

Formulasi dan Uji Iritasi Gel Antibakteri Dari Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. [Formulation and Irritation Test of Antibacterial Gel from Star Fruit Leaves (*Averrhoa bilimbi* Linn.) Ethanol Extract Againsts Bacteria *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*]

Kajian Prediksi 3-Dimensi Biomarker Kanker Payudara Dari Jalur Ekspresi LincRNA-ROR/ MIR-145/ARF6. [3D Prediction of Breast Cancer Biomarker from The Expression Pathway of LincRNA-ROR/MIR-145/ARF6]

Karakterisasi Protein Sorgum dan Upaya Peningkatan Jejaring Protein Sorgum Dengan Penambahan Glukosa-Oksidase. [Characterization of Sorghum Protein and Improvement of Sorghum Protein Net-Working with Addition of Glucose-oxidase]

Kajian Pustaka : Pemanfaatan Mikroba Yang Berpotensi Sebagai Agen Bioremediasi Limbah Pewarna Tekstil. [A Review : Utilization of Potential Microbes as Bioremediation Agent for Textile Dyes Waste water]

Analisis Resiko Gempa Bendungan Leuwikeris, Provinsi Jawa Barat [Seismic Hazard Analysis Leuwikeris Dam, West Java]

Pemanfaatan Buah Leunca (*Solanum nigrum* L) Dalam Pembuatan Minuman Sari Buah [Utilization of Black Nightshade (*Solanum nigrum* L.) in the Making of Fruit Juice].

Diterbitkan Oleh Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Pelita Harapan

DAFTAR ISI

1. Formulasi dan Uji Iritasi Gel Antibakteri Dari Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* [*Formulation and Irritation Test of Antibacterial Gel from Star Fruit Leaves (Averrhoa bilimbi Linn.) Ethanol Extract Againsts Bacteria Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa*].1-9
2. Kajian Prediksi 3-Dimensi Biomarker Kanker Payudara Dari Jalur Ekspresi LincRNA-ROR/MIR-145/ARF6 [*3D Prediction of Breast Cancer Biomarker from The Expression Pathway of LincRNA-ROR/MIR-145/ARF6*] 10-19
3. Karakterisasi Protein Sorgum dan Upaya Peningkatan Jejaring Protein Sorgum Dengan Penambahan Glukosa-Oksidase [*Characterization of Sorghum Protein and Improvement of Sorghum Protein Net-Working with Addition of Glucose-oxidase*] 20-31
4. Kajian Pustaka : Pemanfaatan Mikroba Yang Berpotensi Sebagai Agen Bioremediasi Limbah Pewarna Tekstil [*A Review : Utilization of Potential Microbes as Bioremediation Agent for Textile Dyes Waste water*] 32-47
5. Analisis Resiko Gempa Bendungan Leuwikeris, Provinsi Jawa Barat [*Seismic Hazard Analysis Leuwikeris Dam, West Java*].48-57
- 6.. Pemanfaatan Buah Leunca (*Solanum nigrum* L.) Dalam Pembuatan Minuman Sari Buah (*Utilization of Black Nightshade (Solanum nigrum L.) in the Making of Fruit Juice*). . . .58-70

**FORMULASI DAN UJI IRITASI GEL ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK
ETANOL DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* Linn)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas
aeruginosa***

[*FORMULATION AND IRRITATION TEST OF ANTIBACTERIAL GEL FROM
STAR FRUIT LEAVES (Averrhoa bilimbi Linn.) ETHANOL EXTRACTED AGAINST
BACTERIA Staphylococcus aureus AND Pseudomonas aeruginosa*]

Sutriningsih^{1*}, Zuraida Sagala^{2*}, Marhamah³

^{1,2,3} Department Pharmacy Universitas 17 Agustus 1945
Jl.Sunter Permai Raya Jakarta 14350.

*Korespondensi penulis : ¹ Sutriningsih, yinnelaras@yahoo.co.id
² Zuraida Sagala, zoerasagala@gmail.com

ABSTRACT

Starfruit (*Averrhoa bilimbi* Linn.) is containing several chemical contents including tannins, alkaloids, flavonoids, polyphenols and saponins, which can be efficacious as an antibacterial. The purpose of this study is determine stability of gel and the effect of gel formulation ethanol extracted from leaves starfruit (*Averrhoa bilimbi* Linn.) against the antibacterial activity of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. This is an experimental laboratory research where the formulation of ethanol extracted from the leaves of starfruit (*Averrhoa bilimbi* Linn.) which obtained from the process of maceration with 96% of ethanol solvent formulated in a gel dosage form. Gel formulations of the ethanol extracted from leaves starfruit was made with various concentration of the extract including 35%, 50% and 65% with hidroksi propil metil cellulose (HPMC) as the base. We used without-extract as the negative control and 0.1% of gentamicin ointment as the positive control. The result gel from antibacterial activity was then processed using the agar diffusion method .The use of a gel formulation ethanol extracted from leaves starfruit affected the antibacterial activity of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* . The results showed that the ethanol gel extracted from leaves starfruit (*Averrhoa bilimbi* Linn.) had the best antibacterial activity, indicated by 65% gel concentration containing the ethanol extracted from leaves starfruit being able to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* that for 28.62 mm with greater barrier diameter and *Pseudomonas aeruginosa* for 19 mm. Irritation test to 20 female with age 20 – 30 years old man and woman with put it on the back of hands for 2 hours in 3 days and the result is no irritation indication happend . Gel stability was had test for 4 weeks and nothing change happend .

Keywords : Gel, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, Starfruit

ABSTRAK

Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) merupakan tanaman yang memiliki kandungan kimia tanin, alkaloid, flavanoid, polifenol dan saponin yang dapat berkhasiat sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui stabilitas gel dan pengaruh formulasi sediaan gel ekstrak etanol daun belimbing wuluh terhadap aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dan kemudian dilakukan uji iritasi kepada 20 orang sukarelawan wanita yang berusia 20 – 30 tahun dengan dioleskan di punggung telapak tangan selama 2 jam selama 3 hari. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dimana dibuat formula ekstrak etanol daun belimbing wuluh yang diperoleh dari proses maserasi dengan pelarut etanol 96% diformulasikan dalam bentuk gel. Formulasi gel ekstrak etanol daun belimbing wuluh dibuat dengan variasi konsentrasi 3 formula dengan konsentrasi ekstrak yaitu 35%, 50% dan 65% dengan *hidroksi propil metil selulosa* (*HPMC*) sebagai basisnya. Untuk kontrol negatif digunakan gel tanpa ekstrak (basis gel) dan kontrol positif digunakan salep gentamisin 0,1%. aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode dengan cara difusi sumuran. Evaluasi stabilitas dilakukan uji pH . Penggunaan formulasi gel ekstrak etanol daun belimbing wuluh mempengaruhi aktivitas antibakteri yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa gel terbaik dari konsentrasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) memiliki aktivitas antibakteri dari Sediaan gel pada konsentrasi 65% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu 28,62mm dengan diameter hambatan yang lebih besar dari *Pseudomonas aeruginosa* yaitu 19 mm. Hasil pemeriksaan stabilitas gel tidak terjadi perubahan pH selama 4 minggu penyimpanan dan tidak terjadi iritasi pada kulit.

Kata kunci : Daun Belimbing Wuluh, Gel, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*

PENDAHULUAN

Perkembangan penggunaan obat-obatan tradisional seiring berjalannya waktu, serta berkembangnya pengetahuan maka ditemukanlah sediaan kosmetik yang lebih modern seperti sediaan yang berbentuk gel, khususnya dari tumbuh-tumbuhan yang digunakan sebagai kosmetik (Pramono, 2002).

Sediaan gel memiliki kandungan air yang bersifat yaitu mendinginkan, menyejukkan, melembabkan, mudah penggunaannya, mudah berpenetrasi pada kulit, sehingga memberikan efek seperti penyembuhan (Septiani *et al.*, 2011).

Berbagai macam antimikroba banyak ditemukan dari bahan alam seperti pada tanaman, rempah-rempah atau dari mikroorganisme selain antimikroba yang diperoleh dari bahan-bahan sintetik (Gobel, 2008). Salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat adalah daun belimbing wuluh. Kandungan yang terdapat dalam tanaman ini adalah tanin, flavonoid, glukosida, asam formiat, asam sitrat, dan beberapa mineral terutama kalsium dan kalium (Sukadana, 2007).

Tanin mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (Hayati *et al.*, 2010).

Salah satu bakteri penyebab infeksi adalah *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri ini

bersifat invasif, toksigenik, dan sering terdapat sebagai flora usus normal pada kulit manusia serta merupakan patogen utama dari kelompoknya (Jawetz *et al.*, 1991).

Berdasarkan uraian diatas, penulis tertarik untuk membuat formulasi dan mengevaluasi sediaan gel antibakteri dari ekstrak etanol tanaman daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlenmeyer 25mL, 50mL, 100 mL, dan 250 mL (merek Pyrex), labu ukur 10 mL dan 100 mL (merek Pyrex), beaker glass 50 mL, 100, dan 250 mL (merek Pyrex), glass ukur 50 mL, 100, dan 250 mL (merek Pyrex), tabung reaksi, rak tabung, botol coklat gelap, waterbath, pipet tetes, pipet volume 1 mL, 2 mL, 5 mL, dan 10 mL (merek Pyrex), penjepit tabung, pisau, blender, timbangan analitik (HWH), cawan uap, corong, rotary evaporator, batang pengaduk, kertas saring, kertas coklat, oven, Autoklaf, Inkubator, Cawan petri, Mikro pipet, Pinset, Kawat ose, silinder cup, jangka sorong, kaca objek, kaca bulat berdiameter 15 cm, kompor listrik (merek Maspion), Viskometer Brookfield Synchro-Electric, pH meter beckman, bunsen, dan Laminar Air Flow (LAF).

Bahan yang digunakan adalah daun belimbing wuluh, bakteri uji adalah bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Media uji adalah *Tryptone soya agar* (TSA), *centrimide agar* dan *mueller hinton agar*. Bahan tambahannya *hidroksi propil metil cellulosa* (HPMC), *etanol 96%*, *alkohol 70%*, *metil paraben*, *propilen glikol*, *Nacl 0,9%*, *aquadest* dan *gentamisin salep 0,1%*.

Metode Penelitian

Identifikasi Daun Belimbing Wuluh

Identifikasi dilakukan di Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jl. Ir. H. Juanda No.18, Bogor, Jawa Barat.

Pembuatan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Sebanyak 400 gram serbuk daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn)

dimaserasi dengan etanol 96% selama 3 hari hingga didapat serbuk daun belimbing wuluh kemudian dimasukkan kewadah tertutup. Selanjutnya ditambahkan pelarut etanol 96%. Kemudian daun belimbing wuluh direndam dan ditutup dengan aluminium foil. Proses dilakukan secara maserasi selama 3×24 jam. Kemudian dilakukan penyaringan dan didapatkan filtratnya. Filtrat kemudian diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* pada suhu 50-60⁰C hingga pekat dan bebas dari pelarut. Kemudian ekstrak dikentalkan dengan menggunakan *water bath* sampai didapatkan ekstrak kental. Kemudian uji karakteristik yaitu organoleptis (identifikasi warna, bau dan rasa), rendemen, susut pengeringan dan skrining fitokimia (Faharani, 2009).

Rancangan Formula (Draelos dan Lauren 2006)

Tabel 1. Rancangan formulasi sediaan gel dari ekstrak etanol 96% daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn).

No	Bahan	Formula FI 35%	Formula FII 50%	Formula FIII 65%	Kegunaan
1.	Ekstrak Daun Belimbing wuluh	7	10	13	Zat Akif
2.	Hidroksi propil metil selulosa	1, 35	1, 35	1, 35	Basis gel
3.	Propilenglikol	4, 5	4, 5	4, 5	Humektan
4.	Metilparaben	0,05	0,05	0,05	Pengawet
5.	Aquadest	Ad 30 mL	Ad 30 mL	Ad 30 mL	Pelarut

Keterangan : Ad 30 mL = ... sampai dengan 30 mL

Pembuatan Gel ekstrak Etanol 96% Daun Belimbing Wuluh

Sebanyak 30 ml aquadest dipanaskan hingga mencapai 80°C ditambahkan *hidroksi propil metil selulosa (HPMC)* sampai mengembang dan terbentuk basis gel, kemudian ditambahkan metil paraben sebagai pengawet yang sudah dilarutkan dengan air panas, *propilenglikol* digerus bersama ekstrak etanol daun belimbing wuluh dicampur sampai merata tambah *aquadest* diaduk sampai merata (Hertiani *et al.*, 2003). Lalu dilakukan serangkaian evaluasi seperti evaluasi sediaan fisik gel, uji aktivitas antibakteri formulasi gel dan uji iritasi kepada 20 orang sukarelawan (Suardi *et al.*, 2008).

Evaluasi Sediaan Fisik Gel

Evaluasi yang dilakukan meliputi Uji Organoleptik, Pengujian Homogenitas atau merata, Pengujian pH, Uji Daya Sebar dan Pengujian Viskositas.

Uji Aktivitas Antibakteri Formulasi Gel Ekstrak Daun Belimbing Wuluh terhadap *S. aureus* dan *P. aeruginosa*

Semua peralatan dan bahan yang akan digunakan disterilkan. Kemudian pembuatan suspensi bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa*. Penyiapan media dilakukan dengan difusi padat dengan cara sumuran. Suspensi bakteri sebanyak 100µL yang telah

disamakan kekeruhannya dengan standar McFarland $1,5 \times 10^8$ CFU/mL dimasukkan dalam media. Campuran tersebut tuang segera sebanyak 25ml kedalam cawan petri steril, lalu biarkan memadat. Buat 5 hole, 3 hole untuk ekstrak daun belimbing wuluh dengan konsentrasi yang berbeda yang telah dibuat dalam formula gel, 1 hole untuk kontrol negatif yaitu Formula gel tanpa ekstrak *etanol* daun Belimbing Wuluh, dan 1 hole untuk kontrol positif (Gentamisin Salep 0,1%). Tetesi masing-masing ke dalam hole 0,1 ml ekstrak daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 35 %, 50%, 65 % dan pada 1 hole 0,1 ml untuk kontrol negatif, dan 0,1 ml untuk kontrol positif pada hole yang lainnya. Cawan petri di inkubasikan selama 18 - 24 jam pada suhu 37°C. Tampak jernih yang tidak ditumbuhi oleh bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa*. Kemudian dilihat dan diukur daerah zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong. Percobaan dilakukan yaitu dilakukan sebanyak tiga kali untuk masing-masing formulasi gel (Ricko, 2011).

Uji Iritasi

Pengujian iritasi sediaan gel dengan teknik *patch test*, dilakukan dengan cara mengoleskan sediaan formula (FI, FII FIII) pada punggung tangan sukarelawan.

Pengujian ini dilakukan terhadap 20 orang relawan dengan kontrol positif yaitu ekstrak murni tanpa campuran bahan pembuat gel lainnya lalu diamati gejala yang timbul, apabila terjadi iritasi akan ditunjukkan dengan adanya reaksi kulit setelah sediaan dioleskan pada kulit. Iritasi yang terjadi sesaat setelah pelekatan disebut iritasi primer, sedangkan jika terjadi setelah beberapa jam pelekatan disebut iritasi sekunder (Direktorat Jenderal Pemeriksaan Obat dan Makanan, 1985).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun Belimbing Wuluh terhadap *S aureus* dengan metode difusi sumuran

<i>S. aureus</i>	K (+)	Formula		
		I	II	III
Perlakuan 1	29 mm	20 mm	24 mm	32 mm
Perlakuan 2	40 mm	25 mm	32 mm	35 mm
Perlakuan 3	28 mm	20,5 mm	25,5 mm	22 mm
Perlakuan 4	26 mm	18 mm	20 mm	25,5 mm
Rata – Rata	30,75 mm	20,87 mm	25,37 mm	28,62 mm

Pada tabel 2 formula ke III memiliki daya hambat yang maksimal dan nilai rata - ratanya mendekati nilai rata-rata kontrol positif (salep gentamicin) dibanding dengan formula I dan formula II di karenakan jumlah ekstrak bahan utama yaitu daun Belimbing Wuluh paling besar konsentrasinya.

Hasil data zona hambat ekstrak etanol daun belimbing wuluh pada tabel dan 2 dan 3 diatas menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi semakin besar juga zona hambat dari zat aktif. Pada konsentrasi 35% yaitu formula I ekstrak etanol daun belimbing wuluh sudah memberikan zona hambat tetapi tidak maksimal.

Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 25,37 mm, dan formula III konsentrasi 65% memiliki zona hambat rata-rata sebesar 28,62 mm. Sedangkan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* kontrol positif (salep gentamicin) memiliki zona hambatan nilai rata-rata yaitu 28,9 mm, Formula I konsentrasi 35% memiliki zona hambat rata-rata sebesar 17,37 mm, formulasi II konsentrasi 50% memiliki zona hambat rata-rata sebesar 18,5 mm dan formulasi III konsentrasi dan 65% memiliki zona hambat rata-rata sebesar 19 mm. Hal ini terlihat dari adanya perbedaan besar diameter daya hambat dari hasil zona hambat yang telah diukur dan menunjukkan zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* memiliki zona hambat yang lebih besar dibanding terhadap bakteri *P. aeruginosa*.

Hasil tersebut terlihat perbedaan zona hambat pada nilai daya hambat terbesar

pada formulasi III dengan konsentrasi 65% sedangkan ekstrak dengan daya hambat terkecil adalah kelompok formulasi I konsentrasi 35%, oleh sebab itu pengaruh besarnya konsentrasi ekstrak sangat berpengaruh. semakin rendah konsentrasi ekstrak yang diuji maka diameter daya hambat yang pengaruh ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri akan semakin tinggi.

Tabel 4. pH selama 4 minggu penyimpanan

Formula	Waktu (Minggu)	pH		
		0°C	4°C	25°C
I (35%)	0	5,34	5,31	5,3
	1	5,49	5,5	5,53
	2	5,54	5,53	5,46
	3	5,6	5,58	5,57
	4	5,62	5,6	5,59
II (50%)	0	5,34	5,35	5,3
	1	5,53	5,54	5,45
	2	5,58	5,59	5,5
	3	5,62	5,65	5,53
	4	5,85	5,85	5,58
III (65%)	0	5,37	5,3	5,17
	1	5,60	5,57	5,21
	2	5,64	5,62	5,23
	3	5,67	5,65	5,25
	4	5,87	5,74	5,26

Pada tabel 4 hasil stabilitas gel pada nilai pH gel masih memenuhi persyaratan karena nilai pH tersebut masih masuk ke

dalam rentang pH normal kulit manusia yaitu sebesar 4,50–6,5.

Tabel 5. Hasil uji iritasi

Subjek	Formula I	Formula II	Formula III
1	-	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-
4	-	-	-
5	-	-	-
6	-	-	-
7	-	-	-
8	-	-	-
9	-	-	-
10	-	-	-
11	-	-	-
12	-	-	-
13	-	-	-
14	-	-	-
15	-	-	-
16	-	-	-
17	-	-	-
18	-	-	-
19	-	-	-
20	-	-	-

Keterangan:

- (negatif) = tidak terjadi iritasi
- + (positif) = terjadi iritasi

KESIMPULAN

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh sebagai bahan aktif maka daya hambat atau zona hambat yang dioleskan pada lempeng agar akan semakin besar. Uji aktivitas antibakteri yang dilakukan menggunakan metode difusi sumuran dengan tujuan untuk membandingkan khasiat dari Daun Belimbing wuluh sebagai antibakteri dengan

antibiotik salep kulit gentamicin 0,1% sebagai kontrol positif. Hasil uji zona hambat pada bakteri *S. aureus* lebih besar daripada *P. aeruginosa* sehingga dapat di definisikan bahan aktif dari ekstrak Daun Belimbing Wuluh mempunyai aktivitas lebih baik dalam menghambat bakteri *S. aureus* dibandingkan dengan *P. aeruginosa*.

SARAN

Diharapkan pada penelitian selanjutnya tentang antibakteri dapat digunakan bahan alam lainnya yang mempunyai khasiat sebagai antibakteri dan menggunakan metode uji aktivitas antibakteri yang lain seperti metode difusi cakram dan formula dapat dibuat ke bentuk lainnya seperti salep, lotion, krim dan pasta.

DAFTAR PUSTAKA

- Ricko. 2011. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) Secara In Vitro Dengan Metode Difusi Agar Terhadap Bakteri Gram Positif Dan Gram Negatif. Thesis Magister Fakultas Farmasi. Jakarta : Universitas Pancasila.
- Direktorat Jenderal Pemeriksaan Obat dan Makananan. 1985. Formularium Kosmetika Indonesia: Penerbit Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. (Buku/monograph)
- Draelos, dan Lauren, T. 2006. *Cosmetic Formulation of Skin Care Product*, 362. New York: Taylor and Francis Group. (Buku/monograph)
- Faharani. 2009. Uji Aktifitas Antibakteri Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) Terhadap Bakteri *Streptococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara Bioautografi, Jakarta: FMIPA UI, Thesis
- Gobel, R. 2008. Mikrobiologi Umum Dalam Praktek. Makasar : Penerbit Universitas Hasanuddin. (Buku/monograph).
- Hayati, E.K., Fasyah, G.A dan Sa'adah, L. 2010. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.). Jurnal Kimia. 4 (2) : 193-200.
- Hertiani, Palupi, Sanliferianti, dan Nurwindasari. 2003. Uji Potensi Antimikroba terhadap *S. aureus*, *E. coli*, *Shigella dysenteriae*, dan *Candida albicans* dari Beberapa Tanaman Obat Tradisional untuk Penyakit Infeksi, Jurnal Pharmacon UMS Surakarta, 4(2): 50 – 67.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., dan Adelberg, E. A. 1991. Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan (*Review of Medical Microbiology*), edisi 16, 239-244. Jakarta:EGC Penerbit Buku Kedokteran
- Pramono, S. 2002. Kontribusi bahan obat alam dalam mengatasi krisis bahan obat di Indonesia, Jurnal Bahan Alam Indonesia, 1(1): 18-20.
- Suardi M, Armenia dan Anita M. 2008. Formulasi dan Uji Klinik Gel Anti Jerawat Benzoi Peroksida HPMC.

Fakultas Farmasi, Udayana, Denpasar
Bali: Universitas Udayana, Thesis.

Sukadana, I.M. 2007. Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid dari Biji Pepaya (*Carica papaya* L.). Universitas Udayana Jurnal Bahan Alam Indonesia, 1(1): 35 - 45.

Septiani, S., N. Wathoni, dan S. R. Mita. 2011. Formulasi Sediaan Masker Gel Antioksidan dari Ekstrak Etanol Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* Linn.). Jurnal Unpad. 1(1): 4-24.

KAJIAN PREDIKSI 3-DIMENSI BIOMARKER KANKER PAYUDARA DARI JALUR EKSPRESI LINC RNA-ROR/MIR-145/ARF6

[3D PREDICTION OF BREAST CANCER BIOMARKER FROM THE EXPRESSION PATHWAY OF LINC RNA-ROR/MIR-145/ARF6]

Arli Aditya Parikesit^{1*}, Dito Anurogo²,

¹Department of Bioinformatics, School of Life Sciences, Indonesia International Institute for Life Sciences, Jl. Pulomas Barat Kav 88 Jakarta 13210, Indonesia

² S-2 Ilmu Kedokteran Dasar (IKD) Biomedis Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

*Korespondensi penulis : arli.parikesit@i3l.ac.id

ABSTRACT

According to WHO, breast cancer is one of the main causes of mortality in women. To overcome this malady, molecular biomedical research is carried out intensively. Anomalies in the lincRNA-RoR/miR-145/ARF6 expression pathway were found to play a very important role in breast cancer, especially in the type of Triple-Negative Breast Cancer (TNBC), which is the most dangerous variant of the deadly disease. Bioinformatics research has found the existence of non-coding RNA (ncRNA) in these expression pathways, whose interactions are worth studying with 3-dimensional prediction methods. The 3-D prediction method for biomolecules has been widely developed and has been successfully applied to DNA and protein. However, for the structure of RNA, it has just been developed, due to its low stability and very high dynamics on the biomolecule. Our aim is to apply the latest computational method for predicting the 3-dimensional structure of ncRNA, which can be applied as key information in biomedical application research. Extrapolation of kinetics and thermodynamic indicators of ncRNA ultimately yields the siRNA Linc-ROR 3-Dimensional structure and siRNA mRNA-ARF6, each having 13 and 8 hydrogen bonds. The existence of these hydrogen bonds is very important in maintaining the stability of the compounds and shows its efficacy as drug candidates. It is expected that preliminary information from the predicted 3-dimensional structure of ncRNA is useful for optimization of laboratory experiments in the field of crystallographic biomolecules.

