analisis organoleptik, analisis kimia dan analisis mikrobiologi.

DAFTAR PUSTAKA

- Azhar, M. (2016). *Biomolekul Sel Karbohidrat, Protein, dan Enzim*. UNP Press Padang.
- Badan Pusat Statistik. (2015). *Statistik Perdagangan Luar Negeri Indonesia, Impor Menurut Komoditas*.
- Faizah, M. (2017). *Pengaruh suhu dan pH terhadap aktivitas enzim protease Bacillus subtilis dari daun kenikir (Cosmos sulphureus) yang ditumbuhkan dalam media campuran limbah cair tahu dan dedak*. [Bachelor Thesis]. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Hossain, M. F., Akhtar, S., & Anwar, M. (2015). Nutritional value and medicinal benefits of pineapple. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 4(1), 84-88. <https://doi.org/10.11648/j.ijnfs.20150401.22>
- Hutagalung, T. M., Yelnetty, A., Tamasoleng, M., & Ponto. (2017). Penggunaan enzim rennet dan bakteri *Lactobacillus plantarum* YN 1.3 terhadap sifat sensoris keju. *Jurnal Zootehnik*, 37(2), 286-293. <https://doi.org/10.35792/zot.37.2.2017.16068>
- Ilyas, N. M., Setiasih, S., & Hudiyono, S. (2020). Isolasi dan karakterisasi enzim bromelain dari bonggol dan daging buah nanas (*Ananas comosus*). *Jurnal Chemica*, 21(2), 133-141. <https://doi.org/10.35580/chemica.v21i2.17983>
- Lehninger, A. L. (2009). *Dasar-Dasar Biokimia*. Jilid 1; Penerjemah Maggy Thenawijaya. Erlangga.
- Martins, B. C., Rescolino, R. Coelho, D. F., Zanchetta, B., Tambourgi, E. B., & Silveira, E. (2014). Characterization of bromelain from *Ananas comosus* agroindustrial residues purified by ethanol factional precipitation. *Chemical Engineering Transactions*, 37(1), 781-786.
- Masri, M. (2014). Isolasi dan pengukuran aktivitas enzim bromelin dari ekstrak kasar bonggol nanas (*Ananas comosus*) pada variasi suhu dan pH. *Biogenesis Jurnal Ilmiah Biologi*, 2(2), 119-125. <https://doi.org/10.24252/bio.v2i2.478>
- Nuraeni, F., Maulana, I. T., & Syafnir, L. (2021). Kajian pustaka karakterisasi enzim bromelin pada nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) dari berbagai

- negara terhadap pengaruh suhu dan pH. *Prosiding Farmasi*, 7(2), 786-793.
- Palmer, T. (1991). *Understanding Enzymes*. Ellis Horwood.
- Purwadi. (2019). *Ilmu dan Teknologi Pengolahan Keju*. Universitas Brawijaya Press.
- Poba, D., Ijirana, & Sakung, J. (2019). Aktivitas enzim bromelin kasar berdasarkan tingkat kematangan buah nanas. *Jurnal Akademi Kimia*, 8(4), 236-241. <http://dx.doi.org/10.22487/j24775185.2019.v8.i4.pp236-241>
- Pramono, A. P. (2019). *Pengaruh penambahan enzim bromelin dari sari buah nanas dan masa inkubasi yang berbeda terhadap kualitas kimia dan total bakteri asam laktat pada curd keju*. [Bachelor Thesis]. Universitas Brawijaya, Malang.
- Rakhmah, R. F., & Suryani, T. (2016). Pemanfaatan buah lokal sebagai koagulan soy cheese. *Bioeksperimen*, 2(1), 8-16. <https://doi.org/10.23917/bioeksperimen.v2i1.1576>
- Rinanty, C. (2019). *Pengaruh penambahan ekstrak kasar enzim bromelin dari sari buah nanas dengan masa inkubasi yang berbeda terhadap kualitas fisik curd keju*. [Bachelor Thesis]. Universitas Brawijaya, Malang.
- Salsabila, N. (2023). *Kualitas fisik keju susu sapi dengan pemakaian enzim bromelin dari buah nanas (Ananas comosus)*. [Bachelor Thesis]. Universitas Lampung, Bandar Lampung.
- Santi, F., Restuhadi, F., & Ibrahim, A. (2017). Potensi ekstrak kasar enzim bromelin pada bonggol nanas (*Ananas comosus* L.) sebagai koagulan alami lateks (*Hevea brasiliensis*). *Jom FAPERTA*, 4(1), 1-13.
- Sari, N. A., Sustiyah, A., & Legowo, A. M. (2014). Total bahan padat, kadar protein, dan nilai kesukaan keju mozarella dari kombinasi susu kerbau dan susu sapi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 3(4), 152-156.
- Silaban, R., Manullang, R. S., & Hutapea, V. (2014). Pembuatan virgin coconut oil (VCO) melalui kombinasi teknik fermentasi dan enzimatis menggunakan ekstrak nenas. *Jurnal Pendidikan Kimia*, 6(1), 91-99.
- Whittaker, J. R. (1994). *Principles of Enzymology for The Food Sciences*. (2nd ed.). Marcek Dekker Inc.
- Winarno, F. G. (1986). *Pangan*. Gramedia.
- Wirahadikusumah, M. (2001). *Biokimia Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Institut Teknologi Bandung
- Wiyati, P. I., & Tjitraresmi, A. (2018). Review: karakterisasi, aktivitas dan isolasi enzim bromelin dari tumbuhan nanas (*Ananas* sp.). *Farmaka*, 16(2), 179-185.

KARAKTERISASI EKSTRAK KULIT MELINJO (*Gnetum gnemon* L.) MERAH SEBAGAI KOMPONEN ANTIBAKTERI

[CHARACTERIZATION OF RED MELINJO (*Gnetum gnemon* L.) SKIN EXTRACT AS AN ANTIBACTERIAL COMPOUND]

Veliana Angel¹, Adolf J. N. Parhusip^{2*}

^{1,2}Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Pelita Harapan,
Jl. Thamrin Boulevard 1100, Tangerang, Banten, Indonesia

*Korespondensi penulis: adolf.parhusip@uph.edu

ABSTRACT

Melinjo peel is generally disposed, even though it contains bioactive compounds such as tannin, flavonoid and saponin, which can be used as antimicrobial compound. The purpose of this research was to analyze the antimicrobial activity of melinjo peel extract. The extraction of red melinjo peel was conducted by maceration method using ethyl acetate as solvent for 24 h at room temperature. The extract at concentration 4, 8, 12, and 16% (w/v) could not inhibit the growth of *Rhizopus oligosporus* ATCC 22959, whereas could inhibit the growth of *Escherichia coli* ATCC 8739, *Bacillus cereus* ATCC 10876, and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of the extract was ranged from 0.50-0.69%, while the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) value was ranged from 2.00-2.76%. The phytochemical compounds that found in extract were alkaloids, saponin, phenolic, flavonoids and glycosides. The inhibitory capacity of the extract at selected concentration (12%) had a similar level as compared to 1000 ppm Colistin against *E. coli* and *P. aeruginosa*. The inhibition of extract increased at low pH (pH 4), while neutral pH decreased the inhibition of the extract. Heat treatment at 65°C for 30 minutes increased the antibacterial activity, whereas heat treatment at 75, 85, and 95°C decreased the antibacterial activity of the extract. Addition of salt and sugar at concentration 1-5% and 10-50%, respectively, increased the antibacterial activity of the extract. The extract could damage cell morphology and was confirmed by the presence of ions (Ca^{2+} , K^{+} , and Mg^{2+}) outside of the cells.

Keywords: antimicrobial; bacterial; cell damage; melinjo

ABSTRAK

Kulit melinjo umumnya dibuang, padahal mengandung komponen bioaktif seperti tanin, flavonoid, dan saponin, yang dapat dimanfaatkan sebagai komponen antimikroba. Tujuan penelitian ini karakterisasi komponen bioaktif ekstrak kulit melinjo merah sebagai antibakteri. Proses ekstraksi kulit melinjo merah dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat selama 24 jam pada suhu ruang. Ekstrak etil asetat kulit melinjo merah pada konsentrasi 4, 8, 12, dan 16% (w/v) tidak dapat menghambat kapang *R. oligosporus* ATCC 22959, namun dapat menghambat bakteri *E. coli* ATCC 8739, *B. cereus* ATCC 10876, dan *P. aeruginosa* ATCC 9027. Nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) dari ekstrak terhadap ketiga bakteri uji berturut-turut adalah 0.50-0.69%, dan 2.00-2.76%. Komponen fitokimia yang terdapat pada ekstrak etil asetat terdiri dari alkaloid, saponin, fenolik, flavonoid, dan glikosida. Ekstrak etil asetat dengan konsentrasi terpilih (12%) memiliki diameter zona hambat hampir setara dengan antibiotik kolistin 1000 ppm terhadap bakteri *E. coli* dan *P. aeruginosa*. Ekstrak pada kondisi asam (pH 4) memiliki diameter zona hambat lebih besar dibandingkan pH netral (pH 7). Pemanasan

ekstrak pada suhu 65°C selama 30 menit akan meningkatkan diameter zona hambat, dan menurun pada suhu pemanasan 75, 85, dan 95°C. Penambahan garam dan gula masing-masing pada konsentrasi 1-5% dan 10-50% akan meningkatkan diameter zona hambat ekstrak. Ekstrak dapat merusak morfologi ketiga bakteri uji, yang didukung dengan keluarnya ion-ion penyusun dinding sel (Ca^{2+} , K^+ , dan Mg^{2+}). Ekstrak etil asetat kulit melinjo merah memiliki komponen bioaktif yang mampu membunuh dan menghambat pertumbuhan mikroba uji.

Kata kunci: antimikroba; bakteri; melinjo; kerusakan sel

PENDAHULUAN

Produksi tanaman melinjo meningkat dari 197.648 ton pada tahun 2014, menjadi 213.025 ton pada tahun 2015 (Badan Pusat Statistik, 2015). Bagian kulit melinjo kadang digunakan untuk membuat sayur, namun umumnya kulit melinjo dibuang (Parhusip & Sitanggang, 2011). Kulit melinjo mengandung komponen bioaktif seperti tanin, flavonoid, dan saponin (Octavia, 2010). Oleh karena itu, diperlukan pemanfaatan lebih lanjut dari kulit melinjo, sebagai komponen antimikroba. Zat antimikroba adalah senyawa biologis atau kimia yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroba (Yanuhar, 2016). Hasil penelitian Parhusip & Sitanggang (2011) menunjukkan bahwa kulit melinjo dengan konsentrasi 15% menggunakan pelarut etil asetat dapat menghambat bakteri *P. aeruginosa* sebanyak 6,73 mm, lebih besar dibandingkan antibiotik penisilin G yang tidak mampu menghambat *P. aeruginosa*.

Pada penelitian ini digunakan kulit melinjo berwarna merah. Penelitian Siregar

et al. (2009) menunjukkan bahwa kulit melinjo merah memiliki kandungan total fenolik lebih tinggi (0,386 mg GAE/g sampel) dibandingkan kulit melinjo kuning (0,103 mg GAE/g sampel) dan hijau (0,095 mg GAE/g sampel). Komponen fenolik bersifat sebagai senyawa antibakteri karena keberadaan gugus hidroksil yang bersifat reaktif (Gyawali & Ibrahim, 2014). Parhusip & Sitanggang (2011) menunjukkan hasil bahwa ekstrak etil asetat kulit melinjo pada konsentrasi 15% mampu menghambat bakteri *P. aeruginosa* dengan diameter 6,64 mm, lebih besar dibandingkan ekstrak etanol kulit melinjo yang sama sekali tidak dapat menghambat *P. aeruginosa* pada konsentrasi yang sama.

Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan terhadap empat jenis mikroba, yaitu *E. coli*, *B. cereus*, *P. aeruginosa*, dan *R. oligosporus*. Keempat jenis mikroba ini merupakan mikroba patogen yang umum tersebar di lingkungan. Masing-masing mikroba mewakili bakteri Gram negatif, bakteri Gram positif pembentuk spora, dan kapang sehingga analisis aktivitas

antimikroba dapat diketahui efektivitasnya berdasarkan jenis mikroba.

Aktivitas antimikroba dari ekstrak etil asetat kulit melinjo merah pada berbagai konsentrasi diuji terhadap empat jenis bakteri, lalu ditentukan ekstrak dengan konsentrasi terpilih. Ekstrak etil asetat kulit melinjo merah terpilih dianalisis lebih lanjut komponen fitokimianya secara kualitatif, lalu aktivitas antimikrobanya dibandingkan dengan senyawa antibiotic. Selanjutnya, dilakukan pengujian stabilitas ekstrak terpilih pada berbagai pH, suhu pemanasan, konsentrasi garam, dan gula. Selain itu, pengaruh ekstrak etil asetat kulit melinjo merah terpilih diuji terhadap kebocoran ion dan morfologi mikroba dengan metode *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS) dan *Scanning Electron Microscope* (SEM).

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit melinjo merah yang berasal dari Bogor, etil asetat teknis, akuades, media *Nutrient Agar* (NA), media *Nutrient Broth* (NB), kultur *B. cereus* ATCC 10876 dari Institut Pertanian Bogor (IPB), kultur *E. coli* ATCC 8739 dari IPB, kultur *P. aeruginosa* ATCC 9027 dari IPB, kultur *R. oligosporus* ATCC 22959 dari IPB, amil alkohol, larutan FeCl_3 kloroform, ammonia, H_2SO_4 , kertas saring Whatman no. 1, HCl,

KOH 0,5 M, hidrogen peroksida 5%, benzena, asam asetat anhidrat, KH_2PO_4 .

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *cabinet dryer* (Memmert), autoklaf (Hirayama), jarum ose, mikroskop (Olympus), *hairdryer* (Philips), incubator (Memmert), mikropipet (Gilson), tabung ulir (Pyrex), *vortex* (Thermolin), *waterbath* (Memmert), *heater* (Torrey Pines Scientific), *magnetic stirrer*, *rotary evaporator* (Buchi), pH meter (Mettler), oven, timbangan analitik (Ohaus), *centrifuge* (Sigma), AAS (Buck Scientific), SEM (Ciqtek)

Pembuatan Bubuk dan Ekstraksi Kulit Melinjo Merah

Pembuatan bubuk dan ekstraksi kulit melinjo merah dilakukan berdasarkan metode dari Kato *et al.* (2009) dengan modifikasi. Buah melinjo merah dicuci dan dikupas kulitnya, kemudian bagian biji dibuang, kulit melinjo merah dikeringkan menggunakan *cabinet dryer* pada suhu 50°C selama 24 jam. Kulit melinjo merah kering dikecilkan ukurannya menggunakan ayakan 35 mesh sehingga diperoleh bubuk kulit melinjo merah. Bubuk kulit melinjo merah diekstraksi dengan pelarut etil asetat dengan rasio bubuk dan pelarut 1:4. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 110 rpm. Hasil ekstraksi disaring diperoleh filtrat dan ampas. Ampas dibuang, filtrat diuapkan pelarutnya menggunakan

alat *rotary evaporator* pada suhu 55°C, kemudian dihembuskan gas nitrogen sehingga diperoleh ekstrak etil asetat kulit melinjo merah.

Uji Aktivitas Antimikroba Metode Difusi Sumur

Uji aktivitas antimikroba dengan metode difusi sumur dilakukan berdasarkan metode dari Misna & Diana (2016) dan Dewi *et al.* (2012) dengan modifikasi. Konsentrasi ekstrak etil asetat kulit melinjo merah 0, 4, 8, 12, dan 16% dan dikontakkan pada media NA berisi mikroba uji. Cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, dan diameter zona hambat diukur.

Penentuan Komponen Fitokimia Kualitatif

Penentuan komponen fitokimia secara kualitatif meliputi flavonoid (Nugrahani *et al.*, 2016), fenolik (Tamilselvi *et al.*, 2012), alkaloid (Syafitri *et al.*, 2014), steroid dan triterpenoid (Syafitri *et al.*, 2014), terpenoid (Ergina *et al.*, 2014), tanin (Syafitri *et al.*, 2014), saponin (Asmara, 2017; Syafitri *et al.*, 2014), dan glikosida (Depkes RI, 1989).

Uji Perbandingan Aktivitas Antimikroba Ekstrak Terpilih dengan Antibiotik

Uji perbandingan aktivitas antimikroba ekstrak dengan antibiotik dilakukan dengan metode difusi sumur (Octavia, 2010). Antibiotik yang digunakan adalah penisilin G dan kolistin. Prosedur yang digunakan sama dengan prosedur

pengujian aktivitas antimikroba difusi sumur (Dewi *et al.*, 2012). Untuk sampel antibiotik, digunakan konsentrasi 10, 100, dan 1.000 ppm lalu dimasukkan ke dalam sumur berdiameter 6 mm sebanyak 60 µL pada media *Nutrient Agar* (NA). Cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, dan diameter zona hambat diukur.

Uji Stabilitas Ekstrak Terpilih pada Berbagai pH, Suhu Pemanasan, Konsentrasi Garam, dan Gula

Pengujian stabilitas ekstrak terpilih pada berbagai pH dilakukan dengan mencampur ekstrak terpilih dengan larutan pada pH 4, 5, 6, dan 7, lalu aktivitas antimikroba diuji dengan metode difusi sumur (Ardiansyah *et al.*, 2003).

Pengujian stabilitas ekstrak terpilih pada berbagai suhu pemanasan dilakukan dengan memanaskan ekstrak pada suhu 65, 75, 85, dan 95°C selama 30 menit menggunakan *waterbath*. Selanjutnya ekstrak diuji aktivitas antimikrobanya dengan metode difusi sumur (Ardiansyah, 2002 dengan modifikasi).

Pengujian stabilitas ekstrak terpilih pada berbagai konsentrasi garam dilakukan dengan mencampurkan ekstrak terpilih ke dalam larutan garam steril dengan konsentrasi: 1, 2, 3, 4, dan 5%, Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan dengan metode difusi sumur (Ardiansyah *et al.*, 2003).

Pengujian stabilitas ekstrak terpilih pada berbagai konsentrasi gula dilakukan dengan melarutkan ekstrak terpilih ke dalam larutan gula dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50%. Aktivitas antimikroba diuji dengan metode difusi sumur (Ardiansyah, 2002).

Atomic Absorption Spectroscopy (AAS)

Atomic Absorption Spectroscopy (AAS) dilakukan berdasarkan metode dari Parhusip & Sitanggang (2011) dengan modifikasi. Ekstrak etil asetat kulit melinjo merah ditambahkan ke dalam kultur bakteri sebanyak 12%, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Jumlah ion Ca^{2+} dianalisis dengan alat AAS pada panjang gelombang 422,7 nm, ion K^{+} pada panjang gelombang 766,5 nm, dan ion Mg^{2+} pada panjang gelombang 285,2 nm.

Scanning Electron Microscope (SEM)

Scanning Electron Microscope (SEM) dilakukan berdasarkan metode dari Parhusip & Sitanggang (2011) dengan modifikasi. Kultur bakteri yang sudah disegarkan dalam media NB pada suhu 37°C selama 24 jam, ditambahkan dengan ekstrak etil asetat kulit melinjo merah sebanyak 12%. Campuran di *vortex* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya, sampel dimasukkan ke dalam alat *centrifuge* pada kecepatan 15.000 rpm selama 7 menit sehingga diperoleh endapan dan filtrat.

Filtrat dibuang, sedangkan endapan di analisis SEM. Endapan dioleskan pada plat yang dilapisi karbon. Kemudian, plat dilapisi dengan emas pada kondisi vakum, dan sampel sudah siap dimasukkan ke dalam alat SEM.

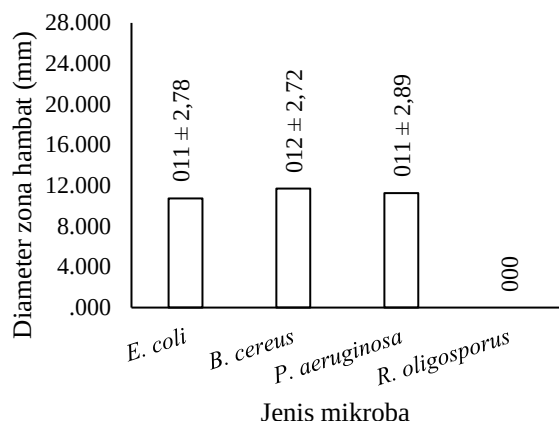
HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak Etil Asetat Kulit Melinjo Merah

Persentase kulit pada buah melinjo merah adalah 36,10%. Kadar air kulit melinjo merah segar dengan kadar air 73,30% turun menjadi 5,58% setelah dikeringkan. Dalam proses pembuatan bubuk, rendemen yang dihasilkan sebesar 89,24%, dengan kadar air sebesar 9,87%. Rendemen ekstrak sebesar 1,41%.

Uji Aktivitas Antimikroba

Ekstrak etil asetat kulit melinjo merah dapat menghambat bakteri *E. coli*, *B. cereus*, dan *P. aeruginosa*, namun tidak dapat menghambat kapang *R. oligosporus* (Gambar 1). Kapang *R. oligosporus* tidak dapat dihambat oleh ekstrak etil asetat kulit melinjo merah karena ergosterol, yaitu sterol yang hanya terdapat pada membran fungi. Interaksi antara minyak esensial dan ergosterol akan menyebabkan kerusakan pada membran sel, sehingga isi sel fungi keluar (de Lira Mota *et al.*, 2012). Kemungkinan di dalam kulit melinjo merah tidak mengandung minyak esensial.

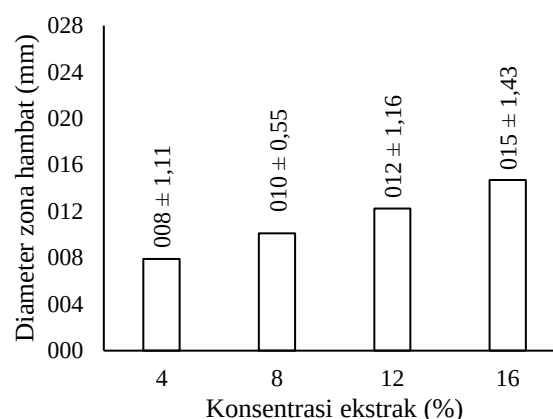


Gambar 1. Diameter zona hambat ekstrak etil asetat kulit melinjo merah terhadap empat jenis mikroba

Diameter zona hambat bakteri Gram negatif (*E. coli* dan *P. aeruginosa*) lebih rendah dibandingkan bakteri Gram positif (*B. cereus*). Bakteri Gram negatif terdiri atas dua membran (bagian dalam dan luar) yang mengapit satu lapis peptidoglikan. Membran dalam bakteri Gram negatif sama seperti membran plasma bakteri Gram positif yang tersusun atas fosfolipid dan protein. Sementara, membran luar bakteri Gram negatif tersusun atas lipoprotein dan glikolipid (terdapat lipopolisakarida di luar) yang tidak terdapat pada membran plasma (Baurain *et al.*, 2016). Menurut Parhusip & Sitanggang (2011), membran sel luar akan menghambat komponen antimikroba untuk berdifusi ke dalam membran peptidoglikan dan sel bakteri.

Gambar 2 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka diameter zona hambat cenderung semakin besar. Hal ini dapat disebabkan oleh semakin banyak komponen antimikroba yang

terkandung di dalam ekstrak, sehingga diameter zona hambat yang terbentuk semakin besar. Menurut Widyasanti *et al.* (2016), diameter zona hambat lebih >20 mm termasuk sangat kuat, diameter zona hambat 10-20 mm kategori kuat, diameter zona hambat 5-10 mm kategori sedang, dan diameter zona hambat 5 mm atau kurang termasuk kategori lemah. Sehingga ekstrak etil asetat kulit melinjo merah sudah termasuk ke dalam kategori kuat. Demi efisiensi, maka ditentukan ekstrak dengan konsentrasi terpilih sebesar 12%.



Gambar 2. Diameter zona hambat ekstrak etil asetat kulit melinjo merah pada berbagai konsentrasi

Nilai MIC, MBC, dan MFC Ekstrak

Penghambatan ekstrak etil asetat kulit melinjo merah lebih efektif pada bakteri Gram positif (*B. cereus*) dibandingkan Gram negatif (*E. coli*, dan *P. aeruginosa*) (Tabel 1). Hal ini disebabkan karena membran luar bakteri Gram negati menghambat komponen antimikroba berdifusi ke dalam membran peptidoglikan dan sel bakteri (Baurain *et al.*, 2016; Parhusip & Sitanggang, 2011).

Ekstrak etil asetat kulit melinjo memiliki nilai MIC dan MBC terhadap bakteri *P. aeruginosa* sebesar 1,36 dan 5,43%, lebih besar dibandingkan nilai MIC dan MBC yang diperoleh. Semakin banyak komponen antimikroba pada tumbuhan, maka nilai MIC dan MBC akan semakin rendah. Semakin rendah nilai MIC dan MBC menunjukkan bahwa komponen tersebut memiliki daya hambat yang besar.

Tabel 1. Nilai MIC, MBC, dan MFC ekstrak etil asetat kulit melinjo merah terhadap 4 jenis mikroba

Mikroba	MIC (%)	MBC (%)	MFC (%)
<i>E. coli</i>	0,69	2,76	-
<i>B. cereus</i>	0,50	2,00	-
<i>P. aeruginosa</i>	0,67	2,68	-
<i>R. oligosporus</i>	-	-	0

Tabel 2. Hasil analisis kualitatif fitokimia ekstrak etil asetat kulit melinjo merah

Uji Fitokimia	Hasil Analisis
Alkaloid	+
Saponin	+
Tanin	-
Fenolik	+
Flavonoid	+
Triterpenoid	-
Steroid	-
Glikosida	+

Keterangan: + = ada; - = tidak ada

Analisis Kualitatif Komponen Fitokimia Ekstrak

Hasil analisis komponen fitokimia ekstrak dapat dilihat pada Tabel 2. Analisis komponen fitokimia secara kualitatif pada ekstrak etil asetat kulit melinjo merah menunjukkan hasil positif terhadap alkaloid, saponin, fenolik, flavonoid, dan glikosida. Keberadaan komponen-komponen tersebut

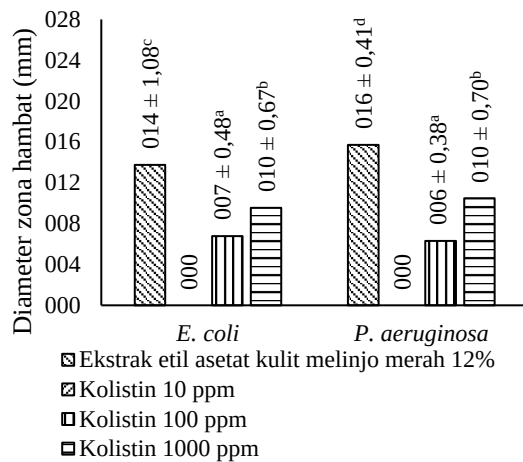
menunjukkan bahwa etil asetat mampu mengekstrak berdasarkan polaritasnya. Menurut Widyawati *et al.* (2014), etil asetat merupakan pelarut semipolar yang dapat mengekstrak komponen alkaloid, aglikon, glikosida, sterol, terpenoid, dan flavonoid.

Perbandingan Ekstrak Terpilih dengan Antibiotik

Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan nyata ($p < 0,05$) diameter zona hambat antibiotik kolistin konsentrasi 1000 ppm dengan ekstrak etil asetat kulit melinjo merah terpilih (12%) (Gambar 3). Ekstrak etil asetat kulit melinjo merah memiliki diameter zona hambat 1,44 kali lebih besar dibandingkan antibiotik kolistin pada konsentrasi 1000 ppm terhadap bakteri *E. coli*, dan 1,50 kali lebih besar terhadap bakteri *P. aeruginosa*. Secara keseluruhan, diameter zona hambat ekstrak etil asetat kulit melinjo merah 1,47 kali lebih besar dibandingkan antibiotik kolistin pada konsentrasi 1000 ppm.

Kolistin atau polimiksin E bersifat amfifatik (memiliki bagian yang polar dan nonpolar), dan berinteraksi seperti detergen terhadap membran sel, yang dapat mengganggu struktur membran sel. Ikatan antara polipeptida kationik (kolistin) dengan lipopolisakarida anionik (membran luar sel bakteri Gram negatif) menyebabkan membran sel bakteri terganggu. Kolistin menggantikan magnesium dan kalsium (ion

yang berfungsi menstabilkan molekul lipopolisakarida) pada lipopolisakarida anionik, mengakibatkan struktur membran sel menjadi tidak stabil, permeabilitas sel meningkat, kebocoran isi sel, dan kematian sel (Conly & Johnston, 2006).