Keywords : annotation, breast cancer, expression pathway of lincRNA-RoR/miR-145/ARF6, ncRNA, TNBC

ABSTRAK

Menurut WHO, kanker payudara merupakan salah satu penyebab mortalitas utama pada perempuan. Untuk mengatasinya, penelitian biomedik molekuler dilakukan secara intensif. Anomali pada jalur ekspresi lincRNA-RoR/miR-145/ARF6 ditemukan berperan sangat penting, terutama pada Kanker Payudara *Triple-negative* (TNBC) yang merupakan varian paling berbahaya penyakit mematikan tersebut. Penelitian bioinformatika telah menemukan keberadaan *non-coding* RNA (ncRNA) pada jalur ekspresi tersebut, yang interaksinya patut dipelajari dengan metode prediksi 3-Dimensi. Metode tersebut untuk biomolekul sudah banyak dikembangkan, dan sudah berhasil diterapkan pada DNA dan protein. Namun, untuk struktur RNA baru saja dikembangkan, dikarenakan stabilitas yang rendah dan dinamika yang sangat tinggi pada biomolekul tersebut. Tujuan penelitian kami adalah menerapkan metode komputasi terbaru untuk prediksi struktur 3-

dimensi ncRNA, yang dapat diaplikasikan sebagai informasi kunci dalam penelitian aplikasi biomedis. Ekstrapolasi indikator kinetika dan termodinamika ncRNA pada akhirnya menghasilkan struktur 3-Dimensi siRNA Linc-ROR dan siRNA mRNA-ARF6, dengan masing-masing memiliki 13 dan 8 ikatan hidrogen. Keberadaan ikatan hidrogen tersebut sangat penting dalam menjaga stabilitas senyawa-senyawa tersebut, dan menunjukkan efektivitas sebagai kandidat obat. Diharapkan informasi awal dari prediksi struktur 3-Dimensi ncRNA ini bermanfaat untuk optimasi eksperimen laboratorium di bidang kristalografi biomolekul.

Kata kunci : anotasi, jalur ekspresi lincRNA-RoR/miR-145/ARF6, kanker payudara, ncRNA, TNBC

PENDAHULUAN

Kanker payudara *Triple-negative* (*Triple Negative Breast Cancer*/TNBC) merupakan proliferasi tumor ganas yang paling berbahaya pada varian tersebut (WHO, 2016). Di Indonesia sendiri, kanker payudara termasuk salah satu kanker yang paling tinggi prevalensinya dan kementerian kesehatan sedang berfokus mengembangkan upaya deteksi dini yang efektif (Kemenkes-RI, 2013). Sejauh ini, terapi yang tersedia adalah radio- dan kemoterapi yang memiliki sejumlah kelemahan, diantaranya efek samping dan durasi pengobatan yang lama (Caley dan Jones, 2012). Oleh karena itu, diperlukan pendekatan yang berbeda dengan teknik biomedis konvensional untuk mengatasi kanker mematikan tersebut. Sehingga, pendekatan berbasis biologi molekuler diperlukan untuk memahami mekanisme penyakit TNBC (Sotiriou *et al.*, 2006).

Biologi molekuler merupakan ilmu yang pada awalnya dikembangkan dengan

paradigma berbasis protein/dogma sentral. Paradigma tersebut menyatakan bahwa setiap galur *Deoxy Nucleic Acid* (DNA) akan ditranskripsi menjadi *messenger Ribo Nucleic Acid* (mRNA), dan kemudian ditranslasi menjadi protein (Rinn dan Chang, 2012). Hanya saja, paradigma dogma sentral sama sekali tidak dapat menjelaskan apa peran dari lebih 90% urutan genome manusia yang tidak menyandikan protein. Mereka hanya dijelaskan sebagai *junk DNA* atau DNA sampah yang berperan tidak signifikan (Graur *et al.*, 2013). Hal ini menggugah peneliti untuk mencari apa tepatnya peran *junk DNA* tersebut pada genom manusia, dan meneliti struktur maupun fungsinya secara lebih detail untuk memahami hal tersebut lebih detail. Pada akhirnya, diketahui bahwa apa yang disebut *junk DNA* tersebut ternyata berperan aktif dalam mentranskripsikan *non coding* RNA (ncRNA) yang memiliki peran yang sangat divergen dalam organisme, seperti dalam sistem metabolisme dan imunitas (Mattick, 2005). ncRNA tersebut memang tidak

ditranslasikan menjadi protein, namun memiliki peran sebagai katalis maupun auto-katalis yang sangat penting dalam reaksi biokimiawi dalam sel (Mattick, 2013). Oleh karena itu, dikembangkanlah ilmu baru yang mempelajari ekspresi RNA, baik *non-coding* maupun *messenger*, yang dinamakan Transkriptomik. Transkriptomik atau kajian mengenai mekanisme penyandian RNA, ternyata berperan sangat penting dalam proliferasi TNBC (Dong dan Chen, 2013). Pemahaman mengenai peran ncRNA lebih mendalam akhirnya menemukan bahwa ternyata progresi kanker payudara TNBC memiliki jalur metabolik tersendiri yang sangat unik.

Jalur metabolik lincRNA-RoR/miR-145/ARF6 ternyata berperan sangat penting dalam kanker payudara TNBC, terutama *non-coding* (nc)RNA yang terlibat di dalamnya (Eades *et al.*, 2015). Kemudian, ditemukannya *silencing* (si)RNA, yang merupakan ncRNA berukuran kecil, telah membuka potensi pengembangan obat secara signifikan karena siRNA dapat berfungsi untuk menghambat fungsi gen yang merugikan organisme tersebut. Bahkan siRNA dapat digunakan sebagai sistem penghantaran obat (Oh dan Park, 2009; Burnett dan Rossi, 2012).

Dalam rangka memahami mekanisme molekuler secara lebih detail, kajian

bioinformatika diperlukan untuk menganalisis fungsi dan struktur ncRNA. Sebagai ilmu berbasis komputasi, bioinformatika dapat memprediksi fungsi dan struktur biomolekul dengan resolusi sangat tinggi. Sehingga informasi prediksi tersebut dapat menjadi panduan untuk *wet laboratory* (Rastogi, 2008).

Prediksi struktur 2-Dimensi ncRNA sebagai biomarker kanker payudara TNBC sudah dilakukan pada lincRNA-ROR dan miR-145, yang merupakan biomarker kanker payudara TNBC, dan desain siRNA secara *in-silico* untuk memblokir progresi kanker melalui biomarker tersebut sudah dilakukan juga (Parikesit dan Anurogo, 2016). Namun, desain 2-Dimensi siRNA belum cukup untuk mengilustrasikan fungsi dan struktur biomolekul secara lengkap. Supaya interaksi dan ikatan kimia dapat diprediksi dengan lengkap, maka diperlukan prediksi struktur 3-Dimensi. Prediksi interaksi dan ikatan kimia hanya dapat dilakukan dengan baik jika struktur molekul dielusidasi dengan struktur 3-Dimensi, sehingga semua interaksi dan ikatan pada permukaan atau inti senyawa tersebut dapat divisualisasi dengan jelas (Sripakdeevong *et al.*, 2012).

Metode prediksi struktur 3-Dimensi telah berhasil dikembangkan untuk senyawa protein, terutama dengan metode *homology*

modeling dan *ab initio* (Hillisch *et al.*, 2004; Walsh *et al.*, 2009). Sebagai metode yang mengandalkan kelengkapan basis data biologis, metode *homology modeling* adalah yang paling ekonomis karena memerlukan waktu dan tenaga komputasi yang kecil. Hanya saja akurasi akan kurang baik jika struktur tersebut memiliki Domain fungsional yang benar-benar baru. Sementara itu, metode *ab initio* memiliki akurasi yang paling tinggi karena melakukan kalkulasi berdasarkan informasi termodinamis dan kinetis senyawa, namun memerlukan waktu dan daya komputasi sangat besar. Keberhasilan pengembangan metode prediksi struktur protein tersebut akhirnya juga diekstrapolasi untuk prediksi struktur RNA (Barreda *et al.*, 2004).

Beberapa software prediksi 3-Dimensi RNA adalah *simRNA* untuk prediksi *modeling* komparatif (*homology modeling*), dan *modeRNA* untuk prediksi *berbasis de novo/ab initio* (Rother *et al.*, 2011; Magnus *et al.*, 2016). Pengembangan kedua software tersebut pada awalnya adalah dari software prediksi struktur protein, yang akhirnya dimodifikasi secara signifikan karena RNA memiliki struktur 2-Dimensi (2D) dan 3-Dimensi (3D) yang unik dan sangat berbeda dari protein itu sendiri (Levitt, 2009).

Penelitian sebelumnya telah berhasil mendesain struktur 2D siRNA yang berpotensi untuk digunakan sebagai obat kanker payudara TNBC. Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi perbandingan struktur 3-Dimensi siRNA tersebut sebagai kandidat obat Kanker payudara TNBC dengan metode *modeling* komparatif dan *de novo*. Diharapkan informasi struktur 3D siRNA tersebut akan bermanfaat bagi pengembangan obat kedepan, terutama untuk mempelajari interaksi dan reaktivitas siRNA dengan senyawa lain yang terlibat pada jalur ekspresi lincRNA-RoR/miR-145/ARF6. Reaktivitas siRNA dengan biomarker lincRNA-ROR dan miR-145 merupakan kunci pada pengembangan obat kanker payudara TNBC kedepannya.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Komputer laptop dengan spesifikasi standar (Intel processor i5, RAM 8 GB, Integrated VRAM, dan Windows 10) karena sebagian besar operasi pengolahan data dilakukan secara daring (online). Sebagian kecil operasi pengolahan data lebih banyak pada editing dan visualisasi yang tidak membutuhkan daya komputasi besar. Walaupun protokol penelitian ini dilakukan pada platform Windows, platform Linux dan

MacOSX juga dapat digunakan untuk pengolahan data struktur 3D siRNA.

Metode Penelitian

Menggunakan data sekuens DNA dari penelitian sebelumnya dari Parikesit dan kawan-kawan yang sudah dideposisi pada sistem awan Mendeley Data, semua dalam format FASTA (Parikesit and Anurogo, 2016). Data diunduh dan disimpan kedalam komputer dengan menggunakan editor teks *Notepad* untuk persiapan langkah pengolahan selanjutnya (Parikesit *et al.*, 2016).

Konversi sekuens DNA ke RNA dilakukan terhadap data yang ada. Konversi dapat dengan mudah dilakukan dengan mengganti basa T (Thymin) dengan U (Urasil). Luaran *default* Vienna RNA adalah sekuens RNA dengan anotasi struktur sekunder dalam format *dot-bracket notation* (Gruber *et al.*, 2015). Format *dot-bracket* tersebut dapat dikalkulasi oleh software Vienna RNA Package sebagai energi bebas pembentukan molekul RNA tersebut.

Tahapan pengolahan data yang paling krusial adalah prediksi struktur 3D RNA. *simRNA* versi 3.20 digunakan untuk prediksi struktur tersier secara *ab initio*, dan *modeRNA* versi 1.7.1 untuk prediksi pemodelan struktur tersier secara komparatif. Parameter yang digunakan adalah *default* dengan berbasis indikator termodinamika dan

kinetika kimia (Bronowska, 2011; Cao dan Chen, 2011; Zhao *et al.*, 2009).

Gunakan VAST server untuk membandingkan struktur 3D kedua hasil komputasi dengan basis data. Struktur yang paling tinggi homologinya dengan basis data, adalah yang paling valid (NCBI, 2013). Hasil prediksi dalam format PDB (Protein Data Bank) akan divisualisasikan dengan aplikasi Swiss Deep-View versi 4.1.0 (Guex and Peitsch, 1997; Team, 2001; Guex *et al.*, 2009).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian dari Parikesit dan kawan-kawan sudah memberikan gambaran yang komprehensif mengenai jalur ekspresi lincRNA-RoR/miR-145/ARF6 pada kanker payudara TNBC karena informasi struktur 2-D sudah memadai untuk hal itu (Parikesit and Anurogo, 2016). Akan tetapi, dalam konteks pengembangan obat, hal tersebut belum memadai karena tetap dibutuhkan informasi struktur 3-D dan ikatan kimia yang terlibat pada interaksi intra- maupun intermolekuler (Kapetanovic, 2008). Hanya melalui informasi struktur 3D pada RNA maka reaktivitas dan interaksi kimiawi pada tingkat molekul dapat diobservasi lebih jelas, sehingga memberi penguatan resolusi yang signifikan pada visualisasi molekuler.

Software *simRNA*, yang melakukan prediksi struktur 3D RNA secara *de novo*, memberikan informasi terhadap dua indikator paling penting dalam penentuan struktur. Mereka adalah informasi termokimia molekul RNA dan informasi struktur 3D molekul RNA. Informasi termokimia dihasilkan dengan melakukan komputasi terhadap parameter-parameter terkait, terutama untuk menghasilkan energi bebas Gibbs (ΔG). Parameter utama tersebut, yaitu energi bebas Gibbs, berfungsi untuk menentukan apakah struktur molekul tersebut stabil atau tidak. Energi bebas Gibbs dihitung berdasarkan akumulasi dari setiap ikatan kimia yang terjadi antar maupun intra molekul tersebut dan energi yang berasal dari luar sistem jika sistem tersebut terbuka. Rumusnya adalah sebagai berikut:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \dots\dots\dots (1)$$

Dimana ΔG adalah energi bebas Gibbs, ΔH adalah entalpi, T adalah temperatur sistem, dan ΔS adalah entropi (Bronowska, 2011; Cao and Chen, 2011). Energi bebas Gibbs harus bernilai negatif jika reaksi berlangsung spontan dan struktur senyawa menjadi stabil, dan bernilai positif jika tidak spontan dan struktur molekul tidak stabil. Penggunaan informasi termodinamika adalah instrumen yang paling ekonomis secara komputasi, sebab jika ingin lebih detail ke

tingkat kuantum memerlukan sumber daya komputasi yang sangat besar dan waktu yang jauh lebih lama (Senn and Thiel, 2009).

Dengan upaya komputasi yang ekonomis, akhirnya kedua indikator penting tersebut untuk penentuan struktur 3D siRNA mRNA-ARF6 dan siRNA linc-ROR dapat ditentukan dengan menggunakan software *simRNA* dan *modeRNA*.

Informasi Termokimia Molekul RNA

Berdasarkan simulasi termodinamis yang dilakukan pada molekul SiRNA mRNA-ARF6 dengan aplikasi *simRNA*, ditemukan bahwa total energi ikatan adalah -69.979330, sementara total energi sistem adalah -70.91952. Sementara itu, berdasarkan simulasi termodinamis yang dilakukan pada molekul siRNA linc-ROR *simRNA* dengan aplikasi *simRNA* ditemukan bahwa total energi ikatan adalah -68.999033, sementara total energi sistem adalah -69.879571

Hasil luaran aplikasi *simRNA* dengan energi bebas negatif tersebut semuanya menunjukkan bahwa pembentukan spesi siRNA terjadi secara spontan, dan spesi tersebut sudah dapat dipastikan akan stabil didalam sistem tersebut.

Informasi Struktur 3D Molekul RNA

Hasil luaran aplikasi *simRNA* juga berupa file Protein Data Bank (PDB) yang dapat divisualisasi dengan software

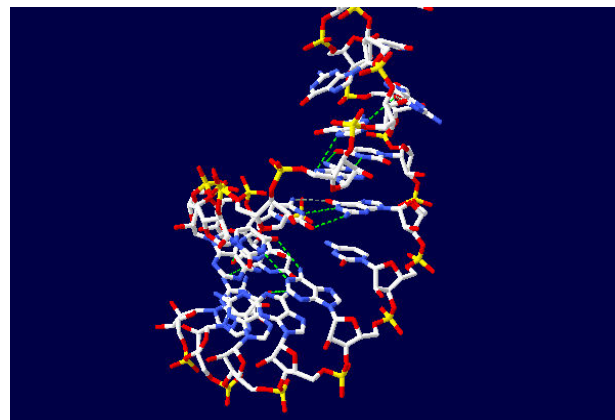
pendukung, dalam hal ini digunakan Swiss PDB-Viewer. Sebelumnya format file PDB hanya digunakan untuk repositori protein. Hanya saja, sesuai dengan perkembangan kajian transkriptomik, maka file PDB juga digunakan pada repositori RNA.

Visualisasi molekul siRNA dilakukan dengan aplikasi Swiss PDB-Viewer. Langkah pertama adalah aktivasi menu display untuk semua fitur. Sehingga struktur 3D RNA dapat divisualisasi dengan jelas. Aktivasi menu tools, dan opsi 'compute H-bond' untuk melihat ikatan hydrogen pada molekul. Visualisasi molekul siRNA dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.

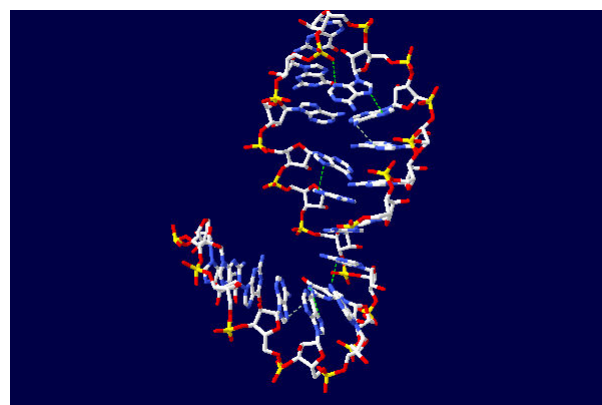
Pada siRNA linc-ROR terdapat 13 ikatan hidrogen, berarti molekul tersebut memiliki kohesi yang kuat karena ditopang oleh jumlah ikatan hidrogen yang signifikan (Gambar 1). Molekul siRNA linc-ROR cenderung memiliki efek sterik yang kuat, karena banyak tumpang tindih diantara berbagai gugus fungsi.

Pada siRNA mRNA-ARF6 terdapat 8 ikatan hidrogen, berarti sama seperti yang ditemukan pada Gambar 1, molekul tersebut memiliki kohesi yang kuat karena ditopang oleh jumlah ikatan hidrogen yang signifikan (Gambar 2). Molekul siRNA mRNA-ARF6 juga memiliki visualisasi yang menarik, karena berbentuk seperti jangkar. Hal ini

dapat dieksploitasi lebih lanjut dengan instrumen penambahan molekul untuk pengembangan obat lebih lanjut.



Gambar 1: Visualisasi Prediksi Struktur 3D siRNA linc-ROR. Garis hijau putus-putus menandakan ikatan hidrogen intramolekuler pada struktur siRNA. Warna atom secara *default* adalah putih untuk karbon, kuning untuk sulfur, merah untuk oksigen, oranye untuk fosfor, biru untuk nitrogen, sian untuk hidrogen, dan abu-abu untuk atom lainnya (Team, 2001).



Gambar 2: Visualisasi Prediksi Struktur 3D siRNA mRNA-ARF6. Garis hijau putus-putus menandakan ikatan hidrogen intramolekuler pada struktur siRNA. Warna atom secara default adalah putih untuk karbon, kuning untuk sulfur, merah untuk oksigen, oranye untuk fosfor, biru untuk nitrogen, sian untuk hidrogen, dan abu-abu untuk atom lainnya (Team, 2001).

Ikatan hidrogen adalah sejenis gaya tarik antarmolekul atau antar dipol-dipol yang terjadi antara dua muatan listrik parsial dengan polaritas yang berlawanan. Semakin

banyak ikatan hidrogen intramolekular, berarti kohesi molekul tersebut semakin kuat. Sehingga stabilitas molekul lebih terjamin. Pada molekul DNA, jika memiliki GC *content* yang lebih besar, maka kohesi molekul tersebut semakin kuat. Hal ini disebabkan karena ikatan antara Guanin (G) dengan Sitosin (C) memiliki tiga ikatan hidrogen, sementara antara Adenin (A) dengan Timin (T) hanya dua saja. Secara umum, sangat berbeda dengan DNA, RNA jauh lebih tidak stabil karena memiliki gugus hidroksi (-OH) bebas. Namun jika dibandingkan siRNA linc-ROR dan mRNA-ARF6, maka siRNA linc-ROR lebih stabil karena memiliki ikatan hidrogen yang lebih banyak. Di satu sisi, kajian mengenai stabilitas molekul RNA harus lebih diperhatikan dengan instrumen atau alat yang lebih teliti, karena waktu hidup molekul tersebut dalam sel sangatlah pendek (Hickerson *et al.*, 2008). Sehingga signifikansinya secara kinetika kimia harus dikaji dengan resolusi tinggi. Di sisi lain, keberadaan ikatan hidrogen ini dapat dieksplorasi untuk pengembangan *pro-drug* untuk sistem penghantaran obat yang lebih efisien untuk menutupi kelemahan siRNA yang tidak stabil di dalam sel (Li *et al.*, 2010; Tang *et al.*, 2014). Ikatan siRNA dengan molekul penghantar sangat penting untuk dipelajari untuk menghasilkan penghantaran

obat yang handal. Pada Gambar 1 dan 2 terlihat bahwa kedua molekul tersebut memiliki ruang (*crevice*) yang memungkinkan terjadinya penambatan molekul disana. Hal ini dapat dieksplorasi lebih lanjut untuk membuat model penghantaran obat secara nanomolekular maupun menjadikan ncRNA lain sebagai sasaran untuk ditambatkan ke ruang tersebut.

Sementara itu, pada luaran aplikasi Mode RNA, ditemukan bahwa tidak terdapat informasi struktural pada siRNA linc-ROR. Informasi struktural juga tidak ditemukan pada siRNA mRNA ARF6, namun informasi famili RFAM dapat ditemukan. Hanya saja, informasi dari basis data RFAM kurang signifikan untuk mengkonstruksi struktur 3D RNA secara utuh. Hasil luaran ModeRNA justru kurang berkontribusi dalam penelitian ini, kemungkinan karena basis data template mereka memang kurang lengkap dan kurang diperbaharui secara reguler. Perbandingan antara produk simRNA dan modeRNA dengan VAST juga tidak dapat dilakukan karena modeRNA tidak menghasilkan informasi yang signifikan untuk mengkonstruksi model.

KESIMPULAN

Kajian termodinamis dan struktural dengan software simRNA dan modeRNA terhadap siRNA lincROR dan mRNA ARF6

telah menghasilkan model 3D struktur RNA yang solid. Aplikasi modeRNA tidak memberikan informasi signifikan untuk pengembangan struktur 3D RNA karena basis data template yang kurang lengkap.

SARAN

Informasi ikatan hidrogen kedua molekul tersebut dapat dimanfaatkan untuk pengembangan penghantaran obat dan identifikasi molekul sasaran. Kedepannya akan dilakukan kajian penambatan dan dinamika molekul dengan dukungan daya komputasi yang besar untuk pengembangan obat berbasis transkriptomik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada LPPM dan Bagian IT I3L atas dukungannya terhadap penelitian ini dengan Hibah Penguatan Prodi S1 Bioinformatika I3L. Terima kasih juga kami ucapkan kepada Hibah Penelitian Berbasis Kompetensi (PBK) DIKTI 2018 No: 0045/E3/LL/2018 atas dukungan material dan peralatan. Autor juga berterima kasih kepada David Agustriawan., PhD dari Departemen Bioinformatika, Indonesia International Institute for Life Sciences, atas bantuan *proofread* terhadap manuskrip ini. Data penelitian dapat diberikan kepada pengguna jika diminta.

DAFTAR PUSTAKA

- Barreda, J.E., Shigenobu, Y., Ichiishi, E., and Del-Carpio, C.A. 2004. RNA 3D structure prediction: (1) assessing rna 3D structure similarity from 2D structure similarity. *Genome Informatics*, 15(2): 112–120.
- Bronowska, A.K. 2011. *Thermodynamics of Ligand-Protein Interactions: Implications for Molecular Design. Thermodynamics - Interaction Studies - Solids, Liquids and Gases*. Intech.
- Burnett, J.C. and Rossi, J.J. 2012. RNA-based therapeutics: current progress and future prospects. *Chemistry & Biology*, 19(1): 60–71
- Caley, A. and Jones, R. 2012. The principles of cancer treatment by chemotherapy. *Surgery*, 30(4): 186-190
- Cao, S. and Chen, S.J. 2011. Physics-based de novo prediction of RNA 3D structures. *Journal of Physical Chemistry B*, 115(14): 4216–4226.
- Dong, Z. and Chen, Y. 2013. Transcriptomics: advances and approaches. *Science China Life Sciences*, 56(10): 960–967.
- Eades, G. Wolfson, B., Zhang, Y., Li, Q., Yao, Y., and Zhou, Q. 2015. lincRNA-RoR and miR-145 regulate invasion in triple-negative breast cancer via targeting ARF6. *Molecular Cancer Research*, 13(2): 330–338.
- Graur, D. Zheng, Y., Price, N., Azevedo, R.B.R., Zufall, R.A., and Elhaik, E. 2013. On the immortality of television sets: function in the human genome according to the evolution-free gospel of ENCODE. *Genome Biology and*

- Evolution, 5(3): 578-590.
- Gruber, A.R. Bernhart, S.H., and Lorenz, R. 2015. The viennaRNA web services. RNA Bioinformatics, 1269: 307–326
- Guex, N. and Peitsch, M.C. 1997. SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: An environment for comparative protein modeling. Electrophoresis, 18(15): 2714–2723.
- Guex, N. Peitsch, M.C., and Schwede, T. 2009. Automated comparative protein structure modeling with SWISS-MODEL and Swiss-PdbViewer: A historical perspective. Electrophoresis, 30(S1).
- Hickerson, R.P., Vlassov, A. V., Wang, Q., Leake, D., Ilves, H., Gonzalez-Gonzalez, E., Contag, C.H., Johnston, B.H., and Kaspar, R.L. 2008. Stability study of unmodified siRNA and relevance to clinical use. Oligonucleotides, 18(4): 345–354.
- Hillis, A. Pineda, L.F., and Hilgenfeld, R. 2004. Utility of homology models in the drug discovery process. Drug Discovery Today, 9(15): 659–669.
- Kapetanovic, I.M. 2008. Computer-aided drug discovery and development (CADD): in silico-chemico-biological approach. Chemico-Biological Interactions, 171(2): 165–176.
- Kemenkes-RI. 2013. Profil Kesehatan Indonesia, Jakarta, Downloaded from <http://www.depkes.go.id/resources/download/pusdatin/profil-kesehatan-indonesia/profil-kesehatan-indonesia-2013.pdf> on 1/12/2017
- Levitt, M. 2009. Nature of the protein universe. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 106(27):11079–11084.
- Li, C. Penet, M.F., Wildes, F., Takagi, T., Chen, Z., Winnard, P.T., Artemov, D., and Bhujwala, Z.M. 2010. Nanoplex delivery of siRNA and prodrug enzyme for multimodality image-guided molecular pathway targeted cancer therapy. ACS Nano, 4(11): 6707–6716.
- Magnus, M. Boniecki, M.J., Dawson, W., and Bujnicki, J.M. 2016. SimRNAweb: a web server for RNA 3D structure modeling with optional restraints. Nucleic Acids Research, 44(W1): W315–W319.
- Mattick, J.S. 2005. The functional genomics of noncoding RNA. Science, 309(5740): 1527–1528.
- Mattick, J.S. 2013. Probing the phenomics of noncoding RNA eLife 2013(2). Downloaded from <https://doi.org/10.7554/eLife.01968> on 1/12/2017.
- NCBI. 2013. The NCBI Handbook. National Center for Biotechnology Information (US), Downloaded from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21101/> on 1/12/2017.
- Oh, Y.K. and Park, T.G. 2009. siRNA delivery systems for cancer treatment. Advanced Drug Delivery Reviews, 61(10): 850–862.
- Parikesit, A.A. dan Anurogo, D. 2016. Prediksi struktur 2-dimensi non-coding RNA dari biomarker kanker payudara triple-negative dengan Vienna RNA package. Chimica et Natura Acta, 4(1): 27.
- Parikesit, A.A. Anurogo, D. and Parikesit, A.A. 2016. Bioinformatics approach towards transcriptomics of filaggrin.

- Journal of Agromedicine and Medical Sciences, 2(3) : 8–16.
- Rastogi, P. 2008. Bioinformatics Methods And Applications: Genomics Proteomics And Drug Discovery 3Rd Ed. Prentice-Hall Of India Pvt. Limited, Downloaded from <http://books.google.co.id/books?id=YP1rEFxFgDcC> on 1/12/2017
- Rinn, J.L. and Chang, H.Y. 2012. Genome regulation by long noncoding RNAs. Annual Review of Biochemistry, 81:145–166.
- Rother, M. Milanowska, K., Puton, T., Jeleniewicz, J., Rother, K. and Bujnicki, J.M. 2011. ModeRNA server: an online tool for modeling RNA 3D structures. Bioinformatics, 27(17): 2441–2442.
- Senn, H.M. and Thiel, W. 2009. QM/MM methods for biomolecular systems. Angewandte Chemie International Edition, 48(7): 1198–1229.
- Sotiriou, C. Wirapati, P., Loi, S., Harris, A., Fox, S., Smeds, J., Nordgren, H., Farmer, P., Praz, V., Haibe-Kains, B., Desmedt, C., Larsimont, D., Cardoso, F., Peterse, H., Nuyten, D., Buyse, M., Van de Vijver, M.J., Bergh, J., Piccart, M., and Delorenzi, M. 2006. Gene expression profiling in breast cancer: understanding the molecular basis of histologic grade to improve prognosis. Journal of the National Cancer Institute, 98(4):262–272.
- Sripakdeevong, P. Beauchamp, K., and Das, R. 2012. RNA 3D Structure analysis and prediction. Nucleic Acids and Molecular Biology, 27(27): 43–65.
- Tang, Q. Cao, B., and Cheng, G. 2014. Co-delivery of small interfering RNA using a camptothecin prodrug as the carrier. Chemical Communications, 50(11): 1323–1325.
- Team, T.D. 2001. DeepView – The Swiss-PdbViewer User Guide. Zurich: World Trade.
- Walsh, I. Martin, A.J.M., Mooney, C., Rubagotti, E., Vullo, A., and Pollastri, G. 2009. Ab initio and homology based prediction of protein domains by recursive neural networks. BMC Bioinformatics, 10(1): 195.
- WHO. 2016. WHO Breast Cancer Prevention and Control. WHO Fact Sheet, Downloaded from <http://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en/> on 1/12/2017
- Zhao, L. Wang, J., Dou, X., and Cao, Z. 2009. Studying the unfolding process of protein G and protein L under physical property space. BMC Bioinformatics, 10(S1): S44.

KARAKTERISASI PROTEIN SORGUM DAN UPAYA PENINGKATAN JEJARING PROTEIN SORGUM DENGAN PENAMBAHAN GLUKOSA-OKSIDASE

[CHARACTERIZATION OF SORGHUM PROTEIN AND IMPROVEMENT OF SORGHUM PROTEIN NET-WORKING WITH ADDITION OF GLUCOSE-OXIDASE]

Endah Wulandari¹

Departemen Teknologi Industri Pangan, Fakultas Teknologi Industri Pertanian,
Universitas Padjadjaran, Bandung

Jalan Raya Jatinangor KM 21, Sumedang

Korespondensi penulis : endah.wulandari@unpad.ac.id

ABSTRACT

Sorghum (Sorghum bicolor (L.) Moench) contains about 10% protein so it can act as a source of protein. Kafirin is a protein in sorghum distinguished on α , β , and γ -kafirin based on molecular weight differences, ease of extracting, and molecular structure. Characteristics of the sorghum protein and the ability of glucose-oxidase will form a protein network naturally between proteins or peptides resulting in polymerization. The objectives of the research were to fractionate protein of the flour of Zh-30 sorghum strain using five types of solvents. The protein fractions were analyzed for protein content and molecular weight by SDS-PAGE and evaluated for protein-network formation by glucose-oxidase, the result showed that flour protein of the sorghum Zh-30 strain consisted of five classes of proteins with a ratio of respectively albumin, globuline, kafirin 1, gluteline and kafirin 2 or cross-linked kafirin 11:11:42:7:29. Kafirin 1 content was 36.01%, kafirin 2 24.79%, gluteline 22.15%, globuline 12.81% and albumin 4.24% of total protein. Molecular weight of each protein fraction of the sorghum flour Zh-30 strain was respectively albumin 69.9 kDa, kafirin 1 which consisted α_1 -kafirin 22.4 kDa and α_2 -kafirin 23.5 kDa, globuline 121 kDa, gluteline 15.5 kDa and kafirin 2 which consisted of α_1 -kafirin 16.2 kDa, α_2 -kafirin 23.5 kDa, β -kafirin 24.6 kDa and γ -kafirin 53.6 kDa. Protein net-working was established when the glutelin fraction was treated with glucose-oxidase (MW 69 kDa from 15.5 kDa).

Keywords : glucose-oxidase, kafirin, protein net-working, sorghum

ABSTRAK

Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) mengandung sekitar 10% protein sehingga dapat berperan sebagai sumber protein. Kafirin yaitu protein pada sorgum dibedakan atas α , β , dan γ -kafirin berdasarkan perbedaan bobot molekul, kemudahan diekstraksi, dan struktur molekulnya. Karakteristik protein sorgum dan kemampuan glukosa-oksidase akan membentuk jejaring protein secara alami antar protein atau peptida sehingga terjadi polimerisasi. Tujuan dari penelitian ini adalah melakukan fraksionasi protein dari tepung sorgum galur Zh-30 menggunakan lima macam pelarut. Fraksi-fraksi protein tersebut dianalisis kadar protein dan berat molekul fraksi-fraksi protein dengan SDS-PAGE, serta mengevaluasi pembentukan jejaring protein fraksi protein oleh aktivitas glukosa-oksidase murni pada fraksi-fraksi protein tepung sorgum. Hasil penelitian menunjukkan protein tepung sorgum galur Zh-30 terdiri dari 5 golongan protein yaitu albumin, globulin, kafirin 1, glutelin dan kafirin 2 dengan rasio 11:11:42:7:29. Kadar protein kafirin 1 36,01%, kafirin 2 atau *cross-linked* kafirin 24,79%;

glutelin 22,15% ; globulin 12,81% dan albumin 4,24% dari total protein. Berat molekul albumin 69,9 kDa; kafirin 1 yang terbagi menjadi α_1 -kafirin 22,4 kDa dan α_2 -kafirin 23,5kDa; globulin 121 kDa; glutelin 15,5 kDa dan kafirin 2 yang terbagi menjadi α_1 -kafirin 16,2 kDa, α_2 -kafirin 23,5 kDa, β -kafirin 24,6 kDa dan γ -kafirin 53,6 kDa. Terbentuk jejaring protein akibat aktivitas glukosa-oksidadase dengan glutelin. (berat molekul 69 kDa dari 15,5 kDa)

Kata kunci : glukosa-oksidadase, jejaring protein, kafirin, sorgum

PENDAHULUAN

Tepung terigu merupakan bahan dasar yang penting dalam pembuatan roti. Keunikan tepung terigu adalah dapat membentuk adonan yang mampu menahan gas-gas yang terbentuk selama fermentasi sehingga menghasilkan roti yang mengembang dan ringan. Keunikan tersebut disebabkan oleh adanya komponen gluten yang memegang peranan penting dan mendasar dalam menentukan kualitas dan struktur roti. Protein tepung terigu terdiri dari empat fraksi berdasarkan kelarutannya, yaitu albumin yang larut dalam air, globulin dan prolamin yang larut dalam larutan garam, gliadin yang larut dalam alkohol 70 % dan glutenin yang larut dalam larutan alkali encer. Glutenin dan gliadin yang dibasahi dan diuleni akan membentuk gluten. Gliadin memberi elastisitas dan glutenin berperan dalam kemampuan adonan untuk menahan gas dalam adonan serta menentukan struktur roti (Sultan, 1986).

Produk rerotian (*bakery*) yang berkembang saat ini berbasis pada tepung

terigu, namun bagi beberapa kelompok masyarakat khususnya yang tidak toleran terhadap gluten, yaitu pengidap penyakit *celiac* dan autisme disarankan untuk menghindari makanan-makanan yang mengandung gluten. Produk rerotian/*bakery* dari tepung sereal non-gluten umumnya memiliki kualitas yang rendah, terutama dalam hal volume pengembangan, karena tidak mampu membentuk jejaring protein mirip gluten (Renzetti *et al.*, 2008). Ikatan kovalen yang terjadi di dalam jaringan gluten merupakan hasil degradasi protein oleh protease. Protease umumnya ditambahkan pada adonan untuk memperpendek waktu pencampuran, mengurangi konsistensi adonan, mengatur kekuatan gluten dalam adonan roti, memastikan keseragaman adonan serta memperbaiki flavor roti (Goesaert *et al.*, 2005).

Saat ini, tepung sereal non-gluten dapat dimodifikasi sehingga membentuk jejaring protein mirip gluten. Modifikasi tersebut dapat tercapai dengan menggunakan bahan tambahan makanan

berupa polimer seperti gum xanthan dan *hydroxypropyl methyl cellulose* (HPMC) atau enzim. Empat enzim yang umumnya digunakan dalam produk rerotian adalah transglutaminase (*TGase*), glukosa-oksidadase (GOX), hesose-oksidadase, dan laktase. Keempat enzim ini mengkatalisis reaksi perpindahan gugus asil pada protein sehingga menghasilkan ikatan silang dan ikatan kovalen intra-dan inter-molekuler (Joye *et al.*, 2009).

Glukosa-oksidadase (GOX, EC 1.1.3.4) mempercepat proses oksidasi pada proses pembuatan adonan produk rerotian. Enzim ini mengkatalisis reaksi oksidasi dari β -D-glukosa menjadi asam D-glukonat dan hidrogen peroksida. Penambahan glukosa-oksidadase akan mengurangi jumlah ikatan sulfidril (SH) pada fraksi protein, namun meningkatkan pembentukan ikatan disulfida (-S-S-) dan atau ikatan silang ditirosin. Glukosa-oksidadase (GOX) terdapat pada berbagai jenis jamur contohnya *Aspergillus niger*. Dalam industri roti, penggunaan transglutaminase dan glukosa oksidadase relatif masih baru (Goesaert *et al.*, 2005).

Sorgum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) adalah tanaman serealia penting di dunia karena menempati urutan ke-empat setelah gandum, beras dan jagung. Biji sorgum mengandung sekitar 83%

karbohidrat, 3,5 % lemak, dan 10% protein (Suarni, 2004). Dengan demikian biji sorgum dapat berperan sebagai makanan pokok alternatif untuk beras sehingga mengurangi ketergantungan terhadap beras (Mudjisihono dan Suprpto, 1987). Beberapa negara di Afrika, sorgum juga berperan sebagai sumber protein dan dikonsumsi dengan kombinasi kacang-kacangan untuk melengkapi kebutuhan asam amino esensial karena dibandingkan dengan serealia lainnya, sorgum kekurangan asam amino esensial terutama lisin (Shewry dan Halford, 2000).

Protein sorgum terdiri dari albumin (larut air), globulin (larut garam), kafirin 1 (larut alkohol), kafirin 2 atau *cross-linked* kafirin (larut alkohol dan bahan reduktan), dan glutelin (larut alkohol, detergen dan larutan basa). Kafirin dibedakan atas α , β , dan γ -kafirin berdasarkan perbedaan berat molekul, kemudahan diekstraksi, dan struktur molekulnya, seperti juga berlaku untuk protein jagung. α -kafirin yang berjumlah sekitar 80% dari total kafirin adalah protein utama sorgum, persentase β -kafirin hanya sekitar 5% sedangkan γ -kafirin sekitar 15% dari kadar kafirin biji (Bugusu *et al.*, 2001).

Sifat fungsional protein sorgum dalam pembuatan roti secara umum dibedakan

atas : a) kemampuan interaksi antar-protein yang memengaruhi struktur makanan dan b) pengaruh protein terhadap konstituen lain terutama pati. Protein tepung sorgum tidak memiliki kemampuan membentuk struktur roti, karena kafirin terperangkap pada matriks protein dari jaringan *corneus endosperm* sehingga tidak dapat membentuk adonan yang elastis yang mampu menahan gas-gas hasil fermentasi ragi, *leavening agent* ataupun udara (Bugusu *et al.*, 2001).

Penelitian tentang penyosohan biji sorgum diikuti dengan penepungan beras-sorgum menunjukkan bahwa *white sorghum* yang memiliki biji dengan kandungan tanin rendah lebih disukai untuk pengolahan roti. Tanin memberikan warna merah kecoklatan pada produk dan berinteraksi dengan protein sehingga nilai protein asupan makanan menurun akibat tidak dapat dicerna (Oria *et al.*, 2000)

Sorgum galur Zh-30 termasuk kelompok *white sorghum* hasil teknik radiasi sinar gamma pada varietas Zhengzu yang berasal dari Cina. Ternyata setelah ditepungkan dapat menggantikan terigu dalam pembuatan muffin (Santosa dan Hoeman, 2009).

Berdasarkan karakteristik protein sorgum dan kemampuan glukosa-oksidadase dalam membentuk jejaring protein secara

alami antar protein atau peptida sehingga terjadi polimerisasi, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai karakterisasi fraksi-fraksi protein tepung sorgum galur Zh-30 dan pembentukan jejaring protein antara fraksi-fraksi protein tepung sorgum dengan penambahan glukosa-oksidadase.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam percobaan ini antara lain adalah tepung sorgum dari galur Zh-30, yang bijinya diperoleh dari Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, n-heksan, t-butanol dari *Merck*, aseton, buffer Na-Phosphat 0,5M, 2-merkaptotanol, NaCl, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, SDS, Na_2CO_3 , NaOH, bahan-bahan kimia untuk analisis elektroforesis, glukosa-oksidadase dari *Biogen*. Bahan-bahan untuk analisis kimia antara lain H_2SO_4 , NaOH, HCL, K_2SO_4 , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$,. Indikator metilen-blue dan metilen-red, petroleum-eter, alkohol, akuades, asbes dan batu didih.

Alat-alat yang digunakan adalah *stirrer*, *refrigerated centrifuge*, seperangkat alat SDS-PAGE, tabung reaksi, penjepit, desikator, cawan porselen, gelas ukur 500 mL, labu Erlenmeyer 100 mL, labu Kjeldahl 150 ml, labu ukur 100 mL, alat ekstraksi

Soxhlet, alat destilasi, pompa vakum, kertas saring, kertas lakmus dan kamera digital.

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen dengan analisis deskriptif dengan tahapan-tahapan penelitian yang dilakukan adalah Ekstraksi dan karakterisasi fraksi-fraksi protein tepung sorgum galur Zh-30 dan menguji terjadinya jejaring protein sorgum oleh glukosa-oksidadase (GOX).

1. Metode ekstraksi dan karakterisasi protein sorgum (Nour *et al.*, 1998)

a. Pembuatan tepung sorgum galur Zh-30

Pembuatan tepung sorgum dilakukan dengan penyosohan abrasif biji sorgum menjadi beras sorgum. Penepungan beras sorgum dilakukan dengan *hammer mill* dan diayak dengan ayakan ukuran 100 mesh. Beras sorgum yang digunakan dalam penepungan adalah hasil penyosohan abrasif selama 2 menit dengan efisiensi penyosohan 24%. Tepung sorgum yang dihasilkan kemudian dianalisis proksimat.

b. Analisis Proksimat (AOAC,1975),

Kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak dan karbohidrat *by different*.

c. Proses Ekstraksi Fraksionasi Protein

Tepung sorgum dihilangkan lemaknya dengan direndam dalam heksan 1 : 10 (w/v) selama 18 jam pada suhu ruang.

Kemudian tepung sorgum dikeringkan dalam desikator.

Protein dari sampel sebanyak 50 g tepung sorgum bebas lemak diekstrak dengan 350 mL natrium klorida (NaCl) 0,5 M menggunakan *stirrer* kecepatan 180 rpm. selama 120 menit pada suhu 4°C, kemudian bahan yang didapat di sentrifugasi dengan *refrigerated centrifuge* pada suhu 0°C pada 10.000 g (rpm/diameter rotor) selama 20 menit untuk mendapatkan endapan dan supernatannya. Endapan yang dihasilkan diekstrak kembali dengan reagen yang sama selama 120 menit pada suhu 4°C dan disentrifugasi dengan *refrigerated centrifuge* pada suhu 0°C selama 30 menit. Endapan yang dihasilkan diekstrak kembali dengan reagen yang sama selama 120 menit pada suhu 4°C dan disentrifugasi dengan *refrigerated centrifuge* pada suhu 0°C selama 60 menit. Supernatan dari 3 kali ekstraksi kemudian dikumpulkan dan merupakan bagian albumin dari sorgum galur Zh-30. Supernatan ini kemudian dianalisis kadar proteinnya dengan menggunakan metode Lowry.

Endapan yang berasal dari ekstraksi dengan NaCl tadi kemudian diekstrak kembali dengan pelarut alkohol, yaitu t-butanol. Endapan di ekstraksi dengan reagen 350 mL t-butanol 60% menggunakan *stirrer*

dengan kecepatan 180 rpm selama 120 menit pada suhu ruang. Hasil ekstraksi kemudian disentrifugasi dengan *refrigerated centrifuge* pada suhu 0°C pada 10.000 g selama 60 menit untuk mendapatkan endapan dan supernatan. Endapan yang didapat diekstrak kembali dengan reagen yang sama selama 60 menit dan disentrifugasi dengan *refrigerated centrifuge* pada suhu 0°C pada 10.000 g selama 60 menit. Supernatan dari 2 kali ekstraksi ini dikumpulkan dan diberi nama *t-butanol extract* (t-BE).

Endapan-endapan yang berasal dari ekstraksi dengan pelarut alkohol tadi (t-BE), kemudian diekstraksi kembali menggunakan *stirrer* dengan kecepatan 180 rpm dengan reagen t-butanol 60% yang mengandung 2% (w/v) SDS dalam 350 mL buffer Na-Phosphat 0,5 M pH 7 selama 120 menit pada suhu ruang. Endapan dan supernatan didapat dari sentrifugasi dengan *refrigerated centrifuge* pada suhu 0°C pada 10.000 g selama 20 menit. Endapan kemudian diekstraksi kembali dengan cara dan reagen yang sama selama 60 menit. Setelah disentrifugasi dengan *refrigerated centrifuge* pada suhu 0°C, endapan yang didapat didispersikan dengan 150 mL bufer Na-Phosphat untuk kemudian di sonikasi namun dalam penelitian ini diganti dengan “potter”.

Hasil “potter” di sentrifugasi kembali dengan *refrigerated centrifuge* pada suhu 0°C pada 10.000 g selama 20 menit, sehingga didapat endapan dan supernatan. Supernatan ini diberi nama *pottered extract* (PE)

Pottered extract kemudian dibuat aliquot dengan volume masing-masing aliquot sama banyak, masing-masing aliquot ditambahi t-butanol 60% dengan perbandingan (1:6) selama semalam pada suhu 4°C. Larutan dijernihkan dengan sentrifugasi menggunakan *refrigerated centrifuge* pada suhu 0°C pada 10.000 g selama 20 menit, supernatan yang didapat diberi nama t-BPE, sedangkan endapan yang didapat diekstraksi kembali dengan 350 mL t-butanol 60% yang mengandung 5% 2-merkaptotanol (v/v), kemudian di”potter” dan disentrifugasi kembali dengan *refrigerated centrifuge* suhu 0°C pada 10.000 g selama 20 menit. Supernatan yang dihasilkan diberi nama *residu extract* (RE).

Masing-masing t-BE, t-BPE dan RE kemudian diendapkan dengan menggunakan aseton dingin dengan perbandingan (1:9) (v/v) selama 10 menit pada suhu ruang, kemudian disentrifugasi dengan *refrigerated centrifuge* suhu 0°C pada 10.000 g selama 5 menit. Endapan yang dihasilkan kemudian dikeringkan dengan *freeze drier* untuk

kemudian dianalisis bobot molekulnya dengan SDS-PAGE.

2. Uji pembentukan jejaring protein oleh Glukosa Oksidase pada fraksi protein sorgum (Rasiah *et al.*, 2005)

Uji ini untuk mengetahui apakah glukosa-oksidadase secara aktif membentuk *cross-link* dengan fraksi protein sorgum. Fraksi protein sorgum hasil ekstraksi, diinkubasi dengan glukosa-oksidadase sebesar 2 U/mL pada suhu ruang selama 1 jam, kemudian campuran reaksi dianalisis dengan SDS-PAGE, jika jumlah Bovine Serum Albumin (BSA) dan fraksi protein sorgum membentuk komponen dengan bobot molekul yang besar, maka menunjukkan bahwa enzim ini dapat membentuk *cross-link* dan membentuk suatu jejaring protein mirip gluten.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fraksi Protein dan Kadar Protein Fraksi Protein Tepung Sorgum Galur Zh-30.

Hasil analisis proksimat tepung sorgum galur Zh-30 pada Tabel 1, menunjukkan bahwa tepung sorgum dari galur Zh-30 tersebut ternyata mengandung kadar protein dan lemak masing-masing 12,4% dan 5,5%.

Kadar protein dan lemak tepung sorgum Zh-30 tersebut lebih tinggi bila dibandingkan dengan kadar protein dan

lemak yang dilaporkan sebelumnya oleh Frederick (2009), yaitu 9,19 % dan 2,22 %. Menurut Singh, *et al.*, (2006), komposisi kimia tepung sorgum bervariasi tergantung dari kultivar dan iklim serta kondisi tanah selama pertumbuhan tanaman.