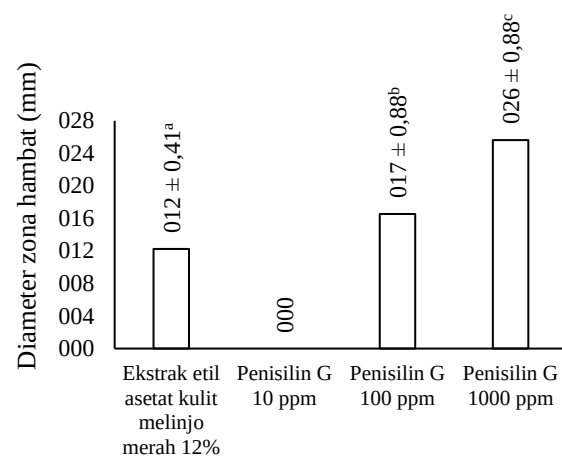


Gambar 3. Diameter zona hambat ekstrak etil asetat kulit melinjo merah terpilih dibandingkan dengan antibiotik kolistin

Keterangan: Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata pada $\alpha = 5\%$

Hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata ($p < 0,05$) antara diameter zona hambat antibiotik penisilin G konsentrasi 1000 ppm dengan ekstrak etil asetat kulit melinjo merah terpilih (12%). Berdasarkan Gambar 4, diketahui bahwa ekstrak etil asetat kulit melinjo merah memiliki diameter zona hambat 0,74 kali lebih kecil dibandingkan 100 ppm antibiotik penisilin G terhadap bakteri *B. cereus*. Antibiotik Penisilin G bekerja sebagai inhibitor enzim transpeptidase, yaitu PBPs, enzim yang berfungsi untuk membuat dinding sel bakteri (Dowling *et al.*, 2017). Penisilin memiliki struktur analog berupa D-

alanyl-D-alanyl, sehingga dapat berikatan dengan enzim transpeptidase (struktur acyl-D-alanyl-D-alanyl) yang berfungsi sebagai katalis pada reaksi *cross-linking*. Hal ini akan menyebabkan fungsi PBPs terhambat, sehingga dinding sel tidak dapat terbentuk (Canzani & Aldeek, 2017).



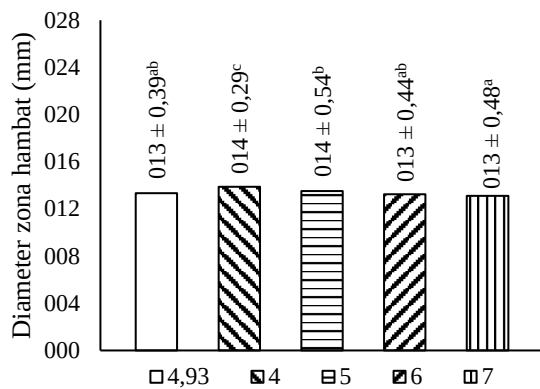
Gambar 4. Diameter zona hambat ekstrak etil asetat kulit melinjo merah terpilih dibandingkan dengan antibiotik Penisilin G

Keterangan: Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata pada $\alpha = 5\%$

Stabilitas Ekstrak Terpilih terhadap pH

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap diameter zona hambat. Berdasarkan Gambar 5 dapat dilihat bahwa pada kondisi pH 4 ekstrak etil asetat kulit melinjo merah terpilih memiliki diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan pada kondisi pH 7. Hal ini menunjukkan semakin rendah pH, maka diameter zona hambat ekstrak etil asetat kulit melinjo merah semakin besar. Hasil ini sesuai dengan penelitian Cepeda (2015), yaitu ekstrak etil asetat kulit kayu akway memiliki diameter zona hambat yang

lebih besar pada pH 4 dibandingkan pH 7. Menurut Ray (2001), kondisi asam dapat menurunkan pH sitoplasma sel bakteri, sehingga dapat mengganggu aktivitas enzim dalam sel, dan transportasi nutrisi melalui membran sel. Alakomi (2000) menambahkan, asam dapat menyebabkan kerusakan membran luar sel dan senyawa antibakteri yang bersifat hidrofobik lebih mudah berpenetrasi ke dalam sel.



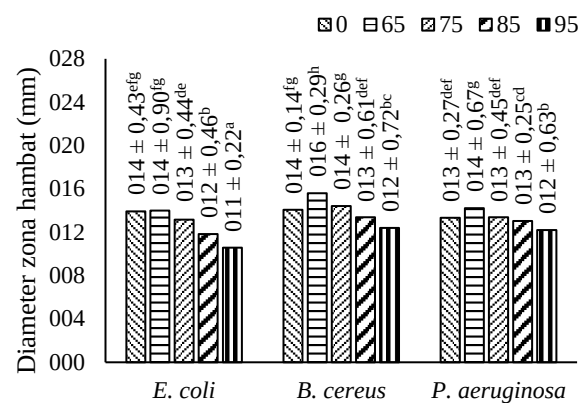
Gambar 5. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak etil asetat kulit melinjo merah terpilih pada berbagai pH terhadap bakteri *E. coli*, *B. cereus*, dan *P. aeruginosa*

Keterangan: Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata pada $\alpha = 5\%$

Stabilitas Ekstrak Terpilih pada Suhu Pemanasan

Hasil analisis menunjukkan bahwa interaksi antara jenis bakteri dan suhu pemanasan berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap diameter zona hambat. Gambar 6 menunjukkan diameter zona hambat ekstrak etil asetat kulit melinjo merah pada berbagai suhu pemanasan. Ekstrak yang dipanaskan pada suhu 65°C memiliki diameter zona hambat paling besar dibandingkan

perlakuan lain dan kontrol. Peningkatan diameter zona hambat pada suhu 65°C kemungkinan karena kandungan flavonoid menjadi aktif hingga pemanasan pada suhu 70°C (Jahan *et al.*, 2015). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian, di mana pemanasan pada suhu 75, 85, dan 95°C akan merusak struktur komponen aktif, sehingga penghambatan akan cenderung menurun.



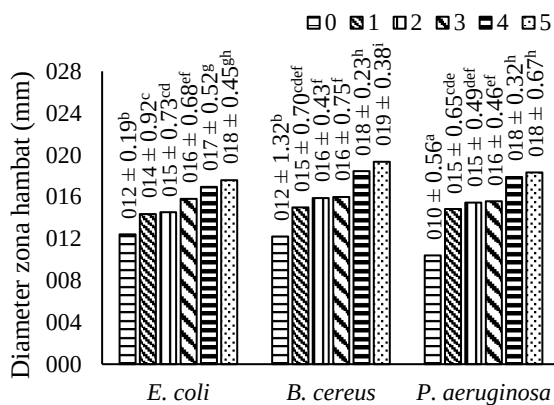
Gambar 6. Diameter zona hambat ekstrak etil asetat kulit melinjo merah terpilih terhadap bakteri *E. coli*, *B. cereus*, dan *P. aeruginosa* pada berbagai suhu pemanasan

Keterangan: Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata pada $\alpha = 5\%$

Ekstrak yang dipanaskan pada suhu 95°C memiliki diameter zona hambat paling kecil, yang menandakan adanya kerusakan komponen antimikroba. Hasil ini sesuai dengan penelitian Kim *et al.* (2002), di mana ekstrak bawang putih yang dipanaskan pada suhu 100°C tidak memiliki diameter zona hambat dibandingkan dengan ekstrak yang dipanaskan pada suhu 65°C. Settharaksa *et al.* (2012) menyatakan bahwa semakin tinggi suhu pemanasan, maka komponen flavonoid akan semakin rusak.

Stabilitas Ekstrak Terpilih terhadap Konsentrasi Garam

Hasil penelitian membuktikan interaksi antara jenis mikroba dengan konsentrasi garam berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap diameter zona hambat. Gambar 7 menunjukkan diameter zona hambat ekstrak etil asetat kulit melinjo merah terpilih terhadap bakteri *E. coli*, *B. cereus*, dan *P. aeruginosa* pada berbagai konsentrasi garam. Terdapat sinergisme ekstrak etil asetat kulit melinjo merah dengan konsentrasi garam.



Gambar 7. Diameter zona hambat ekstrak etil asetat kulit melinjo merah terpilih terhadap bakteri *E. coli*, *B. cereus*, dan *P. aeruginosa* pada berbagai konsentrasi garam (0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%)

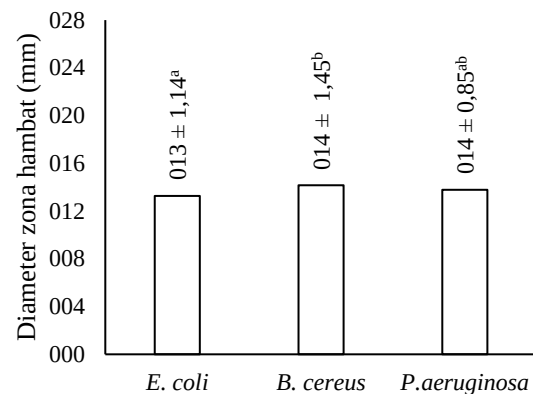
Keterangan: Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata pada $\alpha = 5\%$

Amalia (2016) menyatakan bahwa garam memiliki sifat bakterisid (daya membunuh) dan bakteriostatik (daya menghambat). Garam akan menghambat kegiatan bakteriologis dan enzimatis pada mikroba. Garam NaCl dapat meningkatkan tekanan osmotik substrat, sehingga air di

dalam sel akan keluar, sel mengkerut, dan aktivitas mikroorganisme terhambat. Selain itu, NaCl juga dapat menyebabkan denaturasi protein. Ionisasi garam NaCl akan menghasilkan ion klor yang bersifat racun bagi mikroorganisme, dan dapat memblokir sistem pernapasannya.

Stabilitas Ekstrak Terpilih terhadap Konsentrasi Gula

Hasil penelitian menunjukkan diameter zona hambat ekstrak etil asetat kulit melinjo merah terhadap bakteri *E. coli*, *P. aeruginosa*, dan *B. cereus* (Gambar 8).



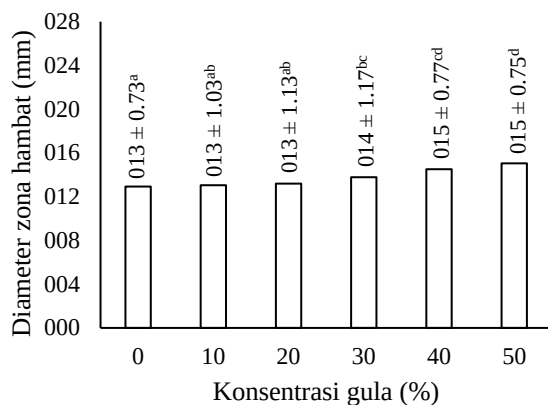
Gambar 8. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak etil asetat kulit melinjo merah terhadap bakteri *E. coli*, *B. cereus*, dan *P. aeruginosa* pada berbagai konsentrasi gula

Keterangan: Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata pada $\alpha = 5\%$

Rata-rata diameter zona hambat pada bakteri Gram negatif (*E. coli* dan *P. aeruginosa*) lebih kecil dibandingkan bakteri Gram positif (*B. cereus*). Hal ini disebabkan karena membran sel luar pada bakteri Gram negatif dapat menghambat komponen antimikroba untuk berdifusi ke dalam membran peptidoglikan dan sel

bakteri (Parhusip & Sitanggang, 2011). Adanya ikatan gula menyebabkan komponen flavonoid lebih mudah larut dalam air, sehingga fraksi etil asetat lebih mudah berdifusi dan berpenetrasi ke dinding sel bakteri *B. cereus* yang mengandung protein (polar), fosfolipid dan lipoprotein (nonpolar) (Naufalin & Rukmini, 2017).

Semakin tinggi konsentrasi gula, maka diameter zona hambat ekstrak etil asetat kulit melinjo merah semakin besar (Gambar 9). Menurut Naufalin & Herastuti (2013), larutan gula dengan konsentrasi 10% dapat meningkatkan tekanan osmotik, sehingga air di dalam sel akan keluar. Sel pun akan kekurangan air dan dapat menyebabkan kematian sel karena lisis.



Gambar 9. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak etil asetat kulit melinjo merah pada berbagai konsentrasi gula terhadap bakteri *E. coli*, *B. cereus*, dan *P. aeruginosa*

Keterangan: Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata pada $\alpha = 5\%$

Hendritomo (2003) menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi gula akan berdampak terhadap meningkatnya tekanan osmotik pada bagian luar sel, sehingga air di

dalam sel akan keluar, dan menyebabkan kematian sel karena lisis. Naufalin & Rukmini (2017) menambahkan, jika tekanan osmotik pada bagian luar sel lebih tinggi dibandingkan isi sel karena penambahan gula, maka air di dalam sel akan tertarik keluar, menyebabkan membran sitoplasma terlepas dari dinding sel (plasmolisis). Keluarnya air dari dalam sel akan menyebabkan sel menjadi berkerut.

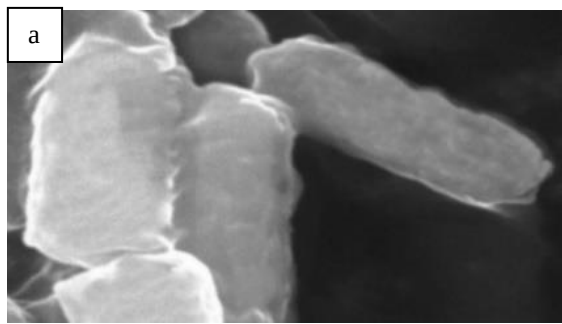
Analisis Kebocoran Ion dengan AAS

Tabel 3 menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat kulit melinjo merah dapat merusak membran sel dan menyebabkan kebocoran sel pada *E. coli*, *B. cereus*, dan *P. aeruginosa*.

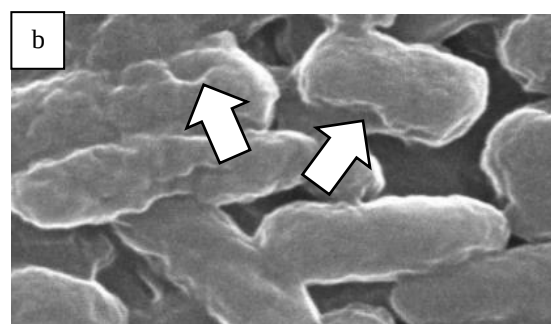
Tabel 3. Hasil analisis AAS terhadap bakteri *E. coli*, *B. cereus*, dan *P. aeruginosa* setelah mengalami kontak dengan ekstrak etil asetat kulit melinjo merah terpilih

Mikroba	Jumlah Ca^{2+} (mg/L)	Jumlah Mg^{2+} (mg/L)	Jumlah K^{+} (mg/L)
<i>E. coli</i>	79,0	41,2	314
<i>B. cereus</i>	84,2	33,3	348
<i>P. aeruginosa</i>	82,0	31,3	327

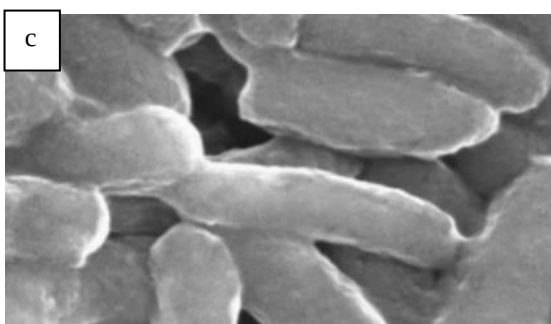
Ion-ion yang terdapat pada bakteri adalah Na^{+} , K^{+} , Ca^{2+} , dan Mg^{2+} (Sepulveda dan Bezanilla, 2005). Ion K^{+} terdapat pada membran sitoplasma dan berperan dalam transport membran (Batt dan Tortorello, 2014). Ion Ca^{2+} berfungsi sebagai pengantar pesan, yang membawa sinyal dari permukaan ke bagian dalam sel (Dominiguez, 2004). Sementara, ion Mg^{2+} berfungsi sebagai komponen penyusun membran sel (Brown, 2010).



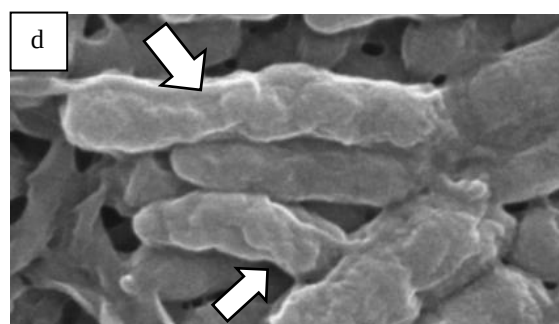
Perbesaran : 40.000x
Bentuk : batang
Kondisi : normal (permukaan halus)



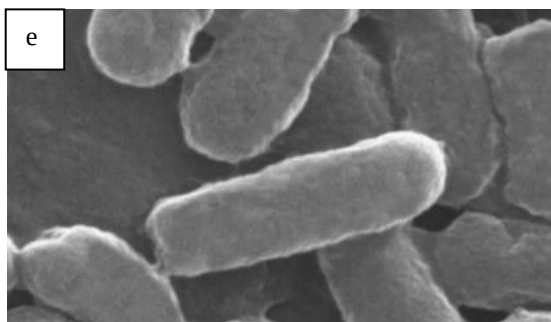
Perbesaran : 40.000x
Bentuk : batang
Kondisi : berkerut dan bengkak



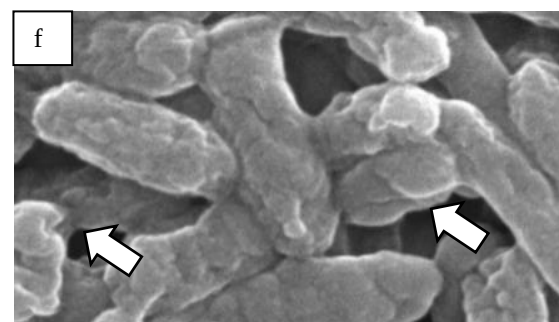
Perbesaran : 40.000x
Bentuk : batang
Kondisi : normal (permukaan halus)



Perbesaran : 40.000x
Bentuk : batang
Kondisi : berkerut, bengkak, dan terjadi elongasi



Perbesaran : 40.000x
Bentuk : batang
Kondisi : normal (permukaan halus)



Perbesaran : 40.000x
Bentuk : batang
Kondisi : berkerut dan bengkak

Keterangan:

Bakteri *E. coli* sebelum (a) dan sesudah (b) mengalami kontak dengan ekstrak
Bakteri *B. cereus* sebelum (c) dan sesudah (d) mengalami kontak dengan ekstrak
Bakteri *P. aeruginosa* sebelum (e) dan sesudah (f) mengalami kontak dengan ekstrak

Gambar 10. Hasil analisis SEM pada bakteri *E. coli*, *B. cereus*, dan *P. aeruginosa* sebelum dan sesudah mengalami kontak dengan ekstrak etil asetat kulit melinjo merah

Analisis SEM

Sel bakteri sebelum mengalami kontak dengan ekstrak etil asetat kulit melinjo

merah memiliki bentuk sel yang tampak normal, dengan permukaan yang halus (Gambar 10a, 10c, dan 10e). Namun, setelah

mengalami kontak dengan ekstrak selama 24 jam, terjadi kerusakan pada sel. Kerusakan tersebut meliputi pengkerutan sel, pembengkakan sel, permukaan sel yang cenderung kasar, bentuk tidak beraturan (Gambar 10b, 10d, dan 10f), dan terjadi elongasi (10d). Kerusakan morfologi sel bakteri didukung pula dengan hasil analisis AAS pada Tabel 3, yang menunjukkan terjadinya kebocoran sel sehingga ion Ca^{2+} , Mg^{2+} , dan K^{+} keluar dari bakteri yang sudah mengalami kontak dengan ekstrak.

Pada bakteri *E. coli* dan *P. aeruginosa*, hanya terjadi pengkerutan dan pembengkakan sel setelah mengalami kontak dengan ekstrak (Gambar 10b dan 10f). Namun, pada bakteri *B. cereus* terjadi pengkerutan, pembengkakan, dan elongasi sel setelah mengalami kontak dengan ekstrak (Gambar 10d). Pengkerutan sel bakteri dapat dikarenakan komponen antimikroba yang masuk akibat meningkatnya permeabilitas membran sel, dan merusak struktur membran sel. Komponen-komponen fitokimia yang terkandung dalam ekstrak yang menyebabkan kerusakan membran sel adalah alkaloid (Hendriko et al., 2024), Darsana et al., 2012), saponin (Harborne, 2006), fenolik (Char et al., 2010), dan flavonoid (Nuria et al., 2009). Menurut Octavia (2010), sel bakteri yang mengkerut disebabkan oleh adanya perbedaan tekanan

osmotik, menyebabkan cairan sitoplasma dalam sel keluar, sehingga sel mengalami krenasi (pengkerutan sel). Sementara, bentuk sel bakteri yang mengalami perubahan disebabkan oleh ekstrak etil asetat kulit melinjo merah yang berpenetrasi dan menyebabkan pembengkakan pada sel bakteri (Hendriko et al., 2024).

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat kulit melinjo merah dapat menghambat bakteri *E. coli*, *B. cereus*, dan *P. aeruginosa*, namun tidak dapat menghambat kapang *R. oligosporus*. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak etil asetat kulit melinjo merah dengan konsentrasi 4, 8, 12, dan 16% terhadap bakteri *E. coli*, *B. cereus*, dan *P. aeruginosa* berturut-turut adalah 10,74 mm, 11,70 mm, dan 11,27 mm. Nilai MIC ekstrak etil asetat kulit melinjo merah terhadap *E. coli*, *B. cereus*, dan *P. aeruginosa* berturut-turut adalah 0,69%, 0,50%, dan 0,67%. Sementara, nilai MBC berturut-turut adalah 2,76%, 2,00%, dan 2,68%. Ekstrak etil asetat kulit melinjo merah dengan konsentrasi 12% terpilih untuk digunakan pada penelitian selanjutnya. Komponen fitokimia yang terdapat pada ekstrak etil asetat kulit melinjo merah adalah alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, dan glikosida. Kelima komponen tersebut memiliki sifat antimikroba.

Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat kulit melinjo merah terpilih (12%) terhadap antibiotik kolistin (1000 ppm) 1,47 kali lebih besar, sementara dengan penisilin G (100 ppm) 0,74 kali lebih kecil. Ekstrak etil asetat kulit melinjo merah terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar pada pH 4 dibandingkan pH 7. Pemanasan pada suhu 65°C akan meningkatkan aktivitas antibakteri, namun pada suhu 75, 85, dan 95°C komponen fitokimia akan rusak, sehingga diameter zona hambatnya semakin kecil. Penambahan garam hingga 5% dan gula hingga 50% terbukti dapat meningkatkan aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat kulit melinjo merah.

Hasil pengujian AAS menunjukkan bahwa bakteri *E. coli*, *P. aeruginosa*, dan *B. cereus* mengalami kebocoran sel setelah mengalami kontak dengan ekstrak etil asetat kulit melinjo merah. Ion-ion Ca^{2+} , Mg^{2+} , dan K^+ terlepas dari membran sel bakteri. Akibat kontak ekstrak terpilih dengan bakteri, menyebabkan kerusakan yang dibuktikan dengan analisis SEM, di mana terjadi pengkerutan, pembengkakan, elongasi dan permukaan sel menjadi tidak rata.

SARAN

Saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya adalah untuk melakukan pengujian fitokimia secara kuantitatif, sehingga dapat diketahui kadar

alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, dan alkaloid. Dalam pengujian stabilitas terhadap suhu pemanasan, perlakuan suhu dan waktu pemanasan dapat ditambahkan. Selain itu, diperlukan pengujian melinjo secara *in vivo* terhadap hewan percobaan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan (B218), Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Pelita Harapan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alakomi, H. L., Skytta, E., Saarela, M., Mattila-Sandholm, T., Latva-Kalla, K., & Helander, I. M. (2000). Lactic acid permeabilizes Gram-negative bacteria by disrupting the outer membran. *Journal of Applied Environmental Microbiology*, 66(5), 2001-2005.
<https://doi.org/10.1128/AEM.66.5.2001-2005.2000>
- Amalia, Dwiyantri, R. D., & Haitami. (2016). Daya hambat NaCl terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Medical Laboratory Technology Journal*, 2(2), 42-45.
<https://doi.org/10.31964/mltj.v2i2.125>
- Ardiansyah. (2002). *Kajian aktivitas antimikroba ekstrak daun beluntas (Plucea indica L.)* [Master's Thesis]. Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
- Ardiansyah, Nuraida, L., & Andarwulan, N. (2003). Aktivitas antimikroba ekstrak daun beluntas (*Plucea indica* L.) dan stabilitas aktivitasnya pada

- berbagai konsentrasi garam dan tingkat pH. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 14(2), 90-97.
- Asmara, A. P. (2017). Uji fitokimia senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak metanol bunga turi merah (*Sesbania grandiflora* L. Pers). *Jurnal Al-Kimia*, 5(1), 48-59. <https://doi.org/10.24252/al-kimia.v5i1.2856>
- Baurain, D., Wilmotte, A., & Frere, J. (2016). Gram-negative bacteria: “inner” vs. “cytoplasmic” or “plasma membrane”: a question of clarity rather than vocabulary. *Journal of Microbial and Biochemical Technology*, 8(4), 325-326. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000305>
- Badan Pusat Statistik. (2015). *Statistik Tanaman Buah-buahan dan Sayuran Tahunan*. Badan Pusat Statistik, Jakarta.
- Canzani, D., & Aldeek, F. (2017). Penicillin G's function, metabolites, allergy, and resistance. *Journal of Nutrition and Human Health*, 1(1), 28-40. <https://doi.org/10.35841/nutrition-human-health.1.1.28-40>
- Cepeda, G. N., Lisangan, M. M., & Silamba, I. (2015). Aktivitas antibakteri ekstrak kulit kayu akway (*Drimys piperita* Hook f.) terhadap bakteri patogen. *Agritech*, 35(2), 170-177. <https://doi.org/10.22146/agritech.9403>
- Conly, J. M., & Johnston, B. L. (2006). Colistin: The phoenix arises. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 17(5), 267-269. <https://doi.org/10.1155/2006/901873>
- de Lira Mota, K. S., de Oliveira Pereira, F., de Oliveira, W. A., Lima, I. O., & de Oliveira Lima, E. (2012). Antifungal activity of *Thymus vulgaris* L. essential oil and its constituent phytochemicals against *Rhizopus oryzae*: Interaction with ergosterol. *Molecules*, 17(12), 14418-14433. <https://doi.org/10.3390/molecules171214418>
- Dewi, C., Utami, R., & Parnanto, N. H. R. (2012). Aktivitas antioksidan dan antimikroba ekstrak melinjo (*Gnetum gnemon* L.). *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 5(2), 74-81.
- Dowling, A., Dwyer, J. O., & Adley, C. C. (2017). Antibiotics: Mode of action and mechanisms of resistance. In Mendez-Vilaz, A. (Ed.), *Antimicrobial research: Novel bioknowledge and educational programs* (pp. 536-545). Formatex Research Center.
- Ergina, Nuryanti, S., & Pursitasari, I. D. (2014). Uji kualitatif senyawa metabolit sekunder pada daun palado (*Agave angustifolia*) yang diekstraksi dengan pelarut air dan etanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 4(3), 165-172.
- Gyawali, R., & Ibrahim, S. A. (2014). Natural products as antimicrobial agents. *Food Control*, 46, 412-429. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.047>
- Hendritomo, H. I. (2003). Perubahan mutu kecap skala industri rumah tangga selama tiga bulan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 14(3).
- Hendriko, A., Parhusip, A. J. N., Juwono, A. L., Budiman, I., & Natalie, B. (2024). Mechanism and stability of antimicrobial activity of *Zingiber*

- cassumunar Roxb. rhizome extract against foodborne pathogenic microorganisms. *Food Biophysics*. <https://doi.org/10.1007/s11483-024-09841-x>
- Jahan, N., Islam, M. A. Alam, F., Gan, S. H., & Khalil, M. I. (2015). Prolonged heating of honey increases its antioxidant potential but decreases its antimicrobial activity. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 12(4), 134-144. <https://doi.org/10.21010/ajtcam.v12i4.20>
- Kato E., Tokunaga Y., & Sakan F. (2009). Stilbenoids isolated from the seeds of melinjo (*Gnetum gnemon* L.) and their biological activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(6), 2544-2549. <https://doi.org/10.1021/jf803077p>
- Kim, J. Y., Lee, Y. C., & Kim, K. S. (2002). Effect of heat treatments on the antimicrobial activities of garlic (*Allium sativum*). *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 12(2), 331-335.
- Misna, & Diana, K. (2016). Aktivitas antibakteri ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi Galenika*, 2(2), 138-144. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2016.v2.i2.5990>
- Naufalin, R., & Herastuti, S. R. (2013). Microcapsule application of kecombrang flower extract: Effect of concentration, type of fraction, pH of medium and NaCl on microbiological properties of minced beef. *Animal Production*, 15(1), 8-14.
- Naufalin, R., & Rukmini, H. S. (2017). Antibacterial activity of kecombrang flower extract (*Nicolaia speciosa*) microencapsulation with food additive materials formulation. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 102, 012035. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/102/1/012035>
- Octavia, J. (2010). Analisis kerusakan sel mikroba patogen akibat aktivitas antimikroba ekstrak biji dan kulit melinjo (*Gnetum gnemon* L.) [Bachelor's Thesis]. Universitas Pelita Harapan, Karawaci, Indonesia.
- Parhusip, A. J. N., & Sitanggang, A. B. (2011). Antimicrobial activity of melinjo seed and peel extract (*Gnetum gnemon*) against selected pathogenic bacteria. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, 5(3), 103-112. <https://doi.org/10.5454/mi.5.3.2>
- Ray, B. (2001). *Fundamental food microbiology*. (2nd ed.). CRC Press.
- Setharaksa, S., Jongjareonrak, A., Hmadhlu, P., Chansuwan, W., & Siripongvutikorn, S. (2012). Flavonoid, phenolic contents and antioxidant properties of thai hot curry paste extract and its ingredients as affected of pH, solvent types and high temperature. *International Food Research Journal*, 19(4), 1581-1587.
- Siregar, T. M., Cornelia, M. Ermiziar, T., & Saragih, R. (2009). *Studi kandungan karotenoid, vitamin C dan aktivitas antioksidan kulit melinjo (Gnetum gnemon L.)*. Prosiding Seminar Nasional PATPI. Jakarta, Indonesia.