Tabel 1. Komposisi kimia tepung sorgum galur Zh-30

No	Komponen	Jumlah (% bb)
1	Kadar air (%)	14,75
2	Kadar abu (%)	0,30
3	Kadar protein (%)	12,40
4	Kadar lemak (%)	5,50
5	Karbohidrat	67,05

Protein sorgum terdiri atas 4 fraksi menurut kelarutan dalam berbagai pelarut yaitu albumin (protein larut air), globulin (protein larut dalam larutan garam), kafirin 1 (protein larut alkohol) dan glutelin (protein larut larutan alkali encer). Ekstraksi protein dengan metode Nour, *et al.*, (1998) dilakukan secara bertingkat dengan menggunakan larutan garam, larutan t-butanol 60%, bufer Na-fosfat pH 9 yang mengandung SDS 2% dan t-butanol 60% yang mengandung 5% β -merkaptotanol. Hasil ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Hasil pengendapan fraksi protein

Pelarut	Fraksi protein	Pengendapan (g)
Akuades	Albumin	1,08±0,13
NaCl 0,5M	Globulin	1,17±0,12
t-Butanol 60%	Kafirin 1	4,28±0,34
Bufer Na-fosfat pH 9 + SDS 2%	Glutelin	0,75±0,58
t-Butanol 60%+ 5% β-Merkaptoetanol	Kafirin 2 (<i>cross-linked</i> kafirin)	2,94±0,32

Tabel 3. Total dan kadar fraksi protein tepung sorgum galur Zh-30

Pelarut	Fraksi protein	Total protein (mg/g)	Kadar protein (%)
Akuades	Albumin	6,00 ±0,07	4,24
NaCl 0,5M	Globulin	18,14 ±0,17	12,81
t-Butanol 60%	Kafirin 1	51,00 ±0,07	36,01
Bufer Na-fosfat pH 9 + SDS 2%	Glutelin	31,36 ±0,04	22,15
t-Butanol 60%+ 5% β-Merkaptoetanol	Kafirin 2 (<i>cross-linked</i> kafirin)	35,11 ±0,11	

Pada Tabel 2 dan 3 dapat dilihat bahwa berdasarkan hasil pengendapan fraksi protein dengan aseton dingin dengan perbandingan 1:9, maka fraksi protein kafirin 1 merupakan komponen yang

terbanyak diikuti selanjutnya oleh fraksi kafirin 2, globulin, albumin dan glutelin. Rasio albumin : globulin : kafirin 1 : glutelin : kafirin 2 adalah rata-rata 11:11:42:7:29. Rasio tersebut lebih rendah dari rasio fraksi yang dilaporkan oleh Santosa dan Hoeman (2009) yaitu rasio albumin:globulin:prolamin:glutelin sorgum adalah 8:8:52:32.

Kadar fraksi-fraksi protein tepung sorgum galur Zh-30 pada Tabel 2 menunjukkan bahwa fraksi kafirin 1 merupakan penyusun utama protein tepung sorgum dengan persentasenya sekitar 36,01%, kafirin 2 atau *cross-linked* kafirin 24,79%; glutelin 22,15% ; globulin 12,81% dan albumin 4,24% dari total protein. Persentase kadar protein tepung sorgum galur Zh-30 ini sedikit berbeda dengan yang dilaporkan sebelumnya oleh FAO (1995) yang melaporkan kadar kafirin saja yang berkisar antara 27%-43,1%, glutelin 26,1%-39,6%, globulin 12,9%-16%, dan albumin 2%-9%. Perbedaan perbandingan kadar protein antar-fraksi ini dipengaruhi oleh kultivar yaitu faktor genetik serta faktor lingkungan dan kesuburan tanah (Kebakile, 2008)

Berat Molekul Fraksi Protein Tepung Sorgum Galur Zh-30

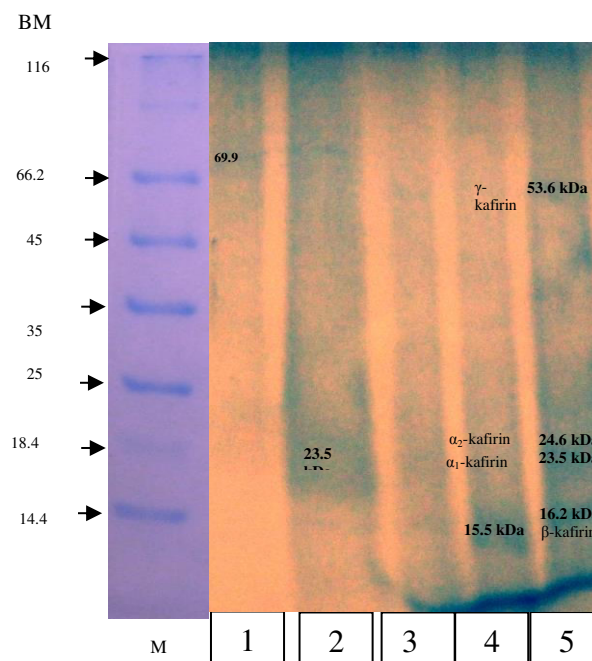
Pada penelitian ini digunakan tujuh protein standar yang telah diketahui berat molekulnya (BM), yaitu β -galactosidase, BSA, ovalbumin, lactate dehydrogenase, Rease Bsp981, β -lactoglobulin dan lisozim. BM masing-masing marker protein ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Jarak migrasi dari marker beserta nilai rf dan berat molekul dari masing-masing pita.

Jenis protein marker	Jarak marker (cm)	Rf mark er	BM marker (kDa)	Log BM
B-galactosidas	0,2	0,03	116	2,06
BSA	1,2	0,20	66,2	1,82
Ovalbumin	2,0	0,33	45	1,65
Lactate dehydrogenase	2,7	0,45	35	1,54
Rease Bsp981	3,5	0,58	25	1,40
B-lactoglobulin	4,0	0,67	18,4	1,26
Lysozyme	4,5	0,75	14,4	1,16

Elektroforesis menghasilkan pita-pita pola elektroforesis (Gambar 1.), sedangkan jarak migrasi pita fraksi protein tepung sorgum dapat dilihat pada Tabel 4. Dari kurva standar BM protein maka didapat BM masing-masing pita pada kafirin 1 adalah 22,4 kDa dan 23,5 kDa, kafirin 2 adalah 16,2 kDa, 23,5 kDa, 24,6 kDa dan 53,6 kDa sedangkan BM albumin, globulin

dan glutelin adalah 69,9 kDa, 121 kDa dan 15,5 kDa.



Keterangan :

M: Marker protein; 1: Albumin; 2: Kafirin 1
3: Globulin; 4: Glutelin; 5: Kafirin 2

Gambar 1. Pola SDS-PAGE fraksi protein tepung sorgum galur Zh-30

Tabel 4. Jarak migrasi pita fraksi protein tepung sorgum galur Zh-30

Fraksi Protein	Jarak Sampe l (cm)	Rf sampel	Log BM sampel (kDa)	BM sampel (kDa)
Albumin	1,2	0,20	1,84	69,9
Kafirin 1	3,5	0,58	1,37	23,5
	3,6	0,60	1,35	22,4
Globulin	0	0,00	2,08	121
Glutelin	4,4	0,73	1,19	15,5
Kafirin 2	1,7	0,28	1,73	53,6
	3,4	0,57	1,39	24,6
	3,5	0,58	1,37	23,5
	4,3	0,72	1,21	16,2

Hasil elektroforesis globulin tidak menghasilkan pita yang jelas, karena BM globulin mungkin terlalu besar sehingga tidak dapat masuk dalam gel. Rooney dan Saldivar (2000) menyatakan bahwa protein sorgum sebagian besar berupa kafirin (protein larut alkohol) dan glutelin. Glutelin merupakan fraksi protein kedua terbesar dari protein sorgum. Wall *et al.*, (1988) menyatakan bahwa glutelin merupakan fraksi protein dengan *low molecular weight* yaitu 10 kDa - 27 kDa.

Penggunaan bahan reduktan β -merkaptotanol dalam ekstraksi kafirin 2 untuk mengurangi ikatan disulfida sehingga kafirin 2 atau *cross-linked* kafirin dapat terekstrak dengan baik. Hal ini berdasarkan penelitian Shewry dan Halford, (2000) yang menyebutkan bahwa kafirin 2 lebih bersifat hidrofobik sehingga lebih baik jika diekstraksi dengan larutan alkohol yang mengandung bahan reduktan seperti ditiotritol atau β -merkaptotanol.

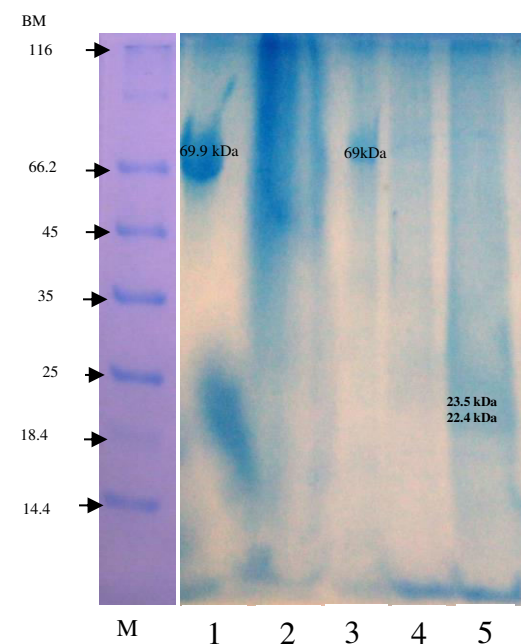
Berdasarkan data BM tersebut, maka terdapat tiga tipe kafirin pada protein tepung sorgum galur Zh-30 yaitu α -kafirin, β -kafirin dan γ -kafirin. Menurut Musigakun dan Thongngam (2007) menyebutkan bahwa α -kafirin mempunyai BM antara 20 kDa – 24 kDa, β -kafirin mempunyai BM antara 14 kDa – 19 kDa sedangkan γ -kafirin

mempunyai BM sekitar 36 kDa. Demikian juga Nour *et al.*, (1997) menyebutkan bahwa α -kafirin umumnya mempunyai 2 sub-unit polipeptida yang disebut sebagai α_1 -kafirin dan α_2 -kafirin dengan BM sekitar 24 kDa – 26,6 kDa, β -kafirin mempunyai BM sekitar 18 kDa sedangkan γ -kafirin mempunyai BM dari 29 kDa.

Hasil penelitian menunjukkan kafirin 1 (jalur 2, Gambar 1) menghasilkan 2 pita. Pita pertama merupakan α_1 -kafirin dengan BM 22,4 kDa dan pita kedua merupakan α_2 -kafirin 23,5 kDa. Kafirin 2 (Jalur 5, Gambar 1) menghasilkan 4 pita. Pita pertama merupakan β -kafirin dengan BM 16,2 kDa dan pita keempat merupakan γ -kafirin dengan BM 53,6 kDa. Pita kedua dan ketiga merupakan α_1 dan α_2 -kafirin dengan BM 23,5 kDa dan 24,6 kDa. Hasil ekstraksi ini tidak terlalu berbeda dengan yang dilaporkan sebelumnya oleh Nour *et al.*, (1997) dimana penggunaan bahan reduktan seperti β -merkaptotanol akan membuat β -kafirin dan γ -kafirin lebih banyak terekstrak sehingga akan membentuk pola pita elektroforesis yang lebih jelas dibandingkan jika hanya diekstraksi dengan 60% t-butanol. Hal ini juga mengindikasikan bahwa kafirin 2 merupakan polipeptida dengan ikatan intermolekul disulfida (-S-S).

Berat Molekul Jejaring Protein Hasil Reaksi Fraksi Protein Tepung Sorgum dengan Glukosa-Oksidase.

Dari analisis data ternyata diketahui bahwa berat molekul albumin, globulin dan glutelin adalah 69,9 kDa, 121 kDa dan 15,5 kDa. Hasil elektroforesis fraksi protein tepung sorgum yang diberi 2 U/ml glukosa-oksidadase dapat dilihat pada Gambar 2



Keterangan :

M : marker protein; (1) albumin + GOX; (2) kafirin 2 + GOX; (3) glutelin + GOX; (4) globulin + GOX; (5) kafirin 1 + GOX

Gambar 2. Hasil SDS-PAGE fraksi protein tepung sorgum galur Zh-30 dengan GOX

Dari pola pita elektroforesis ternyata pada albumin dan kafirin 2 (jalur 1 dan jalur 5, Gambar 2) tidak terdapat perubahan berat molekul, pada globulin dan kafirin 2 (jalur 2 dan 4, Gambar 2) tidak terdapat pola pita

elektroforesis, namun pada glutelin (jalur 3, Gambar 2) ada pola pita elektroforesis yang menunjukkan kenaikan berat molekul yang cukup besar yaitu dari 15,5 kDa menjadi sekitar 69 kDa. Hal ini mengindikasikan bahwa glutelin menjadi substrat bagi glukosa-oksidadase, sehingga reaksi ikatan silang dapat terbentuk, namun menurut Rasiah *et al.*, (2009) pembentukan ikatan silang pada fraksi glutelin tidak diketahui dengan pasti.

KESIMPULAN

Protein tepung sorgum galur Zh-30 terdiri dari 5 golongan protein yaitu albumin, globulin, kafirin 1, glutelin dan kafirin 2 dengan rasio 11:11:42:7:29

Kadar protein kafirin 1 36,01%, kafirin 2 atau *cross-linked* kafirin 24,79%; glutelin 22,15% ; globulin 12,81% dan albumin 4,24% dari total protein.

Berat molekul fraksi-fraksi protein tepung sorgum galur Zh-30 adalah BM albumin 69,9 kDa; kafirin 1 yang terbagi menjadi α_1 -kafirin 22,4 kDa dan α_2 -kafirin 23,5kDa; globulin 121 kDa; glutelin 15,5 kDa dan kafirin 2 yang terbagi menjadi α_1 -kafirin 16,2 kDa, α_2 -kafirin 23,5 kDa, β -kafirin 24,6 kDa dan γ -kafirin 53,6 kDa.

Terbentuk jejaring protein akibat aktivitas glukosa-oksidadase dengan fraksi glutelin sorgum (berat molekul 69 kDa dari 15,5 kDa).

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 1975. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. AOAC Inc., Washington, Washington, D.C
- Bugusu, B. A., Campanella, O and Hamaker, B. R. 2001. Improvement of sorghum-wheat composite dough rheological properties and breadmaking quality through zein addition. J. Cereal Chemistry 78 (1):31-35.
- FAO. 1995. Sorghum and Millet in Human Nutrition. Available at: <http://www.fao.org> (diakses 7 Agustus 2016).
- Frederick, E.J. 2009. Effect of sorghum flour composition and particle size on quality of gluten - free bread. Manhattan, Kansas: Kansas State University, Master of Science. Thesis.
- Goesaert, H., Brijs, K., Veraverbeke, W.S., Courtin, C.M., Gebruers, K and Delcour, J.A. 2005. Wheat flour constituents : How they impact bread quality and how to impact their functionality. Trends In Food Science and Technology 16:12-30.
- Joye, I. J., Lagrain, B and Delcour, J. A. 2009. Use of chemical redox agents and exogenous enzymes to modify the protein network during breadmaking-a-review. J. Cereal Science 50:11-21.
- Kebakile, M. M. 2008. Sorghum dry milling processes and their influence on meal and porridge quality. Pretoria, Republic of South Africa : Finally report : Department of Food Science, Faculty of Natural and Agriculture Science, University of Pretoria.
- Mudjisihono dan Suprpto, H. S. 1987. Budidaya dan pengolahan sorgum. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Musigakun, P. dan Thongngam, M. 2007. Characteristics and functional properties of sorghum protein (kafirin). J. Kasetsart 41: 313-318.
- Nour, I. N. A., Peruffo, El. A. D. B and Curioni, A. 1998. Characterisation of sorghum kafirins in relation to their cross-linking behaviour. J. Cereal Science 28:197-207.
- Oria, M.P., Hamaker, B. R., Axtell, J. D., and Huang, C. P. 2000. A highly digestible sorghum mutant cultivar exhibits a unique folded structure of endosperm protein bodies. Department of Food Science Purdue University, West Lafayette, IN 47907-1160. Available at www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.080076297 (diakses Januari 2010).
- Rasiah, I. A., Sutton, K. H., Low, F. L., Lin, H.M and Gerrard, J.A. 2005. Crosslinking of wheat dough proteins by glucose oxidase and the resulting effects on bread and croissants. J. Food Chemistry 89:325-332.
- Renzetti, S., Behr, J., Vogel, R. F and Arendt, E. K. 2008. Transglutaminase polymerization of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) protein. J. Cereal Science 48:747-754.

-
- Rooney, L. W. and Saldivar, S. 2000. Sorghum. Dalam Handbook of Cereal science and technology. Kulp, K. and J. G. Ponte (editor). New York: Marcel Dekker, Inc.
- Santosa, D. D. S. and Hoeman S. 2009. Modified starch of sorghum mutant line Zh-30 for high fiber muffin products. J. Atom Indonesia 35 (1):1-9.
- Sewry, P. R. and Halford, N. G. 2000. The prolamine storage proteins of sorghum and millets. Bristol UK: Long Ashton Reseach Pub.
- Shull, J. M., Watterson, J. J. and Kirleis, A.W. 1991. Proposed nomenclature for the alcohol-soluble protein (kafirins) of *Sorghum bicolor* (L.) *Moench* based on molecular weight, solubility and structure. J. Agriculture Food Chemistry 39: 83-87.
- Singh, N., Kaur, L and Singh, S. K. 2006. Relationships between physical. morphological, thermal, rheological properties of rice starches. Food Hydrocolloids 20:532-542.
- Suarni. 2004. Pemanfaatan tepung sorgum untuk produk olahan. J. Litbang Pertanian 23(4):145-151.
- Sultan, W. J. 1986. Practical Baking. New York: Van Nostrand Reinhold Pub.
- Wall, J.S., Cooker, L. A and Bietz, J. A. 1988. Structure and origin of maize endosperm alkohol-insoluble glutelin. J. Agriculture and Food Chemistry 36(4):722-728.

KAJIAN PUSTAKA : PEMANFAATAN MIKROBA YANG BERPOTENSI SEBAGAI AGEN BIOREMEDIASI LIMBAH PEWARNA TEKSTIL

*[A REVIEW : UTILIZATION OF POTENTIAL MICROBES AS BIOREMEDIATION
AGENT FOR TEXTILE DYES WASTEWATER]*

Valerie¹, Joan C. Wijaya¹, dan Reinhard Pinontoan^{1*}

¹Jurusan Biologi, Universitas Pelita Harapan

Jln. Thamrin Boulevard 0-0, Lippo Karawaci, Tangerang 15811

*Korespondensi : reinhard.pinontoan@uph.edu

ABSTRACT

The rapid expansion of textile industry in Indonesia raises substantial concerns with regard to the disposal of excess dyes into the environment. The deleterious consequences of such issue can be alleviated through wastewater management by combining physical, chemical and biological approach. Biological treatment through bioremediation needs to be thoroughly considered and developed as it offers favorable attributes by being sustainable, inexpensive and environmentally friendly. In Indonesia, the employment of bioremediation technique, to treat textile dye effluent, has been extensively applied through the use of activated sludge. Apparently, studies describing the potential of various indigenous microorganisms to degrade textile dyes have continuously been reported. This paper proposed practical methods to isolate and select for potential indigenous microbes as well as their employment as bioremediation agent on dye contamination. Selections can be enhanced through the incorporation of bioinformatics analysis on the approach of microbiology. Appropriate systems are required to be carefully designed to optimized application on-site.

Keywords: *bioinformatic approaches; bioremediation; microbe; microbiological approach textile dye wastewater*

ABSTRAK

Perkembangan industri tekstil yang pesat di Indonesia menimbulkan masalah terkait pembuangan limbah pewarna tekstil ke badan air. Pencemaran limbah pewarna tekstil tersebut dapat ditanggulangi dengan penerapan kombinasi metode pengolahan limbah secara fisik, kimiawi dan biologi. Metode secara biologis dengan bioremediasi memiliki prospek yang menjanjikan sehingga perlu dikembangkan karena sifatnya yang berkelanjutan, ramah lingkungan dan ekonomis. Di Indonesia, metode bioremediasi untuk pengolahan limbah pewarna tekstil sudah diterapkan dengan menggunakan sistem lumpur aktif. Hasil penelitian melaporkan bahwa berbagai jenis mikroba indigenous memiliki potensi dalam mendegradasi pewarna tekstil. Makalah ini membahas metode seleksi mikroba yang berpotensi menjadi agen bioremediasi. Seleksi tersebut dapat dilakukan melalui pendekatan secara mikrobiologis maupun secara bioinformatik. Dalam penerapannya di lapangan, sistem yang sesuai juga perlu dikembangkan agar proses bioremediasi dapat menunjukkan hasil yang maksimal.

Kata kunci: bioremediasi; limbah pewarna tekstil; mikroba; pendekatan bioinformatik; pendekatan mikrobiologis

PENDAHULUAN

Industri tekstil merupakan salah satu sektor industri terbesar di Indonesia. Namun demikian, industri yang berkontribusi besar terhadap perekonomian dan kesejahteraan rakyat ini berpotensi merusak lingkungan dan kesehatan karena menghasilkan limbah yang sulit terdegradasi secara alami serta mengandung komponen yang berbahaya dan beracun bagi makhluk hidup (Ogugbue and Sawidis, 2011; Ratna and Padhi, 2012).

Limbah cair dari industri tekstil yang dibuang ke badan-badan air tanpa pengolahan yang memadai dapat menimbulkan berbagai efek negatif, seperti mengganggu transparansi air, mengganggu proses fotosintesis yang berujung pada defisiensi oksigen, meningkatkan *Biological Oxygen Demand* (BOD) dan *Chemical Oxygen Demand* (COD), mengakibatkan masyarakat kekurangan sumber air bersih, menyebabkan tumor ataupun kematian pada organisme akuatik, serta mengakibatkan iritasi, keracunan, mutasi dan kanker pada manusia yang menggunakan air dari sumber-sumber yang tercemar (Ogugbue and Sawidis, 2011; Ratna and Padhi, 2012).

Berbagai metode dekolorisasi dan degradasi pewarna tekstil baik secara fisik maupun kimiawi sudah diterapkan dan dikembangkan dalam sistem pengolahan

limbah untuk mengeliminasi dampak negatif pewarna tekstil. Namun demikian, berbagai faktor mulai dari keefektifan, keekonomisan, maupun dampak penerapan metode tersebut terhadap lingkungan, masih memerlukan perhatian khusus dan perbaikan (Gül, 2013; Hadibarata *et al.*, 2013). Oleh sebab itu, pendekatan secara biologis dengan menggunakan mikroorganisme sebagai agen bioremediasi menjadi solusi yang menjanjikan karena sifatnya yang berkelanjutan, ramah lingkungan dan ekonomis. Untuk menggunakan metode bioremediasi tersebut perlu dilakukan seleksi terhadap kandidat mikroorganisme yang berpotensi menjadi agen bioremediasi. Seleksi tersebut dapat dilakukan melalui pendekatan secara mikrobiologis maupun secara bioinformatik. Dalam penerapannya di lapangan, sistem yang sesuai juga perlu dikembangkan agar metode bioremediasi dapat menunjukkan hasil yang maksimal (Bayoumi *et al.*, 2014; Lade *et al.*, 2015).

Metode bioremediasi dapat diterapkan untuk mendekolorisasi limbah pewarna tekstil dengan memanfaatkan berbagai mikroba *endogenous*. Bagaimanapun juga, Indonesia yang kaya akan keanekaragaman hayati masih belum banyak mengeksplor dan memanfaatkan mikrobanya untuk mendekolorisasi dan mendegradasi limbah

pewarna tekstil. Meskipun pendekatan penyeleksian kandidat mikroorganisme dapat diterapkan di Indonesia, namun belum ada tulisan yang sistematis mengenai hal tersebut. Oleh karenanya, tulisan ini membahas metode seleksi mikroba yang memiliki potensi untuk mendegradasi limbah pewarna tekstil dengan pendekatan mikrobiologis dan bioinformatik, serta usaha pemanfaatan mikroba potensial di lapangan untuk mendegradasi limbah pewarna tekstil.

PEWARNA DALAM INDUSTRI TEKSTIL

Pewarna merupakan senyawa alami dan sintetis yang memiliki warna dan dapat berikatan dengan substratnya (Carmen and Daniela, 2012). Secara umum, pewarna dapat dibagi menjadi pewarna alami dan pewarna sintetis. Pewarna alami berasal dari tumbuhan dan hewan, seperti tarum (*Indigofera tinctoria*) yang menghasilkan warna biru indigo, kuma-kuma (safron/ *Crocus sativus*) yang menghasilkan warna kuning, siput laut yang menghasilkan warna ungu dan serangga Kermes yang menghasilkan warna merah. Pewarna sintetis adalah pewarna buatan yang berasal dari sumber sintetis seperti produk sekunder petroleum dan mineral bumi. Saat ini, pewarna alami sudah sangat jarang digunakan dibandingkan dengan pewarna sintetis karena memerlukan bahan baku dalam

jumlah yang besar, harga yang lebih mahal serta menghasilkan warna yang kurang tajam (Purwar, 2016).

Berdasarkan metode aplikasinya, pewarna sintetis dapat dikelompokkan menjadi pewarna asidik, pewarna alkalin, pewarna langsung, pewarna *disperse*, pewarna *mordant*, pewarna reaktif, pewarna sulfur, pewarna vat dan pewarna azo yang tidak larut (Carmen and Daniela, 2012). Meskipun mampu menghasilkan warna dengan kualitas yang baik, pewarna-pewarna sintetis tersebut memiliki efek samping yang berbahaya terhadap hewan air maupun manusia.

Saat ini sekitar 10.000 jenis pewarna tersedia secara komersial dan sekitar 800.000 ton pewarna sintetis diproduksi setiap tahunnya untuk memenuhi kebutuhan industri tekstil di seluruh dunia. Namun, akibat proses pewarnaan yang tidak efektif, sekitar 10 - 15 % pewarna terbuang ke lingkungan menghasilkan limbah yang berbahaya bagi lingkungan dan kesehatan makhluk hidup (Chequer *et al.*, 2013). Dengan demikian, metode pengolahan limbah pewarna tekstil yang efektif perlu segera dikembangkan dan diterapkan.

METODE-METODE PENGOLAHAN LIMBAH PEWARNA TEKSTIL

Sebelum metode pengolahan limbah berbasis mikroba mulai dikembangkan,

limbah pewarna tekstil umumnya diolah secara fisik dan kimiawi. Metode dekolorisasi secara fisik meliputi adsorpsi (menggunakan karbon aktif, gambut, kayu, batu bara atau silika), proses filtrasi membran, kromatografi penukar ion, dan *reverse osmosis*. Metode lain berupa *biosorption* (penyerapan pewarna dengan adsorben alami) dengan memanfaatkan limbah pertanian seperti sekam padi, ampas tebu, kayu pinus atau tongkol jagung serta koagulasi (penggumpalan) juga banyak diterapkan dalam pengolahan limbah pewarna tekstil. Namun demikian, metode dekolorisasi secara fisik tersebut masih kurang efektif karena menghasilkan produk samping berupa lumpur yang berlebihan dan masih mengandung berbagai zat yang berbahaya bagi lingkungan. Metode ini juga hanya efektif untuk volume limbah yang relatif kecil (Ratna and Padhi, 2012).

Secara kimiawi, dekolorisasi juga dapat dilakukan dengan menggunakan metode oksidasi dengan agen pengoksidasi seperti reagen Fenton, ozon, natrium hipoklorit, ataupun metode fotokimia dan degradasi elektrokimia. Ozonisasi secara luas telah banyak digunakan untuk remediasi karena ozon terbukti mampu memotong ikatan ganda konjugasi pada kromofor pewarna yang menyebabkan pewarna terdegradasi, namun ozonisasi diketahui dapat membentuk produk

samping yang beracun. *Titanium dioxide* (TiO_2) yang diimobilisasi juga banyak diterapkan untuk mendegradasi pewarna. Oksidasi fotokatalitik pada TiO_2 yang diimobilisasi bersama dengan iradiasi matahari yang dilanjutkan dengan elektroklorinasi diketahui berhasil mendekolorisasi pewarna dan mengurangi tingkat toksisitas produk akhir. Namun demikian, metode dekolorisasi secara kimiawi membutuhkan biaya operasional yang tinggi (Ratna and Padhi, 2012).

METODE DEKOLORISASI SECARA BIOLOGIS: MIKROBA *ENDOGENOUS* SEBAGAI AGEN BIOREMEDIASI

Bioremediasi adalah penggunaan sistem biologi untuk mengurangi polusi udara, air atau sistem terestrial. Pemanfaatan mikroorganisme sebagai agen bioremediasi memiliki prospek yang menjanjikan karena mikroorganisme diketahui dapat memecah molekul polutan melalui jalur metabolisme yang biasanya digunakan organisme untuk pasokan energi dan pertumbuhan-nya (Marimuthu *et al.*, 2013).

Bioremediasi dapat dilakukan dengan melibatkan proses degradasi secara aerobik dan anaerobik oleh mikroorganisme. Pengolahan limbah pewarna tekstil secara anaerobik akan menghasilkan pemotongan reduktif ikatan senyawa pewarna, sedangkan pengolahan secara aerobik akan mendegradasi

produk yang terbentuk pada langkah pertama dan menghasilkan produk akhir yang tidak berbahaya lagi (Ratna and Padhi, 2012).

Sebagai contoh, dalam pengolahan limbah berbasis mikroba yang mengandung pewarna tekstil jenis azo, mekanisme degradasi yang banyak digunakan melibatkan pemotongan ikatan azo ($-N=N-$) dengan bantuan enzim *azoreductase* dalam kondisi anaerob. Pemotongan ikatan azo tersebut berlangsung dalam dua tahap. Dalam setiap tahap, dua elektron akan ditransfer ke pewarna azo yang bertindak sebagai akseptor elektron terakhir sehingga pewarna terdekolorisasi. Metabolit yang dihasilkan, misalnya berupa amina aromatik, selanjutnya akan didegradasi lebih lanjut baik secara aerobik maupun anaerobik (Shah, 2014).

Salah satu karakteristik khas yang terdapat pada mikroorganisme yang mampu mendekolorisasi pewarna tekstil adalah kemampuan mikroorganisme tersebut untuk mensekresikan enzim-enzim seperti *azoreductase*, *laccase* atau *peroxidase*. Enzim-enzim tersebut diketahui dapat mendegradasi struktur kimia pewarna tekstil dan menghasilkan produk yang tidak berwarna, lebih tidak beracun dan aman untuk dibuang ke badan-badan air dengan berbagai

mekanisme, tergantung pada struktur kimia dari masing-masing pewarna (Sudha *et al.*, 2014).

Wang *et al.* (2012) melaporkan bahwa degradasi *Malachite Green* (MG), yang tergolong dalam jenis pewarna alkalin, oleh enzim *laccase* terjadi dengan melibatkan beberapa tahapan, yaitu demetilasi N, reduksi, penghilangan cincin benzena, dan oksidasi. Reaksi demetilasi N mengubah MG menjadi *desmethyl* MG dan *leuco malachite green* (LMG) menjadi *desmethyl*-LMG. Reaksi reduksi mengubah MG menjadi LMG, sedangkan penghilangan cincin benzena menyebabkan terjadinya pembelahan *desmethyl*-LMG menjadi (*4-dimethylamino-phenyl*)-*phenyl-methanone* dan benzena, yang juga melibatkan reaksi oksidasi dan pemecahan ikatan C-C. Senyawa *3-dimethylamino-phenol* dan benzaldehida kemudian muncul sebagai hasil pemotongan ikatan C-C tersebut, sedangkan senyawa *N,N-dimethylaniline* terbentuk akibat reaksi penghilangan gugus hidroksil. Berbagai jenis mikroorganisme mulai dari bakteri baik Gram negatif maupun Gram positif serta jamur dilaporkan mampu mendegradasi pewarna tekstil seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi pewarna berdasarkan metode aplikasi

Jenis Pewarna	Contoh Pewarna	Efek Samping	Mikroba Pendekolorisasi Pewarna Tekstil
Pewarna Asidik	<i>Nigrosine, Acid Orange II</i> ^[9]	Iritasi kulit dan mata, karsinogenik ^[13]	<i>Aeromonas hydrophila, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus cereus, Staphylococcus hominis</i> ^{[3], [14], [18]}
Pewarna Azo	<i>Reactive Black 5, Congo Red</i> ^[9]	Alergi, mutagenik, karsinogenik, teratogenik ^[8]	<i>Aeromonas hydrophila, Bacillus amyloliquefaciens</i> ^{[5], [22]}
Pewarna Alkaline	<i>Malachite Green, Methylene Blue</i> ^[9]	Iritasi kulit dan mata, keracunan, mutagenik, karsinogenik ^[2]	<i>Bacillus thuringiensis, Achromobacter xylosoxidans</i> ^{[16], [21]}
Pewarna Reaktif	<i>Reactive Yellow 4, Reactive Violet 2</i> ^[9]	Reaksi alergi, iritasi kulit, membran mukus dan saluran pernapasan ^[10]	<i>Bacillus subtilis, Leptosphaerulina sp., Serratia marcescens, Penicillium simplicissimum</i> ^{[4], [11], [17], [20]}
Pewarna Sulfur	<i>Sulphur Black 1, Sulphur Orange 1</i> ^[9]	Menyebabkan iritasi dan toksik bagi hewan perairan ^[23]	-
Pewarna Langsung	<i>Direct Red 23, Direct Yellow 12</i> ^[9]	Iritasi kulit, karsinogenik ^[13]	<i>Aspergillus oryzae</i> ^[7]
Pewarna Disperse	<i>Disperse Blue 60, Disperse Red 60</i> ^[9]	Iritasi kulit, keracunan, mutagenik, karsinogenik ^[6]	-
Pewarna Mordant	<i>Mordant Yellow 1, Mordant Black 1</i> ^{[9], [15]}	Mutagenik ^[19]	-
Pewarna Vat	<i>Vat Black 8, Vat Brown 1</i> ^[9]	Menyebabkan iritasi dan toksik bagi hewan perairan ^[12]	<i>Bacillus macerans, Staphylococcus aureus</i> ^[1]

Sumber: 1. Adebajo *et al.* (2017); 2. Arabi and Sohrabi (2014); 3. Bayoumi *et al.* (2014); 4. Bergsten-Torralba *et al.* (2009); 5. Bouraie and El Din (2016); 6. Carneiro *et al.* (2010); 7. Corso *et al.* (2012); 8. Gudelj *et al.* (2011); 9. Hunger (2003); 10. Kaisa *et al.* (2007); 11. Kamat and Kamat (2015); 12. Kant (2012); 13. Lacasse and Baumann (2004); 14. Ogugbue and Sawidis (2011); 15. Olaganathan and Patterson (2013); 16. Olukanni *et al.* (2013); 17. Placido *et al.* (2016); 18. Singh *et al.* (2014); 19. Slater (2003); 20. Velmurugan and Ravikumar (2014); 21. Wang *et al.* (2011); 22. Wang *et al.* (2013); 23. Zouhaier *et al.* (2014).

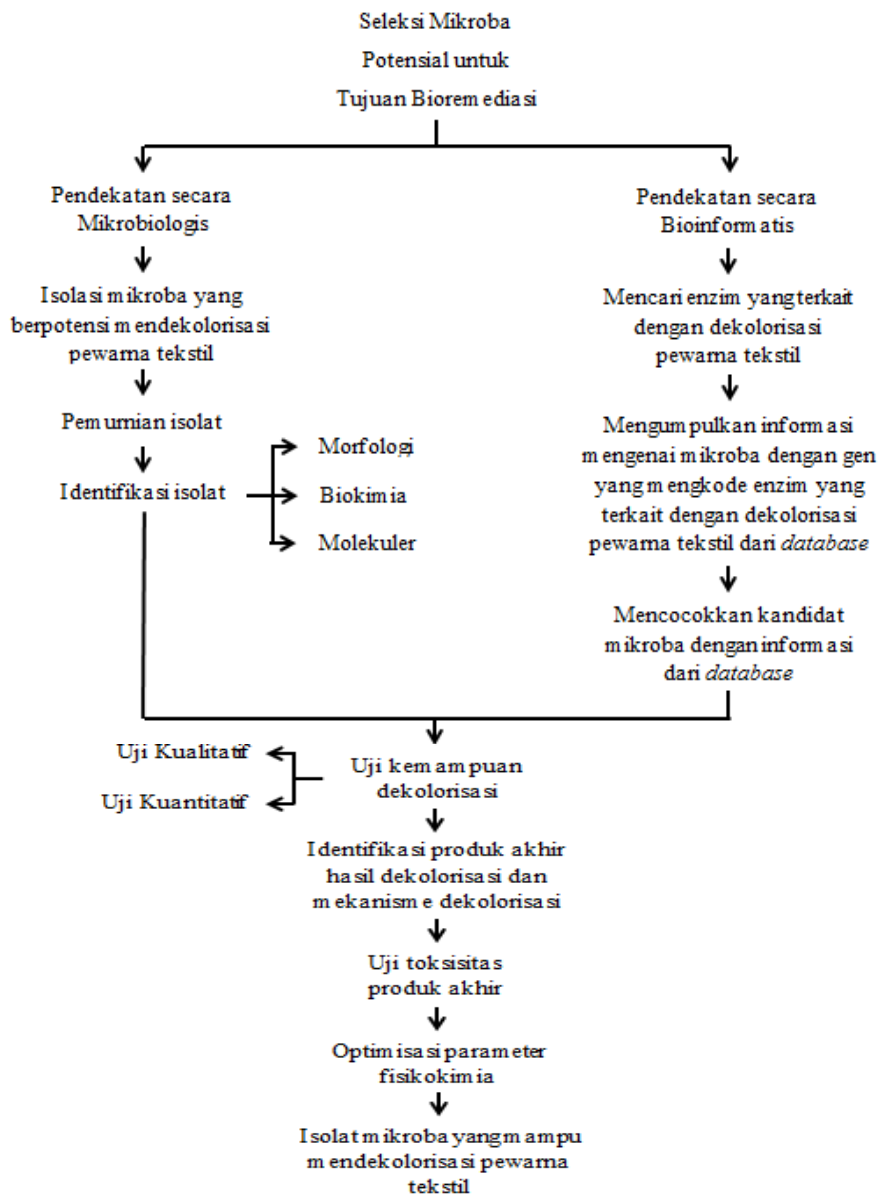
SELEKSI MIKROBA POTENSIAL UNTUK TUJUAN BIOREMEDIASI

Langkah awal dalam proses bioremediasi limbah tekstil berbasis mikroba adalah menyeleksi mikroba yang mampu

mendekolorisasi pewarna tekstil secara efektif dan efisien. Proses seleksi mikroorganisme potensial untuk tujuan bioremediasi ini dapat dilakukan melalui dua pendekatan, yaitu pendekatan secara mikrobiologis di

laboratorium dan pendekatan dengan analisa bioinformatik, yang memadukan antara analisis *database* gen/protein dengan

eksperimen di laborato-rium. Diagram alur kedua jenis pendekatan tersebut dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Proses seleksi mikroba sebagai agen bioremediasi dengan pendekatan mikrobiologis dan bioinformatik

Pendekatan Mikrobiologis

Pendekatan secara mikrobiologis dilakukan dengan berbagai tahapan, mulai dari isolasi dan seleksi mikroorganisme

potensial yang diperoleh dari sampel di lapangan hingga uji toksisitas produk akhir yang dihasilkan terhadap makhluk hidup. Sampel yang digunakan dapat diambil dari

berbagai sumber, dengan sumber yang paling umum berupa air atau tanah dari tempat yang tercemar oleh limbah pewarna tekstil. Sampel yang diperoleh selanjutnya diinokulasikan pada media seleksi padat yang sudah ditambah dengan pewarna tekstil yang akan diuji. Koloni mikroba yang mampu menghasilkan zona bening di sekitar wilayah tumbuhnya selama waktu inkubasi kemudian dimurnikan sebagai kandidat potensial untuk diidentifikasi lebih lanjut (Bayoumi *et al.*, 2014).

Identifikasi terhadap isolat mikroorganisme potensial dilakukan melalui karakterisasi morfologi sel dan koloni, karakterisasi aktivitas biokimia, serta identifikasi molekuler isolate (Bayoumi *et al.*, 2014; Shah *et al.*, 2013). Isolat mikroorganisme yang sudah diidentifikasi, kemudian diuji kemampuan dekolorisasinya pada media tumbuh padat dan media tumbuh cair untuk mengevaluasi isolat mikroorganisme dengan kemampuan dekolorisasi yang terbaik. Uji kemampuan dekolorisasi secara kualitatif dapat dilakukan dengan mengamati pembentukan zona bening pada media tumbuh padat dan perubahan warna media tumbuh pada media tumbuh cair. Uji kuantitatif dilakukan dengan mengukur diameter zona bening pada media tumbuh padat dan menghitung persentase dekolorisasi

pewarna pada media tumbuh cair dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Bayoumi *et al.*, 2014; Rani *et al.*, 2014; Shah *et al.*, 2013).

Identifikasi produk akhir dari proses degradasi dan dekolorisasi pewarna tekstil dapat dianalisis dengan berbagai metode, mulai dari metode kromatografi seperti *Thin Layer Chromatography* (TLC) hingga metode spektrometri seperti spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. Hasil yang diperoleh dari metode-metode tersebut lalu dibandingkan dengan referensi yang ada sehingga produk akhir yang terbentuk dari proses degradasi dan dekolorisasi pewarna tekstil tersebut dapat diidentifikasi. Informasi mengenai produk akhir yang terbentuk tersebut bermanfaat untuk memperkirakan mekanisme yang digunakan oleh isolat mikroorganisme dalam mendegradasi dan mendekolorisasi pewarna tekstil yang diuji (Lal and Srivastava, 2011; Olukanni *et al.*, 2013; Wanyonyi *et al.*, 2014).

Uji toksisitas selanjutnya juga dapat dilakukan pada larutan pewarna yang sudah terdegradasi. Hal ini penting untuk dilakukan agar saat mikroorganisme potensial diaplikasikan untuk mendegradasi limbah cair pewarna tekstil di lapangan, hasil degradasinya dapat dinyatakan benar-benar aman untuk dibuang ke lingkungan. Uji toksisitas yang umum dilakukan adalah uji

toksisitas larutan pewarna hasil degradasi pada perkecambahan biji dan pertumbuhan tanaman, pertumbuhan mikroorganisme dan pada tingkat kematian *brine shrimp* (*Artemia salina*) (Junior *et al.*, 2015; Rani *et al.*, 2014; Sneha *et al.*, 2014).

Terakhir, optimisasi parameter fisiko-kimia pada mikroorganisme potensial yang sudah didapatkan juga perlu dilakukan. Dengan mengetahui kondisi optimal untuk pertumbuhan mikroorganisme, diharapkan mikroorganisme tersebut dapat mendegradasi limbah cair pewarna tekstil secara optimal. Parameter fisikokimia yang perlu diperhatikan antara lain suhu, pH, konsentrasi pewarna, jumlah inokulum, kondisi statis atau teragitasi, waktu inkubasi, sumber karbon/nitrogen (Bayoumi *et al.*, 2014; Shah, 2014; Sneha *et al.*, 2014).

Pendekatan Bioinformatik

Pencarian kandidat mikroorganisme potensial untuk mendekolorisasi pewarna tekstil juga dapat dilakukan dengan pendekatan bioinformatik. Pendekatan secara bioinformatik dilakukan dengan mengumpulkan informasi dari *database* stok kultur dan *gene bank* untuk menganalisis mikroorganisme yang memiliki gen yang mengkode enzim-enzim yang terkait dengan dekolorisasi pewarna tekstil, seperti enzim *laccase*, *azoreductase* dan *peroxidase*.

Kandidat mikroorganisme yang berpotensi untuk mendekolorisasi pewarna tekstil diuji secara kualitatif dan kuantitatif di laboratorium dalam media tumbuh padat dan media tumbuh cair untuk memverifikasi kemampuan kandidat mikroorganisme yang diketahui memiliki gen yang mengkode enzim pendekolorisasi pewarna tekstil tersebut (Ausec *et al.*, 2011; Rani *et al.*, 2014). Selanjutnya, serangkaian uji laboratorium seperti yang dilakukan dalam pendekatan secara mikrobiologis, seperti identifikasi produk akhir yang terbentuk, analisis kemungkinan mekanisme dekolorisasi, uji toksisitas produk akhir dan optimisasi parameter fisikokimia juga tetap perlu dilakukan untuk mengkonfirmasi dan mengukur kemampuan dekolorisasi kandidat mikroorganisme tersebut secara nyata.

PEMANFAATAN MIKROBA POTENSIAL DI LAPANGAN UNTUK DEKOLORISASI PEWARNA TEKSTIL

Mikroorganisme yang sudah diketahui mampu mendekolorisasi pewarna tekstil kemudian dapat dimanfaatkan lebih lanjut di lapangan. Mikroorganisme potensial yang diperoleh dapat digunakan sebagai kultur awal (*starter culture*) dalam berbagai jenis metode pengolahan limbah cair di lapangan. Dalam mengolah limbah cair pewarna tekstil di lapangan, mikroorganisme potensial dapat

digunakan dalam bentuk mikroba tunggal maupun konsorsium (kumpulan berbagai jenis mikroba) (Karthikeyan and Sahu, 2014; Lade *et al.*, 2015).

Sistem pengolahan limbah cair pewarna tekstil secara biologis yang diketahui telah berhasil diterapkan adalah *Rotating Biological Contactor* (RBC). Karthikeyan dan Sahu (2014) menggunakan sistem RBC dengan jamur *Phanerochaete chrysosporium* yang diimobilisasi pada *polyurethane foam disks* untuk mendekolorisasi pewarna tekstil. Penelitian Karthikeyan and Sahu (2014) tersebut menunjukkan hasil dekolorisasi pewarna tekstil yang memuaskan sehingga sistem ini ke depannya dinilai berpotensi digunakan untuk mengolah limbah cair pewarna tekstil pada skala besar di sektor industri.

Lade *et al.* (2015) juga melaporkan penggunaan konsorsium mikroorganisme seperti kombinasi bakteri Gram negatif *Providencia rettgeri* strain HSL1 dan *Pseudomonas* sp. SUK1 sebagai kultur awal untuk mendegradasi limbah cair pewarna tekstil pada kondisi mikroaerofilik yang dilanjutkan dengan inkubasi pada kondisi aerobik. Penelitian Lade *et al.* (2015) menggunakan konsorsium mikroorganisme tersebut diketahui mampu mendegradasi

limbah cair pewarna tekstil dengan hasil yang memuaskan.

PEMBAHASAN

Menurut Kementerian Perindustrian RI, industri tekstil merupakan salah satu penyumbang devisa ekspor tertinggi. Pada tahun 2010, industri tekstil menyumbang sekitar 8,9% terhadap total ekspor Indonesia. Indonesia juga merupakan eksportir tekstil terbesar ke-11 pada tahun 2011 (Greenpeace, 2013). Di Indonesia, industri tekstil terpusat di Pulau Jawa dengan persentase sebesar 90% dengan 55% industri tekstil tersebut terpusat di Provinsi Jawa Barat (Better Work Indonesia, 2012). Namun demikian, industri tekstil di Indonesia tersebut dalam perjalanannya menimbulkan banyak masalah. Masalah paling umum yang ditimbulkan dari menjamurnya industri tekstil di Indonesia adalah masalah pembuangan limbah cair industri tekstil ke badan-badan air tanpa pengolahan yang memadai. Limbah cair industri tekstil tersebut mengandung berbagai komponen yang berbahaya baik bagi lingkungan maupun bagi manusia yang memanfaatkan badan-badan air di sekitar industri tekstil (Greenpeace, 2013).

Kasus pembuangan limbah cair industri tekstil ke badan-badan air di Indonesia dilaporkan banyak terjadi di Jawa Barat, yaitu di Sungai Citarum, Sungai Citarik, Sungai

Cikijing, Sungai Cicalengka, Sungai Cimande, dan Sungai Cisunggalah (Greenpeace, 2013). Pencemaran limbah cair industri tekstil di keenam sungai tersebut membawa berbagai dampak negatif, seperti perubahan warna air akibat limbah pewarna tekstil, mengganggu ekosistem sungai, menimbulkan kerugian finansial bagi masyarakat sekitar sungai, sampai terakumulasinya logam-logam berat di sedimen sungai (Birry dan Meutia, 2012; Febriani, 2012; Greenpeace, 2013).

Metode bioremediasi memiliki prospek yang cukup menjanjikan untuk diterapkan di berbagai wilayah di Indonesia karena sifatnya yang ramah lingkungan (proses produksinya tidak membutuhkan reagen kimia yang bersifat toksik dan dapat mengeliminasi produk akhir yang bersifat toksik), berkelanjutan (mikroorganisme dapat terus diperbanyak dengan metode yang relatif

sederhana) dan ekonomis (proses pemeliharaan mikroba dapat dilakukan dengan media alami berbasis limbah agrikultur sehingga dapat menekan biaya produksi). Selain itu, Indonesia juga memiliki kekayaan keanekaragaman hayati mikroba yang tinggi yang belum sepenuhnya dieksplorasi untuk tujuan bioremediasi. Penelitian mengenai kandidat mikroorganisme yang memiliki potensi sebagai agen bioremediasi dapat dilakukan baik dengan pendekatan mikrobiologis dengan isolasi secara langsung dari sumber lapangan maupun dengan pendekatan bioinformatik dengan mengevaluasi sekuens gen yang berperan dalam dekolorisasi dan degradasi dari kandidat mikroorganisme. Kedua pendekatan tersebut memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing dalam penerapannya yang dapat dilihat pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Perbandingan pendekatan secara mikrobiologis dan secara bioinformatik

Pendekatan Secara Mikrobiologis	Pendekatan Secara Bioinformatik
Waktu lebih lama	Waktu lebih singkat
Tidak memerlukan informasi <i>database</i>	Memerlukan informasi <i>database</i> mikroba dan gen
Potensi penemuan mikroorganisme baru yang memiliki kemampuan untuk mendekolorisasi pewarna tekstil besar	Hanya mengeksplorasi mikroba dari stok kultur yang tersedia

Sebagai contoh, di Indonesia, pengembangan pengolahan limbah pewarna tekstil secara mikrobiologis sudah diterapkan

dengan menggunakan *activated sludge*. Indonesia, dengan kekayaan keanekaragaman hayatinya yang tinggi memiliki banyak

mikroba potensial yang dapat dimanfaatkan sebagai kultur awal bagi *activated sludge* untuk mengolah limbah pewarna tekstil di Indonesia. Walaupun informasinya terbatas, beberapa penelitian yang dilakukan di Indonesia terhadap mikroba *endogenous* yang memiliki potensi untuk mendekolorisasi pewarna tekstil telah dilaporkan. Dewi dan Lestari (2010) melaporkan fungi seperti *Fusarium* sp. dan *Aspergillus* sp. yang diisolasi dari limbah warna batik tulis asal Banyumas memiliki kemampuan untuk mendekolorisasi pewarna batik. Selain itu, fungi *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp. dan *Stachybotrys* sp. yang diisolasi dari tanah di sekitar pembuangan limbah industri tekstil di Yogyakarta dan Jawa Tengah juga mampu mendekolorisasi berbagai pewarna tekstil (Martani *et al.*, 2011). Utari *et al.* (2015) juga melaporkan bakteri *Pseudomonas* sp., *Shigella* sp., *Stenotrophomonas* sp., *Pasteurella* sp. dan *Proteus* sp. yang diisolasi dari sampel tanah mampu mendekolorisasi pewarna tekstil *Rhodamin B*. Selain itu, hasil penelitian penulis menunjukkan bahwa *Enterobacter* sp. dan *Bacillus* sp. (data tidak dipublikasi-kan) dapat mendekolorisasi pewarna tekstil MG dan *Reactive Black B*. Bagaimanapun juga, berbagai uji lebih lanjut perlu dilakukan untuk aplikasi di lapangan sehingga hasil dekolourisasi yang maksimal

dan produk akhir yang aman bagi kesehatan lingkungan dapat diperoleh. Untuk itu, sistem yang mampu menerapkan kombinasi pengolahan limbah pewarna tekstil baik secara fisik, kimia dan biologi (melalui pendekatan mikrobiologis dan bioinforma-tik) perlu segera dikembangkan.