- Syafitri, N. E., Bintang, M., & Falah, S. (2014). Kandungan fitokimia, total fenol, dan total flavonoid ekstrak buah harendong (*Melastoma affine* D. Don). *Current Biochemistry*, 1(3), 105-115.
- Tamilselvi, N., Krishnamoorthy, P., Dhamotharan, R., Arumugam, P., & Sagadevan, E. (2012). Analysis of total phenols, total tannins and screening of phytocomponents in *Indigofera aspalathoides* (Shivanar Vembu) Vahl EX DC. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4(6), 3259-3262.
- Widyasanti, A., Priantiwi, A. M., & Rohdiana, D. (2016). Aktivitas antibakteri *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae* ekstrak teh putih dalam variasi jenis pelarut. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*, 1(19), 41-56.
- Widyawati, P. S., Budianta, T. D. W., Kusuma, F. A., & Wijaya, E. L. (2014). Difference of solvent polarity to phytochemical content and antioxidant activity of *Pluchea indica* Less leaves extracts. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6(4), 850-855. <https://doi.org/10.22302/pptk.jur.jptk.v19i1.81>
- Yanuhar, U. (2016). *Mikroalga laut Nannochloropsis oculata*. UB Press.

COMPARISON OF BAGGING, BOOSTING, AND STACKING ENSEMBLE MODELS FOR AIRLINE CUSTOMER SATISFACTION ANALYSIS

[PERBANDINGAN MODEL ENSEMBLE BAGGING, BOOSTING, DAN STACKING UNTUK KEPUASAN PELANGGAN MASKAPAI PENERBANGAN]

Melvin Lee^{1*}

¹Department of Computer Science, Universitas Pelita Harapan,
Jl. Imam Bonjol No.6 Lantai 5 - 7, Petisah Tengah, Medan, Indonesia

*Corresponding author: 01671220001@student.uph.edu

ABSTRACT

By the end of COVID-19 pandemic and subsequent lockdowns last year, air travel has soared high, with an increase of 30.1% compared to last year according to one report. The rise of number of passengers means a good opportunity for the airline carriers to recoup losses due to lockdowns, and competition becomes heated as rival carriers try to lure new and old customers into their services. To remain competitive, more and more companies are turning towards machine learning to analyze large amounts of data to gain an edge towards their competitors, with ensemble learning being one of the many methods employed for the analysis work. In this study, Decision Tree, Random Forest, Boosting, and Stacking methods will be chosen for comparative study, which will be supplied with Airline Satisfaction dataset which is cleaned of null values and changing data types, for the study itself and then compared with each other using confusion matrix, precision-recall-f1-score accuracy metrics, ROC curve, and feature importances. The results have shown that while the three chosen classifiers are almost similar in their overall success rate, with Bagging method reaching 96.117%, Boosting with a rate of 96.037%, and stacking with a rate of 96.264%, overall Stacking has the highest rate among all. These results show the almost negligible differences on all three main ensemble learning methods in terms of efficacy. Additional studies with larger datasets, and more varieties of ensemble learning methods can improve the overall judgement of the results.

Keywords: airline satisfaction; bagging; boosting; ensemble learning; stacking

ABSTRAK

Dengan berakhirnya pandemi COVID-19 dan lockdown yang terjadi tahun lalu, perjalanan udara melonjak tinggi, dengan peningkatan sebesar 30,1% dibandingkan tahun lalu menurut sebuah laporan. Peningkatan jumlah penumpang berarti peluang bagus bagi maskapai penerbangan untuk menutup kerugian akibat lockdown, dan persaingan menjadi memanas ketika maskapai pesaing mencoba memikat pelanggan baru dan lama untuk menggunakan layanan mereka. Agar tetap kompetitif, semakin banyak perusahaan yang beralih ke pembelajaran mesin untuk menganalisis data dalam jumlah besar guna mendapatkan keunggulan dibandingkan pesaing mereka, dengan pembelajaran ansambel menjadi salah satu dari banyak metode yang digunakan untuk pekerjaan analisis. Dalam studi ini, metode Decision Tree, Random Forest, Boosting, dan Stacking akan dipilih untuk studi komparatif, yang akan dilengkapi dengan dataset Kepuasan Maskapai yang dibersihkan dari

nilai null dan tipe data yang berubah, untuk studi itu sendiri dan kemudian dibandingkan dengan masing-masing metode. lainnya menggunakan matriks konfusi, metrik akurasi skor recall-f1, kurva ROC, dan kepentingan fitur. Hasilnya menunjukkan bahwa meskipun ketiga pengklasifikasi yang dipilih memiliki tingkat keberhasilan keseluruhan yang hampir serupa, dengan metode Bagging mencapai 96,117%, Boosting dengan tingkat 96,037%, dan penumpukan dengan tingkat 96,264%, secara keseluruhan Penumpukan memiliki tingkat tertinggi di antara pengklasifikasi lainnya. semua. Hasil ini menunjukkan perbedaan yang hampir dapat diabaikan pada ketiga metode pembelajaran ansambel utama dalam hal kemanjuran. Studi tambahan dengan kumpulan data yang lebih besar, dan lebih banyak variasi metode pembelajaran ansambel dapat meningkatkan penilaian hasil secara keseluruhan.

Kata kunci: airline satisfaction; bagging; boosting; ensemble learning; stacking

INTRODUCTION

As of 2023, total passengers boarding airlines has increased by 30.1% compared to last year, showing strong recovery from COVID-19 pandemic and will continue to see a strong growth trend in the future (Airlines IATA, 2023), with another source predicting that global passenger traffic will fully recover by 2024 and may reach 9.4 billion passengers (Figure 1).

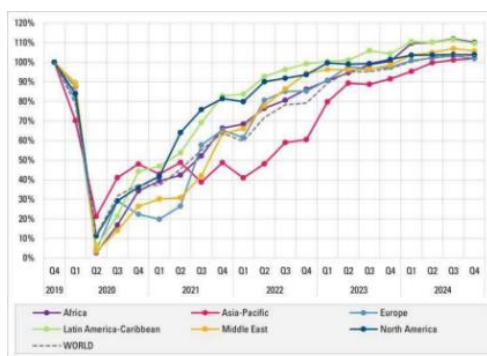


Figure 1. The passenger traffic by each region from 2019 to 2024 prediction. Source: (Airports Council International, 2023).

With the resurgence of airline traffic post-pandemic, airline industry will need to recover the losses sustained during the

lockdown era (Nair, 2023) and the competition to obtain as many passengers as possible will be challenging as industries are struggling to survive and recover (Bouwer *et al.*, 2021). To stay afloat and competitive, airlines must attract potential customers to them while building customer loyalty and recommendation, and one of the best ways to do so would be to increase customer satisfaction (Dong *et al.*, 2021).

With the complexity of identifying and analyzing the overall customer satisfaction, airline industries have turned to machine learning, specifically ensemble learning for making complex calculations and reporting on customer satisfaction analysis. Machine learning in its basic definition, describes the ability of a system to learn from given data related to analytics and solving given problems, which works by slowly learning meaningful patterns and relationships between pieces of data through examples and observations

(Janiesch *et al.*, 2021). Combining multiple machine learning algorithms will combine the output methods to perform more complex calculations for better results which is called Ensemble Learning (Zhou, 2009).

Past studies on analyses of a multi-dimensional problem have seen higher prediction accuracy using ensemble learning than single-based machine learning techniques (Akano & James, 2022), with many literature reviews on various ensemble learning techniques (Dong *et al.*, 2020). However, despite the strengths, ensemble learning process still have its weaknesses to be aware of, which despite several strategies and techniques still have limitations in terms of generalization, training difficulties, and more (Tasci *et al.*, 2021). Thus, this thesis which is titled “Comparison of Several Ensemble Models for Airline Customer Satisfaction”, will firstly explore what factors will increase airline 2 satisfaction from past studies, and then applying them into the ensemble learning study and comparison. The study will then take an airline dataset which will then be pre-processed and cleaned before using it for both model training and testing, and then building each ensemble learning methods for testing to obtain performance results, which consists of ensemble learning performance metrics, an ROC and

performance curve, and a confusion matrix, with which the results are then compared side-by-side with each ensemble learning methods to determine which among them have the best performance.

RESEARCH AND METHODOLOGY

Problem Limitations

With the problems for this study identified, the next step will be to determine what focus will this study be, thus the limitations in this thesis are thus:

1. The number of Ensemble learning techniques to be used for this study.
2. The factors of airline satisfaction will be the values and parameters in a dataset which will be used for the ensemble learning study.
3. The expected results will be the accuracy and performance scores in the form of numeric values, which are supplied with charts supporting it.
4. The ensemble learning methods will be built and tested on Jupyter Notebook, using Python programming language, with NumPy, Seaborn, and Pandas plugin to facilitate data gathering, and model building.
5. The survey responses which will be used for the data collection will have data values in either Boolean or numeric values with no open-ended questions.

Research Methodology

Dataset

For this study, the dataset “Airline Passenger Satisfaction” and containing US passenger details, modified to be more cleaned-up from a previous dataset by the author TJ Klien, is obtained from an open-source dataset website Kaggle, with their rating for each of the airline’s aspects, which will be called “training” dataset, which features 25 columns, and numbering with 103.904 records.

```
<class 'pandas.core.frame.DataFrame'>
RangeIndex: 25976 entries, 0 to 25975
Data columns (total 25 columns):
#   Column                                     Non-Null Count  Dtype
---  -
0   Unnamed: 0                               25976 non-null  int64
1   id                                         25976 non-null  int64
2   Gender                                    25976 non-null  object
3   Customer Type                             25976 non-null  object
4   Age                                        25976 non-null  int64
5   Type of Travel                            25976 non-null  object
6   Class                                     25976 non-null  object
7   Flight Distance                           25976 non-null  int64
8   Inflight wifi service                     25976 non-null  int64
9   Departure/Arrival time convenient         25976 non-null  int64
10  Ease of Online booking                    25976 non-null  int64
11  Gate location                             25976 non-null  int64
12  Food and drink                           25976 non-null  int64
13  Online boarding                           25976 non-null  int64
14  Seat comfort                              25976 non-null  int64
15  Inflight entertainment                    25976 non-null  int64
16  On-board service                          25976 non-null  int64
17  Leg room service                          25976 non-null  int64
18  Baggage handling                          25976 non-null  int64
19  Checkin service                           25976 non-null  int64
20  Inflight service                           25976 non-null  int64
21  Cleanliness                               25976 non-null  int64
22  Departure Delay in Minutes                 25976 non-null  int64
23  Arrival Delay in Minutes                   25893 non-null  float64
24  satisfaction                              25976 non-null  object
dtypes: float64(1), int64(19), object(5)
memory usage: 5.0+ MB
```

Figure 2. Dataset attributes of the dataset "test".

The second dataset that will be used for this study is the “test” dataset (Figure 2), which contains similar columns and data types as the “training” dataset (Figure 3), has several 25.977 records present inside. The “test” dataset will be used for the actual evaluation of the ensemble learning methods, while the “training” dataset will

be used for the model training for the ensemble learning methods.

```
<class 'pandas.core.frame.DataFrame'>
RangeIndex: 103904 entries, 0 to 103903
Data columns (total 25 columns):
#   Column                                     Non-Null Count  Dtype
---  -
0   Unnamed: 0                               103904 non-null  int64
1   id                                         103904 non-null  int64
2   Gender                                    103904 non-null  object
3   Customer Type                             103904 non-null  object
4   Age                                        103904 non-null  int64
5   Type of Travel                            103904 non-null  object
6   Class                                     103904 non-null  object
7   Flight Distance                           103904 non-null  int64
8   Inflight wifi service                     103904 non-null  int64
9   Departure/Arrival time convenient         103904 non-null  int64
10  Ease of Online booking                    103904 non-null  int64
11  Gate location                             103904 non-null  int64
12  Food and drink                           103904 non-null  int64
13  Online boarding                           103904 non-null  int64
14  Seat comfort                              103904 non-null  int64
15  Inflight entertainment                    103904 non-null  int64
16  On-board service                          103904 non-null  int64
17  Leg room service                          103904 non-null  int64
18  Baggage handling                          103904 non-null  int64
19  Checkin service                           103904 non-null  int64
20  Inflight service                           103904 non-null  int64
21  Cleanliness                               103904 non-null  int64
22  Departure Delay in Minutes                 103904 non-null  int64
23  Arrival Delay in Minutes                   103594 non-null  float64
24  satisfaction                              103904 non-null  object
dtypes: float64(1), int64(19), object(5)
memory usage: 19.8+ MB
```

Figure 3. Dataset for the "training" dataset

There are some unneeded columns which will be removed in the pre-processing stage later, thus the description of each column for the “training” and “test” dataset which will be used for this study is as follows:

1. Gender: contains a binary data type between male and female.
2. Customer Type: contains binary data between loyal and disloyal customers.
3. Age: contains numerical values stating the actual age of a passenger.
4. Type of Travel: contains string values of the purpose of the flight of the passenger.
5. Class: contains string values of the type of flight taken, which is either business, economy, or other.

6. Flight Distance: contains integer values showing the flight distance of the travelling to their destination.
7. Departure Delay in Minutes: measures the delay on flight departure the passenger must tolerate.
8. Arrival Delay in Minutes: measures the delay on flight arrival the passenger must tolerate.

The following column within the dataset contains numerical values ranging from 1 to 5 on the level of the satisfaction with 1 being the lowest and 5 being the highest, and values of 0 means the passenger does not rate it:

1. Inflight Wi-Fi Service: ratings of the satisfaction with Wi-Fi service onboard.
2. Departure/Arrival Time Convenient: ratings of the satisfaction with the departure/arrival time of a flight.
3. Ease of Online Booking: ratings of satisfaction on how easy it is to book a flight online.
4. Gate Location: ratings of the satisfaction of the location of the boarding gates of a flight.
5. Food and Drink: ratings of the satisfaction of the food and drinks provided on the flight.
6. Online Boarding: ratings of the satisfaction of the online boarding check in of the flight.
7. Seat Comfort: ratings of the satisfaction of how comfortable the seats in the flight are.
8. Inflight Entertainment: ratings of satisfaction on the entertainment options within the flight.
9. On-board Service: ratings of satisfaction on the services provided within the flight.
10. Leg Room Service ratings of satisfaction on the leg room services provided within the flight.
11. Baggage Handling: ratings of satisfaction on the handling of passengers' baggage by the flight.
12. Check-in Service: ratings of satisfaction on the check-in services provided by the flight.
13. Inflight Service: ratings of satisfaction on the other services provided by the flight during the flight.
14. Cleanliness: ratings of satisfaction on the overall cleanliness of the flight.

The last column consists of string values containing the overall rating of the flight by the passengers, which is divided into three types of responses: Satisfied, Neutral, and Dissatisfied.

Data Pre-Processing

While both “training” and “test” datasets have been cleaned and pre-processed to be more concise, the dataset

still contains null values, unnecessary columns and data, and improper data types which may affect the study itself, which is why this subsection will focus on further pre-pro. Figure 4 shows the dataset “training” after the data types have been fixed and Figure 5 shows the dataset “test” after the data types have been fixed. In both Figure 4 and Figure 5, the “unnamed column” together with “id” column as seen on Figure 1 has been removed, and most datatypes from number 6 to 19 have been changed into “category” data type to better fit for inputting on ensemble learning.

The next problem will be to solve the issue of missing values present on both datasets. Figure 6 shows the list of missing values on “training” dataset and Figure 7 is the “test” dataset showing the number of missing values present in the dataset. In Figure 6 and Figure 7, the number of missing values in Arrival Delay in Minutes column.

```
<class 'pandas.core.frame.DataFrame'>
RangeIndex: 103904 entries, 0 to 103903
Data columns (total 23 columns):
#   Column                                Non-Null Count  Dtype
---  -
0   Gender                                103904 non-null object
1   Customer Type                         103904 non-null object
2   Age                                   103904 non-null int64
3   Type of Travel                        103904 non-null object
4   Class                                 103904 non-null object
5   Flight Distance                       103904 non-null int64
6   Inflight wifi service                 103904 non-null category
7   Departure/Arrival time convenient    103904 non-null category
8   Ease of Online booking                103904 non-null category
9   Gate location                         103904 non-null category
10  Food and drink                       103904 non-null category
11  Online boarding                      103904 non-null category
12  Seat comfort                          103904 non-null category
13  Inflight entertainment                103904 non-null category
14  On-board service                     103904 non-null category
15  Leg room service                     103904 non-null category
16  Baggage handling                     103904 non-null category
17  Checkin service                      103904 non-null category
18  Inflight service                     103904 non-null category
19  Cleanliness                          103904 non-null category
20  Departure Delay in Minutes            103904 non-null int64
21  Arrival Delay in Minutes              103594 non-null float64
22  satisfaction                          103904 non-null object
dtypes: category(14), float64(1), int64(3), object(5)
memory usage: 8.54 MB
```

Figure 4. The data attributes of the dataset "training" after the fix.

```
<class 'pandas.core.frame.DataFrame'>
RangeIndex: 25976 entries, 0 to 25975
Data columns (total 23 columns):
#   Column                                Non-Null Count  Dtype
---  -
0   Gender                                25976 non-null object
1   Customer Type                         25976 non-null object
2   Age                                   25976 non-null int64
3   Type of Travel                        25976 non-null object
4   Class                                 25976 non-null object
5   Flight Distance                       25976 non-null int64
6   Inflight wifi service                 25976 non-null category
7   Departure/Arrival time convenient    25976 non-null category
8   Ease of Online booking                25976 non-null category
9   Gate location                         25976 non-null category
10  Food and drink                       25976 non-null category
11  Online boarding                      25976 non-null category
12  Seat comfort                          25976 non-null category
13  Inflight entertainment                25976 non-null category
14  On-board service                     25976 non-null category
15  Leg room service                     25976 non-null category
16  Baggage handling                     25976 non-null category
17  Checkin service                      25976 non-null category
18  Inflight service                     25976 non-null category
19  Cleanliness                          25976 non-null category
20  Departure Delay in Minutes            25976 non-null int64
21  Arrival Delay in Minutes              25893 non-null float64
22  satisfaction                          25976 non-null object
dtypes: category(14), float64(1), int64(3), object(5)
memory usage: 2.1+ MB
```

Figure 5. Dataset attributes of the dataset "test" after the fix.

```
[101]:
Gender                                0
Customer Type                         0
Age                                   0
Type of Travel                        0
Class                                 0
Flight Distance                       0
Inflight wifi service                 0
Departure/Arrival time convenient    0
Ease of Online booking                0
Gate location                         0
Food and drink                       0
Online boarding                      0
Seat comfort                          0
Inflight entertainment                0
On-board service                     0
Leg room service                     0
Baggage handling                     0
Checkin service                      0
Inflight service                     0
Cleanliness                          0
Departure Delay in Minutes            0
Arrival Delay in Minutes              310
satisfaction                          0
dtype: int64
```

Figure 6. The list of total missing values on each column of the "training" dataset.

```
[101]:
Gender                                0
Customer Type                         0
Age                                   0
Type of Travel                        0
Class                                 0
Flight Distance                       0
Inflight wifi service                 0
Departure/Arrival time convenient    0
Ease of Online booking                0
Gate location                         0
Food and drink                       0
Online boarding                      0
Seat comfort                          0
Inflight entertainment                0
On-board service                     0
Leg room service                     0
Baggage handling                     0
Checkin service                      0
Inflight service                     0
Cleanliness                          0
Departure Delay in Minutes            0
Arrival Delay in Minutes              310
satisfaction                          0
dtype: int64
```

Figure 7. The list of total missing values on each column of the “test” dataset.

Figure 8 is the “training” dataset after the missing values have been fixed and Figure 9 is the “test” dataset after the missing values have been fixed.

```
Gender 0
Customer Type 0
Age 0
Type of Travel 0
Class 0
Flight Distance 0
Inflight wifi service 0
Departure/Arrival time convenient 0
Ease of Online booking 0
Gate location 0
Food and drink 0
Online boarding 0
Seat comfort 0
Inflight entertainment 0
On-board service 0
Leg room service 0
Baggage handling 0
Checkin service 0
Inflight service 0
Cleanliness 0
Departure Delay in Minutes 0
Arrival Delay in Minutes 0
satisfaction 0
dtype: int64
```

Figure 8. The list of total missing values on the "training" dataset after the fix.

```
Gender 0
Customer Type 0
Age 0
Type of Travel 0
Class 0
Flight Distance 0
Inflight wifi service 0
Departure/Arrival time convenient 0
Ease of Online booking 0
Gate location 0
Food and drink 0
Online boarding 0
Seat comfort 0
Inflight entertainment 0
On-board service 0
Leg room service 0
Baggage handling 0
Checkin service 0
Inflight service 0
Cleanliness 0
Departure Delay in Minutes 0
Arrival Delay in Minutes 0
satisfaction 0
dtype: int64
```

Figure 9. The list of total missing values on the "test" dataset after the fix.

Exploratory Data Analysis

To better understand the characteristics and gaining insight on the dataset used for the training, an exploratory data analysis will be conducted to learn

more about the dataset itself before running

ensemble learning methods for testing, and to be able to predict the results more carefully. Since this study is all about airline satisfaction, the overall values of satisfied/dissatisfied or neutral within the dataset can be seen in Figure 10.

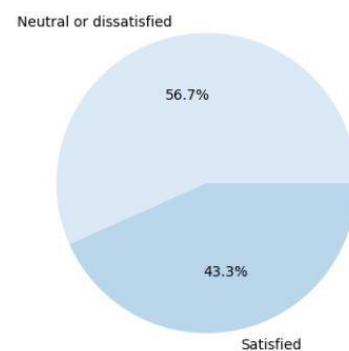


Figure 10. Pie chart showing the overall number of neutral or dissatisfied, and satisfied passengers within the dataset, overall “training” dataset is almost near balanced among both level of satisfaction.

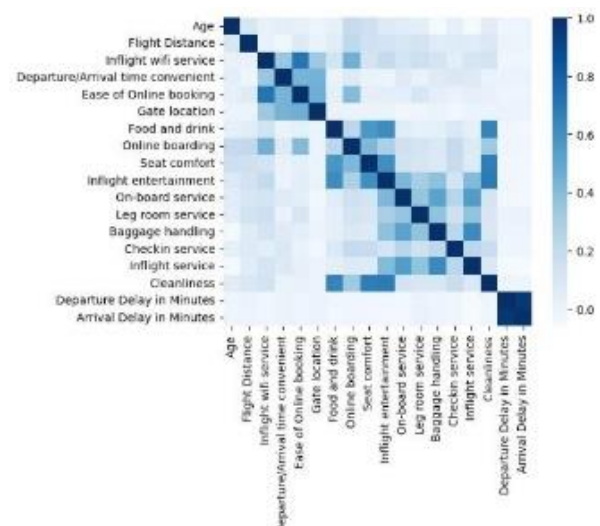


Figure 11. Correlation heatmap showing the relationship of each column with one another in "training" dataset. Note the strong correlation between the column departure delay and arrival delay

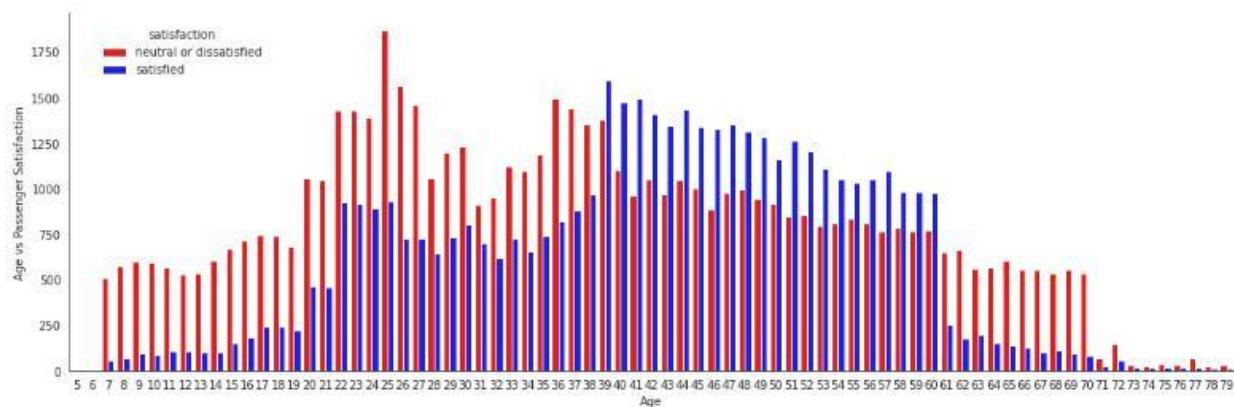


Figure 12. The correlation heatmap showing the relations between quantitative values within the dataset.

Note the strong correlation between departure delay in minutes with the arrival delay in minutes.

Figure 11 shows the heatmap cluster between data columns within the “training” dataset. Note that “test” dataset, has similar columns and features as shown in Figure 3. Interestingly, Figure 12 shows the differences of satisfaction levels of ages from the youngest (5) to the oldest (79) within the dataset, and it shows that people aging from 39 - 60 usually have higher satisfaction rates than the ages ranging from 7 - 38, and 61 - 79.

Although gender can affect the ratings of certain aspects of an airline, Figure 13 shows that in overall satisfaction levels, there is only a slight difference, 32 where women tend to be a little bit more dissatisfied than the men, while satisfied levels remain the same for both genders.

The bias of customers based on the loyalty type, and data exploration has shown a stark contrast between loyal and disloyal customer types, with loyal customer rating more frequently than

disloyal customers, and the level of satisfaction is the lowest on disloyal customer types (Figure 14).

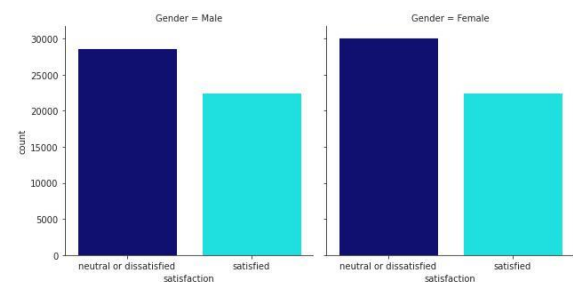


Figure 13. Bar chart showing the differences of satisfaction levels between the two genders.

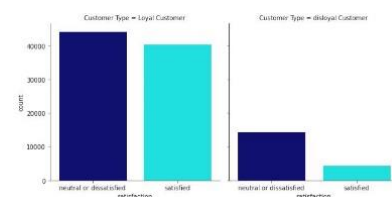


Figure 14. Bar chart showing the total number of satisfied and neutral or dissatisfied passengers, split between loyal and disloyal types of customer.

Figure 15 shows an interesting insight that the longer the flight distance, the higher the level of satisfaction of a passenger regarding the inflight entertainment and leg room service on average, showing that inflight entertainment and leg room service can be

important factor in affecting airline satisfaction, with the caveat that the longer the distance, the more important it will be.

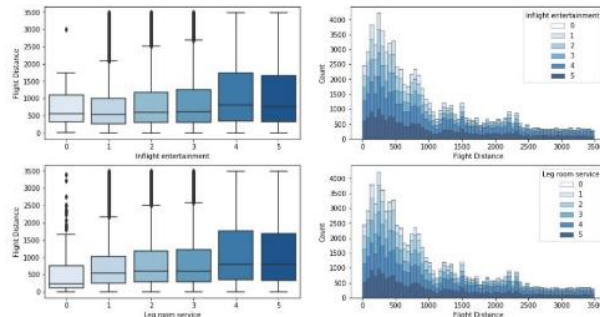


Figure 15. Box chart and histogram plot showing the relations of flight distance and in-flight entertainment with satisfaction levels.