KESIMPULAN

Seleksi terhadap mikroorganisme *endogenous* dari Indonesia sebagai agen bioremediasi dapat dilakukan secara maksimal dengan pendekatan mikrobiologis dan bioinformatik. Mikroorganisme poten-sial kemudian dapat diaplikasikan dalam berbagai bentuk, baik berupa pemberian mikroba tunggal maupun konsorsium. Metode pengolahan secara biologis bagaimanapun juga perlu dikombinasikan dengan metode pengolahan limbah secara fisik dan kimiawi untuk memperoleh hasil yang maksimal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Makalah ini merupakan salah satu bagian dari proyek Hibah Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi RISTEKDIKTI 2017 yang berjudul “Eksplorasi dan Pemanfaatan Bakteri Pendekolorisasi Pewarna Tekstil sebagai Agen Bioremediasi Limbah Industri Tekstil” (0419/K3/KM/2017). Terima kasih kepada Tan, Steven Ryan Susanto yang telah membantu dalam pengecekan tulisan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adebajo, S. O., Balogun, S. A. and Akintokun, A. K. 2017. Decolourization of vat dyes by bacterial isolates recovered from local textile mills in Southwest, Nigeria. *Microbiology Research Journal International* 18: 1-8.
- Arabi, S. and Sohrabi, M. R. 2014. Removal of methylene blue, a basic dye, from aqueous solutions using nano-zerovalent iron. *Water Science & Technology* 70: 24-31.
- Ausec, L., Zakrzewski, M., Goesmann, A., Schlüter, A. and Mandic-Mulec, I. 2011. Bioinformatic analysis reveals high diversity of bacterial genes for laccase-like enzymes. *PloS ONE*, 6: 1-9.
- Bayoumi, M. N., Al-Wasify, R. S. and Hamed, S. R. 2014. Bioremediation of textile wastewater dyes using local bacterial isolates. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 3: 962-970.
- Better Work Indonesia. 2012. *Profil Industri*. Diambil dari: http://betterwork.org/indonesia/?page_id=272&lang=id (10 April 2017).
- Bergsten-Torralba, L. R., Nishikawa, M. M., Baptista, D. F., Magalhaes, D. P. and Silva, M. 2009. Decolorization of different textile dyes by *Penicillium simplicissimum* and toxicity evaluation after fungal treatment. *Brazilian Journal of Microbiology* 40: 808-817.
- Birry, A. A. dan Meutia, H. 2012. Solusi Produksi Bersih-Mengeliminasi Bahan Kimia Berbahaya dan Beracun. In A. A. Birry dan H. Meutia (ed.). *Bahan Beracun Lepas Kendali, Sebuah Potret Pencemaran Bahan Kimia Berbahaya dan Beracun di Badan Sungai Serta Beberapa Titik Pembuangan Industri Tak Bertuan, Studi Kasus Sungai Citarum*. Bandung: Greenpeace Asia Tenggara & WALHI Jawa Barat. pp. 30-35.
- Carmen, Z. and Daniela, S. 2012. Textile Organic Dyes - Characteristics, Polluting Effect and Separation/Elimination Procedures from Industrial Effluents - A Critical Overview. In T. Puzyn (ed.). *Organic Pollutants Ten Years After the Stockholm Convention - Environmental and Analytical Update*. Rijeka: InTech Europe.
- Carneiro, P. A., Umbuzeiro, G. A., Oliveira, D. P. and Zanoni, M. V. B. 2010. Assessment of water contamination caused by a mutagenic textile effluent/dyehouse effluent bearing disperse dyes. *Journal of Hazardous Materials*, 174: 694-699.
- Chequer, F. M. D., de Oliveira, G. A. R., Ferraz, E. R. A., Cardoso, J. C., Zanoni, M. V. B. and de Oliveira, D. P. 2013. Textile Dyes: Dyeing Process and Environmental Impact. In Gunay, M. (ed). *Eco-Friendly Textile Dyeing and Finishing*, InTech.
- Corso, C. R., Almeida, E. J., Santos, G. C., Morão, L. G., Fabris, G. S. and Mitter, E. K. 2012. Bioremediation of direct dyes in simulated textile effluents by a paramorphogenic form of *Aspergillus oryzae*. *Water Science & Technology* 65:1490-1495.
- Dewi, R. S. dan Lestari, S. 2010. Dekolorisasi limbah batik tulis menggunakan jamur indigenous hasil isolasi pada konsentrasi limbah yang berbeda. *Molekul* 5: 75-82.

- El Bouraie, M. and El Din, W. S. 2016. Biodegradation of Reactive Black 5 by *Aeromonas hydrophila* strain isolated from dye-contaminated textile wastewater. *Sustainable Environment Research* 26: 209–216.
- Febriani, R. 2012. Jejak Kontaminasi Limbah Berbahaya Industri di Sungai Citarum. In A. A. Birry dan H. Meutia : Bahan Beracun Lepas Kendali, Sebuah Potret Pencemaran Bahan Kimia Berbahaya dan Beracun di Badan Sungai Serta Beberapa Titik Pembuangan Industri Tak Bertuan, Studi Kasus Sungai Citarum. Bandung: Greenpeace Asia Tenggara & WALHI Jawa Barat. pp. 5-8.
- Greenpeace. 2013. Toxic Threads: Meracuni Surga-Kisah Merek-merek Ternama dan Polusi Air di Indonesia. Amsterdam: Greenpeace International.
- Gudelj, I., Hrenović, J., Dragičević, T. L., Delaš, F., Soljan, V. and Gudelj, H. 2011. Azo dyes, their environmental effects, and defining a strategy for their biodegradation and detoxification. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology* 62: 91-101.
- Gül, Ü. D. 2013. Treatment of dyeing wastewater including reactive dyes (Reactive Red RB, Reactive Black B, Remazol Blue) and Methylene Blue by fungal biomass. *Water SA* 39: 593 - 598.
- Hadibarata, T., Adnan, L. A., Yusoff, A. R. M., Yuniarto, A., Rubiyatno., Zubir, M. M. F. A., Khudhair, A. B., Teh, Z. C. and Naser, M. A. 2013. Microbial decolorization of an azo dye Reactive Black 5 using white-rot fungus *Pleurotus eryngii* F032. *Journal Water, Air, & Soil Pollution* 224:1595.
- Hunger, K. 2003. *Industrial Dyes: Chemistry, Properties, Application*. Weinheim: WILEY-VCH.
- Junior, J. C. V., Cavalcanti, D. L., Alves da Silva, C. A., Andrade, R. F. S. and Campos-Takaki, G. M. 2015. Decolorization of Black B azo dye by *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science* 7: 720-728.
- Kaisa, K., John, P. and Pirjo, L. S. 2007. Evaluating the toxicity of reactive dyes and dyed fabrics with the HaCaT cytotoxicity test. *AUTEX Research Journal* 7: 217-223.
- Kamat, D. V. and Kamat, S. D. 2015. Bioremediation of industrial effluent containing reactive dyes. *International Journal Of Environmental Sciences* 5: 1078-1084.
- Kant, R. 2012. Textile dyeing industry an environmental hazard. *Natural Science* 4: 22-26.
- Karthikeyan, M. R. and Sahu, O. 2014. Treatment of dye waste water by bioreactor. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation* 2: 25-29.
- Kementerian Perindustrian RI. Tanpa tahun. *Industri Tekstil Nasional Ingin Geser Dominasi India*. Diambil dari: [http://www.kemenperin.go.id/artikel/6858/ Industri-Tekstil-Nasional-Ingin-Geser-Dominasi-India](http://www.kemenperin.go.id/artikel/6858/Industri-Tekstil-Nasional-Ingin-Geser-Dominasi-India) (10 April 2017).
- Lacasse, K. and Baumann, W. 2004. *Textile Chemicals: Enviromental Data and*

- Facts. Berlin: Springer Science & Business Media.
- Lade, H., Kadam, A., Paul, D. and Govindwar, S. 2015. Biodegradation and detoxification of textile azo dyes by bacterial consortium under sequential microaerophilic/aerobic processes. *Experimental and Clinical Sciences International Online Journal for Advances in Science* 14: 158-174.
- Lal, N. and Srivastava, A. K. 2011. Decolorization of Malachite Green by newly isolated *Bacillus Strain* MTCC - 3330. *Archives of Environmental Science* 5: 71-76.
- Marimuthu, T., Rajendran, S. and Manivannan, M. 2013. A review on bacterial degradation of textile dyes. *Journal of Chemistry and Chemical Sciences* 3: 201-212.
- Martani, E., Margino, S. dan Nurnawati, E. 2011. Isolasi dan karakterisasi jamur pendegradasi zat pewarna tekstil. *Jurnal Manusia dan Lingkungan* 18: 127-136.
- Ogugbue, C. J. and Sawidis, T. 2011. Bioremediation and detoxification of synthetic wastewater containing triarylmethane dyes by *Aeromonas hydrophila* isolated from industrial effluent. *Biotechnology Research International* 2011: 1 – 11.
- Olaganathan, R. and Patterson, J. 2013. Effect of anthraquinone dyes on the carbohydrate, protein and lipid content in the muscle of *Channa punctatus* and *Cyprinus carpio*. *International Journal of Pharma-ceutical Applications* 4: 11-18.
- Olukanni, O. D., Adenopo, A., Awotula, A. O. and Osuntoki, A. A. 2013. Biodegradation of Malachite Green by extracellular laccase producing *Bacillus thuringiensis* RUN1. *Journal of Basic & Applied Sciences* 9: 543-549.
- Placido, J., Chanaga, X., Ortiz-Monsalve, S., Yepes, M. and Mora, A. 2016. Degradation and detoxification of synthetic dyes and textile industry effluents by newly isolated *Leptosphaerulina* sp. from Colombia. *Bio-resources and Bioprocessing* 3: 1-14.
- Purwar, S. 2016. Application of natural dye on synthetic fabrics: A review. *International Journal of Home Science* 2: 283-287.
- Rani, B., Kumar, V., Singh, J., Bisht, S., Teotia, P., Sharma, S. and Kela, R. 2014. Bioremediation of dyes by fungi isolated from contaminated dye effluent sites for bio-usability. *Brazilian Journal of Microbiology* 45: 1055-1063.
- Ratna and Padhi, B. S. 2012. Pollution due to synthetic dyes toxicity & carcinogenicity studies and remediation. *International Journal of Environmental Sciences* 3: 940-955.
- Shah, K. 2014. Biodegradation of azo dye compounds. *International Research Journal of Biochemistry and Biotechnology* 1: 5-13.
- Shah, M. P. 2014. Isolation and screening of dye decolorizing bacteria. *Journal of Applied & Environmental Microbiology* 2: 244-248.
- Shah, M. P., Patel, K. A., Nair, S. S. and Darji, A. M. 2013. Isolation, identification and screening of dye decolorizing bacteria. *American Journal of Microbiological Research* 1: 62-70.

- Singh, R. P., Singh, P. K. and Singh, R. L. 2014. Bacterial decolorization of textile dye Acid Orange by *Staphylococcus hominis* RMLRT03. *Toxicology International* 21: 160-166.
- Slater, K. 2003. *Environmental Impact of Textiles: Production, Processes and Protection*. Boca Raton: CRC Press LLC.
- Sneha, U., Poornima, R. and Sridhar, S. 2014. Optimization and decolorization of Malachite Green using *Pseudomonas putida*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 12: 50-57.
- Sudha, M., Saranya, A., Selvakumar, G. and Sivakumar, N. 2014. Microbial degradation of azo dyes: A review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 3: 670-690.
- Utari, S. A. S. S. L., Darmayasa, I. B. G. dan Suyasa, I. W. B. 2015. Isolasi, identifikasi dan uji potensi bakteri yang berperan pada pengolahan air limbah yang mengandung Rhodamin B dalam biosistem tanaman. *Jurnal Simbiosis* 3: 301- 312.
- Velmurugan, S. and Ravikumar, R. 2014. Biodegradation and decolorization of reactive dye Red ME4BL by *Bacillus subtilis*. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation* 2: 250-255.
- Wang, J., Qiao, M., Wei, K., Ding, J., Liu, Z., Zhang, K. and Huang, X. 2011. Decolorizing activity of Malachite Green and its mechanisms involved in dye biodegradation by *Achromobacter xylosoxidans* MG1. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology* 20: 220-227.
- Wang, J., Gao, F., Liu, Z., Qiao, M., Niu, X., Zhang, K. Q. and Huang, X. 2012. Pathway and molecular mechanisms for Malachite Green biodegradation in *Exiguobacterium* sp. MG2. *PLoS ONE* 7: e51808.
- Wang, Z. W., Liang, J. S. and Liang, Y. 2013. Decolorization of Reactive Black 5 by a newly isolated bacterium *Bacillus* sp. YZU1. *International Biodeterioration & Biodegradation* 76: 41–48.
- Zouhaier, R., Sofiène, D. and Faouzi, S. 2014. The use of glucose as ecological reducing agent for sulphur dyes: Optimization of experimental conditions. *European Scientific Journal* 10: 436-446.

ANALISIS RESIKO GEMPA BENDUNGAN LEUWIKERIS, PROVINSI JAWA BARAT [SEISMIC HAZARD ANALYSIS LEUWIKERIS DAM, WEST JAVA PROVINCE]

Fioliza Ariyandi^{1*}, Muhammad Riza Harahap²

¹ Sekolah Pascasarjana Universitas Katolik Parahyangan, Bandung-Indonesia

² Geotechnical Engineer, PT. Bima Sakti Geotama, Bandung-Indonesia

*Korespondensi penulis : f.ariyandi.81@gmail.com

ABSTRACT

One of the dams in West Java is Leuwikeris Dam is being planned. It required an assessment in the form of seismic hazard analysis on Leuwikeris Dam. In this paper seismic hazard analysis was performed using probabilistic and deterministic methods. Where seismic events in the repeat periods of 145, 475 and 10000 years are considered in seismic hazard analysis by probabilistic methods. While the spectra target selection is based on CMS (Conditional Mean Spectrum). The results of this study show the design criteria for seismic risk Leuwikeris Dam on condition Operating Basis Earthquake (OBE) and Safety Evaluation Earthquake (SEE) in the form of acceleration time history. In short spectra $t = 0.2$ seconds value peak ground accelerations (PGA), respectively for 0,23g, 0,30g and 0,54g, while in the long spectra period $t = 1.0$ seconds value of peak ground accelerations (PGA) respectively of 0.16g, 0.19g and 0.26g, which will be used as input in conducting a dynamic analysis of Leuwikeris Dam.

Keywords : Dam, seismic hazard, CMS, acceleration of time history

ABSTRAK

Salah satu bendungan di Jawa Barat yaitu Bendungan Leuwikeris sedang direncanakan. Untuk itu diperlukan suatu kajian berupa analisis resiko gempa (*seismic hazard analysis*) pada Bendungan Leuwikeris. Di dalam paper ini analisis resiko gempa dilakukan menggunakan metode probabilistik dan deterministik. Dimana kejadian gempa pada periode ulang 145, 475 dan 10.000 tahun dipertimbangkan pada analisis resiko gempa dengan metode probabilistik. Sedangkan pemilihan target spektra dilakukan berdasarkan CMS (*Conditional Mean Spectrum*). Hasil dari studi ini menampilkan kriteria disain resiko gempa Bendungan Leuwikeris pada kondisi *Operating Basis Earthquake* (OBE) dan *Safety Evaluation Earthquake* (SEE) berupa percepatan riwayat waktu. Pada spectra pendek $t = 0,2$ detik nilai *peak ground accelerations* (PGA) berturut-turut sebesar 0,23g, 0,30g dan 0,54g, sedangkan pada periode spectra panjang $t = 1,0$ detik nilai *peak ground accelerations* (PGA) berturut-turut sebesar 0,16g, 0,19g dan 0,26g, yang akan digunakan sebagai input dalam melakukan analisis dinamik Bendungan Leuwikeris.

Kata kunci : Bendungan, seismic hazard, CMS, percepatan riwayat waktu

PENDAHULUAN

Untuk memenuhi kebutuhan air irigasi, pengendalian banjir, penyediaan air baku dan penyediaan energi listrik, BBWS

Citanduy memandang perlu untuk membangun Bendungan Leuwikeris yang berlokasi di Sungai Citanduy, Desa Ancol, Kecamatan Cineam, Kabupaten Tasikmalaya,

Provinsi Jawa Barat dengan daerah tangkapan seluas 48.000 Ha, volume tampungan 80.500.000 m³. Lokasi rencana Bendungan Leuwikeris berada disekitar sesar-sesar aktif di Pulau Jawa terutama Sesar Citanduy yang berjarak ± 25 km dari lokasi bendungan dan memiliki *slip rate* ± 30 mm/year (Abidin, et al, 2009). Oleh karena itu untuk mengurangi dampak kerusakan dan memprediksi pengaruh sesar aktif Citanduy terhadap berbagai konstruksi Bendungan Leuwikeris, maka perlu dilakukan kajian berupa analisis resiko gempa (*seismic hazard analisis*) di lokasi Bendungan Leuwikeris.

Analisis resiko gempa yang dilakukan mencakup *probabilistik seismic hazard analysis* (PSHA) untuk periode ulang 145, 475 dan 10.000 tahun serta *deterministik seismic hazard analysis* (DSHA). Sedangkan pemilihan target spektra dilakukan berdasarkan *Conditional Mean Spectrum* (CSM) untuk pembuatan *ground motion* sintetik juga dilakukan pada studi ini. Hasil dari studi ini akan menampilkan kriteria disain resiko gempa Bendungan Leuwikeris pada kondisi *Operating Basis Earthquake* (OBE) dan *Safety Evaluation Earthquake* (SEE) berupa percepatan riwayat waktu (*acceleration time histories*) yang berguna sebagai input analisis dinamik Bendungan Leuwikeris.

BAHAN DAN METODE

Bahan Penelitian

Pemodelan seismotektonik atau pemodelan zona sumber gempa diperlukan sebagai penghubung antara data kejadian gempa dengan model perhitungan yang digunakan dalam menentukan tingkat resiko gempa. Zona sumber gempa didefinisikan sebagai area yang mempunyai derajat gempa yang sama, dimana setiap titik dalam zona tersebut mempunyai kemungkinan yang sama akan terjadinya gempa dimasa yang akan datang. Model sumber gempa akan memberikan gambaran distribusi episenter kejadian gempa historik, frekwensi kejadian gempa dan pergesaran relatif lempeng (*slip rate*) dari suatu sumber gempa. Umumnya pemodelan sumber gempa dapat dirangkum menjadi 4 (empat) langkah prosedur pemodelan sumber gempa. Berikut adalah langkah-langkah yang dilakukan :

1. Penentuan lokasi sumber gempa
2. Penentuan dimensi sumber gempa
3. Pendefinisian mekanisme dan orientasi sumber gempa
4. Penentuan tingkat aktifitas sumber gempa.

Langkah 1 sampai 3 dilakukan berdasarkan data distribusi kejadian gempa dan tatanan seismotektonik di daerah sekitar bendungan Leuwikeris. Orientasi sumber

gempa yang dipertimbangkan tidak hanya arah/sudut strike tapi juga arah/sudut dip.

Langkah 4 (empat) dilakukan dengan menilai dan mengevaluasi parameter *seismic hazard* untuk semua zona sumber gempa. Parameter *seismic hazard* diwakili oleh hubungan frekuensi kejadian gempa dengan magnitude (nilai parameter a-b dan magnitude maksimum).

Sebelum melakukan *seismic hazard analysis*, evaluasi lengkap terhadap seluruh data gempa yang telah tersedia perlu dilakukan. Langkah selanjutnya seperti pengumpulan dan pengolahan data gempa, pemodelan seismotektonik, penentuan *b-value* dan analisis *annual rate*, penentuan magnitude maksimum dan penentuan fungsi attenuasi perlu dilakukan.

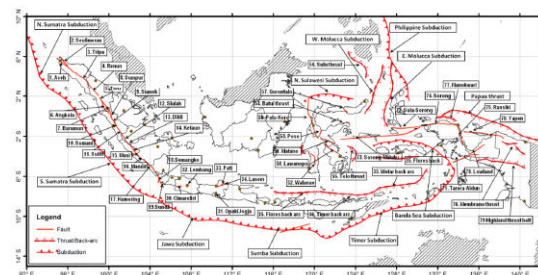
Sumber gempa di Indonesia diklasifikasikan dalam tiga Zona sumber gempa, yaitu :

1) Zona subduksi, yaitu zona kejadian gempa yang terjadi didekat batas pertemuan antara lempeng samudra yang menunjam masuk dibawah lempeng benua. Kejadian gempa akibat *thrust fault*, *normal fault*, *reverse slip* dan *strike slip* yang terjadi sepanjang pertemuan lempeng dapat diklasifikasikan sebagai zona subduksi.

2) Zona transformasi, yaitu zona kejadian gempa *strike-slip* yang terjadi pada patahan-patahan yang terdefinisi dengan jelas, seperti sesar Sumatra.

3) Zona *diffuse seismic*, yaitu kejadian gempa yang tidak termasuk dalam dua klasifikasi diatas.

Adapun kondisi tektonik utama diseluruh Indonesia dapat dirangkum pada Gambar 1.



Gambar 1. Kondisi tektonik utama di Wilayah Indonesia

(Sumber : Tim revisi peta gempa Indonesia, 2010)

Untuk melakukan analisis *seismic hazard* resiko gempa, dibutuhkan data seluruh kejadian gempa yang terjadi disekitar lokasi studi dalam rentang waktu pengamatan tertentu. Pada studi ini, data kejadian gempa yang terjadi disekitar wilayah studi dikumpulkan berdasarkan gabungan dari beberapa sumber katalog gempa. Data gempa yang dikumpulkan pada studi ini adalah data kejadian gempa dalam cakupan area 10° LU hingga 12° LS dan 90° BT hingga 145° BT, dengan minimum magnitude $M_w = 5$ dan kedalaman maksimum 300 km dalam rentang

waktu tahun 1900-2014. Data kejadian gempa dikumpulkan dari katalog gempa Badan Meteorologi, Klimatologi dan Geofisika (BMKG) Indonesia, *National Earthquake Information Center U.S Geological Survey* (NEIC-USGS, PDE), *National Oceanic and Atmospheric Administration* (NOAA) dan *Advanced National Seismic System* (ANSS). Umumnya data yang berasal dari katalog gempa memiliki magnitude yang tidak seragam, mengandung data gempa utama (*main shock*) dan data gempa susulan (*after shock*) serta data kejadian gempa-gempa kecil yang umumnya tidak lengkap dibandingkan dengan data kejadian gempa-gempa besar. Sebelum digunakan dalam analisis resiko gempa, data gempa harus dikoreksi dan diolah terlebih dahulu. Pengolahan data kejadian gempa meliputi; (1) Konversi skala magnitude, (2) Pemisahan gempa utama dan susulan (*analysis dependency*) dan, (3) Analisa kelengkapan data (*completeness*).

ZMAP merupakan perangkat lunak berupa *graphical user interface* (GUI), untuk membantu menganalisis pemisahan gempa utama dengan gempa sebelum dan sesudah terjadi gempa utama. Pemisahan data gempa utama dilakukan dengan menggunakan kriteria *time window* dan kriteria *distance windows* dari Gardner dan Knopoff (1974). Analisis kelengkapan data juga dapat

dilakukan dengan bantuan perangkat lunak ZMAP.

EZ-FRISK merupakan perangkat lunak yang digunakan untuk melakukan analisis bahaya gempa terhadap lokasi yang lebih spesifik, dimana kemampuan utama EZ-FRISK adalah :

- *Seismic Hazard Analysis* : menghitung kemungkinan guncangan gempa bumi di permukaan atau di batuan dasar di bawah lokasi berdasarkan lokasi patahan sekitarnya.
- *Spectral Matching* : menyesuaikan *accelerogram* agar sesuai dengan target *response spectrum*, sambil mempertahankan karakteristik gerakan tanah yang bergantung pada waktu.
- *Site Response Analysis* : menghitung gerakan tanah di permukaan yang diberikan *ground motion* batuan dasar

Metode Penelitian

Konversi Skala Magnitude

Data gempa yang diambil dari berbagai katalog terdiri dari skala yang berbeda-beda, untuk menstarakan ukuran skala yang berbeda-beda, baik yang menggunakan ukuran skala *body wave magnitude* (M_b), *surface wave magnitude* (M_s), *Richter local magnitude* (M_L), atau *moment magnitude* (M_w) perlu dilakukan konversi dari berbagai ukuran skala tersebut

menjadi satu skala magnitudo yang sama sebelum digunakan dalam analisis resiko gempa. Pada studi ini korelasi konversi magnitudo yang digunakan adalah korelasi berdasarkan hasil studi tim revisi peta gempa Indonesia 2010 yang didapat berdasarkan analisis regresi dari data-data gempa di wilayah Indonesia seperti Tabel 1.

Tabel 1. Korelasi konversi skala magnitudo untuk wilayah Indonesia

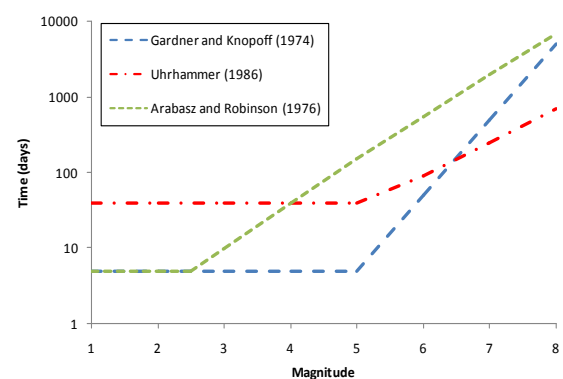
Korelasi Konversi
$M_w = 0.143M_s^2 - 1.051M_s + 7.285$
$M_w = 0.114m_b^2 - 0.55m_b + 5.560$
$M_w = 0.1787ME + 1.537$
$m_b = 0.125M_L^2 - 0.389M_L + 3.513$

(Sumber : Tim revisi peta gempa Indonesia 2010)

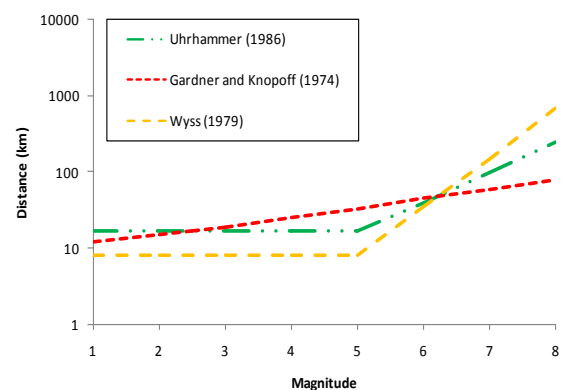
Pemisahan Gempa Utama dan Gempa Susulan (*Analisis Dependency*)

Analisis resiko gempa terutama probabilistik *seismic hazard analysis* dilakukan berdasarkan kejadian gempa utama (*main shock*) sehingga kejadian-kejadian gempa awalan/susulan (*foreshock/aftershock*) yang terjadi dalam suatu rangkaian kejadian gempa harus diidentifikasi sebelum dilakukan analisis resiko gempa. Memasukkan kejadian gempa awalan/susulan dalam analisis akan mengakibatkan sedikit peningkatan hasil analisis *seismic hazard* (Pacheco dan Sykes, 1992). Beberapa kriteria empiris telah diajukan oleh beberapa peneliti untuk mengidentifikasi kejadian-kejadian gempa susulan, Gardner dan Knopoff (1974), dan

Uhrhammer (1986). Kriteria ini digunakan untuk mengidentifikasi kejadian gempa yang berhubungan dengan *fault rupture*. Kriteria ini didasarkan atas suatu rentang waktu dan jarak tertentu dari suatu kejadian gempa utama dalam suatu rangkaian kejadian gempa. Suatu gempa dikatakan gempa susulan jika berada didalam rentang waktu dan jarak yang dihitung menurut kriteria empiris untuk suatu magnitudo gempa tertentu seperti terlihat pada gambar 2 dan Gambar 3.



Gambar 2. Kriteria *time windows* untuk analisis pemisahan gempa utama



Gambar 3. Kriteria *distance windows* untuk analisis pemisahan gempa utama

Analisis Kelengkapan Data Gempa (*Analysis Completeness*)

Data pencatatan kejadian gempa historis untuk kejadian-kejadian gempa besar lebih lengkap dibanding kejadian-kejadian gempa kecil. Hal ini disebabkan oleh masih sedikitnya alat pencatat gempa pada masa awal pengamatan, sehingga alat-alat tersebut hanya mencatat kejadian-kejadian gempa besar saja. Selain itu, kejadian-kejadian gempa kecil tidak terdeteksi di beberapa lokasi karena alasan fisik dan demografi. Ketidaklengkapan data akan memberikan hasil yang terlalu kecil (*underestimated*) untuk gempa-gempa kecil dan terlalu besar (*overestimated*) untuk kejadian gempa besar terutama pada saat penentuan parameter a-b dan analisis probabilistik. Sehingga perlu dilakukan analisa kelengkapan (*completeness*) dengan langkah-langkah sebagai berikut :

- 1) Waktu pengamatan dibagi atas beberapa interval waktu (T) yang dihitung dari pengamatan terakhir ke belakang
- 2) Untuk setiap interval waktu (T), data gempa dibagi atas beberapa rentang magnitude dan dihitung banyaknya kejadian gempa untuk setiap rentang magnitude (N).
- 3) Frekuensi kejadian gempa (*rate*) untuk setiap rentang magnitude dihitung

menggunakan rumus sebagai berikut $\lambda = \Sigma N/T$

- 4) Standart deviasi untuk setiap interval dihitung dengan rumus $\sigma = \frac{\sqrt{\lambda}}{T}$

Kelengkapan data pada suatu perioda waktu tertentu dapat dilihat dari gradien kecenderungan data yang berubah. Rentang waktu dimana standar deviasi menunjukkan perubahan dan menjadi lebih curam menunjukkan data gempa yang tidak lengkap.

Analisis resiko gempa (*seismic hazard analysis*) dilakukan untuk memberikan estimasi kuantitatif dari guncangan gempa pada suatu lokasi tertentu. *Seismic hazard analisis* dilakukan dengan menghubungkan kondisi seismotektonik dan kejadian gempa sehingga menghasilkan parameter disain gempa untuk keperluan analisis dinamik suatu struktur. Analisis resiko gempa dapat dilakukan dengan 2 (dua) metode pendekatan yaitu : metode analisis resiko gempa probabilistik (*Probabilistic Seismic Hazard Analysis/PSHA*) dan metode analisis resiko gempa deterministik (*Deterministik Seismic Hazard Analysis/DSHA*).

Metode Probabilistik memprediksi kemungkinan apakah ground motion atau percepatan gempa yang terjadi akan sama atau dapat melampaui nilai tertentu selama rentang waktu tertentu. Sementara metode

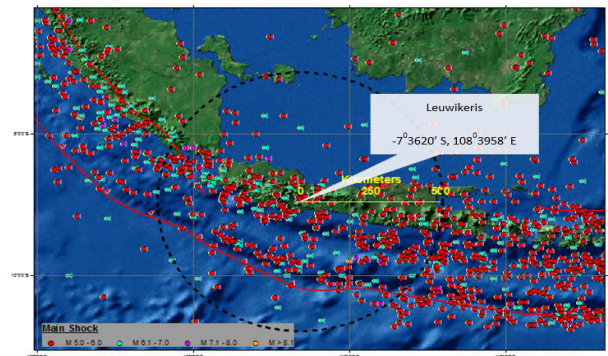
deterministik menggunakan ketersediaan data sejarah kejadian gempa dengan besaran tertentu pada lokasi tertentu untuk memprediksi percepatan gempa yang mungkin terjadi. Analisis deterministik menggunakan konsep *maximum credible earthquake* (MCE), dimana nilai percepatan gempa ditentukan berdasarkan kejadian gempa terbesar yang mungkin terjadi akibat suatu sumber gempa tertentu.

Conditional Mean Spectrum (CMS)

Nilai CMS dihitung berdasarkan deagregasi PSHA dengan cara menghitung bobot rata-rata CMS yang telah dinormalisasi pada semua sumber gempa. Bobot pada setiap sumber gempa diperoleh berdasarkan kontribusinya terhadap deagregasi. Bobot rata-rata CMS yang telah dinormalisasi, sehingga nilainya sama persis dengan amplitudo yang digunakan untuk deagregasi pada periode spektra yang diinginkan. Umumnya rata-rata epsilon, jarak dan magnitude untuk sumber tertentu dapat sangat berbeda dengan rata-rata epsilon, jarak dan magnitude hasil deagregasi. Perata-rataan amplitudo CMS dilakukan berdasarkan rata-rata aritmatika dan bukan berdasarkan rata-rata geometrik.

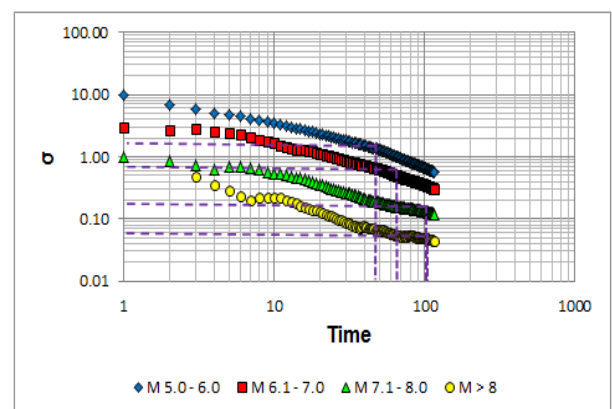
HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil analisis *depedancy* yang memisahkan antara gempa utama dengan gempa susulan, dari 67.934 kejadian gempa yang berhasil dikumpulkan didapat 5.754 kejadian gempa yang merupakan gempa utama (*main shock*).



Gambar 4. Distribusi kejadian gempa utama dalam radius 500 km dari wilayah studi

Sementara hasil analisis *completeness* (analisis kelengkapan) menunjukkan hasil sebagai berikut :



Gambar 5. Hasil analisa *completeness* terhadap data kejadian gempa

Berdasarkan data yang telah dikumpulkan dapat diketahui bahwa untuk rentang magnitude $5,0 < M_w \leq 6,0$ terlihat bahwa data gempa lengkap selama 47 tahun, rentang magnitude $6,1 < M_w \leq 7,0$ terlihat bahwa data gempa lengkap selama 56 tahun, rentang magnitude $7,1 < M_w \leq 8,0$ terlihat bahwa data gempa lengkap selama 106 tahun, dan rentang magnitude $M_w > 8,0$ terlihat bahwa data gempa lengkap selama 111 tahun.

Hasil *probabilistic seismic hazard analysis* yang dihitung telah dilakukan terhadap lokasi Bendungan Leuwikeris, Kabupaten Tasikmalaya, Provinsi Jawa Barat dengan koordinat $7^{\circ} 21' 43,17''$; S, $108^{\circ} 23' 44,70''$ E, dapat diketahui bahwa nilai *peak ground accelerations* (PGA) untuk periode ulang 145, 475 dan 10.000 tahun pada periode spectra pendek $t = 0,2$ detik berturut-turut sebesar 0,23g, 0,30g dan 0,54g. Sedangkan pada periode spectra panjang $t = 1,0$ detik berturut-turut sebesar 0,16g, 0,19g dan 0,26g.

Dengan metode *deterministic seismic hazard analysis* (DSHA) dan telah mempertimbangkan potensi terbesar sumber gempa yang mempengaruhi lokasi Bendungan Leuwikeris, Kabupaten Tasikmalaya, Provinsi Jawa Barat, yaitu akibat *shallow background* dengan magnitude $M_w = 6,49$ dan jarak 30,00 km dari lokasi studi dengan nilai percepatan maksimum dibatuan dasar/*Peak Ground*

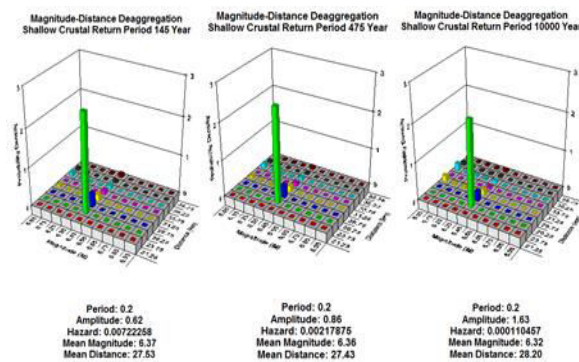
Acceleration (PGA) pada 50th and 84th percentile berturut-turut sebesar 0,31g dan 0,54g.

Berdasarkan ketentuan ASCE/SEI 7-10 (ASCE, 2010), pemilihan jumlah input *ground motion* yang akan digunakan pada analisis dinamik *time history* minimal diperlukan 3 (tiga) rekaman data *ground motion*. Jika sekurang-kurangnya ada 7 rekaman *ground motion* yang dianalisis, disain *value* dari *engineering demand parameters* (EDPs) diambil sebagai nilai rata-rata dari EDPs. Sedangkan jika kurang dari 7 rekaman *ground motion* yang dianalisis, maka disain *value* dari EDPs diambil sebagai nilai maksimum dari EDPs.

Hasil analisa deagregasi dilakukan dilokasi rencana Bendungan Leuwikeris untuk memperlihatkan nilai kisaran jarak (R) dan magnitude (M) rata-rata yang memberikan kontribusi terbesar dari sumber gempa tertentu pada lokasi studi. Nilai kisaran jarak dan magnitude ini yang kemudian akan menjadi landasan dalam mencari input *accelerometer* yang memiliki karakteristik yang mendekati kondisi yang diinginkan dan kemudian digunakan sebagai salah satu input dalam analisa *spectral matching*.

Tabel 2. Rangkuman hasil deagregasi

Mekanisme Gempa	Periode Ulang 145 Tahun				Periode Ulang 10000 Tahun			
	Periode Spectra				Periode Spectra			
	0.2 sec		1.0 sec		0.2 sec		1.0 sec	
	M _{controlling} (mw)	R _{controlling} (km)	M _{controlling} (mw)	R _{controlling} (km)	M _{controlling} (mw)	R _{controlling} (km)	M _{controlling} (mw)	R _{controlling} (km)
All Source	6.39	28.77	6.51	32.94	6.34	29.20	6.69	42.44
Shallow Crustal	6.37	27.53	6.43	26.83	6.32	28.20	6.43	26.06
Benioff	6.31	135.54	6.41	142.81	7.04	97.08	7.24	102.03
Megathrust	7.47	176.04	7.47	191.85	7.77	111.83	7.80	121.61

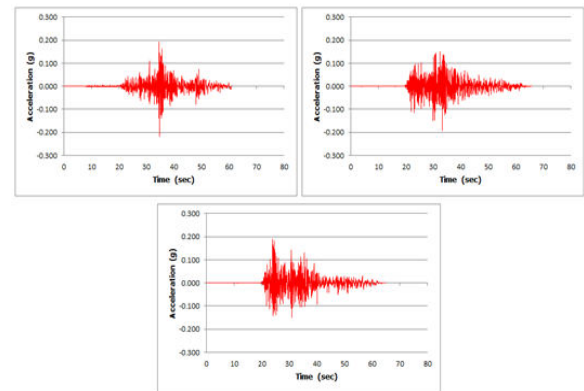


Gambar 6. Kurva deagregasi

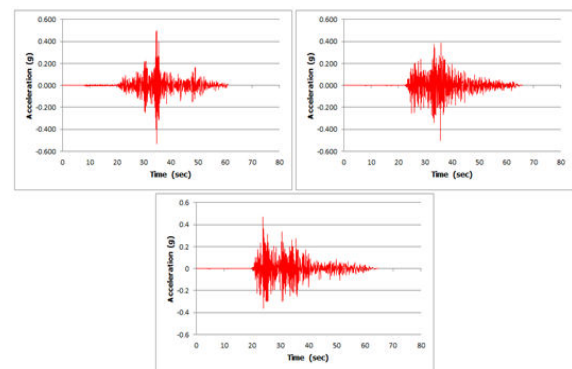
Adapun karakteristik *input motion* yang akan digunakan pada analisa *spectra matching* untuk mendapatkan *ground motion* sintetik dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Karakteristik *ground motion* yang digunakan dalam analisa *spectral matching*

Quake event	Magnitude (mw)	Distance (km)
Chi-chi Taiwan-05 HWA 002, 1999	6.2	20 - 50
Chi-chi Taiwan-06 HWA 002, 1999	6.3	
Chi-chi Taiwan-03 TCU 102, 1999	6.2	
El Mayor Cucapah, Big Chuckawalla, 2010	7.2	85 - 145
El Mayor Cucapah, Glamis Black Mountain, 2010		
El Mayor Cucapah, Anza Pinyon Flat, 2010		



Gambar 7. Usulan *ground motion* sintetik utk AEP 1:145



Gambar 8. Usulan *ground motion* sintetik utk AEP 1:10000

KESIMPULAN

Sumber gempa yang memberikan kontribusi terbesar terhadap total kejadian gempa per tahun pada lokasi Bendungan Leuwikeris adalah sumber gempa *shallow background*.

Berdasarkan metode *probabilistic seismic hazard analysis* (PSHA) nilai *peak ground accelerations* (PGA) untuk periode ulang 145, 475 dan 10.000 tahun pada periode

spectra pendek $t = 0,2$ detik berturut-turut sebesar 0,23g, 0,30g dan 0,54g. Sedangkan pada periode spectra panjang $t = 1,0$ detik berturut-turut sebesar 0,16g, 0,19g dan 0,26g. Sedangkan berdasarkan metode *deterministic seismic hazard analysis* (DSHA), nilai *peak ground acceleration* (PGA) pada 50th and 84th percentile berturut-turut sebesar 0,31g dan 0,54g.

Administration. Technical Report ERL 267-ESL 30 : 16-28.

Tim Revisi Peta Gempa Indonesia. 2010. Ringkasan Hasil Studi Tim Revisi Peta Gempa Indonesia. Tim Revisi Peta Gempa Indonesia, Bandung.

Uhrhammer, R. 1986. Characteristics of northern and central California seismicity, Earthquake Notes 57 (1) : 21-37.

DAFTAR PUSTAKA

American Society Of Civil Engineers (ASCE). 2010. Minimum design load for buildings and other structures. ASCE Standart 7-10, Reston, Virginia.

Donald L. Wells and Kevin J. Coopersmith. 1994. New empirical relationships among magnitude, rupture length, rupture width, rupture area and surface displacement. Bulletin of the Seismological Society of America 84 (4) : 974-1002.

Gardner, J. K. and Knopoff, L. 1974. Is the sequence of earthquakes in Southern California, with aftershocks removed, Poissonian. Bulletin of the Seismological Society of America 64 : 1363-1367.

Pacheco, J. and Sykes, L.R. 1992. Seismic moment catalog of large shallow earthquakes, 1900 to 1989. Bulletin of the Seismological Society of America 82 : 1306-1349.

Stepp, J. C. 1973. Analysis of completeness of the earthquake sample in the Puget Sound area. In Harding, S. T. (Eds). Contributions to seismic zoning, US National Oceanic and Atmospheric

PEMANFAATAN BUAH LEUNCA (*Solanum nigrum* L.) DALAM PEMBUATAN MINUMAN SARI BUAH

[UTILIZATION OF BLACK NIGHTSHADE (*Solanum nigrum* L.) IN THE MAKING OF FRUIT JUICE]

Yuniwati Halim^{1*}, Diana Effendi¹, dan C.C. Nurwitri²

¹Jurusan Teknologi Pangan, Universitas Pelita Harapan,
Jl. M.H. Thamrin Boulevard, Tangerang 15811, Banten

²Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Institut Pertanian Bogor.
Kampus IPB, Jl. Raya Darmaga Bogor

*Korespondensi penulis : yuniwati.halim@uph.edu

ABSTRACT

Black nightshade (Solanum nigrum L.) fruit contains many antioxidant compounds, however, utilization of black nightshade as food or beverage product has not been much studied. The research was aimed to determine sugar concentration and acid source used in black nightshade juice making to obtain a product that is acceptable for the panelists and to observe the black nightshade juice quality changes during storage. Sugar concentration used were 10%, 12.5%, and 15%. Acids used were from citric acid, belimbing wuluh (Averrhoa bilimbi) and lime (Citrus aurantifolia). It was found that the selected formulation was black nightshade juice added with 15% of sugar concentration and acid added from belimbing wuluh (Averrhoa bilimbi). This formula has acceptance value of 4.41 ± 1.357 and the IC_{50} value of 2118.0582 ± 96.3983 mg/L. Storage was done for 6 weeks in refrigerated temperature. During storage, quality of black nightshade juice decreased after 2 weeks, observed from decrease in its antioxidant activity, total phenolic and flavonoid compound.

Keywords : acid, antioxidant activity, black nightshade fruit juices, storage

ABSTRAK

Buah leunca (*Solanum nigrum* L.) mengandung banyak komponen antioksidan, tetapi pemanfaatan buah leunca sebagai produk makanan maupun minuman belum banyak dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi gula dan asam yang digunakan pada pembuatan minuman sari buah leunca untuk menghasilkan produk yang dapat diterima oleh panelis, serta mengamati perubahan kualitas sari buah leunca selama penyimpanan. Konsentrasi gula yang digunakan adalah 10%, 12,5%, dan 15%. Asam yang digunakan bersumber dari asam sitrat, Acids used were from citric acid, belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*), dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Formulasi terpilih pada penelitian ini adalah sari buah leunca yang ditambahkan dengan konsentrasi gula sebesar 15% dan asam dari belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*). Formulasi ini memiliki nilai penerimaan sebesar $4,41 \pm 1,357$ dan nilai IC_{50} sebesar $2118,0582 \pm 96,3983$ mg/L. Penyimpanan dilakukan selama 6 minggu pada suhu dingin. Selama penyimpanan, kualitas sari buah leunca menurun setelah 2 minggu, dilihat dari penurunan aktivitas antioksidan, total fenolik, dan total flavonoid.

Kata kunci : asam, aktivitas antioksidan, sari buah leunca, penyimpanan

PENDAHULUAN

Leunca (*Solanum nigrum* L.) merupakan salah satu buah yang sering digunakan sebagai lalapan bagi masyarakat Indonesia. Daun tanaman leunca banyak dimanfaatkan untuk obat-obatan herbal dengan khasiat sebagai antidiuretik, antidisentri, antiinflamasi, dan anti kanker sedangkan pemanfaatan buahnya sebatas sebagai lalapan di Indonesia. Buah dari tanaman ini mengandung banyak komponen nutrisi seperti mineral, vitamin, dan protein. Buah leunca juga mengandung banyak senyawa-senyawa *free radical scavengers* seperti flavonoid, asam fenolik, alkaloid, kuinon, tanin yang berperan sebagai antioksidan sehingga leunca dapat dikatakan sebagai salah satu sumber antioksidan yang baik (USDA, 2015; Arulmozhi *et al.*, 2010). Kurangnya konsumsi buah leunca dapat disebabkan oleh rasa pahit yang dimilikinya. Rasa pahit yang terdapat pada buah leunca sebenarnya berasal dari kandungan alkaloid yang dimilikinya, sehingga untuk memaksimalkan manfaat antioksidan dalam buah leunca, dapat dilakukan pengolahan seperti pembuatan minuman sari buah leunca. Pemanfaatan buah leunca dalam pembuatan minuman buah sari leunca diharapkan dapat meningkatkan konsumsi buah leunca dan menjadi salah satu bentuk diversifikasi leunca.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi asam dan gula yang ditambahkan untuk menutupi rasa pahit pada minuman sari buah leunca, sehingga dapat dihasilkan minuman sari buah leunca yang dapat diterima oleh panelis. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui perubahan mutu minuman sari buah leunca selama penyimpanan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah leunca (*Solanum nigrum* L.) yang diperoleh dari Pasar Anyar, Tangerang. Bahan lain yang digunakan adalah air, asam sitrat, belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) yang diperoleh dari Pasar Anyar, Tangerang, jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang diperoleh dari Pasar Anyar, Tangerang, dan gula pasir (sukrosa).

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, *waterbath* “Mommert”, kain saring, kulkas (intercool), UV-Vis spektrofotometer “Barnstead Turner”, *steam distillation unit* “Buchi”, peralatan Soxhlet, *rotary evaporator*, *hand refractometer* “ATAGO”, pH meter, kromameter “Minolta CR-400”, tabung Durham, *laminar air flow*, dan *colony counter*.

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental yang terdiri

dari dua tahap. Penelitian tahap pertama bertujuan untuk menentukan konsentrasi penambahan gula (10%, 12,5%, dan 15%) dan jenis asam (asam sitrat, belimbing wuluh, dan jeruk nipis) untuk dapat menghasilkan minuman sari buah leunca yang dapat diterima oleh panelis.