Evaluation Method

To determine the performance of each ensemble learning models, there will be four metrics to be used for this study to measure its efficacy: Precision which is the accuracy of the model to predict positive labels from the given data, Recall which calculates how much actual positive data can be obtained by the model with the true positive data labels, F1 Score which is a calculation with weighting from the precision results, and Accuracy which measures how many times can the model classify data correctly. All of these four metrics will be laid out on tables comparing each methods to each other, supplied with confusion matrix showing the predicted values on four dimensions, which are: True Positive which means the model accurately predicts a positive data sample, False Negative where the model incorrectly predicts a negative data sample incorrectly,

False Positive where the model incorrectly predicts a positive data sample, and True Negative where the model accurately predicts a negative data sample. Figure 16 shows how a confusion matrix would look like.

		Predicted Class	
		Positive	Negative
Actual Class	Positive	TP The predicted value is positive and its positive in actual	FN The predicted value is negative and its positive in actual
	Negative	FP The predicted value is positive and its negative in actual	TN The predicted value is negative and its negative in actual

Figure 16. Confusion matrix and what each value signifies.

For Bagging ensemble learning, the method used will be the Random Forest classifier, and the Decision Tree classifier methods, while the Boosting Method uses the XGBoost method which is one of the most used sub-methods in Boosting, and for the Stacking method, it will employ the standard Blending method which is widely used.

ROC, or Receiver Operating Characteristic will also be used for comparison and evaluation between the ensemble learning models, where the ROC shows the test accuracy where the closer the graph is to the top and left-hand border the more accurate the test is, vice versa. The test accuracy is also shown in the area under the curve where the greater the area under the curve, the more accurate the test is. Figure 17 shows what is an ROC curve.

Feature importance will also be used for the evaluation, where it lists all the available data columns used in machine learning and weighted with scores, which the higher the score, the more that data column will have a larger effect on the model that is being used for the prediction. Figure 18 shows the example of a feature importance.

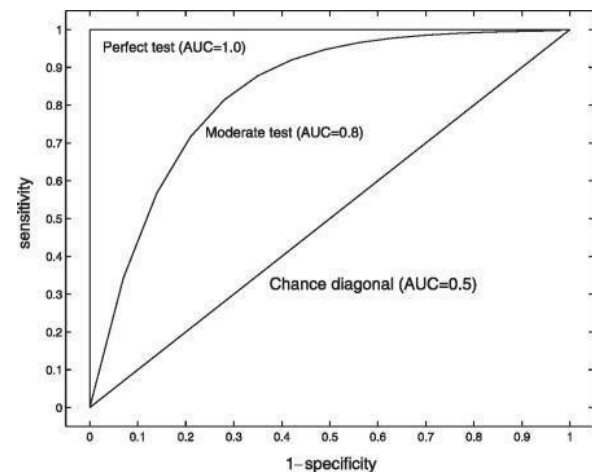


Figure 17. ROC curve, where scores above 0.5 and higher are accurate, while scores under 0.5 are less accurate. Values larger than 0.5 also indicate that model has an ability to discriminate

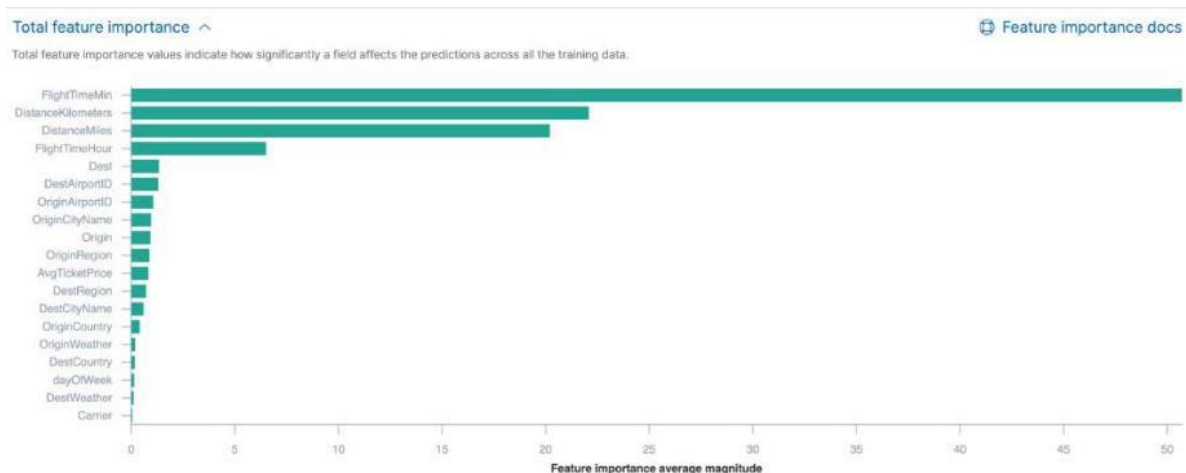


Figure 18. Bar chart of Feature Importance. The higher the score is, the more it will affect the overall model scoring

Calculation Methods

This following section will detail the calculation methods of all Ensemble learning methods and algorithms that will be used for the analysis, and the discussion for this study. The sampling done within this study will be stratified random sampling, grouped according to the age, time taken for the flight to arrive which in each row flight distance data is divided by 20 plus the arrival in minutes, and overtake

which in each row, arrival delay in minutes is subtracted with the departure delay in minutes. The calculation present in this section will be divided into two parts: the calculation used to measure the results that will be used in the evaluation, and the calculation that will be used for the ensemble learning method algorithms itself. To gauge the efficacy of the ensemble learning model, firstly the formula to calculate precision is as follows:

$$Precision = \frac{TP}{TP + FP}$$

Moving on, the equation to calculate the recall score is thus:

$$Recall = \frac{TP}{TP + FN}$$

These two results will then be used for the F1 Score calculation formula, which is:

$$F1 = 2 \times \frac{Precision \times Recall}{Precision + Recall}$$

In addition to these three equations, the next and the last important equation is the accuracy of the ensemble learning model, which is:

$$Accuracy = \frac{TP + TN}{TP + TN + FP + FN}$$

Next up are the formulas of each ensemble learning models from chapter 2 which will be used for this study. The first formula to look up to will be the for Bagging:

$$f(x) = \frac{1}{B} \sum_{B=1}^B f_{b(x)}$$

where $f_b(x)$ represents the weak learners present in the machine learning model, B generates the bootstrapping sets. Next is the equation for boosting method, which is:

$$f(x) = \sum_t a_t h_t(x)$$

where $h_t(x)$ is created from several weak classifiers through training data and model building of it, which creates a second model

that attempts to correct the errors, which is at . Finally, the formula for Stacking method is:

$$f_s(x) = \sum_{i=1}^n a_i f_i(x)$$

where $f_i(x)$ is the output of the Nth base model, with N denoting the length of the dataset, a_i denotes the weight of the Nth base model of the input X .

RESULTS AND DISCUSSION

Results

Figure 19, Figure 20, and Figure 21 are the test results on the Decision Tree ensemble learning method. Figure 22, Figure 23, and Figure 24 are the test results on the Random Forest ensemble learning method. Figure 25, Figure 26, and Figure 27 are the test results on the Boosting ensemble learning method. Figure 28, Figure 29, and Figure 30 are the test results on the Stacking ensemble learning method.

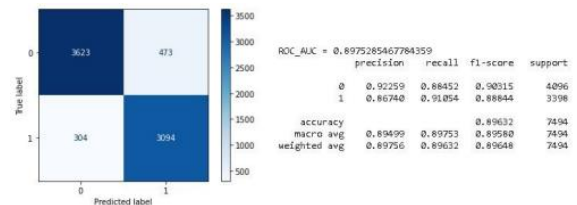


Figure 19. Confusion matrix and precision, recall, f1-score, and support scores of Decision Tree ensemble learning method.

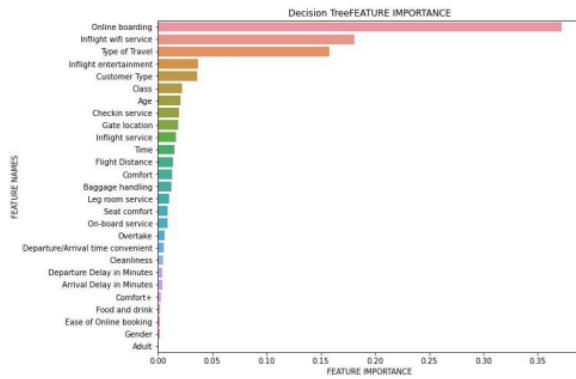


Figure 20. Feature importance for Decision Tree ensemble learning method.

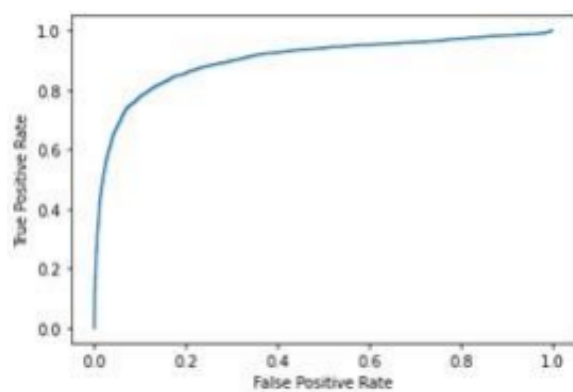


Figure 21. ROC curve for Decision Tree ensemble learning method.

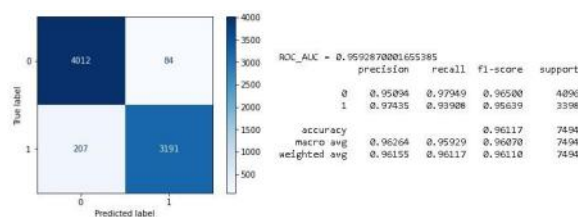


Figure 22. Confusion matrix and precision, recall, f1-score, and support scores for the Random Forest ensemble learning method.

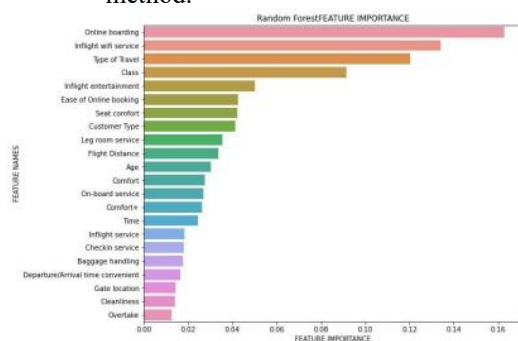


Figure 23. Features importance of Random Forest ensemble learning method.

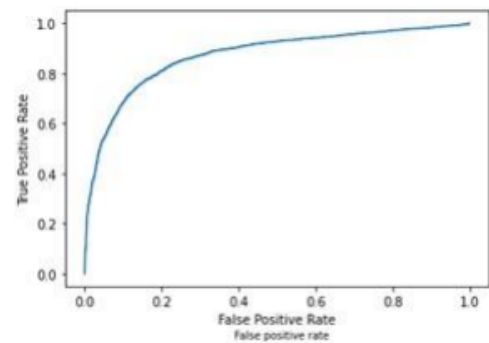


Figure 24. ROC curve of Random Forest ensemble learning method.

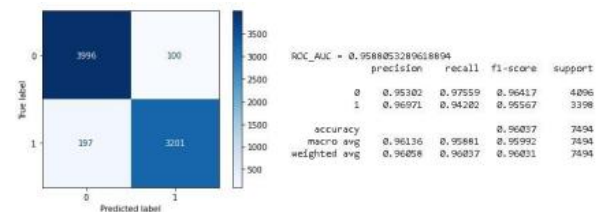


Figure 25. Confusion matrix and precision, recall, f1-score, and support scores for the Boosting ensemble learning method.

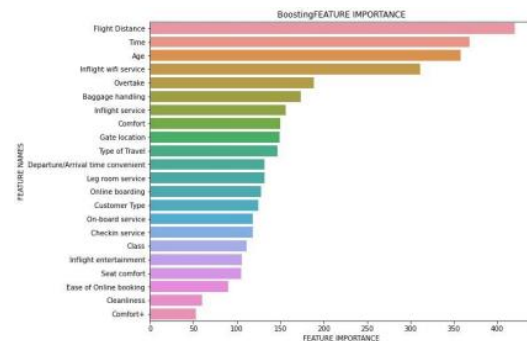


Figure 26. Features importance chart of the boosting ensemble learning method.

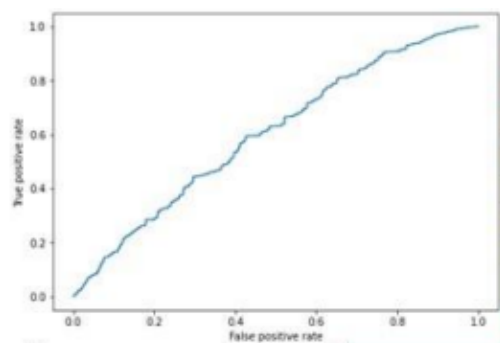


Figure 27. ROC curve of the Boosting ensemble learning method.

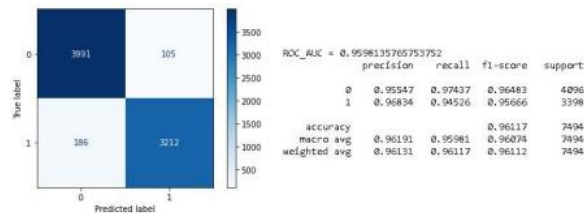


Figure 28. Confusion matrix and precision, recall, f1-score, and support scores for Stacking ensemble learning method.

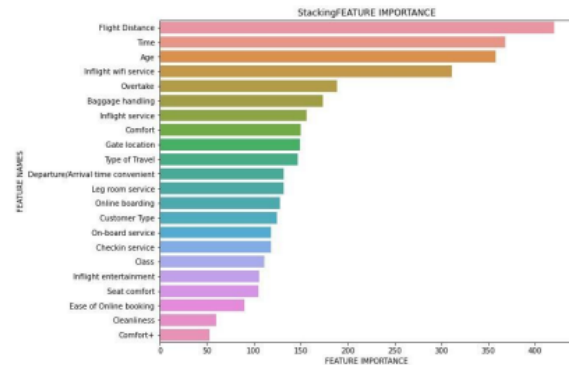


Figure 29. Features importance chart of the Stacking ensemble learning method.

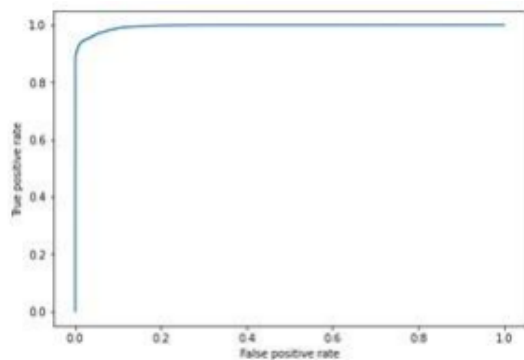


Figure 30. ROC curve of Stacking ensemble learning method.

Discussion

As shown on the charts and scores on all figures, the four methods, Random Forest, Decision Tree, Boosting, and Stacking, interestingly have almost reached parity with each other: Random Forest Bagging ensemble method has a success rate of 96.117%, Boosting has a success rate of 96.037%, and stacking has a success rate of 96.264%. However, when it comes

to Decision Tree, it performs the worst among all, with a success rate of 89.63%, showing the inherent advantages of the Random Forest method in accuracy improvement over Decision Tree as discussed in chapter 2, with better recall score as shown in the confusion matrix, and less prone to false predictions. Interestingly, in terms of feature importance, the Decision Tree and Random Forest ensemble learning method, both belonging to Bagging method family on ensemble learning, has Online Boarding as the highest level of importance in affecting the overall study, while Flight Distance seems to affect the overall score the most on Stacking and Boosting method. The ROC curves have shown that overall, XGBoost has the worst graph shape of all, while Stacking has the best graph shape.

CONCLUSION

The ensemble learning methods used for this study, which are Random Forest and Decision Tree for Bagging methods, Boosting, and Stacking, have shown different results with each other. Random Forest together with Boosting and Stacking have a success rate of 96.117%, 96.037%, and 96.264% respectively. The Decision Tree method seemed to perform the most poorly with a success rate of 89.63%. Among all the ensemble learning

methods, Stacking has the highest overall success rate, showing that ensemble learning can identify the aspects of satisfaction of each passenger towards the flight with many factors of satisfaction within the given dataset. Meanwhile, the worst performing ensemble learning method is the Decision Tree. This study hopefully acts as a guidance towards the ensemble learning enthusiasts of all levels of experience and providing some knowledge and insight towards those interested in gauging airline satisfaction. However, in the future research on ensemble learning, there will be plans to expand to more ensemble learning methods, with larger datasets for a better analysis in the efficacy of ensemble learning methods available.

REFERENCES

- Airlines IATA. (2023). *Passenger demand posts solid growth*. Retrieved November 10, 2023 from <https://airlines.iata.org/2023/11/10/passenger-demand-posts-solid-growth>
- Airports Council International. (2023). *The trusted source for air travel demand updates*. Retrieved September 27, 2023 from <https://aci.aero/2023/09/27/global-passenger-traffic-expected-to-recover-by-2024-and-reach-9-4-billion-passengers/>
- Akano, T. T., & James, C. C. (2022). An assessment of ensemble learning approaches and single-based machine learning algorithms for the characterization of undersaturated oil viscosity. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 11, 149. <https://doi.org/10.1186/s43088-022-00327-8>
- Bouwer, J., Saxon, S., & Wittkamp, N. (2021). *Back to the future? Airline sector poised for change post COVID-19*. Retrieved October 4, 2023 from <https://www.mckinsey.com/industries/travel-logistics-and-infrastructure/ourinsights/back-to-the-future-airline-sector-poised-for-change-post-covid-19>
- Dong, Y., Liang, J., Zhao, Z., & Ding, D. (2021). Research on the relationship between customer satisfaction and compensation plan in U.S Airline industry. *Advances in Economics, Business and Management Research*, 506-510.
- Dong, X., Yu, Z., Cao, W., Shi, Y., & Ma, Q. (2020). A survey on ensemble learning. *Frontiers of Computer Science*, 14, 241–258. <https://doi.org/10.1007/s11704-019-8208-z>
- Janiesch, C., Zschech, P. & Heinrich, K. (2021). Machine learning and deep learning. *Electron Markets*, 31, 685–695. <https://doi.org/10.1007/s12525-021-00475-2>
- Nair, A. (2023). *Corona virus lockdown – A dramatic impact on the aviation industry*. Retrieved October 4, 2023 from <https://straitresearch.com/article/c>

[corona-virus-lockdown-a-dramatic-
impact-on-the-aviation-industry](#)

- Tasci, E., Uluturk, C., & Ugur, A. (2021). A voting-based ensemble deep learning method focusing on image augmentation and preprocessing variations for tuberculosis detection. *Neural Computing and Applications*, 33, 15541–15555. <https://doi.org/10.1007/s00521-021-06177-2>
- Zhou, Z. H. (2009). Ensemble learning. In: Li, S. Z., & Jain, A. (Eds.) *Encyclopedia of biometrics* (pp. 270-273). Springer. https://doi.org/10.1007/978-0-387-73003-5_293

STABILITY AND ACTIVITY OF LIPID A PHOSPHOETHANOLAMINE TRANSFERASE FROM *NEISSERIA MENINGITIDIS* IN THE PRESENCE OF SODIUM DEOXYCHOLATE

[STABILITAS DAN AKTIVITAS LIPID A PHOSPHOETHANOLAMINE TRANSFERASE DARI *NEISSERIA MENINGITIDIS* TERHADAP PENAMBAHAN NATRIUM DEOKSIKOLAT]

Ariela Samantha^{1*}, Caitlyn Christvania Sihombing², Alice Vrielink³

^{1,2}Biology Study Program, Universitas Pelita Harapan, Tangerang, Indonesia

³School of Molecular Sciences, The University of Western Australia, Perth, Australia

*Corresponding author: ariela.samantha@uph.edu

ABSTRACT

Antibiotics are often used to fight infections caused by pathogenic bacteria. However, inappropriate use of antibiotics has caused many pathogenic bacteria to gain antibiotic resistance. Some resistance mechanisms arise through enzymatic modification of the bacterial membrane. Lipid A phosphoethanolamine transferase (EptA) modifies bacterial membranes through the addition of phosphoethanolamine to the lipid A moiety of lipopolysaccharide (LPS) or lipooligosaccharide (LOS). Inhibition of EptA would therefore restore the antibiotic susceptibility of the bacterium. In order to develop inhibitors against EptA, *in vitro* studies are required. Biochemical studies of membrane proteins such as EptA, must be carried out in buffers containing detergent to ensure the solubility and stability of the membrane protein. EptA has been found to be most stable in buffers containing the detergent, n-dodecyl β -D-maltoside (DDM). However, due to the fact that LOS is also required for biochemical studies of EptA, the detergent, sodium deoxycholate (DOC) is also required as it prevents the aggregation of LOS. In this study, the stability and activity of EptA in the presence of DOC were investigated using thin layer chromatography (TLC) and circular dichroism (CD) spectroscopy. Additionally, preliminary studies on the interaction of EptA and LOS *in vitro* was carried out using native agarose gel electrophoresis (NAGE). This study shows that EptA remains active in the presence of ≤ 2 mM DOC with the highest activity observed in buffers containing only 1 mM DOC. CD analysis showed that the overall secondary structure of EptA in buffer containing various concentrations of DDM and DOC was maintained. Additionally, through NAGE analysis the interaction between EptA and LOS was successfully observed. Therefore, further *in vitro* studies incorporating both substrates with supplementation of up to 1 mM DOC could be carried out with the long-term goal of studying inhibitors against EptA.

Keywords: circular dichroism; lipid A phosphoethanolamine transferase; lipooligosaccharide, n-dodecyl β -D-maltoside; sodium deoxycholate

ABSTRAK

Antibiotik sering digunakan untuk melawan infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen. Namun, penggunaan antibiotik yang tidak tepat telah menyebabkan banyak bakteri patogen mendapatkan resistensi antibiotik. Beberapa mekanisme resistensi muncul melalui modifikasi enzimatik dari membran bakteri. Lipid A phosphoethanolamine transferase (EptA) mengubah membran bakteri dengan menambahkan fosfoetanolamina ke bagian lipid A dari lipopolisakarida (LPS) atau lipooligosakarida (LOS). Penghambatan EptA akan mengembalikan kerentanan antibiotik dari bakteri tersebut. Untuk mengembangkan inhibitor terhadap EptA, studi *in vitro* diperlukan. Studi biokimia protein membran seperti EptA, harus dilakukan dalam larutan penyangga yang mengandung deterjen untuk memastikan kelarutan dan stabilitas protein membran. EptA ditemukan paling stabil dalam larutan penyangga yang mengandung deterjen, n-

dodecyl β -D-maltosida (DDM). Namun, karena LOS juga diperlukan untuk studi biokimia EptA, deterjen, sodium deoksikolat (DOC) juga diperlukan karena mencegah agregasi LOS. Dalam penelitian ini, stabilitas dan aktivitas EptA dalam keberadaan DOC diselidiki menggunakan kromatografi lapis tipis (TLC) dan spektroskopi dikroisme sirkular (CD). Selain itu, studi awal tentang interaksi EptA dan LOS in vitro dilakukan menggunakan elektroforesis gel agarosa asli (NAGE). Studi ini menunjukkan bahwa EptA tetap aktif dalam keberadaan ≤ 2 mM DOC dengan aktivitas tertinggi diamati dalam larutan penyangga yang hanya mengandung 1 mM DOC. Analisis CD menunjukkan bahwa struktur sekunder keseluruhan EptA dalam larutan penyangga yang mengandung berbagai konsentrasi DDM dan DOC tetap terjaga. Selain itu, melalui analisis NAGE, interaksi antara EptA dan LOS berhasil diamati. Oleh karena itu, studi in vitro lebih lanjut yang memasukkan kedua substrat dengan suplementasi hingga 1 mM DOC bisa dilakukan dengan tujuan jangka panjang untuk mempelajari inhibitor terhadap EptA.

Kata kunci: dikroisme sirkular; lipid A fosfoetanolamina transferase; lipooligosakarida, *n*-dodecyl β -D-maltosida; natrium deoksikolat

INTRODUCTION

The human body is complex and is comprised of various types of human cells and normal microbes including fungal and bacterial cells. Many microbes outside the human's normal flora are able to enter the human body and cause infectious diseases (Alberts *et al.*, 2002). Antibiotics are the common therapeutic developed to fight infections caused by bacteria. These antibiotics function by inducing cell death (bactericidal drugs) or inhibiting cell growth and multiplication (bacteriostatic drugs) (Kohanski *et al.*, 2010). However, extensive misuse and overuse of antibiotics have caused antimicrobial resistance, which makes infections significantly more difficult to treat (Murray *et al.*, 2022). There are many ways that infectious agents such as bacteria gain antimicrobial resistance, enabling them to withstand drug exposures that would typically inhibit cell growth or induce cell death (O'Neill, 2024). One example of a resistance mechanism is

modification of the antibiotic's target site in the bacterial cell. This results in decreased affinity for the antibiotic drugs, rendering the drugs unable to target the bacterial membrane. Some Gram-negative pathogens have evolved this kind of resistance mechanism by synthesizing enzymes that act by modifying their membrane structure and biochemical features which allows them to evade the action of antibiotics directed at the membrane. One example is the modification of the lipid A moiety of the lipopolysaccharides (LPS)/ lipooligosaccharides (LOS) structure (Needham & Trent, 2013). This becomes a major issue as the bacterial membrane is antigenic, which means it has a unique arrangement in contrast to the host membranes and many antibiotics work primarily by targeting the bacterial membrane (Epand *et al.*, 2016).

EptA uses phosphatidylethanolamine (PE) to modify the lipid A portion of LPS/LOS through the addition of phosphoethanolamine (pEtN). This

modification leads to resistance against cationic antimicrobial peptides (CAMPs) such as polymyxin in various Gram-negative bacteria. Because polymyxin is increasingly used as a last-resort antibiotic against multi drug resistant (MDR) Gram-negative bacteria such as *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, and *Enterobacteriaceae*, this developed resistance mechanism in the bacterial cell membrane is a major global health concern (Falagas *et al.*, 2005 & WHO, 2018). Research on pathogenic *Neisseria* indicates that without modification from EptA, their susceptibility to polymyxin increases significantly, in addition to making the bacteria more vulnerable to human serum and the host immune system's natural CAMPs, or defensins, such as LL-37 and protegrin-1. These findings suggest that drugs targeting EptA could enhance the effectiveness of polymyxin as well as aid in clearing infections by the host immune system. (Tzeng *et al.*, 2005 & Lewis *et al.*, 2009).

EptA is an integral membrane protein (IMP) and buffers containing detergent are needed to solubilize and purify EptA for *in vitro* studies. Detergents act by creating a membrane mimicking environment thus allowing EptA to maintain a folded and active state (Jeffery, 2016). One of the most common detergents used in the biochemical studies of membrane

proteins is n-dodecyl- β -D-maltoside (DDM) (Anandan & Vrielink, 2016). DDM is considered relatively non-denaturing and, as a consequence, does not affect the overall protein structure.

To study the structure and catalytic mechanism of EptA, particularly in the presence of its substrates (PE and LOS), another surfactant namely sodium deoxycholate (DOC), is needed in order to prevent aggregation of LPS/LOS (Komuro & Galanos, 1988 & Hardy *et al.*, 2016). DOC is an ionic detergent which tends to denature protein thus, in this research the effect of DOC on the activity and structural stability of EptA was investigated. Additionally, the interaction of EptA and LOS in the absence of PE was investigated by NAGE analysis.

MATERIALS AND METHODS

Materials and Tools

The materials used in this research are: Lysogeny Broth (LB) media, bacteriological agar, Terrific Broth (TB) media, Ampicillin, Chloramphenicol, isopropyl β -D-1-thiogalactopyranoside (IPTG), sodium phosphate buffer, NaCl, imidazole, n-dodecyl- β -D-maltoside (DDM) (Anatrace), HEPES buffer, sodium deoxycholate, 1-acyl-2-{12-[(7-nitro-2-1,3-benzoxadiazol-4-yl)amino] dodecanoyl}-sn-glycero-3 phosphoethanolamine (NBD-PE) (Avanti Lipids), silica gel 60 F 254 Thin Layer Chromatography (TLC) plate (Merck), ethyl acetate, methanol, agarose gel

loading buffer (0.025 % (w/v) bromophenol blue, 30 % (v/v) glycerol, 1x TAE buffer), agarose, imidazole, ZnSO₄, and Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA).

Escherichia coli BL21(DE3) pLysS competent cells were used for recombinant expression of EptA from the plasmid pCMK526 which carries the gene encoding EptA containing a hexahistidine tag at the C-terminus of the protein. The plasmid was kindly provided by Prof. Charlene M. Kahler and Dr. Anandhi Anandan. Unmodified LOS from *Neisseria gonorrhoeae* FA1090 ΔEptA (Neisserial LOS) was also kindly provided by Prof. C.M. Kahler.

The tools utilized in this research are: Ultra Yield 2.5 L flasks (Thomson Instrument), shaker incubator, high-pressure homogeniser (Emulsiflex C5, Avestin), refrigerated centrifuge, ultracentrifuge (Sorvall™ WX+, ThermoFisher), glass/Teflon tissue homogeniser, tube rotator mixer, Filtropur S 0.45 syringe filter (Sarstedt), HisTrap FF column (Cytiva), Superdex 200 10/30 column (Cytiva), Äkta™ pure FPLC system (Cytiva), protein electrophoresis set (Hoefer Inc.), 100 kDa MWCO centrifugal filter unit (Merck-Millipore), NanoDrop lite spectrophotometer (Thermo Scientific), CD spectrophotometer (Jasco J 720), and Chemidoc MP imaging system (Bio-Rad).

Methods

EptA Expression and Purification

Chemically competent *E. coli* BL21(DE3) pLysS cells were transformed with the plasmid pCMK526 (Piek *et al.*, 2014) using a heat shock method (Inoue *et al.*, 1990). The transformed bacteria culture was plated on LB agar plates containing antibiotics (34 µg/mL chloramphenicol and 50 µg/mL ampicillin) and incubated at 37°C overnight. A pre-culture was prepared consisting of Lysogeny Broth (LB) media containing the appropriate antibiotics and inoculated with a single transformed bacterial colony from the plate culture. The pre-culture was incubated overnight at 37°C with 180 rpm shaking. The overnight pre-culture was used to inoculate 3 litres of Terrific Broth (TB) medium containing the appropriate antibiotics to an optical density at 600 nm (OD₆₀₀) of 0.1. The cultures were incubated at 37°C with 200 rpm shaking until the OD₆₀₀ reached 1.0 – 1.2. The bacterial protein expression was induced by addition of IPTG to a final concentration of 0.4 mM. The bacterial cultures were further incubated at 25°C with 180 rpm shaking for 20 hours. The *E. coli* cells were harvested by centrifugation at 4000 x g for 45 minutes at 4°C. The harvested cells were lysed by a high-pressure homogeniser (Emulsiflex C5, Avestin) at a maximum pressure of 15,000 psi. The lysate was then clarified by centrifugation at 4000 xg for 45 minutes at 4°C. Once clarified the

lysate was further centrifuged at 100,000 x g for 1 hour at 4°C using an ultracentrifuge (Sorvall™ WX+, ThermoFisher) to isolate the bacterial membrane fraction.

The membranes were solubilized in solubilization buffer consisting of 50 mM sodium phosphate pH 7.5, 300 mM NaCl, 10 mM imidazole and 1% DDM overnight at 6°C with gentle shaking. The mixture was centrifuged at 100,000 x g for 1 hour at 4°C to remove insolubilized membranes, and the supernatant fraction was passed through a 0.45 µm filter disc. Recombinantly expressed EptA solubilized in DDM was purified by Ni²⁺ NTA affinity and size exclusion chromatography (SEC) using an Äkta™ Pure FPLC system following the method outlined by Anandan *et al.* (2017). The final concentration of purified protein was determined by measuring the absorbance at 280 nm using the calculated molar extinction coefficient for EptA (73,980 M⁻¹cm⁻¹; calculated based on sequence using ProtParam). The purified protein was concentrated to 20 mg/mL using a 100 kDa molecular weight cut off centrifugal filter unit (Merck-Millipore). To monitor the purification process, a sample from each purification step was analysed with SDS PAGE.

EptA Enzymatic Activity Assay

Enzyme activity assays were performed according to the protocol by Anandan *et al.* (2017) with some

modifications. To assess the enzymatic hydrolysis of pEtN from NBD-PE, NBD-PE was utilized. Each reaction (50 µL) comprised 0.32 µM EptA and 1.6 µM NBD-PE in various activity assay buffers. The activity test buffers tested were 50 mM HEPES pH 7.0, 100 mM NaCl, with varied concentrations of DDM (0 - 450 µM) and DOC (0 - 12 mM). The mixture was incubated at 25 °C for defined time periods. Every five minutes 1 µL of each mixture were taken and was added to 2 µL methanol to halt the enzymatic reaction. The mixtures were applied to a pre-warmed TLC plate. A mixture of ethyl acetate:methanol:water (7:2:1) was used to develop the TLC plate and the fluorescent signal on the plate was visualized with a Chemidoc MP imaging system (Bio-Rad) using Epi blue light (455-485 nm) and a corresponding filter (530 nm +/- 28 nm). Image Lab software (Bio-Rad) was used to quantitatively analyse the fluorescent bands to determine the relative amounts of the substrate (NBD-PE) and product (NBD-diacylglycerol/NBD-DAG) at each time point of the enzymatic reaction.

Analysis of EptA Secondary Structure

Pure EptA at 20 mg/mL was diluted to a final concentration at 0.1 mg/mL in various CD test buffers to a final volume of 1 mL. The CD test buffers were 20 mM sodium phosphate pH 7.0 with varied concentrations of DDM (0 - 450 µM) with and without 1 mM DOC. For each mixture, the exact protein

concentration in the CD test buffer was determined by measuring the absorbance at 280 nm. The purified protein was placed in a quartz cuvette with a 1 mm path length, and the far-UV spectra were measured using a CD spectrophotometer (Jasco J 720) at 20 °C. Data was collected every 1 nm with 1 nm bandwidth in the wavelength range of 190 – 260 nm, using an integration time of 5 seconds per step. The spectra underwent buffer-baseline correction, and the measurement was conducted in triplicate.

Analyses of the CD spectra was performed using BeStSel. (Micsonai *et al.*, 2022). BeStSel is a free webserver analysis tool, which uses empirical algorithms to determine a protein's secondary structure from CD spectroscopic data in comparison to available reference datasets. Eight secondary structural components of protein based on the Dictionary of Secondary Structure of Proteins (DSSP) (Cooley *et al.*, 2010; Kabsch & Sander, 1983) are defined in BeStSel, which made this method higher in accuracy compared to other methods currently available such as SELCON3 which distinguishes six secondary structural components of protein (Sreerama *et al.*, 1999; Micsonai *et al.*, 2015). The basis of secondary structural components utilised by SELCON3 were also used by CONTIN (Provencher & Gloeckner, 1981) and CDSSTR (Sreerama & Woody, 2000).

Interaction of EptA and LOS *in vitro*

The interaction of EptA and LOS *in vitro* was investigated by NAGE according to Hardy *et al.*, (2016) with modifications. Mixtures containing varied concentrations of purified EptA (1.6 µM – 40 µM) and varied concentrations of LOS (20.8 µM – 520 µM) dissolved in activity assay buffer (50 mM HEPES pH 7.0, 100 mM NaCl, 1 mM DOC) were mixed and incubated at 37 °C for 1 hour. Samples (36 µL) were then mixed with 4 µL 10X gel loading buffer (40 mM Tris, 20 mM acetic acid, 1 mM EDTA, pH 8.0) and loaded onto an 0.8 % (w/v) agarose gel. Electrophoresis was performed at 80 V for 1 hour or until the tracking dye reached the bottom of the gel. The gel was then rinsed twice in ddH₂O, soaked in 0.2 M imidazole with gentle rocking for 20 mins, rinsed twice in ddH₂O, soaked in 0.2 M ZnSO₄ with gentle agitation until transparent bands were developed, then finally rinsed with ddH₂O several times. The gel was imaged using a Chemidoc MP imaging system (Bio-Rad) with a colorimetric protocol. Following the imaging, the gel was soaked in 100 mM EDTA for 15 mins with gentle agitation, then soaked in ddH₂O with gentle agitation for 15 minutes three times, stained with Coomassie blue for at least 120 minutes and destained in destaining solution overnight. The gel was rinsed with ddH₂O several times. The gel was imaged using a Chemidoc MP imaging system (Bio-Rad) with a colorimetric protocol.

RESULTS AND DISCUSSION

EptA Expression and Purification

A single colony of transformed competent cell was used to inoculate 500 mL LB pre-culture with the appropriate antibiotic. After overnight incubation the pre-culture OD₆₀₀ was measured to be 1.72. The pre-culture was then used to inoculate six flasks each containing 500 mL TB as the main culture with the OD₆₀₀ adjusted to 0.1 at the start of the incubation. After four hours of incubation, the OD₆₀₀ was measured to be 1.5. Due to the presence of the T7 lac operon in the plasmid vector, overexpression of EptA is induced by addition of IPTG to the main cultures. From 3 L culture 72 gr cell pellet was harvested.

EptA is a membrane protein, therefore the bacterial cell must be lysed in order to isolate the protein. Cell lysis using high pressure homogenization was chosen as the lysis method because the high efficiency of this method (Islam *et al.*, 2017). The only drawback of this method is the generated heat which could disrupt the protein. However, this problem could be easily mitigated by ensuring the system is cooled through the utilization of an ice bath.

Following the cell lysis, two step centrifugation was carried out. In the first centrifugation step, cell debris were pelleted while the protein could be collected from in the supernatant. The second centrifugation was carried out using an ultracentrifuge to

pellet the membrane component of the cells, into which EptA is embedded. Prior to the purification process, EptA is solubilized from the membrane by using DDM detergent.

EptA can be purified from other proteins in the mixture by immobilized metal ion affinity chromatography (IMAC) using a Ni²⁺ NTA column due to the presence of the hexa-histidine tag at the C-terminal end of the protein. Size exclusion chromatography (SEC) was employed to obtain highly pure EptA as well as to perform buffer exchange into EptA storage buffer. The storage buffer has been previously optimized to ensure the solubility and stability of EptA (Anandan, 2018). After purification approximately 12 mg of protein was obtained from 72 gr cell pellet. The protein was confirmed to be > 95% pure based on SDS PAGE analysis as shown in Figure 1, and therefore was considered suitable for further analysis.

EptA Enzymatic Activity Assay

Anandan *et al.*, 2017 developed an enzymatic assay which demonstrates the cleavage of the pEtN moiety, by EptA, from a fluorescently labelled substrate, NBD-PE. This reaction leads to the release of NBD-DAG as a side-product (Anandan *et al.*, 2017). To separate NBD-PE and NBD-DAG in the reaction mixture, thin layer chromatography can be used. The corresponding fluorescent intensities can be measured and quantitated. With this method,

EptA's activity in the presence of 1 mM – 12 mM DOC can be assayed.

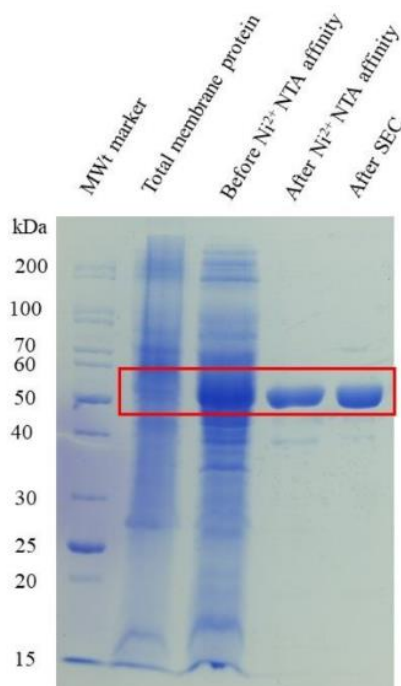


Figure 1. SDS PAGE analysis of EptA through various steps in the purification procedure. The band corresponding to EptA is marked by the red box.

Furthermore, this assay aims to identify the suitable DOC concentration for an *in vitro* assay of EptA in the presence of LOS. As a detergent, DOC is necessary to prevent LOS aggregation for *in vitro* assays. However too much DOC might interfere with EptA's activity or even cause denaturation of the protein. Purified EptA is stored in buffer containing 50 mM HEPES pH 7.0, 150 mM NaCl and 450 μ M DDM. The buffer composition has been previously optimized by Anandan (2018) to maintain EptA's stability. Therefore, 1 mM – 12 mM DOC was added to EptA's storage buffer in the initial assay. For the activity assay, measurements were taken for a total of 30 minutes at 25 °C; samples were taken every

5 minutes, and the reaction was halted by the addition of methanol, then applied to the TLC plate for analysis. The results are presented in Figure 2.

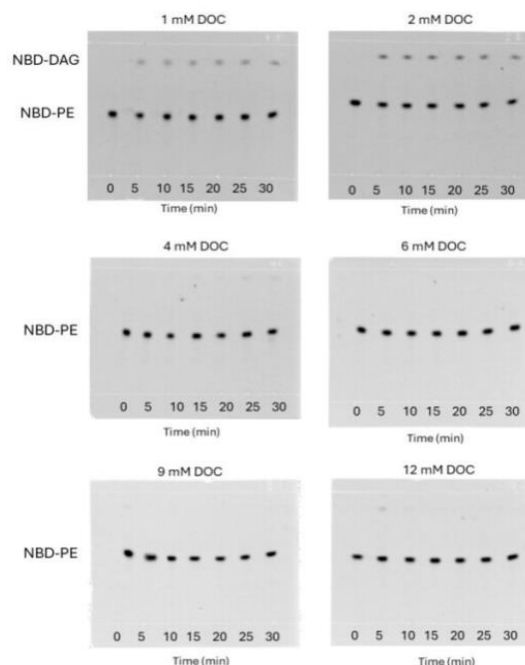


Figure 2. TLC based analysis of the EptA enzymatic activity assay in the presence of various concentrations of DOC. The fluorescently labeled substrate, NBD-PE, was used for visualization on the TLC plates and enzymatic activity assessed by the production of NBD-DAG.

The presence of DOC at high concentrations (> 2 mM) disturbs the activity of EptA as indicated by the absence of an NBD-DAG spot on the TLC plate. In the presence of 4 mM DOC, the reaction was significantly slower, and no EptA activity was observed in the presence of > 6 mM DOC. The critical micelle concentration of DOC is 2-6 mM at 20-25 °C. The EptA storage buffer already contains DDM at 3 times its critical micelle concentration (CMC), general concentration used in solubilization and purification of integral

membrane proteins (IMP). Therefore, the presence of additional detergent at a concentration above its CMC may lower the likelihood for EptA to encounter its substrate. Hence, to avoid excess detergent in the buffer, 1 mM DOC concentration was chosen for further screening.

To further investigate the most suitable concentration of detergent present in the activity assay buffer for EptA, additional screening was carried out with different concentrations of DDM. Buffers containing 0-450 μ M DDM (0-3x CMC) with and without 1 mM DOC were tested. The reaction was also performed for 30 minutes at 25°C and the amount of the reaction product was quantitated by measuring the intensities of the band corresponding to NBD-DAG on the TLC plate (Figure 3). The results indicate the lowest EptA activity in the buffer containing 37.5 μ M DDM and 1 mM DOC whereas the highest EptA activity was observed in buffer containing 1 mM DOC in the absence of any DDM.

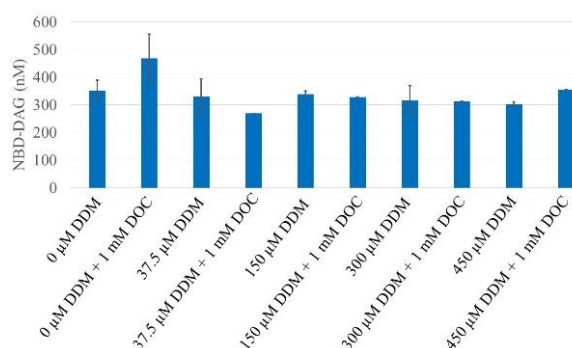


Figure 3. The EptA enzymatic assay as measured through the production of NBD-DAG in the presence of various concentrations of DDM and DOC. Each bar corresponds to the average from duplicate measurements with standard deviations shown.

Analysis of EptA Secondary Structure

The results of the CD analyses are shown in Figure 4 and Table 1. BeStSel was used to estimate the secondary structures present in the protein. The differences in percentage of α -helical, β -strand, turns content, and others (disordered) structures as a function of different buffers were compared.

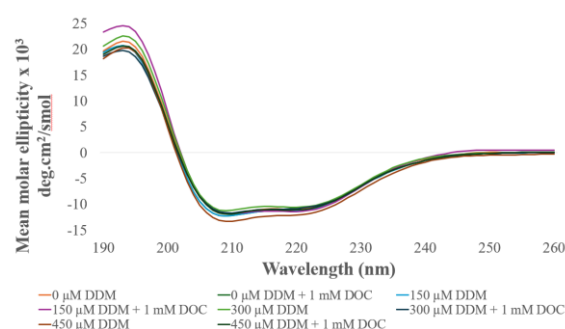


Figure 4. CD Spectra analyses of the predicted binding site residue of EptA in various types of buffers. The CD spectra obtained from seven different buffers were compared to 3x CMC (450 μ M)

From the CD spectral analyses, no major differences were observed between each treatment when compared to the control buffer where the DDM concentration in the buffer was at 3x CMC. The abundance of specific secondary structural elements, which is observable through the intensity of CD spectra at certain wavelength, were highly similar.

Despite the overall similarity of the CD spectra, further quantitative analysis must be carried out to help identify any differences in the secondary structure. Detailed comparisons are shown in Table 1. The secondary structure content prediction using BeStSel has shown a good fit as indicated by normal root mean squared

deviation (NRMSD) of 0.05 or less for all data (Miles *et al.*, 2021). NRMSD is a correspondence value between the experimental data and the back-calculated spectrum produced from the derived secondary structures. Thus, low (< 0.1) NRMSD value suggests that the best solution for deconvolution data analysis have resulted in an accurate reflection of the secondary structure. In agreement with the CD spectral data, the overall secondary structure content of EptA in various buffers are very similar. The alpha helical content of the protein on average differs by approximately 1% between different buffer compositions, with the highest difference (2-3%) observed when the protein buffer contains 150 μM DDM (equal to 1x CMC) and 1 mM DOC. The differences in the β -

strand content of the protein are very subtle as well, which are on average less than 5% except for the content of antiparallel β -strands in control buffer containing 450 μM DDM (3x CMC) which differed by approximately 9% from 0 μM DDM + 1 μM DOC, 150 μM DDM + 1 μM DOC, and 300 μM DDM. Lastly, the content of other (disordered) structures also differed by 7% – 13% in buffer containing 150 μM DDM (1x CMC) + 1 mM DOC when compared to all other samples. However, these differences are still within the acceptable range because up to 10% differences were also observed between calculated secondary structure content from CD data and the crystal structures of caletexin, antithrombin, Bj-xtrIT and hemerythrin (Miles *et al.*, 2021).

Table 1. Analysis of the secondary structure elements of EptA in eight buffers.

Buffer	Estimated Secondary Structure Content (%)						NRMSD
	Regular α helix	Distorted α helix	Anti-parallel β strand	Parallel β strand	Turns	Others	
0 μM DDM	15.3	11.0	16.6	7.5	11.2	38.4	0.05
0 μM DDM + 1 μM DOC	14.3	10.5	19.4	6.3	11.8	37.7	0.01
150 μM DDM	14.2	11.3	15.4	6.6	11.6	40.9	0.05
150 μM DDM + 1 μM DOC	17.1	10.3	19.2	4.0	11.6	30.8	0.01
300 μM DDM	15.5	10.3	19.5	4.6	11.8	38.3	0.01
300 μM DDM + 1 μM DOC	14.8	10.2	16.2	7.9	11.8	39.1	0.01
450 μM DDM	14.8	11.8	10.5	7.0	12.1	43.7	0.01
450 μM DDM + 1 μM DOC	14.8	11.1	16.2	7.1	11.7	39.0	0.005

Interaction of EptA and LOS *in vitro*

It has been proposed that EptA follows a ping-pong mechanism (Anandan *et al.*, 2017). EptA has two substrates: PE as the donor substrate and LOS as the receiver

substrate. It has been proposed that pEtN is transferred from PE to Thr280 on the enzyme as the first reaction in the ping-pong mechanism producing a bound enzyme-pEtN intermediate and resulting in the release of

DAG. The TLC based activity assay has shown that EptA is able to perform this first part of enzymatic reaction in the absence of the acceptor substrate. However, the enzyme's *in vitro* interaction with the acceptor substrate in the absence of the donor substrate has not yet been tested.

Rodríguez and Hardy (2015) have developed a simple technique to detect and analyse the interaction of protein and LPS using NAGE. Visualization of LPS in the agarose gel was carried out by equilibrating the gel in an imidazole solution followed by immersion in a ZnSO_4 solution. The overall negative charge of the LPS molecules electrostatically attracts zinc ions to diffuse into the agarose matrix. The zinc ions and the LPS will form a complex resulting in a transparent zone in the gel (observed as a dark zone in the image due to the fact that the gel was imaged on a dark background), while the zinc ions around the LPS will react with imidazole resulting in an imidazolate precipitate which stains the background. After the image of the gel was taken, the gel was immersed in an EDTA solution to dissolve the imidazolate precipitate, rinsed with ddH_2O to remove the EDTA, then stained with Coomassie blue to visualize the protein. The protein bands were then compared with the LPS bands. Through employing this method, the interaction of EptA and LOS was analysed. In essence, LOS is LPS without O-antigen. O-antigen is commonly found in

enteric bacteria. Bacteria that reside on the respiratory and genital mucosal surfaces, such as pathogenic *Neisseria*, lack the O-antigen (Preston *et al.*, 1996). The result of EptA and LOS interaction analysed by NAGE was shown in Figure 5.

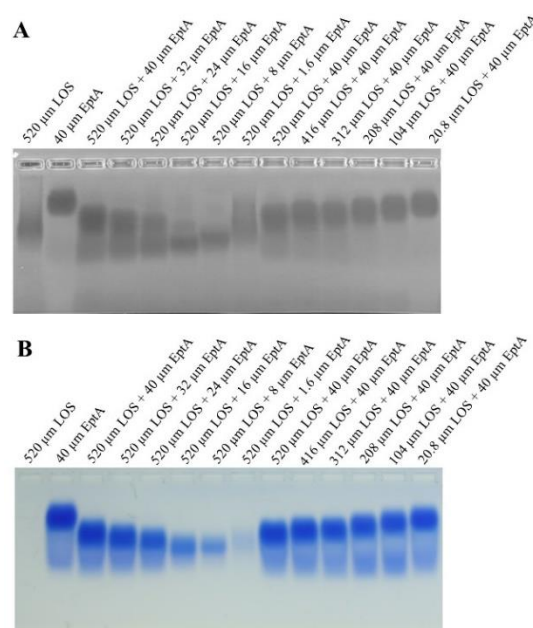


Figure 5. NAGE analysis of EptA and LOS. The gel was stained with (A) imidazole and zinc, (B) coomassie blue.

Using this method, changes in the electrophoretic movement of mixtures of EptA and LOS in various ratios were observed. EptA by itself as well as LOS by itself were used as negative controls. Figure 5A shows the EptA band as a transparent zone in the gel similar in position to the LOS band. This result differs from that observed by Rodríguez and Hardy (2015). EptA is a metallo-enzyme which contains a zinc ion bound to the protein. Therefore, similar to the LOS-zinc complex which appears as a transparent zone, EptA is observed as transparent zone on the gel as well. In

contrast, Rodríguez and Hardy used lysozyme (contains no metal) in their experiment, hence they observed an opaque zone.

Similar to Rodríguez and Hardy's observation of the LPS sample, the LOS band is also observed as a relatively broad band due to the high polydisperse molecular mass of LOS (Figure 5A, first lane). LOS is highly polydisperse due to the phase variation mechanism which influence the expression and/or function of various glycosyltransferases involved in the LOS biosynthesis (Bartley & Kahler, 2014).

As shown in Figure 5, the presence of EptA changes the electrophoretic movement of the LOS. When the concentration of LOS was high (520 μ M) and the concentration of EptA was high as well (40 μ M), the EptA band moved further from the well and the pattern of the clear zone became similar to the pattern of EptA band. As the EptA concentration became lower while the LOS concentration remained constant, the clear zone became more compact. On the other hand, when the EptA concentration was constantly high while the LOS concentration became lower, the pattern of the band became more similar to the band corresponding to EptA. Therefore, it can be concluded that *in vitro* EptA is able to interact with the second (acceptor) substrate even in the absence of the first (donor) substrate.

The NAGE analysis also indicates that 1 molecule of EptA could interact with up to

65 molecules of LOS. This is shown in Figure 5, where, compared to the lane containing only 520 μ M LOS, the band of the lane containing a mixture of 520 μ M LOS and 8 μ M EptA (65 LOS:1 EptA) was observed as a compact zone (Figure 5A). After Coomassie staining (Figure 5B), the corresponding zone was stained blue which suggest that EptA was detected on the same zone as the transparent zone corresponding to LOS. Meanwhile the transparent zone on the lane containing a mixture of 520 μ M LOS and 1.6 μ M EptA (325 LOS:1 EptA) was observed as a broad zone similar to the zone of the lane containing only LOS.

CONCLUSION

Highly pure EptA in sufficient amount was successfully obtained through recombinant expression using *E. coli* BL21(DE3) pLysS as the host cell, followed by Ni²⁺ NTA affinity and size exclusion chromatography. The enzymatic activity of EptA was significantly disturbed in the presence of > 2mM DOC. The enzymatic activity of EptA in various DDM concentration (0 – 450 μ M) with and without 1 mM DOC was maintained, with highest enzymatic activity observed when only 1 mM DOC was present in the buffer. Supporting the enzymatic activity assay, the secondary structure of EptA in the same buffer utilized in the activity assay was also maintained. Lastly, EptA interaction with its acceptor

substrate (LOS) in the absence of its donor substrate (PE) was observed *in vitro*. Therefore, further *in vitro* studies incorporating both PE and LOS with supplementation of up to 1 mM DOC to prevent LOS aggregation could be carried out to enable a more detailed study of the EptA enzymatic mechanism, and with the long-term final goal of developing inhibitors against EptA.

ACKNOWLEDGEMENT

The data presented in this paper were collected at Vrielink's laboratory at School of Molecular Sciences, The University of Western Australia (UWA). AS acknowledges UWA for support through an Australian Government International Research Training Program (RTP) Scholarship and a University Postgraduate Award (UPA).

BIBLIOGRAPHY

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002). Introduction to pathogens. In *Molecular biology of the cell*. (4th ed.). Garland Science.
- Anandan, A. (2018). *Structural characterisation of lipid a phosphoethanolamine transferase from Neisseria species* [Doctoral Thesis]. The University of Western Australia, Perth, Australia.
<https://doi.org/10.26182/5bc013e034e26>
- Anandan, A., & Vrielink, A. (2016). Detergents in membrane protein purification and crystallisation. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 922, 13–28.
[https://doi.org/10.1007/978-3-319-](https://doi.org/10.1007/978-3-319-35072-1_2)

[35072-1_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-35072-1_2)

- Anandan, A., Evans, G. L., Condic-Jurkic, K., O'Mara, M. L., John, C. M., Phillips, N. J., Jarvis, G. A., Wills, S. S., Stubbs, K. A., Moraes, I., Kahler, C. M., & Vrielink, A. (2017). Structure of a lipid A phosphoethanolamine transferase suggests how conformational changes govern substrate binding. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(9), 2218–2223.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1612927114>
- Bartley, S. N., & Kahler, C. M. (2014). *The glycome of Neisseria spp.: How does this relate to pathogenesis?* Caister Academic Press.
- Cooley, R. B., Arp, D. J., & Karplus, P. A. (2010). Evolutionary origin of a secondary structure: π -helices as cryptic but widespread insertional variations of α -helices that enhance protein functionality. *Journal of Molecular Biology*, 404(2), 232–246.
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2010.09.034>
- Eband, R. M., Walker, C., Eband, R. F., & Magarvey, N. A. (2016). Molecular mechanisms of membrane targeting antibiotics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1858(5), 980–987.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2015.10.018>
- Falagas, M. E., Kasiakou, S. K., & Saravolatz, L. D. (2005). Colistin: The revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clinical Infectious Diseases*, 40(9), 1333–1341.
<https://doi.org/10.1086/429323>
- Hardy, E., Rodriguez, C., & Toledo, L. E. T. (2016). Lipopolysaccharide (LPS) and protein-LPS complexes: Detection and characterization by gel electrophoresis, mass spectrometry and bioassays. *Biology and Medicine*, 08(03).
<https://doi.org/10.4172/0974-8369.1000277>

- Inoue, H., Nojima, H., & Okayama, H. (1990). High efficiency transformation of *Escherichia coli* with plasmids. *Gene*, 96(1), 23–28. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(90\)90336-p](https://doi.org/10.1016/0378-1119(90)90336-p)
- Islam, M. S., Aryasomayajula, A., & Selvaganapathy, P. (2017). A review on macroscale and microscale cell lysis methods. *Micromachines*, 8(3), 83. <https://doi.org/10.3390/mi8030083>
- Jeffery, C. J. (2016). Expression, solubilization, and purification of bacterial membrane proteins. *Current Protocols in Protein Science*, 83(1), 1–29. <https://doi.org/10.1002/0471140864.ps2915s83>
- Kabsch, W., & Sander, C. (1983). Dictionary of protein secondary structure: Pattern recognition of hydrogen-bonded and geometrical features. *Biopolymers*, 22(12), 2577–2637. <https://doi.org/10.1002/bip.360221211>
- Kohanski, M. A., Dwyer, D. J., & Collins, J. J. (2010). How antibiotics kill bacteria: From targets to networks. *Nature Reviews Microbiology*, 8(6), 423–435. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2333>
- Komuro, T., & Galanos, C. (1988). Analysis of salmonella lipopolysaccharides by sodium deoxycholate—polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 450(3), 381–387. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(01\)83593-7](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(01)83593-7)
- Lewis, L. A., Choudhury, B., Balthazar, J. T., Martin, L. E., Ram, S., Rice, P. A., Stephens, D. S., Carlson, R., & Shafer, W. M. (2009). Phosphoethanolamine substitution of lipid A and resistance of *Neisseria gonorrhoeae* to cationic antimicrobial peptides and complement-mediated killing by normal human serum. *Infection and Immunity*, 77(3), 1112–1120. <https://doi.org/10.1128/iai.01280-08>
- Micsonai, A., Wien, F., Kernya, L., Lee, Y.-H., Goto, Y., Réfrégiers, M., & Kardos, J. (2015). Accurate secondary structure prediction and fold recognition for circular dichroism spectroscopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(24). <https://doi.org/10.1073/pnas.1500851112>
- Micsonai, A., Moussong, É., Wien, F., Boros, E., Vadász, H., Murvai, N., Lee, Y., Molnár, T., Réfrégiers, M., Goto, Y., Tantos, A., & Kardos, J. (2022). Bestsel: Webserver for secondary structure and fold prediction for protein CD spectroscopy. *Nucleic Acids Research*, 50(W1), W90–W98. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac345>
- Miles, A. J., Janes, R. W., & Wallace, B. A. (2021). Tools and methods for circular dichroism spectroscopy of proteins: A tutorial review. *Chemical Society Reviews*, 50(15), 8400–8413. <https://doi.org/10.1039/d0cs00558d>
- Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., ... Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: A systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(21)02724-0)
- Needham, B. D., & Trent, M. S. (2013). Fortifying the barrier: The impact of lipid A remodeling on bacterial pathogenesis. *Nature Reviews Microbiology*, 11(7), 467–481. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3047>
- O'Neill, J. (2014) Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. Retrieved 7 May 2024 from https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf

- Piek, S., Wang, Z., Ganguly, J., Lakey, A. M., Bartley, S. N., Mowlaboccus, S., Anandan, A., Stubbs, K. A., Vrielink, A., Azadi, P., Carlson, R. W., & Kahler, C. M. (2014). The role of oxidoreductases in determining the function of the neisserial lipid a phosphoethanolamine transferase required for resistance to polymyxin. *PLoS ONE*, 9(10), e110567. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110567>
- Preston, A., Mandrell, R. E., Gibson, B. W., & Apicella, M. A. (1996). The lipooligosaccharides of pathogenic gram-negative bacteria. *Critical Reviews in Microbiology*, 22(3), 139–180. <https://doi.org/10.3109/10408419609106458>
- Provencher, S. W., & Gloeckner, J. (1981). Estimation of globular protein secondary structure from circular dichroism. *Biochemistry*, 20(1), 33–37. <https://doi.org/10.1021/bi00504a006>
- Sreerama, N., Venyaminov, S. Y. U., & Woody, R. W. (1999). Estimation of the number of α -helical and β -strand segments in proteins using circular dichroism spectroscopy. *Protein Science*, 8(2), 370–380. <https://doi.org/10.1110/ps.8.2.370>
- Sreerama, N., & Woody, R. W. (2000). Estimation of protein secondary structure from circular dichroism spectra: Comparison of Contin, SELCON, and CDSSTR methods with an expanded reference set. *Analytical Biochemistry*, 287(2), 252–260. <https://doi.org/10.1006/abio.2000.4880>
- Tzeng, Y.-L., Ambrose, K. D., Zughailer, S., Zhou, X., Miller, Y. K., Shafer, W. M., & Stephens, D. S. (2005). Cationic antimicrobial peptide resistance in *Neisseria meningitidis*. *Journal of Bacteriology*, 187(15), 5387–5396. <https://doi.org/10.1128/jb.187.15.5387-5396.2005>
- World Health Organization (WHO). (2018). Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS); the detection and reporting of colistin resistance. Retrieved 7 May 2024 from <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/277175/WHO-WSI-AMR-2018.4-eng.pdf>

ANALISIS EFEKTIVITAS PENGGUNAAN ALAT BANTU PENGANGKATAN PLY PADA MESIN BUILDING PT AST

[ANALYSIS OF THE EFFECTIVENESS OF USING A PLY LIFTING TOOL ON BUILDING MACHINERY AT PT AST]

Adi Saputra¹, Agustina Christiani^{2*}

^{1,2}Program Studi Teknik Industri, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Pelita Harapan,
Jalan M.H. Thamrin Boulevard, Lippo Village, Tangerang

*Korespondensi penulis: agustina.christiani@uph.edu

ABSTRACT

PT AST is one of the leading tire manufacturing industries in Indonesia. In the building department, there are material replacement activities carried out manually by lifting heavy rolls of ply (material) to the machine which can pose a risk of injury to the operator. The engineering department has made a ply lifting tool, and tested it in May 2023, but it was not used in the production process. Therefore this research was conducted to evaluate the effectiveness of this tool based on the operator productivity, standard time, and the level of risk of injury generated before and after use. Rapid Entire Body Assessment method, and Lifting Index were used to evaluate the injury risk. The paired t-test results showed that the worker productivity after using the tool (144 pcs/shift) was not significantly different from the worker productivity before using the tool (143,6 pcs/shift). The standard time of the material replacement process after using the tool was 122.15 seconds, longer than the replacement time without using the tool, which was 74.37 seconds. However, the longer replacement time did not significantly reduce overall worker productivity, because the proportion of this replacement time was only 2.3% of the total working time in one shift. The tool was able to reduce the level of injury risk based on REBA score from very high risk (11 points), to medium risk (7 points), and successfully eliminated the risk of back injury based on the lifting index value which dropped from 2.56 (high risk) to 0 (no risk). In conclusion, the ply lifting tool was functionally effective because it can reduce the potential injury to the operator.

Keywords: effectiveness; lifting index; ply lifting tool; productivity; REBA

ABSTRAK

PT AST merupakan salah satu industri manufaktur ban terkemuka di Indonesia. Pada Departemen *Building*, terdapat kegiatan penggantian material yang dilakukan secara manual dengan mengangkat gulungan *ply* (material) yang berat ke mesin yang dapat menimbulkan risiko cedera pada operator. Departemen *engineering* telah membuat alat bantu pengangkat *ply*, dan mengujicobakannya pada bulan Mei 2023, namun alat bantu tersebut tidak digunakan lebih lanjut dalam proses produksi. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi efektivitas alat bantu tersebut berdasarkan produktivitas operator, waktu baku, dan tingkat risiko cedera yang ditimbulkan sebelum dan sesudah alat bantu digunakan. Metode *Rapid Entire Body Assessment* dan *Lifting Index* digunakan untuk mengevaluasi tingkat risiko cedera. Hasil uji-t berpasangan menunjukkan bahwa produktivitas pekerja setelah menggunakan alat bantu (144 pcs/shift) tidak berbeda secara signifikan dengan produktivitas pekerja sebelum menggunakan alat bantu (143,6 pcs/shift). Waktu baku proses penggantian material setelah menggunakan alat bantu adalah 122,15 detik, lebih lama dibandingkan dengan waktu penggantian tanpa menggunakan alat bantu, yaitu 74,37 detik. Namun waktu penggantian yang lebih lama tersebut tidak menurunkan produktivitas pekerja

secara keseluruhan secara signifikan, karena proporsi waktu penggantian ini hanya sebesar 2,3% dari total waktu kerja dalam satu shift. Alat bantu ini mampu menurunkan tingkat risiko cedera berdasarkan skor REBA dari risiko sangat tinggi (11 poin), menjadi risiko sedang (7 poin), dan berhasil mengeliminasi risiko cedera punggung berdasarkan nilai lifting index yang turun dari 2.56 (risiko tinggi) menjadi 0 (tidak berisiko). Kesimpulannya, alat bantu pengangkat *ply* efektif secara fungsional karena dapat mengurangi potensi cedera pada operator.

Kata kunci: alat bantu pengangkatan *ply*; efektivitas; lifting index; produktivitas; REBA

PENDAHULUAN

PT AST merupakan industri manufaktur yang memproduksi ban kendaraan bermotor. Pada proses produksinya terdapat proses *building* atau *assembly* ban, yang mencakup aktivitas penggantian material yang masih dilakukan secara manual dengan mengangkat *roll* atau gulungan *ply* (material) ke badan mesin yang dapat menimbulkan risiko cedera pada operator. Adapun berat material yang diangkat tiap rol berkisar 25-40 kg, tergantung lebar material pada rol tersebut, dengan ketinggian mesin 80-130 cm dari lantai. Ilustrasi pengangkatan material dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Proses pengangkatan material

Aktivitas pengangkatan material ini tidak hanya terdapat di Departemen

building melainkan juga terdapat pada departemen *bias cutting* dan *tubeless* yang memproduksi *ply*. Diketahui perusahaan menetapkan batas maksimal pengangkatan manual untuk laki-laki dewasa adalah 25kg. PT AST melalui departemen HSE (*Health Safety and Environment*) telah mengupayakan perbaikan untuk menghilangkan potensi cedera dengan melakukan investasi alat pemindah beban otomatis, namun belum bisa diaplikasikan pada semua departemen karena tingginya nilai investasi. Saat ini yang dilakukan perusahaan adalah memberikan aturan dan himbauan untuk pengangkatan *ply* yang beratnya >25 kg dilakukan oleh dua orang, serta memberikan alat pelindung diri berupa *back support belt* untuk mengurangi rasa sakit pada bagian punggung belakang.

Sebagai tindak lanjut upaya yang telah dilakukan perusahaan, PT AST melalui departemen *engineering* membuat alat bantu pengangkatan *ply* pada bulan Mei 2023. Tujuannya adalah untuk menghilangkan proses pengangkatan *ply*

secara manual, sehingga tingkat risiko potensi cedera pada operator dapat diminimalisir atau dihilangkan. Alat bantu dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Alat bantu pengangkatan *ply*

Alat bantu sudah diujicobakan namun tidak digunakan lebih lanjut dalam proses produksi. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan mengevaluasi efektivitas alat bantu tersebut, melalui analisis produktivitas operator, waktu proses penggantian material, dan tingkat risiko cedera akibat proses kerja sebelum dan setelah alat bantu digunakan. Hal ini dilakukan agar dapat diketahui penyebab tidak digunakannya alat bantu pengangkatan *ply* tersebut.

METODE PENELITIAN

Tahap pertama dari pengumpulan data adalah menentukan produktivitas berdasarkan banyaknya unit yang dihasilkan oleh pekerja pada proses *building* setiap shiftnya, baik sebelum maupun sesudah menggunakan alat bantu. Selanjutnya dilakukan uji normalitas

menggunakan aplikasi minitab 21. Setelah didapatkan data berdistribusi normal, dilakukan uji *t* berpasangan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan dari hasil produksi sebelum dan sesudah menggunakan alat bantu pengangkatan *ply*.

Metode yang digunakan untuk menentukan waktu baku penggantian material adalah metode jam henti (Gunawan & Wahyudin, 2022; Septian & Herwanto, 2022). Pengambilan data waktu dilakukan sebanyak 10 kali untuk setiap elemen pekerjaan pengangkatan baik sebelum maupun setelah menggunakan alat bantu. Data waktu penggantian material pada kondisi sebelum dan sesudah menggunakan alat bantu divalidasi dengan uji normalitas, uji keseragaman data, dan uji kecukupan data. Waktu siklus dihitung berdasarkan rata-rata data waktu pengamatan. Untuk menentukan waktu normal perlu dihitung faktor penyesuaian yang ditentukan menggunakan metode *westinghouse* (Freivalds & Niebel, 2014; Kusuma & Firdaus, 2019). Faktor kelonggaran ditentukan berdasarkan tabel *ILO Fatigue Allowance* untuk mendapatkan waktu baku (Marras & Karwowski, 2006).

Tingkat risiko cedera muskuloskeletal pada pekerja ditentukan menggunakan metode REBA atau *Rapid*

Entire Body Assessment (Hignett &McAtamney, 2000; Madani & Dababneh, 2016). Berdasarkan foto postur kerja yang akan dianalisis, ditentukan sudut leher, badan, kaki, lengan atas, lengan bawah, serta pergelangan tangan. Kemudian dilakukan pengisian lembar kerja REBA untuk dapat menentukan tingkat risiko atas pekerjaan pengangkatan material untuk 2 kondisi yaitu sebelum dan sesudah menggunakan alat bantu.

Untuk menentukan apakah pekerjaan pengangkatan *ply* ini berisiko bagi pekerja maka dihitunglah *Lifting Index* berdasarkan persamaan pengangkatan NIOSH (Waters, Putz-Anderson & Garg, 2021; Sujarwadi, 2013). Untuk data berat *roll ply*, jarak tangan pada posisi horisontal dan vertikal saat mengambil dan meletakkan material, sudut asimetris serta frekuensi dan durasi pengangkatan material diolah berdasarkan rumus RWL dan lifting index untuk menentukan risiko cedera punggung belakang pada operator akibat aktivitas penggantian material sebelum dan sesudah menggunakan alat bantu.

Setelah dilakukan pengolahan data, hasil yang didapatkan kemudian dibahas atau dianalisis dengan menginterpretasikan hasil uji t berpasangan pada nilai produktivitas sebelum dan sesudah menggunakan alat bantu sesuai

hipotesisnya. Menentukan rasio waktu penggantian material dari hasil waktu baku sebelum dan sesudah menggunakan alat bantu. Membandingkan tingkat risiko muskuloskeletal berdasarkan skor REBA sebelum dan sesudah menggunakan alat bantu. Membandingkan hasil lifting index sebelum dan sesudah menggunakan alat bantu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Detail Aktivitas Penggantian Material

Detail aktivitas penggantian material sebelum menggunakan alat bantu adalah: (a) menghentikan mesin, (b) berjalan ke badan mesin, (c) menurunkan *ply*, (d) mengangkat *ply*, (e) mendorong *ply*, (f) *setting* sambungan *ply*, (g) kembali ke mesin. Detail aktivitas penggantian material sesudah menggunakan alat bantu adalah: (a) menghentikan mesin, (b) memposisikan alat ke lori, (c) menarik sling, (d) memasang dan mengaitkan sabuk, (e) menekan tombol *up*, (f) menarik *roll ply* dari lori, (g) memposisikan alat ke mesin, (h) memasang roll ke mesin.

Pengujian Data Produktivitas

Untuk membandingkan produktivitas operator sebelum dan sesudah menggunakan alat bantu, diambil data historis hasil produksi dari Departemen *Building*. Terkumpul 25 sampel untuk data hasil produksi *building*

per *shift* pada kondisi sebelum dan 25 sampel pada kondisi sesudah menggunakan alat bantu. Selanjutnya dilakukan uji normalitas data menggunakan metode Kolmogorov-Smirnov dengan bantuan aplikasi minitab. Data produktivitas berdistribusi normal karena hasil $p\text{-value} > 0,150$ untuk data sebelum penggunaan alat bantu dan $p\text{-value} = 0,130$ untuk data sesudah penggunaan alat bantu lebih besar dari nilai α sebesar 0,05. Rata-rata produktivitas sebelum dan sesudah penggunaan alat bantu berturut-turut adalah 143,6 pcs/shift dan 144 pcs/shift. Selanjutnya dilakukan uji t berpasangan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan signifikan antara produktivitas sebelum dan sesudah menggunakan alat bantu. Dari hasil pengolahan data didapatkan $P\text{-Value}$ adalah 0,762 atau lebih besar daripada nilai α nya 0,05. Artinya gagal tolak H_0 , atau terima H_0 berarti tidak terdapat perbedaan signifikan antara produktivitas sebelum dan sesudah adanya alat bantu pengangkatan *ply*.

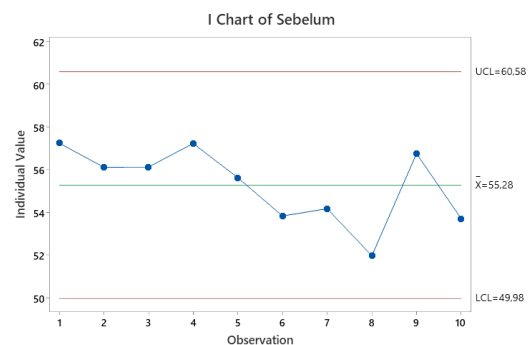
Perhitungan Waktu Baku Sebelum Menggunakan Alat Bantu

Data waktu penggantian material sebelum menggunakan alat bantu diambil sebanyak 10 data, yang ditunjukkan pada Tabel 1. Selanjutnya dilakukan uji normalitas data dan didapat hasil $P\text{-Value}$

sebesar 0,150 ($>0,05$) yang berarti data berdistribusi normal, dan rata-rata waktu 55,28 detik. Uji keseragaman data dengan peta kendali dapat dilihat pada Gambar 3.

Tabel 1. Data waktu penggantian material sebelum penggunaan alat bantu

Data ke	Waktu (detik)
1	57,24
2	56,11
3	56,13
4	57,23
5	55,63
6	53,84
7	54,18
8	51,98
9	56,75
10	53,71



Gambar 3. Peta kendali (data waktu sebelum penggunaan alat bantu)

Berdasarkan Gambar 3 diketahui sebaran data sampel berada diantara batas kendali atas dan bawah sehingga dinyatakan data seragam. Uji kecukupan data dengan tingkat keyakinan 95% ($z=2$) dan tingkat ketelitian 5%, didapatkan jumlah data minimum yang dibutuhkan sebesar 2. Data sampel sejumlah 10, lebih besar dari data yang dibutuhkan (2), sehingga data cukup.

Pemberian nilai faktor penyesuaian menggunakan metode Westinghouse yang memperhatikan 4 faktor yaitu

keterampilan, usaha, kondisi dan konsistensi. Didapatkan skor untuk faktor keterampilan (+0,11), faktor usaha (+0,05), faktor kondisi (0,00), dan faktor konsistensi (+0,01). Keempat faktor tersebut dijumlahkan dan ditambah 1, didapatkan hasil 1,17 atau nilai faktor penyesuaian 117%. *Allowance* atau nilai kelonggaran ditentukan berdasarkan tabel *ILO fatigue allowance* sebesar 15%.

Selanjutnya perhitungan waktu baku adalah sebagai berikut:

1. Waktu Siklus, sama dengan rata-rata waktu hasil pengamatan yaitu 55,28 detik
2. Waktu Normal, adalah hasil kali waktu siklus dengan faktor penyesuaian = $55,28 \times 117\% = 64,67$ detik
3. Waktu baku didapatkan dengan menambahkan faktor kelonggaran pada waktu normal sebesar $15\% = 64,67 \times 1,15 = 74,37$ detik.

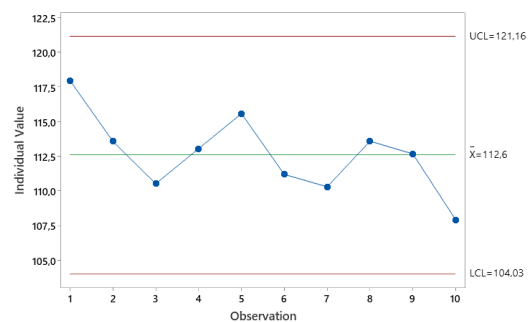
Perhitungan Waktu Baku Setelah Menggunakan Alat Bantu

Data waktu penggantian material dengan menggunakan alat bantu dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan hasil uji normalitas kesepuluh data tersebut, didapatkan nilai P-value $>0,150$, lebih besar dari nilai alfa (0,05), sehingga data berdistribusi normal. Uji keseragaman data menggunakan peta kendali dapat dilihat pada Gambar 4.

Berdasarkan Gambar 4 dapat ditarik kesimpulan bahwa data sampel yang diuji adalah seragam, karena sebaran dari keseluruhan data masih berada di dalam batas kendali atas dan batas kendali bawah. Uji kecukupan data dengan tingkat keyakinan 95% ($z=2$) dan tingkat ketelitian 5%, didapatkan jumlah data minimum yang dibutuhkan sebesar 2. Data sampel sejumlah 10, lebih besar dari data yang dibutuhkan (2), sehingga data cukup.

Tabel 2. Data waktu penggantian material sesudah penggunaan alat bantu

Data ke	Waktu (detik)
1	117,96
2	113,58
3	110,52
4	113,05
5	115,58
6	111,19
7	110,30
8	113,59
9	112,67
10	107,91



Gambar 4. Peta kendali (data waktu sesudah penggunaan alat bantu)

Faktor penyesuaian, untuk faktor keterampilan memiliki nilai (-0,05), usaha (0,00), kondisi (0,00), dan konsistensi (+0,01). Faktor penyesuaian yang didapatkan dengan menjumlahkan nilai keempat faktor setelah ditambahkan 1

adalah 0,96 atau 96%. Faktor kelonggaran yang didapatkan dari tabel *ILO fatigue allowance* sebesar 13%. Berikut perhitungan waktu baku:

1. Waktu Siklus, sama dengan rata-rata waktu hasil pengamatan yaitu 112,6 detik
2. Waktu Normal = $112,6 \times 96\% = 108,10$ detik
3. Waktu baku = $108,10 \times 1,13 = 122,15$ detik.

Analisis postur kerja

Diambil dokumentasi postur tubuh operator, yaitu dua postur pada kondisi sebelum, dan dua postur kondisi sesudah menggunakan alat bantu. Selanjutnya dilakukan pengukuran sudut menggunakan busur dari keempat postur kerja, sebagai acuan pengisian worksheet *REBA* untuk setiap postur kerja. Adapun hasil pengukuran sudut dari keempat postur kerja operator dapat dilihat pada Gambar 5 dan Gambar 6.

Hasil penilaian *REBA* dari keempat postur kerja dapat dilihat pada Tabel 3. Dari Tabel 3, diketahui terdapat penurunan nilai *REBA* dari yang semula 11 atau berisiko tinggi, menjadi 5 atau berisiko sedang. Hal ini menyatakan bahwa alat bantu pengangkatan *ply* yang sudah dibuat, mampu mengurangi risiko cedera akibat pekerjaan pengangkatan *ply*. Adapun penurunan nilai yang didapatkan

masih belum maksimal, sehingga masih dimungkinkan adanya perbaikan lanjutan untuk dapat menghilangkan potensi cedera pada operator.



Postur 1 postur 2
Gambar 5. Pengukuran sudut postur kerja sebelum menggunakan alat bantu



Postur 1 postur 2
Gambar 6. Pengukuran sudut postur kerja sesudah menggunakan alat bantu

Tabel 3. Hasil Penilaian *Worksheet REBA*

Postur kerja	Sebelum	sesudah
Postur 1	11	5
Postur 2	11	5

Analisis Lifting Index

Sebelum menggunakan alat bantu, seorang operator produksi departemen *building* harus melakukan penggantian material dengan mengangkat dan memasang *roll ply* dari lori ke badan mesin *building* secara manual. Adapun *roll ply* dijatuhkan ke lantai terlebih dahulu, kemudian dipasangkan ke badan mesin

building. Roll *ply* berdiameter 45 cm dan lebar 50 cm, dengan berat rata-rata 30 kg, tanpa memiliki pegangan khusus. Lama waktu satu kali pengangkatan adalah 19 detik. Kegiatan ini hanya dilakukan saat penggantian material di mesin. Frekuensi pengangkatan oleh operator adalah 9 kali dalam satu *shift* (8 jam). Aktivitas ini tidak memerlukan putaran tubuh sehingga sudut asimetris = 0°. Ilustrasi jarak vertikal dan horisontal tangan dapat dilihat pada Gambar 7. Data tersebut dimasukkan ke persamaan pengangkatan NIOSH untuk mendapatkan nilai RWL (*recommended weight limit*) dan *lifting index*.

Hasil perhitungan RWL dan *lifting index* untuk kedua posisi yaitu posisi awal dan posisi akhir pengangkatan dapat dilihat pada Tabel 4. Dari Tabel 4. diketahui nilai *lifting index* pada posisi awal dan posisi akhir >1 artinya aktivitas pengangkatan berbahaya, harus ada perbaikan untuk menurunkan nilai *lifting index* dan mengurangi potensi terjadinya cedera punggung bagian belakang. Sebaliknya untuk aktivitas penggantian material sesudah menggunakan alat bantu, proses pengangkatan *ply* secara manual sudah dihilangkan. Artinya nilai

lifting index setelah menggunakan alat bantu adalah 0 (nol) atau tidak ada pengangkatan manual.



Gambar 7. Ilustrasi pengangkatan *ply* secara manual

Tabel 4. Hasil perhitungan RWL dan *lifting index*

	Posisi awal	Posisi akhir
RWL	11,69 kg	16,10 kg
<i>Lifting index</i>	2,56	1,86

Rekap Perbandingan Sebelum dan Sesudah Penggunaan Alat Bantu

Rekap perbandingan kondisi sebelum dan sesudah menggunakan alat bantu pengangkatan *ply* dari keempat analisis dapat dilihat pada Tabel 5. Hasil perbandingan faktor produktivitas pada Tabel 5 menunjukkan rata-rata hasil produksi *building* sebelum dan sesudah menggunakan alat bantu pengangkatan *ply* tidak berbeda signifikan. Artinya alat bantu pengangkatan *ply* tidak memberikan dampak positif terhadap peningkatan hasil produksi Departemen *Building*.

Tabel 5. Perbandingan hasil sebelum dan sesudah menggunakan alat bantu

No	Faktor	Poin	Sebelum	Sesudah
1.	Produktivitas	Rata-rata <i>Output</i>	143,6 (pcs/shift)	144 (pcs/shift)
2.	Waktu Penggantian Material	Waktu Baku	74,37 detik	122,15 detik
3.	REBA	REBA Score	11	5
4.	<i>Lifting Index</i>	LI	2,56	0

Hasil perbandingan faktor waktu baku pada Tabel 5 menunjukkan waktu baku pada aktivitas penggantian material setelah menggunakan alat bantu pengangkatan *ply* lebih lama dibandingkan waktu penggantian material sebelum menggunakan alat bantu. Hal inilah yang menjadi alasan mengapa alat bantu tidak lagi digunakan di Departemen *Building*.

Hasil perbandingan faktor *REBA* pada Tabel 5 menunjukkan skor *REBA* yang lebih kecil pada aktivitas penggantian material setelah menggunakan alat bantu. Artinya penggunaan alat bantu pengangkatan *ply* berdampak positif terhadap penurunan tingkat risiko cedera dari risiko sangat tinggi menjadi medium.

Hasil perbandingan faktor *Lifting Index* pada Tabel 5 menunjukkan skor *lifting index* setelah menggunakan alat bantu pengangkatan *ply* adalah nol. Artinya proses pengangkatan manual telah dihilangkan, dan potensi risiko cedera pada punggung belakang dapat dihilangkan.

Data waktu penggantian material setelah menggunakan alat bantu pengangkatan *ply* memang lebih lama bila dibandingkan sebelum penggunaan alat bantu. Namun bertambahnya waktu tersebut tidak signifikan jika dibandingkan dengan proporsinya terhadap waktu kerja total selama 1 *shift* (8 jam atau 28.800 detik), yaitu dari 2,3% menjadi 3,8%.

Berikut perhitungan proporsi dari rasio waktu penggantian material:

- Sebelum penggunaan alat bantu:
 $(74,37 \times 9) / 28.800 \times 100\% = 0,023 \times 100\% = 2,3\%$
- Setelah penggunaan alat bantu:
 $(122,148 \times 9) / 28.800 \times 100\% = 0,038 \times 100\% = 3,8\%$

Dengan demikian, alasan untuk tidak menggunakan alat bantu pengangkatan *ply* karena waktu proses penggantian material yang meningkat tidak dapat dibenarkan. Alat bantu pengangkatan *ply* ini bisa dikatakan efektif secara fungsional karena mampu mengurangi tingkat risiko cedera yang dibuktikan dengan berkurangnya skor *REBA* dan *lifting index* setelah menggunakan alat bantu pengangkatan *ply*.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil sebagai berikut:

1. Hasil uji statistik *t* berpasangan menunjukkan bahwa faktor produktivitas operator sebelum dan sesudah menggunakan alat bantu pengangkatan *ply* tidak berbeda signifikan, artinya penggunaan alat bantu tidak memberikan pengaruh terhadap hasil produktivitas operator.
2. Waktu baku penggantian material sesudah menggunakan alat bantu

menjadi lebih lama yaitu dari 122,148 menjadi 74,37 detik. Namun peningkatan tersebut tidak signifikan bila dibandingkan dengan total waktu produksi.

3. Penggunaan alat bantu pengangkatan *ply* mampu menurunkan tingkat risiko potensi cedera pada operator yang dibuktikan dari menurunnya nilai REBA dari 11 (risiko sangat tinggi) menjadi 5 poin (risiko medium). Alat bantu ini juga mampu menghilangkan potensi cedera punggung bawah akibat proses pengangkatan dengan nilai lifting index sebelum 2,56 (risiko tinggi), menjadi 0 (tanpa risiko).

Mengingat tujuan awal adalah menghilangkan proses pengangkatan manual serta mengurangi atau menghilangkan potensi dan tingkat risiko cedera pada operator serta berdasarkan hasil analisis yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa alat bantu pengangkatan *ply* sudah efektif secara fungsional sehingga dapat terus digunakan pada proses produksi di Departemen Building PT AST.

DAFTAR PUSTAKA

- Freivalds, A., & Niebel, B. (2014). *Niebel's methods, standards, & work design*. McGraw Hill.
- Gunawan, R., & Wahyudin, W. (2022). Usulan penentuan waktu baku metode jam henti pada proses pengemasan produk kangkung akar 250 gr. *Jurnal Teknik Industri*, 8(2), 223-230. <https://doi.org/10.24014/jti.v8i2.19631>
- Hignett, S., & McAtamney, L. (2000). Rapid entire body assessment (REBA). *Applied Ergonomics*, 31, 201-205. [https://doi.org/10.1016/S0003-6870\(99\)00039-3](https://doi.org/10.1016/S0003-6870(99)00039-3)
- Kusuma, T. Y. T., & Firdaus, M. F. S. (2019). Penentuan jumlah tenaga kerja optimal untuk peningkatan produktifitas kerja (studi kasus: UD. Rekayasa Wangdi W). *Integrated Lab Journal*, 7(2), 26-36.
- Madani, D. A., & Dababneh, A. (2016). Rapid entire body assessment: A literature review. *American Journal of Engineering and Applied Sciences*. 9(1), 107-118. <https://doi.org/10.3844/ajeassp.2016.107.118>
- Marras, W. S., & Karwowski, W. (2006). *Fundamentals and assessment tools for occupational ergonomics*. Taylor & Francis. <https://doi.org/10.1201/9781420003635>
- Septianto, M., & Herwanto, D. (2022). Penentuan target produksi paint roller berdasarkan perhitungan waktu baku menggunakan metode stopwatch time study. *Journal Industrial Services*, 7(2), 206-210. <https://doi.org/10.36055/jiss.v7i2.12756>
- Sujarwadi, A. (2013). *Aplikasi NIOSH lifting equation pada simulasi manual lifting task air minum kemasan galon*. Proceeding of the 7th National Industrial Engineering Conference. (pp.62-68). Universitas Surabaya.
- Waters, T. R., Putz-Anderson, V., & Garg, A. (2021). *Applications manual for revised NIOSH lifting equation*. DHHS (NIOSH) Publication.

RANCANG BANGUN SISTEM MONITORING DAN PENGENDALIAN KANDANG AYAM PINTAR DENGAN MENGGUNAKAN MIKROKONTROLER ESP32 DAN VISUALISASI BLYNK

[DESIGN AND CONSTRUCTION OF A SMART CHICKEN COOP MONITORING AND CONTROL SYSTEM USING AN ESP32 MICROCONTROLLER AND BLYNK VISUALIZATION]

Nadia Noviarno¹, Henri P. Uranus²

^{1,2}Program Studi Teknik Elektro, Fakultas Sains dan Teknologi,
Universitas Pelita Harapan Jl. M.H. Thamrin Boulevard, Lippo Village, Tangerang

*Korespondensi penulis: nadia.noviarno@gmail.com

ABSTRACT

Many chicken farmers in Indonesia still rely on conventional approaches in their operations, including manual feeding, watering, and temperature control. The aim of this research is to design and build an IoT-based smart chicken coop system. This system will allow for more accurate monitoring of factors affecting poultry production, such as temperature conditions, air humidity, feed and water supply, and automatic lighting. With this system, farmers can make more efficient and quick decisions, which will ultimately increase productivity and welfare of chickens, as well as optimize resource utilization. The IoT platform used to run the monitoring process in the smart coop is Blynk. Utilizing Blynk will assist farmers in collecting data, visually illustrating, and analyzing data in real time. Testing was conducted on four subsystems of the coop design, where the results of component testing and sensor calibration found that the DHT22 temperature and humidity sensor has an average reading discrepancy of 0.75%, the LDR light sensor has accurate values in room conditions, the ultrasonic sensor has an average reading discrepancy of 0.9%, while the water level sensor can provide accurate detection on water thus it can be used as a platform for monitoring. The results of functional test of the system as a whole, showed that the system works very well, making it effective to be a solution for chicken farmers.

Keywords: poultry farming; monitoring and control system; Blynk; Internet of Things (IoT)

ABSTRAK

Peternak ayam banyak yang masih mengandalkan pendekatan konvensional dalam operasional peternakannya, termasuk pemberian pakan, air minum, dan pengaturan suhu yang dilakukan secara manual. Tujuan dari penelitian ini adalah merancang dan membangun sistem kandang ayam pintar berbasis IoT. Sistem ini akan memungkinkan pemantauan yang lebih tepat terhadap faktor-faktor yang memengaruhi produksi ayam unggas, seperti kondisi suhu, kelembaban udara, pasokan pakan dan air, serta pencahayaan otomatis. Dengan adanya sistem ini, peternak dapat membuat keputusan yang lebih efisien dan cepat, yang pada akhirnya akan meningkatkan produktivitas dan kesejahteraan ayam, serta mengoptimalkan penggunaan sumber daya. Platform IoT yang digunakan untuk menjalankan proses pemantauan di dalam kandang adalah Blynk. Pemanfaatan Blynk akan membantu peternak dalam mengumpulkan data, menggambarkan secara visual, dan menganalisis data secara *real time*. Pengujian dilakukan terhadap empat proses dari perancangan alat ini, di mana dari hasil pengujian per komponen dan kalibrasi sensor didapatkan bahwa sensor suhu dan kelembapan DHT22 mempunyai selisih bacaan sebesar 0.75%, sensor cahaya LDR mempunyai nilai yang akurat pada kondisi ruangan, sensor ultrasonik mempunyai selisih bacaan sebesar 0.9%, dan sensor

water level dapat memberikan deteksi yang akurat pada air sehingga dapat digunakan sebagai *platform* untuk monitoring. Dari hasil pengujian fungsional sistem secara keseluruhan didapatkan bahwa sistem bekerja sangat baik, sehingga sistem efektif untuk menjadi solusi bagi peternak ayam.

Kata kunci: *Blynk; Internet of Things (IoT);* peternakan ayam; sistem monitoring dan kontrol

PENDAHULUAN

Ayam merupakan salah satu hewan yang dapat ditanakkan di Indonesia. Hal ini dibuktikan dari banyaknya rumah makan tradisional, hingga restoran yang menjual makanan berbahan dasar daging ayam. Ayam pedaging memiliki karakteristik ekonomis dengan ciri khas pertumbuhan yang cepat, sebagai penghasil daging dengan konversi pakan yang rendah dan siap dipotong pada usia 28-45 hari. Untuk menghasilkan pemeliharaan ayam pedaging dengan kualitas yang baik perlu diperhatikan antara lain pemberian pakan dan minum ayam, suhu dan kelembapan kandang, serta cahaya lampu di kandang ayam (Nurjannah *et al.*, 2021). Kualitas suhu dan kelembapan dalam kandang ayam sebagian besar dipengaruhi oleh lingkungan sekitar yang disebabkan oleh radiasi matahari serta suhu tubuh ayam yang ikut memengaruhi keseluruhan kandang. Untuk fase awal pertumbuhan, ayam pedaging memerlukan suhu yang berkisar antara 28 °C hingga 35 °C. Kelembapan kandang harus dijaga antara 40-55% RH pada ayam umur 0-7 hari dan 45-65% RH pada ayam

umur lebih dari 8 hari (Wijayanti *et al.*, 2013; Dispartan Pangan, 2022).

Umumnya peternak ayam masih mengandalkan pendekatan konvensional dalam operasional peternakannya, termasuk pemberian pakan, air minum, dan pengaturan suhu yang dilakukan secara manual. Hal ini tidak efisien karena peternak harus secara rutin memeriksa kondisi peternakan, yang merupakan pekerjaan berulang yang memakan waktu. Pendekatan manual ini dapat mengurangi produktivitas dan kualitas ayam pedaging yang dipelihara, karena seringkali terjadi kelalaian dalam memberi makan, minum, atau memantau suhu dan kelembapan di kandang sesuai ketentuan. Akibatnya, masalah serius muncul, seperti kematian ayam atau pertumbuhan yang terhambat karena kondisi suhu di kandang tidak terjaga sesuai standar. Untuk mengatasi tantangan ini, diperlukan suatu sistem yang dapat mendukung dan mempermudah tugas peternak, seperti memberikan pakan dan air minum secara otomatis serta mengawasi kondisi suhu, kelembapan, dan mengontrol pencahayaan kandang secara otomatis.

Internet of Things (IoT) telah mulai diterapkan dalam sektor peternakan. Penerapan teknologi IoT memungkinkan perubahan yang signifikan dalam bidang peternakan ayam menjadi sistem yang lebih baik lagi, di mana monitoring untuk pemeliharaan ayam pedaging dapat dilakukan secara efisien dari jarak jauh dengan bantuan teknologi IoT (Junaidi, 2015; PKIP UNAIR, 2022). Peternak ayam tidak hanya dapat mengawasi suhu dan kelembaban udara di kandang secara *real-time*, tetapi juga dapat mengontrol pemberian pakan dan minuman secara otomatis berdasarkan kebutuhan ayam pedaging dan juga mengoptimalkan pencahayaan untuk meningkatkan keseimbangan ayam. Salah satu komponen penting dalam sistem pemeliharaan ayam unggas berbasis (IoT) yang direncanakan dapat dilihat dari parameter seperti suhu, kelembapan, pencahayaan, pakan, dan minum yang akan mempengaruhi pertumbuhan ayam pedaging.

Untuk mempermudah proses pemantauan di kandang ayam, diperlukan sebuah sistem yang dapat secara langsung membaca data dari berbagai sensor dan mengirimkannya secara *real-time* melalui internet (Alvin & Ilham, 2020; Ramadhan *et al.*, 2020, Tambun, 2022; Salensehe *et al.*, 2021). Semua informasi yang diperoleh dari sensor ini akan diolah dan disimpan

oleh sebuah aplikasi. Salah satu platform yang akan digunakan untuk menjalankan proses pemantauan di dalam kandang adalah *Blynk*. Pemanfaatan *Blynk* akan membantu para peternak dalam mengumpulkan data, menggambarkan secara visual, dan menganalisis data secara *real-time*. Selain itu, platform ini juga memungkinkan pengendalian otomatis pemberian pakan dan air minum kepada ayam sesuai dengan jadwal yang telah ditentukan.

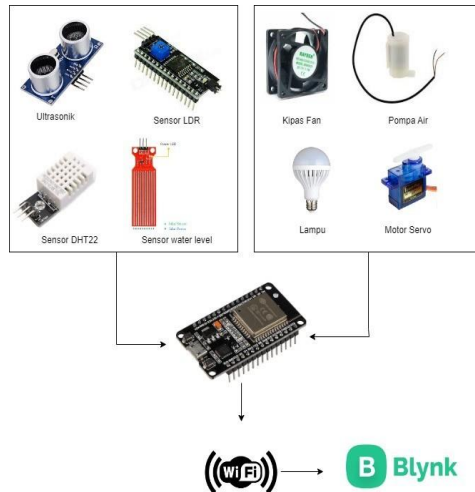
Penelitian ini akan mengeksplorasi berbagai aspek teknis, metodologi pengembangan, dan tantangan yang mungkin dihadapi dalam merancang dan membangun sistem kandang ayam pintar berbasis IoT. Keseluruhan tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperkuat sektor peternakan ayam unggas pedaging melalui inovasi teknologi yang berkelanjutan dan dapat memberikan manfaat jangka panjang.

METODE PENELITIAN

Pada bab ini dibahas perancangan sistem yang dilakukan dari sistem monitoring dan kontrol untuk pemeliharaan unggas pedaging berbasis IoT yang meliputi gambaran sistem dan perancangan berdasarkan diagram blok, *flowchart*, dan mekanik.

Pendekatan Fungsional

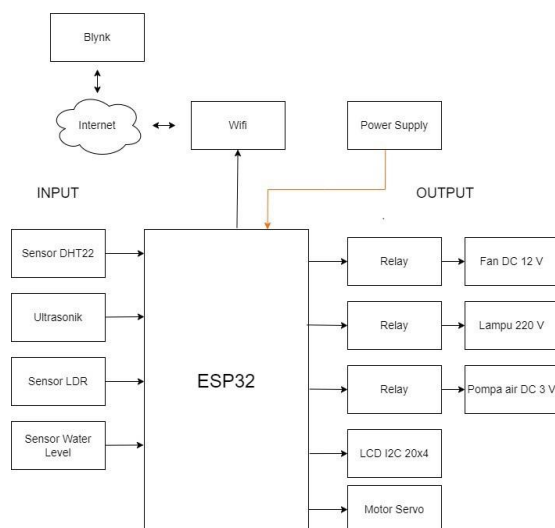
Sistem kandang ayam pintar memiliki beberapa komponen yang dapat berfungsi sesuai kebutuhan. Prinsip kerja dari sistem ini bisa dilihat melalui gambaran umum sistem pada Gambar 1.



Gambar 1. Gambaran umum sistem

Diagram Blok

Diagram blok pada Gambar 2 memberikan gambaran cara kerja dari sistem kandang ayam pintar yang terdiri dari input, proses, dan output serta alat dan bahan yang digunakan untuk perancangan alat ini. Analisis dan identifikasi masalah juga bisa didapatkan melalui diagram blok.



Gambar 2. Sistem kandang ayam pintar

Berikut ini penjelasan diagram blok dari setiap bagan untuk mengetahui cara kerja sistem kandang ayam pintar yaitu:

1. Input atau masukan

- Sensor DHT-22 (Puspasari *et al.*, 2020), sebagai komponen untuk melihat suhu dan kelembapan dalam kandang ayam, yang terhubung ke ESP32 untuk mengirim data keluaran.
- Sensor LDR, sebagai komponen untuk mendeteksi intensitas cahaya yang ditangkap. Komponen ini pun akan terhubung ke ESP32 untuk mengirim data keluaran.
- Sensor ultrasonik, untuk mengukur jarak untuk mendeteksi ketersediaan pakan ayam. Komponen ini terhubung ke ESP32 untuk mengirim data keluaran ke aplikasi *Blynk*
- Sensor *water level*, digunakan untuk mengukur jarak untuk mendeteksi ketersediaan air minum ayam. Komponen ini terhubung ke ESP32 untuk mengirim data keluaran ke aplikasi *Blynk*.

2. Pengolahan data

- ESP32, sebagai otak dari proses kerja alat dan juga sebagai mikrokontroler. Komponen ini berfungsi untuk menerima input dari sensor untuk menampilkan hasil keluarannya yang bisa dilihat di LCD dan untuk

mengendalikan perangkat output seperti kipas, lampu, pompa air, motor servo, dan LCD I2C yang akan bekerja sesuai dengan hasil pembacaan sensor. Mikrokontroler ini juga memiliki kemampuan untuk bisa terkoneksi ke WiFi serta bisa berkomunikasi menggunakan aplikasi *Blynk*. misalnya jika waktu sudah menunjukkan jam yang sudah sesuai maka motor servo akan membuka dari 0° ke 60° dan menutup dari 60° ke 0° selama 15 detik dan pompa air akan menyala selama 15 detik

- Aplikasi *Blynk*, sebagai media untuk monitoring suhu dan kelembapan, serta mengendalikan output yaitu motor servo. Sistem pemberian pakan dan minum otomatis juga menggunakan *Blynk*, di mana di dalam aplikasi ini terdapat fitur untuk mengatur penjadwalan sesuai dengan waktu yang ada di smartphone. Akibatnya motor servo akan membuka dan menutup sesuai dengan waktu yang sudah diatur di aplikasi.

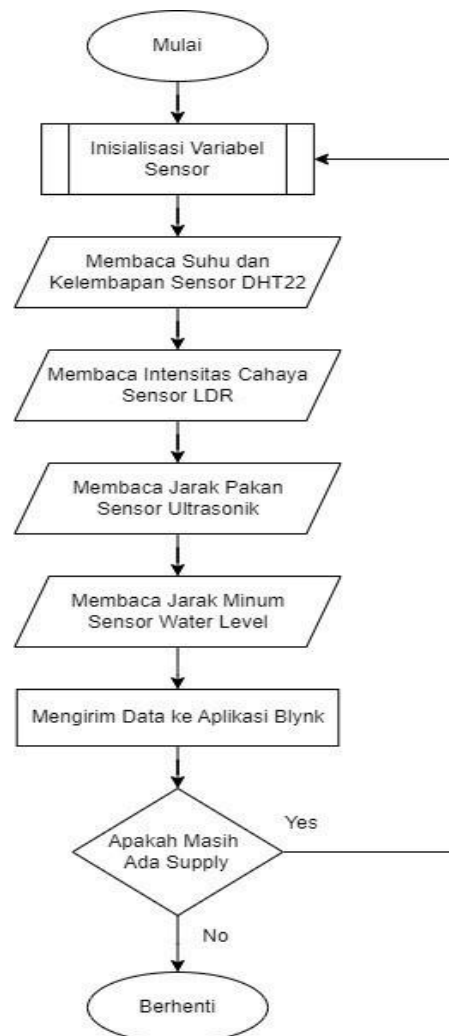
3. Output atau keluaran

- LCD I2C, digunakan untuk menampilkan hasil keluaran dari sensor pada sistem ini dalam bentuk nilai suhu, kelembapan, jarak, dan intensitas cahaya.
- Relay. Pada perancangan alat ini relay

bekerja berdasarkan kondisi tertentu seperti suhu di atas 35°C , kelembapan di bawah 45% RH, dan intensitas cahaya di atas 500 Lux maka relay akan aktif untuk menyalakan kipas.

Flowchart

Flowchart sistem kandang ayam pintar diperlihatkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Flow chart sistem kandang ayam pintar

Alat ini terdiri dari empat subsistem yaitu, pertama subsistem penerangan kandang menggunakan lampu yang akan menyala ketika tidak ada pencahayaan atau intensitas cahaya kurang dari 500 lux yang

akan dideteksi oleh sensor LDR, kedua yaitu subsistem monitoring kandang menggunakan sensor DHT22 untuk mengukur nilai suhu dan kelembapan, ketiga subsistem pakan dan minum otomatis menggunakan motor servo dan pompa air yang akan dibantu oleh aplikasi *Blynk* untuk mengatur waktu kapan perangkat diaktifkan, dan keempat subsistem ketersediaan pakan dan minum menggunakan sensor ultrasonik untuk melihat jarak wadah pakan ayam dan sensor water level untuk melihat jarak wadah minum ayam.

Sistem dimulai pada saat diaktifkan dan akan melakukan inialisasi pertama untuk membaca nilai sensor yang didapatkan. Setelah itu masuk ke empat proses. Pertama yaitu penerangan kandang di mana sensor LDR akan aktif dan mulai mengukur tingkat cahaya di sekitar kandang, dan ESP32 akan melakukan pengolahan data ini untuk mengontrol lampu. Jika cahaya di dalam kurang dari 500 lux, maka lampu akan dinyalakan, dan jika cahaya di dalam kandang lebih dari 500 lux, maka lampu akan dimatikan. Proses kedua yaitu monitoring kandang menggunakan sensor DHT22 yang akan aktif dan mulai melakukan pengukuran suhu dan kelembapan di dalam kandang, di mana jika suhu lebih dari 32 °C dan kelembapan kurang dari 45 % RH, maka

kipas/fan DC akan menyala. Jika suhu dan kelembapan bagus, maka kipas/fan akan mati. Proses ketiga yaitu pakan dan minum otomatis berdasarkan waktu yang sudah diatur pada aplikasi *Blynk*, di mana penjadwalan yang diatur pada aplikasi pada jam 07:00, 12:00, dan 13:00. Proses keempat yaitu ketersediaan pakan dan minum menggunakan sensor ultrasonik dan sensor *water level* yang akan aktif dan mulai membaca jarak di wadah makanan dan minuman. Jika jarak hasil dari pembacaan sensor 5 cm untuk pakan ayam dan 13 cm untuk minum ayam, maka akan terdapat notifikasi pada aplikasi *Blynk*. Sistem melakukan pemantauan jarak jauh menggunakan aplikasi *Blynk*. Proses-proses tsb akan bekerja secara berulang di mana parameter dari sistem ini akan diambil dari nilai sensor yang akan dibaca secara *real-time*.

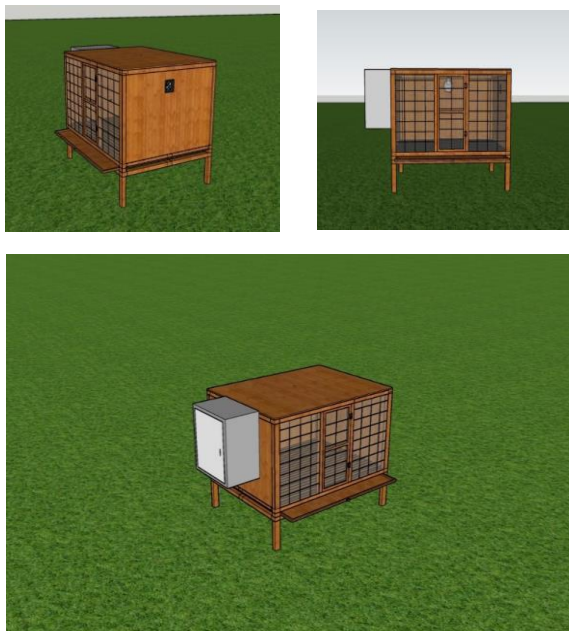
Pendekatan Struktural

Pendekatan struktural ini akan membahas tentang desain perancangan alat, perancangan perangkat lunak, dan rangkaian atau *wiring* dari sistem kandang ayam pintar. Tujuan dari pekerjaan ini adalah rancang bangun kandang ayam pintar berbasis IoT dengan membuat sebuah alat untuk membantu meningkatkan efisiensi peternakan ayam, serta meningkatkan kesejahteraan ayam dengan

menyediakan lingkungan yang lebih terkontrol dan nyaman.

A. Desain Kandang Ayam Pintar

Tampilan dari kandang ayam pintar berbasis IoT diperlihatkan pada Gambar 4.



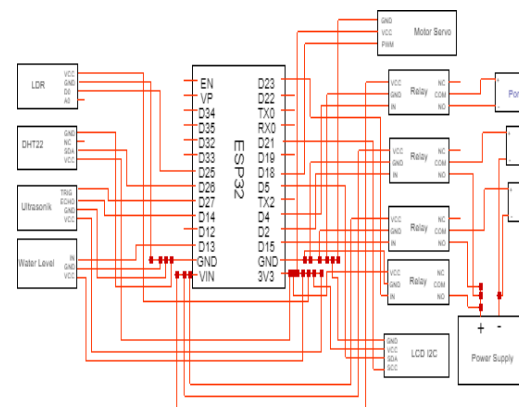
Gambar 4. Desain kandang ayam.

Pada Gambar 4, pada sudut kiri terdapat *box panel* yang menjadi tempat penyimpanan komponen-komponen sistem atau juga merupakan tempat untuk mendistribusikan daya listrik ke berbagai perangkat yang digunakan. Pada sudut kanan terdapat komponen kipas sebagai pendingin kandang ayam. Terdapat beberapa komponen yang akan ditempatkan di dalam kandang ayam yaitu lampu, sensor DHT22, sensor LDR, sistem pakan dan minum otomatis, dan sistem ketersediaan pakan dan minum. Ukuran kandang ayam ini yaitu 80 x 60 cm dan di

bawahnya terdapat tempat kotoran ayam yang prosesnya masih manual.

B. Perancangan Sistem Elektrikal

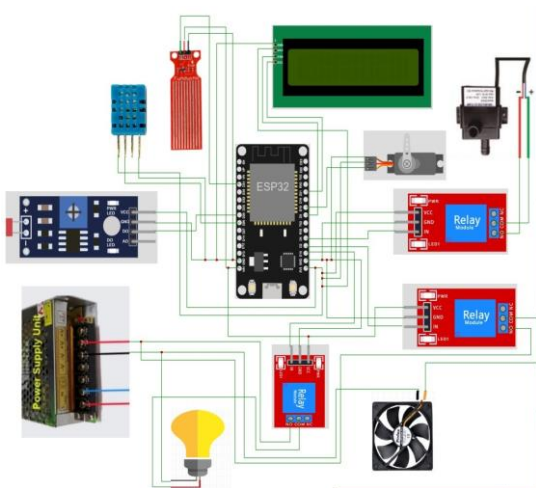
Gambar 5 memperlihatkan skema rangkaian skematik secara keseluruhan dari sistem kandang ayam pintar.



Gambar 5. Rangkaian skematik secara keseluruhan.

Kandang ayam pintar berbasis *internet of things* (IoT) ini menggunakan ESP32 sebagai otak dari sistem yang berfungsi untuk mengendalikan atau berkomunikasi dengan jenis perangkat dan aplikasi *Blynk* melalui jaringan WiFi. Prosesor ini melakukan pengambilan data dari sensor yang digunakan yaitu sensor LDR, DHT22, sensor ultrasonik, dan sensor *water level*. Ketika sudah didapatkan data yang diperlukan maka selanjutnya ia melakukan pengolahan data untuk mengatur keluaran dari alat ini. Data dari sensor akan ditampilkan di layar LCD dan juga pada aplikasi *Blynk*. Data dari sensor ini digunakan untuk mengaktifkan tiga buah relay. Sistem ini merupakan sistem

otomatisasi pada kandang ayam pintar untuk memonitor suhu dan kelembapan, pencahayaan, dan waktu operasi perangkat dengan efisien berdasarkan kondisi yang diukur dan waktu yang diatur. Gambar 6 memperlihatkan *wiring diagram* pada sistem kandang ayam pintar.



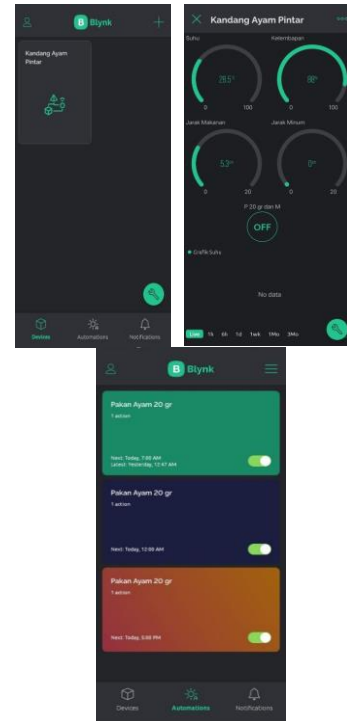
Gambar 6. *Wiring diagram* sistem

Perancangan Software

Perancangan perangkat lunak dilakukan menggunakan *software* Arduino IDE untuk melakukan pembuatan program yang bertujuan agar sistem bekerja. Selanjutnya, menggunakan aplikasi *Blynk* untuk melihat hasil pembacaan sensor dan juga sebagai pengendali dari pakan dan minum otomatis. Perancangan ini dilakukan untuk mendukung sistem agar dapat melakukan monitoring dan kontrol sesuai dengan apa yang diinginkan.

Gambar 7 menunjukkan halaman utama *user interface* dari aplikasi klien *Blynk* dari perangkat "kandang ayam pintar" yang dapat mengarah ke halaman

lain, serta halaman automasi dengan simbol matahari untuk mengatur penjadwalan sistem pakan dan minum otomatis.



Gambar 7. Tampilan aplikasi *Blynk*

Gambar 7 menunjukkan halaman monitoring dan kontrol yang berfungsi untuk melihat nilai dari hasil pembacaan sensor DHT22 dalam mengukur suhu dan kelembapan kandang ayam, menampilkan nilai suhu dan kelembapan berupa grafik, kemudian terdapat fitur monitoring tempat minum dan makan ayam menggunakan sensor ultrasonik dan *water level* untuk melihat apakah pakan dan minuman ayam sudah habis atau tidak, dan melakukan kontrol untuk mengaktifkan motor servo dan pompa air dalam sistem pakan dan minum otomatis berdasarkan waktu. Halaman ini digunakan sebagai *platform* pemantauan dan pengendalian untuk para

peternak agar mengetahui kondisi suhu di dalam kandang ayam secara *real-time*.

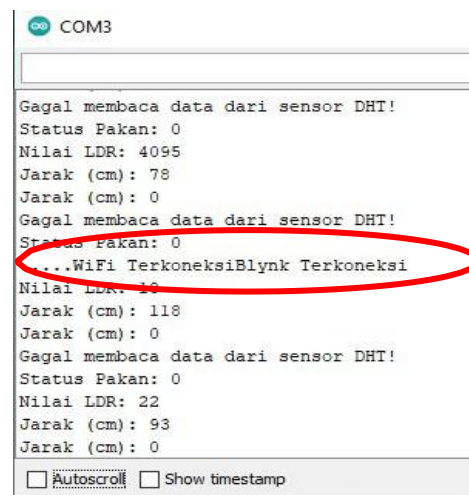
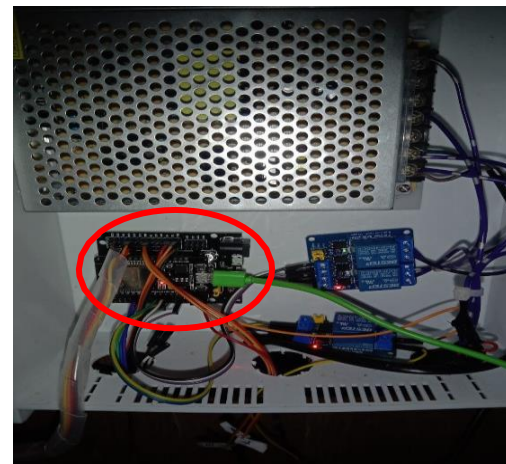
Terdapat tiga tampilan halaman untuk mengendalikan pakan dan minum secara otomatis berdasarkan waktu yang sudah diatur. Gambar 7 menunjukkan halaman untuk mengatur penjadwalan pakan dan minum pada jam 07:00, 12:00, dan 17:00, dibagi menjadi tiga bagian dengan jumlah pakan ayam yang berbeda-beda dari 20, 30, dan 40 gram. Halaman ini akan menjadi acuan bagi motor servo bekerja dan sekaligus pompa air pun akan bekerja secara bersamaan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian NodeMCU ESP32

Pada tahap ini dilakukan pengujian pada mikrokontroler yang berfungsi sebagai otak atau pusat pengendali dari alat ini. Tujuan dari pengujian ini adalah untuk melihat apakah komponen ini dapat bekerja dengan optimal atau tidak. Pengujian ini dilakukan dengan cara menghubungkan ESP32 ke *power supply* seperti laptop ataupun adaptor dengan menggunakan kabel USB. Pengujian komponen ini dapat dilakukan dengan cara membuat kode program melalui *software* Arduino IDE untuk melihat apakah ESP32 bisa mengkoneksikan diri ke WiFi untuk terhubung dengan aplikasi *Blynk*. Kemudian terdapat indikator pada serial monitor

sebagai penanda apakah komponen bekerja atau tidak.



Gambar 8. Hasil pengujian ESP32

Gambar 8 menunjukkan hasil dari pengujian ESP32 yang telah dilakukan, di mana terdapat dua gambar yaitu pertama ESP32 yang telah disambung ke *power supply* yang menandakan ESP32 bekerja atau aktif, yang ditunjukkan dengan indikator lampu berwarna merah di ESP32. Selain itu, hasil dari program yang sudah dibuat dapat dilihat juga pada pesan di serial monitor yang ditunjukkan pada gambar kedua, yaitu terlihat terdapat tulisan "WiFi terkoneksi" dan "Blynk terkoneksi".

Artinya ESP32 berhasil terkoneksi dengan aplikasi *Blynk*.

Pengujian Sensor DHT-22

Pada tahap ini dilakukan pengujian pada sensor DHT22 yang berfungsi sebagai komponen untuk sistem monitoring kandang ayam untuk melihat parameter seperti suhu dan kelembapan. Tujuan dari pengujian ini adalah memeriksa hasil pembacaan sensor apakah akurat atau tidak dengan cara membandingkan hasilnya dengan alat pengukur suhu dan kelembapan. Dalam menyiapkan pengujian pada sensor ini ada beberapa langkah yang harus dilakukan untuk mendapatkan hasil yang sesuai. Komponen seperti Sensor DHT-22, Hygrometer HTC-1, ESP32, *power supply*, LCD 20x4, dan alat pemanas disiapkan. Program di Arduino IDE dibuat untuk membaca data dari sensor DHT22. ESP32 dihubungkan ke *power supply* untuk mengaktifkan mikrokontroler, dengan sensor DHT22 terhubung sebagai input. Data suhu dan kelembapan dari sensor ditampilkan pada LCD 20x4. Percobaan dilakukan lima kali menggunakan alat pemanas untuk menaikkan suhu dan menurunkan kelembapan, sehingga diperoleh perbandingan hasil pengukuran suhu dan kelembapan di kandang ayam antara sensor DHT22 dan Hygrometer HTC-1. Hasil pengujian sensor diperlihatkan pada Gambar 9 dan Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan hasil pengukuran oleh sensor DHT22 yang dilakukan dengan lima kali percobaan. Pengujian ini menunjukkan akurasi pengukuran pada sensor DHT22 memiliki rata-rata kesalahan 0.75 %, sehingga mengindikasikan bahwa sensor DHT-22 memberikan pembacaan suhu dan kelembapan yang akurat dan mendekati hasil yang diperoleh dari pengukuran manual menggunakan hygrometer HTC – 1.



Gambar 9. Hasil pengujian sensor DHT22

Tabel 1. Hasil data perbandingan sensor DHT- 22 dan hygrometer

Percobaan	DHT22 (°C)	Hygrometer HTC - 1 (°C)	Error (%)
1	28,7	28,5	0,79 %
2	28,8	28,7	0,34 %
3	28,8	29,0	0,69 %
4	29,1	29,4	1,02 %
5	29,5	29,8	1,00 %

Pengujian Sensor *Light Dependent Resistor* (LDR)

Pada tahap ini dilakukan pengujian pada LDR yang berfungsi sebagai sensor untuk sistem penerangan kandang ayam untuk mengotomatisasi pencahayaannya. Tujuan dari pengujian ini adalah

memeriksa hasil pembacaan sensor apakah akurat atau tidak dengan cara memberikan cahaya dengan menggunakan *flash handphone*. Dalam menyiapkan pengujian pada sensor ini ada beberapa langkah yang harus dilakukan untuk mendapatkan hasil yang sesuai. Komponen seperti sensor LDR, lampu, ESP32, *power supply*, dan LCD 20x4 disiapkan. Program di Arduino IDE dibuat untuk membaca data dari sensor LDR yang dihubungkan ke ESP32 sebagai input, mengkonversinya ke satuan Lux, dan menampilkan hasil intensitas cahaya pada LCD 20x4. Dilakukan enam kali percobaan dengan menggunakan lampu untuk melihat perubahan intensitas cahaya dalam satuan lux, sehingga diperoleh perbandingan hasil pengukuran intensitas cahaya di kandang ayam menggunakan sensor LDR.

Tabel 2. Hasil pengujian sensor LDR

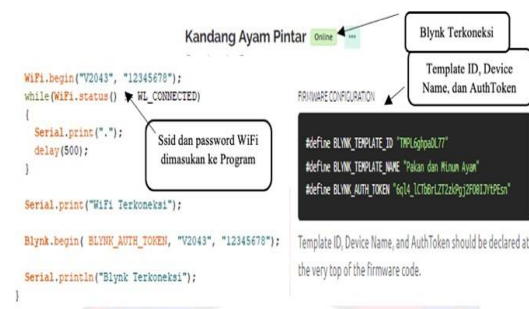
Percobaan	Tegangan Keluaran (Volt)	Nilai LDR (Lux)	Kondisi lampu
1	3,34	660	Menyala
2	3,31	632	Menyala
3	3,33	658	Menyala
4	3,31	324	Mati
5	3,33	345	Mati
6	3,32	381	Mati

Tabel 2 menunjukkan hasil pengukuran oleh sensor LDR dengan menggunakan sumber cahaya dari lampu di saat kondisi menyala dan mati. Kesimpulan dari pengujian ini adalah bahwa nilai Lux yang dihasilkan ketika kondisi lampu menyala di atas 500 lux yang artinya kondisi ruangan terang dan ketika lampu

mati menghasilkan nilai lux di bawah 500 pada kondisi ruangan gelap.

Pengujian Koneksi Sistem dengan Blynk

Pada tahap ini dilakukan pengujian pada aplikasi *Blynk* sebagai pengendali dan monitoring alat kandang ayam pintar. Tujuan dari pengujian ini yaitu menghubungkan sistem monitoring dan kontrol dengan aplikasi *Blynk*. Kemudian terdapat beberapa fitur pada aplikasinya yang dapat menampilkan data hasil pembacaan sensor menjadi grafik. Pengujian koneksi sistem dengan aplikasi *Blynk* bisa dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Pengujian koneksi sistem dengan aplikasi *Blynk*

Pengujian dan Analisis Sistem Keseluruhan

Pada tahap ini dilakukan pengujian sistem kandang ayam pintar berbasis IoT secara keseluruhan agar berjalan sesuai dengan keinginan. Sistem monitoring dan kontrol pada kandang ayam ini memiliki 4 fungsi yaitu subsistem penerangan kandang, subsistem monitoring kandang, sistem pakan dan minum otomatis, dan sistem ketersediaan pakan dan minum. Pengujian ini dilakukan dengan tujuan

untuk memastikan bahwa sistem dapat berfungsi sesuai dengan yang diinginkan dan memenuhi standar kualitas yang ditetapkan dan juga untuk mengetahui

apakah hasil pembacaan sensor yang digunakan dapat memenuhi parameter yang diinginkan. Fungsional sistem alat secara poin dapat di lihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Tabel fungsional dari sistem alat

No	Pengujian	Tujuan	Hasil
1	Subsistem penerangan untuk pencahayaan pada kandang ayam	Untuk mengetahui seberapa besar intensitas cahaya yang diperlihatkan untuk pencahayaan pada kandang ayam	Berhasil menampilkan besar intensitas cahaya dengan satuan Lux dengan tindakan mengendalikan lampu sesuai besarnya lux
2	Subsistem monitoring kandang ayam	Mengetahui kondisi untuk parameter suhu dan kelembapan, serta menggunakan kipas sebagai pendingin	Berhasil menampilkan kondisi suhu dan kelembapan pada aplikasi <i>Blynk</i> dan melakukan tindakan untuk menyalakan kipas
3	Subsistem pakan dan minuman otomatis	Mengetahui efektivitas dan efisiensi dari sistem ini untuk mengoptimalkan konsumsi pada ayam	Berhasil memberikan pakan dan minum sesuai dengan waktu yang diatur pada aplikasi <i>Blynk</i> .
4	Subsistem ketersediaan pakan dan minum	Mengetahui jarak wadah pakan dan minum dengan menggunakan sensor ultrasonik dan <i>water level</i> sebagai indikasi ketersediaan pakan minum	Berhasil yaitu apabila jarak wadah pakan dan minum sudah mencapai nilai yang ditentukan maka terdapat notifikasi ketika pakan dan minum sudah habis.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Sistem Monitoring dan Kontrol yang dibuat dapat melakukan pemantauan suhu, kelembapan, intensitas cahaya, jarak pakan, dan jarak minum serta dapat melakukan kontrol dalam pengendalian lampu, kipas, dan motor servo secara jarak jauh dan *real-time* pada aplikasi *Blynk* sesuai dengan tujuan perancangan
2. Hasil pengujian menunjukkan sistem bekerja dan terhubung dengan sensor

dan komponen yang digunakan melalui *platform Blynk*.

3. Dari hasil pengujian kalibrasi sensor didapatkan bahwa sensor suhu dan kelembapan DHT22 mempunyai selisih bacaan sebesar 0.75%, sensor cahaya LDR mempunyai nilai yang akurat pada kondisi ruangan, sensor ultrasonik mempunyai selisih bacaan sebesar 0.9%, dan sensor *water level* dapat memberikan deteksi yang akurat pada air sehingga dapat digunakan sebagai *platform* untuk monitoring
4. Dari hasil pengujian sistem secara keseluruhan didapatkan sistem bekerja

sesuai rancangan di mana terdapat empat proses yang dikembangkan.

DAFTAR PUSTAKA

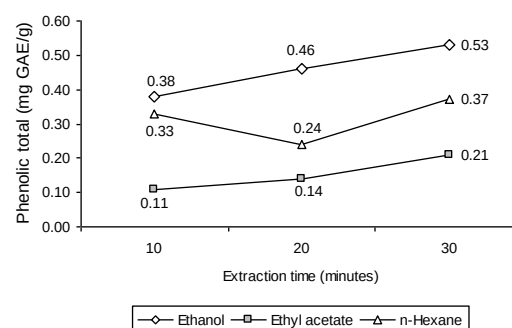
- Alvin, J., & Ilham, M. (2020). *Prototype design of monitoring and control system in broiler chicken coop based on Internet of Things (IoT)*. Retrieved October 25, 2023 from <http://library.palcomtech.com/pdf/6714.pdf>
- Dinas Ketahanan Pangan (Dispartan Pangan). (2023). *Cara berternak ayam pedaging*. Retrieved October 25, 2023 from <https://dinpertanpangan.demakkab.go.id/?p=4363>
- Junaidi, A. (2015). Internet of things, sejarah, teknologi dan penerapannya: Review. *Jurnal Ilmiah Teknologi Informasi Terapan*, 1(3), 62-66.
- Nurjannah, B., Muis, M., Sirajuddin, A., & Beddu, H. (2021). Tingkat pengetahuan peternak terhadap berat badan broiler dengan variasi suhu pada sistem pemeliharaan kandang closed house. *Jurnal Agrisistem: Seri Sosek dan Penyuluhan*, 17(1), 70-78. <https://doi.org/10.52625/j-agr-sosekpenyuluhan.v17i2.201>
- Pusat Komunikasi dan Informasi Publik (PKIP) UNAIR. (2022). *Implementasi IoT dalam smart farming*. Retrieved October 25, 2023 from <https://unair.ac.id/implementasi-iot-dalam-smart-farming/>
- Puspasari, F., Satya, T. P., Oktiawati, U. Y., Fahrurrozi, I., & Prisyanti, H. (2020). Analisis akurasi sistem sensor DHT22 berbasis arduino terhadap thermohygrometer standar. *Jurnal Fisika dan Aplikasinya*, 16(1), 40-45. <https://doi.org/10.12962/j24604682.v16i1.5776>
- Ramadhan, D., Hanuranto, A. T., Mayasari, R. (2020). Implementasi kandang ayam pintar berbasis Internet of Things (IoT) untuk pemantauan dan pengendalian peternakan ayam. *e-Proceeding of Engineering*, 7(2), 3639-3650.
- Salensehe, N. W., Narasiang, B. S., & Tulung, N. M. (2021). *Sistem pengontrol kandang ayam otomatis menggunakan smartphone*. [Bachelor's Thesis]. Universitas Sam Ratulangi, Manado, Indonesia.
- Tambun, H. (2022). Rancang bangun kandang ayam pintar menggunakan arduino dan nodemcu dengan sistem IoT [Bachelor's Thesis]. Universitas Medan Area, Medan, Indonesia.
- Wijayanti, R. P., Busono, W., & Indrati, R. (2013). *Pengaruh suhu kandang yang berbeda terhadap performans ayam pedaging periode starter* [Bachelor's Thesis]. Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia.

PEDOMAN PENULISAN NASKAH

FaST- Jurnal Sains dan Teknologi

Jurnal Sains dan Teknologi merupakan salah satu wadah publikasi ilmiah untuk berbagai bidang ilmu dan teknologi. Pedoman penulisan ini dibuat untuk keseragaman format penulisan dan kemudahan penulis dalam proses penerbitan naskah di jurnal ini.

1. Naskah / artikel yang dimuat adalah artikel asli dari hasil penelitian, ulasan ilmiah (Review), atau komunikasi singkat yang belum pernah diterbitkan dalam media masa lainnya. Apabila pernah dipresentasikan dalam seminar / lokakarya agar diberi keterangan yang lengkap.
2. Naskah dapat ditulis dalam Bahasa Indonesia, diketik menggunakan program MS-word dengan format .docx dan dikirimkan dalam bentuk *soft copy* (CD atau DVD atau flashdisc) kepada Redaksi Jurnal Sains dan Teknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UPH, Lippo Karawaci Tangerang 15811, atau dalam bentuk *soft copy* dikirim lewat email ke redaksi selambat-lambatnya 1 bulan sebelum waktu penerbitan.
3. Ketentuan standar pengetikan naskah:
 - a. Ukuran kertas: A4 (21x 29,7 cm) dan *margin: top 2,5 cm, bottom 2,5 cm, left 2.5 cm, right 2,5 cm*, dan jarak antar kolom 1,0 cm.
 - b. Jenis huruf Times New Roman 12, dengan jarak ketik 1.5 spasi, kecuali untuk Abstract dan Daftar Pustaka dibuat 1 spasi, namun jarak antar pustaka dalam Daftar Pustaka 1.5 spasi.
 - c. Jumlah halaman maksimal 20 halaman
 - d. Gambar diberi nomor serta judul pada posisi bawah gambar. Keterangan gambar (*legend*) ditaruh di bagian bawah gambar (lihat contoh).



- e. Tabel diberi nomor dan judul pada posisi atas tabel, dengan bentuk Tabel lajur, hanya judul tabel dan penutup yang diberi garis seperti contoh berikut.

Tabel 1. Judul

N			
0	...	...	...
1			
	...	...	...
2			
	...	...	...
4			
	...	...	...

Keterangan :

- f. Penggunaan istilah asing yang belum lazim digunakan dalam bahasa Indonesia dicetak miring (*Italic*)
 - g. Judul tulisan dan judul bab ditulis huruf besar dan diletakkan pada bagian tengah dari lebar naskah. Judul sub-bab diletakkan pada pinggir kiri naskah.
4. Organisasi /Sistematika penulisan:
 - a. Untuk naskah laporan hasil penelitian, cara penyusunan naskahnya sebagai berikut: **Judul**

- (Huruf cetak, bahasa Indonesia dan Bahasa Inggris), **Nama penulis** (diberi nomor *superscript*) dan lembaga dan alamat (berdasar nomor *superscript*), **Korespondensi** (alamat email), **Abstrak** dan **Kata kunci**, **Abstract** dan **Key word** (bahasa Inggris), **Pendahuluan**, **Bahan dan Metode**, **Hasil dan Pembahasan**, **Kesimpulan**, **Saran (bila ada)**, **Daftar Pustaka**, dan **Ucapan Terima Kasih** (bila ada). Tabel dan grafik hendaknya dimasukkan dalam naskah dan diberi nomor.
- b. Untuk naskah karya ilmiah lainnya organisasi penulisannya diserahkan pada penulis tetapi tetap diberi abstrak dalam bahasa Indonesia dan Inggris.
- c. Judul Naskah, penulis, dan Abstrak dibuat satu kolom, sedangkan isi naskah dibuat dua kolom. Gambar dan Tabel dapat dibuat satu atau dua kolom tergantung pada besar kecilnya.
5. Kepustakaan
- Pustaka yang disitasi dalam naskah berdasarkan pada pengarang atau penulisnya. Pustaka minimal 60% berasal dari jurnal. Semua pustaka yang disitasi dalam naskah harus terdaftar pada akhir naskah dan disusun secara alfabetik menggunakan sistem *Harvard* sbb:
- Daftar pustaka disusun secara urutan alfabetik (A-Z) berdasarkan nama penulis, diikuti tahun penerbitan, judul, dan sumber publikasinya. Jika terdapat 2 atau lebih artikel dengan penulis yang sama pada tahun yang sama, maka tambahkan huruf a,b,c,dst. setelah tahun.
 - Nama penulis didahului nama famili/nama terakhir diikuti huruf pertama nama kecil / nama pertama, baik untuk penulis pertama, kedua, dan seterusnya.
- Judul karangan untuk buku ditulis dengan huruf besar pada setiap awal kata yang bukan kata sambung, sedangkan untuk jurnal hanya pada awal kalimat.
 - Sumber publikasi untuk buku ditulis Penerbit, untuk Jurnal ditulis Volume (nomor), halaman, untuk bab dalam buku ditulis In nama editor (Eds), Judul buku, (pp. halaman). penerbit, untuk Prosiding ditulis In Nama editor (Eds), Nama prosiding, (pp. halaman). Penyelenggara Seminar, untuk Laporan ditulis Lembaga pembuat laporan, untuk Thesis ditulis [Undergraduate / Doctoral/... Thesis, Universitas, Kota], untuk internet ditulis Retrieved Bulan tanggal, tahun, alamat web.
 - Sitasi dalam teks: Satu penulis ditulis Nama famili, tahun; Dua penulis ditulis Nama famili & Nama famili, tahun; lebih dari dua penulis ditulis Nama famili penulis pertama *et al.*, tahun. Jika lebih dari satu Pustaka memiliki nama famili yang sama namun berbeda nama depan, maka sitasi dalam teks juga mencantumkan inisial dari nama depan penulis tersebut.
6. Redaksi berhak melakukan editing tanpa merubah isi dan makna tulisan. Apabila pada waktu editing terdapat ketidak jelasan isi dan makna pada tulisan, maka tulisan akan dikembalikan kepada penulis untuk diperbaiki. Hasil perbaikan harap segera dikirim kepada redaksi sesuai waktu yang telah ditetapkan.

JUDUL PENELITIAN(dalam Bahasa Indonesia) (TNR 12)

[JUDUL PENELITIAN] (dalam Bahasa Inggris) (1 spasi)

Penulis^{1*}, Penulis², Penulis³

^{1,2}Departemen terkait, Nama Institusi, alamat; ³----- dst

*Korespondensi penulis: alamat email (1 spasi)

ABSTRACT

(dalam Bahasa Inggris)

Article are written in A4 size (21x 29.7 cm) and margins: top 2.5 cm, bottom 2.5 cm, left 2.5 cm, right 2.5 cm, and distance between columns 1.0 cm. Abstracts are written in English using Times New Roman 12 Point Spaces 1. Abstract contains the essence of the article, consisting of introduction, goals, methods, results and discussion, and conclusions. Abstract references are not permitted. Abstracts are written in one paragraph and must not exceed 300 words. The final part of the abstract is included 3-5 keywords and sort alphabetically each word / phrase. (spase 1, max 300 words)

Keywords :;;; (max 5 words, sort alphabetically , italic)

ABSTRAK

(dalam Bahasa Indonesia)

Penulisan artikel ditulis de ngan ukuran A4 (21x 29,7 cm) dan margin : top 2,5 cm, bottom 2,5 cm, left 2.5 cm, right 2,5 cm, dan jarak antar kolom 1,0 cm. Abstrak ditulis dengan bahasa Indonesia, menggunakan Times New Roman 12 Point Spasi 1. Abstrak memuat intisari artikel, berisi pengantar, tujuan, metode, hasil dan pembahasan, dan kesimpulan. Abstrak tidak diperkenankan terdapat rujukan pustaka. Abstrak ditulis dalam bentuk satu paragraf dan tidak boleh melebihi 300 kata. Bagian akhir abstrak dicantumkan 3–5 kata kunci dan urutkan sesuai abjad tiap kata/frasa. (spasi 1, maksimal 300 kata)

Kata kunci :;;; (maksimal 5 kata, urutkan berdasar abjad)

PENDAHULUAN

(Spasi 1.5) Pendahuluan/pengantar berisi uraian tentang latar belakang penelitian Anda dan mengapa penelitian itu dilakukan. Uraian ini didukung dengan kajian pustaka yang berupa data-data dari sumber lain, penelitian sejenis, atau penelitian sebelumnya. Selain itu, dimasukan juga tujuan dari penelitian yang dilakukan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

(Spasi 1.5) Bagian ini berisi penjelasan bahan dan alat (instrumen) yang digunakan. Bahan yang digunakan jelaskan spesifikasinya. Alat-alat yang sudah umum digunakan tidak perlu diperinci, namun yang harus dicantumkan adalah alat uji, yaitu disebutkan spesifikasinya seperti merk, tipe dan lain-lain.

Metode Penelitian

Metode harus dijelaskan selengkap mungkin agar peneliti lain dapat melakukan verifikasi. Metode analisis parameter yang bersifat spesifik harus dicantumkan, kecuali yang bersifat umum cukup diberikan acuannya (referensi). Cara analisis data (bila ada) perlu dicantumkan. (Spasi 1,5)

Percobaan 1

Percobaan 2

----- dst

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dan Pembahasan 1

Hasil berisi paparan temuan penelitian. Data yang disajikan adalah data yang sudah diolah dan siap dibaca untuk menjawab tujuan penelitian (bukan data mentah). Selain itu, untuk memperjelas hasil dapat diberikan ilustrasi berupa gambar dan tabel. Hasil yang telah dijelaskan dengan tabel atau ilustrasi tidak perlu dipaparkan dalam uraian teks secara terperinci. Paparan hasil ditulis dalam bentuk paragraf, tidak dalam bentuk pembagian per subbab/poin.

Hasil dan Pembahasan 2

Persamaan matematis dikemukakan dengan jelas dan diketik menggunakan program untuk formula, misalnya Equation atau Math Type. Angka desimal, ditandai dengan koma (,) untuk bahasa Indonesia dan titik (.) untuk bahasa Inggris. Tabel dan gambar harus dicantumkan, kemudian secara berurutan diberi nomor dan diacu berurutan dalam naskah, judul ditulis dengan singkat dan jelas.

Tabel dibuat dalam bentuk tabel terbuka (yaitu hanya terdapat garis horizontal di kepala tabel dan bagian akhir tabel. Ilustrasi berupa gambar meliputi foto, grafik, peta, dan bagan. Foto harus memiliki resolusi yang tinggi sehingga citra yang dihasilkan tajam dan jelas. Resolusi minimal 300 dpi atau lebih. Gambar sebaiknya ditampilkan dengan *grayscale*, kecuali bila kondisi tidak memungkinkan, maka boleh berwarna.

Nama ilmiah ditulis sesuai kaidah penulisan ilmiah menurut ICZN untuk tata nama hewan, ICBN untuk tata nama tumbuhan, tata nama virus dan bakteri juga harus sesuai dengan aturan yang ada. Satuan pengukuran secara kuantitatif menggunakan Satuan Internasional.

Hasil dan Pembahasan 3

----- dst

KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian ditulis secara ringkas dan jelas, dalam bentuk paragraf, bukan poin. Kesimpulan harus sesuai dengan tujuan penelitian.

SARAN

----- (Opsional)

UCAPAN TERIMA KASIH

----- (Opsional)

DAFTAR PUSTAKA

(Pustaka spasi 1,0; jumlah pustaka minimal 10 buah)

Jurnal

Singh, R., Shushni, M. A. M., & Belkheir, A. (2015). Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(3), 322-328. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.01.019>

Buku / Monograph

Dalimartha, S. (2005). *Ramuan tradisional untuk pengobatan diabetes mellitus*. Penerbit Penebar Swadaya.

Ranganna, S. (1986). *Analysis and quality control for fruit and vegetable products* (2nd ed.). Tata McGraw-Hill Pub. Co.Ltd.

Bab dalam Buku

Hart, R. J. (1998). Food science and the transport of food. In Heap, R., Kierstan, M., & Ford, G. (Eds). *Food transportation* (pp. 1-21). Thomson Science.

Prosiding

Nurbaeti, S. N., Sari, R., & Pratiwi, L. (2013). Comparison of antibacterial effectivity from Kesum (*Polygonum minus* Huds) methanol extract against methanol fraction. In Sagiman, S., Catur, S., & Zakiatulyaqin (Eds). *Proceeding 6th International Seminar of Indonesian Society for Microbiology* (pp. 30-36). Indonesian Society for Microbiology.

Internet

Food and Drug Administration (FAO). (2000). *Bad bug book – Aflatoxins*. Retrieved March 20, 2020 from <https://www.fda.gov/files/food/publication/Bad-Bug-Book-2nd-Edition-%28PDF%29.pdf>

Laporan

Dianitami, R. (2009). *Efek rumput laut Euchema sp. terhadap kadar glukosa darah dan jumlah trombosit tikus Wistar yang diinduksi aloksan*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. http://eprints.undip.ac.id/7761/1/ratna_dianitami.pdf

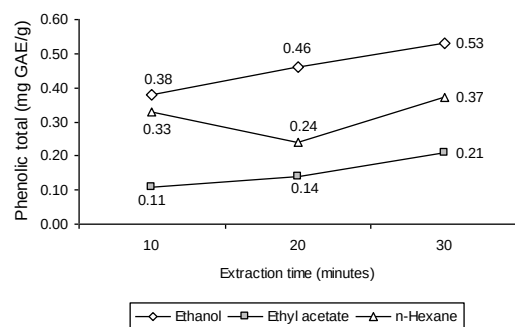
Skripsi/Thesis/Disertasi

Basyuni, M. (2008). *Studies on terpenoid biosynthesis of mangrove tree species* [Doctoral Dissertation]. Kagoshima University, Kagoshima, Japan.

Gambar dan Tabel :

- Gambar dan Tabel masuk dalam teks dan dibuat sbb:
- Jumlah Gambar dan Tabel maksimal 10.

Grafik



Gambar 1.

Keterangan:.....
.....

Tabel

Tabel 1.

No			
1			
2			
4			

Keterangan:.....
.....