Penelitian tahap kedua bertujuan untuk mengetahui perubahan mutu dari minuman sari buah leunca yang dihasilkan selama penyimpanan. Minuman sari buah leunca yang terpilih pada penelitian tahap pertama disimpan pada suhu *refrigerator* selama 6 minggu dengan pengamatan per minggu. Parameter utama yang diamati adalah aktivitas antioksidan, total fenolik (Jung *et al.*, 2011; Maurya dan Singh, 2010) dan total flavonoid (Huang *et al.*, 2004), serta uji mikrobiologi yang meliputi Angka Lempeng Total (Bell *et al.*, 2005 dengan modifikasi), *Escherichia coli* (BSN, 2006), dan *Staphylococcus aureus* (BSN, 2011).

Pembuatan Sari Buah Leunca

Buah leunca yang telah disortir dicuci dengan air bersih yang mengalir. Buah leunca kemudian diberi perlakuan blansir menggunakan metode blansir dengan air panas pada suhu 80°C selama 3.3 menit berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Hartinah (2012). Blansir dilakukan untuk menginaktivasi enzim dan meminimalisasi kontaminasi. Setelah melalui tahapan blansir, buah leunca

kemudian dihancurkan menggunakan *blender* dengan perbandingan penambahan air 1:1. Hasil campuran kemudian disaring menggunakan kain saring dan dihasilkan filtrat sari buah leunca.

Filtrat sari buah leunca diberi penambahan asam hingga mencapai nilai pH 4, hal ini dilakukan untuk menghambat pertumbuhan mikrobiologi dalam produk. Jenis asam yang ditambahkan berasal dari tiga jenis yaitu asam sitrat, belimbing wuluh, dan jeruk nipis. Proses pembuatan sari buah belimbing wuluh dilakukan dengan menyortir dan mencuci buah, lalu diberi penambahan air dengan perbandingan 1:1 dan kemudian menghancurkannya menggunakan alat *blender*. Hasil campuran disaring menggunakan kain saring dan dihasilkan sari buah belimbing wuluh. Untuk jeruk nipis, filtrat dihasilkan dari pemerasan langsung.

Filtrat sari buah leunca yang telah diberi penambahan asam sesuai masing-masing perlakuan juga diberikan penambahan gula (sukrosa) dengan konsentrasi yang divariasikan dari konsentrasi 10%, 12.5% dan 15% dari volume akhir minuman sari buah leunca (Koswara, 2006). Minuman sari buah leunca kemudian dilanjutkan ke tahap Pasteurisasi yang dilakukan pada suhu 65°C selama 15 menit. Proses Pasteurisasi dilakukan dengan tujuan untuk membunuh mikroba patogen. (Saadah dan Estiasih, 2015).

Produk minuman sari buah leunca yang dihasilkan terlebih dahulu diuji aktivitas antioksidannya (Amin dan Lee, 2005 dengan modifikasi). Sebanyak 5 formulasi yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dilanjutkan untuk analisis dengan uji organoleptik. Uji organoleptik yang dilakukan adalah uji hedonik (Ajenifujah-Solebo dan Aina, 2011 dengan modifikasi) yang meliputi warna, rasa manis, rasa asam, aroma asam, *aftertaste* pahit, dan penerimaan keseluruhan.

Dari hasil analisis tersebut dipilih 1 formulasi terpilih minuman sari buah leunca berdasarkan tingkat penerimaan panelis yang kemudian dianalisis proksimat (AOAC, 2005) dan dilakukan uji penyimpanan.

Uji Aktivitas Antioksidan (Amin dan Lee, 2005 dengan modifikasi)

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Larutan DPPH dibuat dengan menggunakan 10 mg bubuk DPPH ke dalam 126,8 ml metanol. Pengujian diawali dengan pencampuran 1 ml sampel ke dalam 1,5 ml 0,2 mM DPPH yang kemudian didiamkan selama 30 menit dalam ruang gelap. Pengujian dilanjutkan dengan pengukuran absorbansi sampel menggunakan UV-Vis Spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm. Metanol digunakan

sebagai kontrol, dengan mengganti 1 ml sampel dengan 1 ml metanol. *Radical scavenging activity* dapat dihitung dengan rumus % *radical scavenger activity* = $1 - \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$

Persentase *radical scavenger activity* kemudian digunakan untuk membentuk persamaan regresi linear yang akan digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀. Persamaan regresi linear $y = ax + b$ dengan nilai $y = 50$ yang memiliki arti inhibisi 50% dan nilai x sebagai nilai IC₅₀ sampel.

Total Fenolik (Jung *et al.*, 2011; Maurya dan Singh, 2010)

Total fenolik ditentukan dengan metode Folin-ciocalteau. Sampel sebanyak 0,5 ml ditambahkan dengan 2,5 ml reagen Folin-Ciocalteau (diencerkan 10 kali) lalu ditambahkan juga dengan larutan natrium karbonat 7,5% sebanyak 2 ml. Sampel yang telah dicampur tersebut kemudian didiamkan selama 30 menit pada ruang gelap. Blanko dibuat dengan mengganti akuades sebagai pengganti sampel. Standar yang digunakan adalah asam galat. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 760 nm.

Total Flavonoid (Huang *et al.*, 2004)

Total kandungan flavonoid diuji menggunakan metode kolorimetri AlCl₃. Sampel sejumlah 1 ml ditambahkan dengan larutan AlCl₃ 2% sebanyak 1 ml dan

didiamkan selama 5 hingga 10 menit. Setelah itu, sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang 415 nm. Standar yang digunakan *quercetin*. Blanko dibuat dengan mengganti sampel dengan akuades.

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian tahap pertama menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan dua faktor dan tiga kali ulangan, yaitu konsentrasi penambahan gula yang terdiri dari 3 level (10%, 12,5%, 15%) dan jenis asam yang terdiri dari 3 level (asam sitrat, belimbing wuluh, jeruk nipis).

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian tahap kedua adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan satu faktor dan tiga kali ulangan. Faktor yang digunakan adalah lama penyimpanan (minggu ke-0, ke-1, ke-2, ke-3, ke-4, ke-5, dan ke-6).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Analisis Proksimat Buah Leunca

Hasil analisis proksimat buah leunca dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan hasil yang diperoleh didapatkan hasil yang sedikit berbeda dengan kandungan gizi buah leunca yang dinyatakan oleh Edmonds dan Chweya (1997), yaitu pada kadar protein dan karbohidratnya. Perbedaan tersebut dikarenakan perbedaan sumber buah leunca yang digunakan sehingga dari cara

penanaman, kondisi pertumbuhan hingga penanganan tanamannya pun berbeda.

Tabel 1. Hasil uji proksimat buah leunca

Parameter	Jumlah
Kadar Air (%)	89,53
Kadar Abu (%)	7,7
Lemak (%)	0,66
Protein (%)	1,72
Karbohidrat <i>by difference</i> (%)	0,39
Energi (kal/100g)	13,03

Aktivitas Antioksidan, Total Fenolik, dan Total Flavonoid Sari Buah Leunca

Uji aktivitas antioksidan yang dilakukan pada buah sari buah leunca menghasilkan nilai IC_{50} sebesar $206,5542 \pm 9,3771$ mg/L. Menurut Qusti *et al.*, (2010), bahan pangan dengan aktivitas antioksidan tinggi memiliki nilai IC_{50} yang berada dalam kisaran 10 – 1000 mg/L. Oleh karena itu, sari buah leunca dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi.

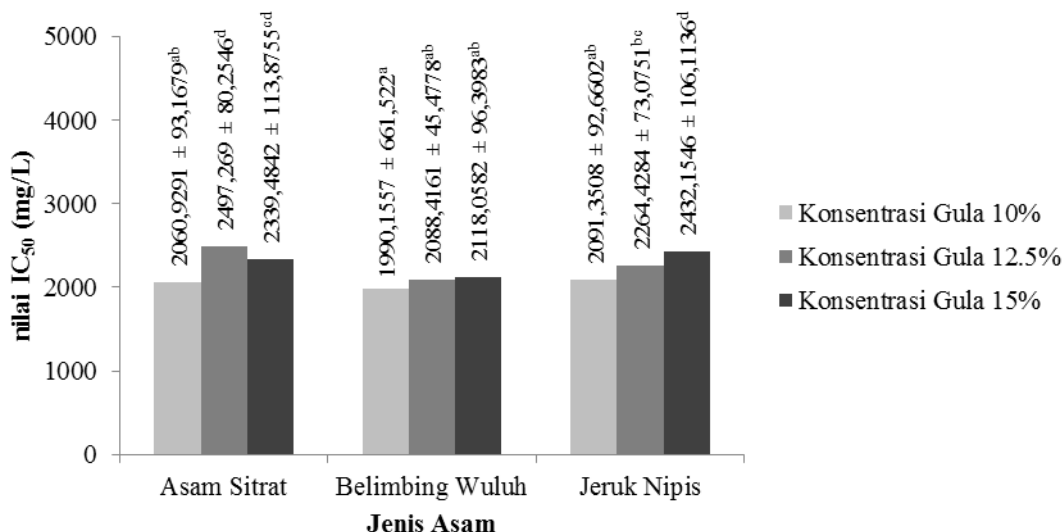
Jumlah total fenolik yang terkandung adalah sebesar $14,3267 \pm 0,6344$ mg GAE/mL sari buah leunca. Jumlah total flavonoid yang terkandung dalam sari buah leunca adalah sebesar $9,1944 \pm 0,1055$ mg QE/ml sari buah leunca.

Aktivitas Antioksidan Minuman Sari Buah Leunca

Sebanyak 9 formulasi minuman sari buah leunca dianalisis aktivitas antioksidannya terlebih dahulu. Secara keseluruhan, nilai IC_{50} yang dimiliki oleh formulasi-formulasi tersebut lebih tinggi jika dibandingkan dengan nilai IC_{50} yang dimiliki oleh buah leunca sebagai sumber

bahan baku utama. Peningkatan nilai IC_{50} dikarenakan oleh suhu dan lama Pasteurisasi yang digunakan. Febrianti, *et al.* (2014) menyatakan bahwa semakin tinggi suhu dan semakin lama waktu Pasteurisasi yang

digunakan dapat menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan dari produk minuman sari buah, yang dalam hal ini ditandai dengan peningkatan nilai IC_{50} .



Keterangan: Notasi huruf yang berbeda menunjukkan adanya beda signifikan ($p < 0,05$)

Gambar 1. Pengaruh interaksi antara jenis asam dan konsentrasi gula terhadap nilai IC_{50} minuman sari buah leunca

Hasil uji statistik nilai IC_{50} menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$) yang disebabkan oleh jenis asam maupun konsentrasi gula, dan terdapat interaksi ($p < 0,05$) yang signifikan di antara kedua faktor tersebut. Uji lanjut interaksi jenis asam dan konsentrasi gula terhadap nilai IC_{50} minuman sari buah leunca dilakukan menggunakan uji lanjut Duncan. Hasil uji lanjut dapat dilihat pada Gambar 1.

Nilai IC_{50} menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dari minuman sari buah leunca yang menggunakan jenis asam belimbing wuluh lebih rendah daripada jenis asam lainnya, yang berarti aktivitas

antioksidannya lebih baik. Sari buah belimbing wuluh memiliki nilai IC_{50} sebesar 544,4021 mg/L, sedangkan jeruk nipis sebesar 987,6494 mg/L dan asam sitrat sebesar 3188,7903 mg/L.

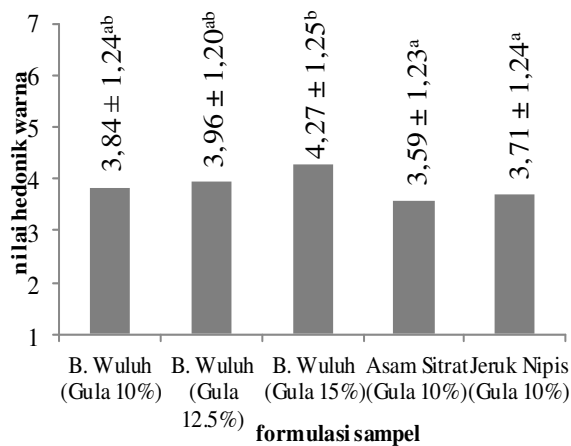
Dari hasil tersebut kemudian dipilih lima formulasi minuman yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi. Lima formulasi tersebut kemudian dilanjutkan ke tahap uji organoleptik (uji hedonik) untuk didapatkan formulasi minuman sari buah leunca terpilih berdasarkan tingkat penerimaan panelis.

Organoleptik Minuman Sari Buah Leunca

Uji organoleptik yang dilakukan merupakan uji hedonik. Uji organoleptik dilakukan pada 70 orang panelis yang tidak terlatih. Parameter yang diuji pada uji hedonik adalah warna, rasa manis, rasa asam, aroma asam, *aftertaste* pahit, dan penerimaan keseluruhan.

Warna

Hasil uji hedonik pada parameter warna menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$) di antara sampel yang diuji. Berdasarkan hasil tersebut, formulasi minuman sari buah leunca yang menggunakan jenis asam belimbing wuluh dan konsentrasi gula 15% paling disukai oleh panelis dari segi parameter warna. Hasil uji lanjutnya dapat dilihat pada Gambar 2.



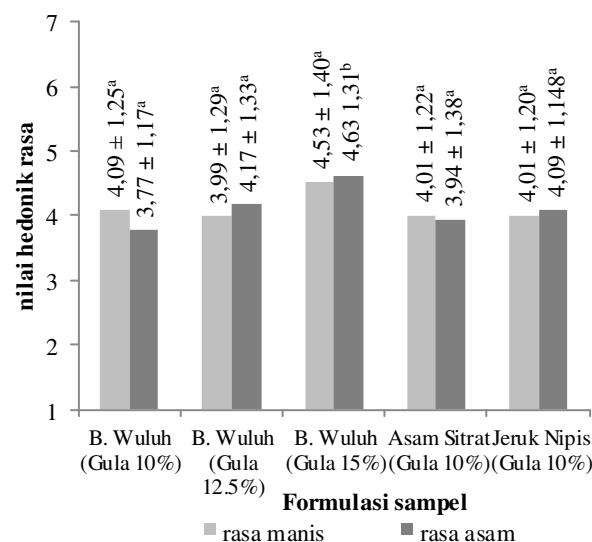
Keterangan: Notasi huruf menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$); 1=sangat tidak suka, 7=sangat suka

Gambar 2. Pengaruh formulasi sampel terhadap nilai hedonik pada parameter warna

Rasa

Pada uji hedonik, terdapat dua parameter yang berkaitan dengan rasa, yaitu rasa manis dan rasa asam. Kedua parameter ini muncul karena terdapat dua rasa dominan pada produk minuman sari buah yang dihasilkan.

Tingkat kesukaan panelis terhadap parameter rasa manis dan rasa asam paling tinggi dimiliki oleh minuman sari buah leunca dengan jenis asam belimbing wuluh dan konsentrasi gula 15%. Pada parameter rasa manis tidak ditunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) namun untuk rasa asam terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Gambar 3 menunjukkan hasil uji lanjut analisis hedonik parameter rasa manis dan rasa asam.

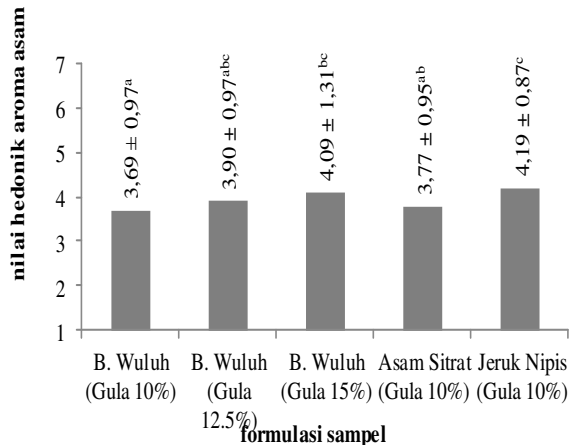


Keterangan: Notasi huruf menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$); 1=sangat tidak suka, 7=sangat suka

Gambar 3. Pengaruh formulasi sampel terhadap nilai hedonik pada parameter rasa manis dan rasa asam

Aroma Asam

Uji hedonik yang dilakukan untuk parameter aroma asam menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$) di antara formulasi yang diuji. Hasil uji lanjut ditampilkan pada Gambar 4.



Keterangan: Notasi huruf menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$); 1=sangat tidak suka, 7=sangat suka

Gambar 4. Pengaruh formulasi sampel terhadap nilai hedonik pada parameter aroma asam

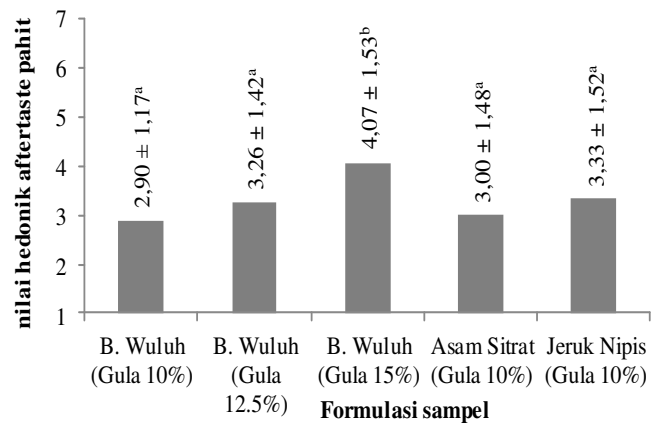
Minuman sari buah leunca yang paling disukai dalam hal aroma asam adalah minuman sari buah leunca dengan penambahan asam dari jeruk nipis dan konsentrasi gula 10%. Formulasi tersebut disukai karena aroma asam yang dimiliki jeruk nipis lebih kuat jika dibandingkan dengan jenis asam lainnya. Selain itu, jeruk nipis memiliki aroma khas asam yang mudah dikenal oleh panelis.

Aftertaste Pahit

Parameter *aftertaste* pahit diuji untuk mengetahui penilaian dan tingkat kesukaan panelis terhadap rasa pahit yang tertinggal saat mencicipi minuman sari buah leunca.

Rasa pahit yang dimiliki oleh leunca disamarkan menggunakan rasa manis yang berasal dari gula (sukrosa) dan rasa asam dari berbagai jenis asam yang divariasikan.

Pengujian hedonik untuk parameter *aftertaste* pahit menunjukkan hasil yang berbeda signifikan ($p < 0,05$) di antara formulasi yang diuji. Minuman sari buah leunca dengan jenis asam belimbing wuluh dan konsentrasi gula 15% merupakan minuman dengan *aftertaste* pahit yang paling disukai oleh panelis. Hasil uji lanjut disajikan dalam Gambar 5.

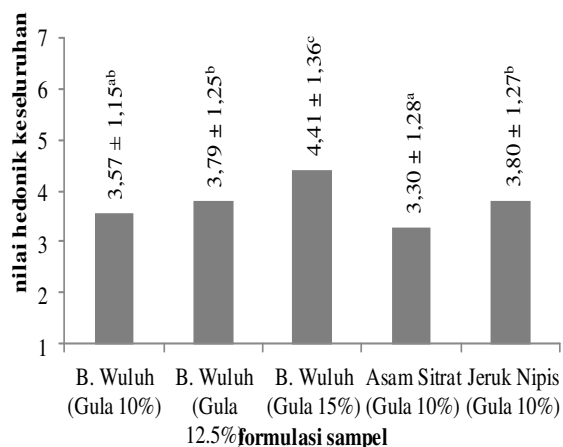


Keterangan: Notasi huruf menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$); 1=sangat tidak suka, 7=sangat suka

Gambar 5. Pengaruh formulasi sampel terhadap nilai hedonik pada parameter *aftertaste* pahit

Penerimaan Keseluruhan

Hasil uji hedonik menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$) di antara sampel pada penilaian penerimaan secara keseluruhan. Hasil uji lanjut dapat dilihat pada Gambar 6.



Keterangan: Notasi huruf menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$); 1=sangat tidak suka, 7=sangat suka

Gambar 6. Pengaruh formulasi sampel terhadap nilai hedonik pada penerimaan keseluruhan

Hasil menunjukkan bahwa minuman sari buah dengan penambahan asam dari belimbing wuluh dan penambahan gula dengan konsentrasi 15% memiliki rata-rata paling tinggi sehingga dapat dikatakan bahwa formulasi ini paling disukai oleh panelis. Formulasi tersebut yang dipilih menjadi formulasi minuman sari buah leunca terpilih. Minuman sari buah leunca inilah yang kemudian dilakukan uji penyimpanan pada penelitian tahap berikutnya.

Proksimat Minuman Sari Buah Leunca Terpilih

Analisis proksimat minuman sari buah leunca terpilih dilakukan untuk mengetahui kandungan nutrisi yang terdapat pada minuman sari buah leunca. Hasil uji proksimat dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji proksimat minuman sari buah leunca terpilih

Parameter	Jumlah
Kadar Air (%)	96,01
Kadar Abu (%)	0,97
Lemak (%)	0,43
Protein (%)	0,43
Karbohidrat <i>by difference</i> (%)	2,16
Energi (kal/100g)	22,88

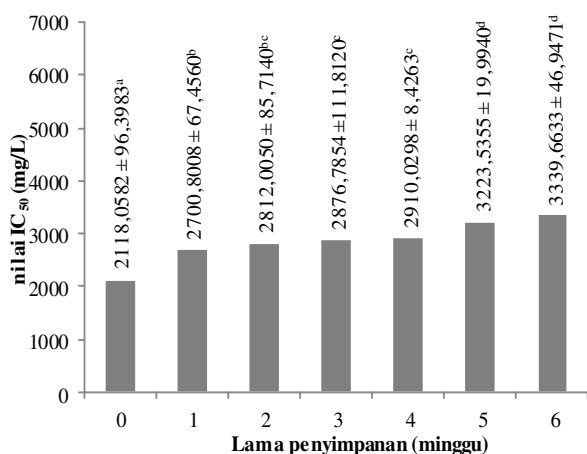
Diperoleh hasil bahwa minuman sari buah leunca dengan formulasi penambahan jenis asam belimbing wuluh dan konsentrasi gula 15% memiliki kadar air sebesar 96,01%, kadar abu sebesar 0,97%, kadar lemak dan kadar protein masing-masing sebesar 0,43%, kadar karbohidrat sebesar 2,16%, dan energi sebesar 22,88 kal/100g.

Selain uji proksimat, dilakukan juga uji penyimpanan terhadap minuman sari buah leunca dengan formulasi terpilih. Penyimpanan dilakukan pada suhu dingin (*refrigerator*) selama 6 minggu dalam wadah botol kaca bening yang steril. Selama penyimpanan, analisis dilakukan setiap minggu. Beberapa parameter utama yang diamati adalah aktivitas antioksidan, total fenolik, dan total flavonoid.

Analisis Aktivitas Antioksidan selama Penyimpanan

Berdasarkan hasil yang ditampilkan pada Gambar 7, didapatkan hasil bahwa nilai IC_{50} dari minuman selama penyimpanan mengalami kenaikan yang signifikan ($p < 0,05$).

Peningkatan nilai IC_{50} menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin menurun. Senyawa fenolik menangkalkan radikal bebas dengan cara memberikan atom hidrogen yang dimilikinya kepada senyawa radikal bebas sehingga menjadi senyawa yang stabil. Seiring berjalannya waktu penyimpanan, senyawa fenolik yang menangkalkan radikal bebas semakin habis sehingga berpengaruh pada kandungan antioksidan yang menurun (Muls, 2009; Aksoy, *et al.*, 2013).



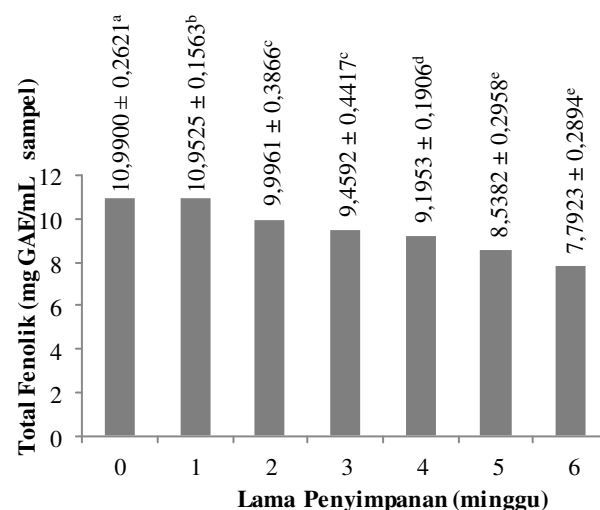
Keterangan: Notasi huruf menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)

Gambar 7. Nilai IC_{50} produk minuman sari buah leunca terpilih selama penyimpanan

Analisis Kandungan Total Fenolik selama Penyimpanan

Analisis kandungan fenolik menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Berdasarkan hasil uji ANOVA didapatkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$). Hasil uji lanjut dapat dilihat pada Gambar 8.

Selama penyimpanan terjadi penurunan total fenolik. Penurunan total fenolik terjadi karena senyawa fenolik yang terkena cahaya akan semakin kehilangan kemampuannya untuk menahan aktivitas radikal bebas hingga satu titik tertentu senyawa fenolik tersebut akan ikut teroksidasi. Hal tersebut mengakibatkan semakin menurunnya kandungan total senyawa fenolik dalam minuman sari buah leunca (Muls, 2009).



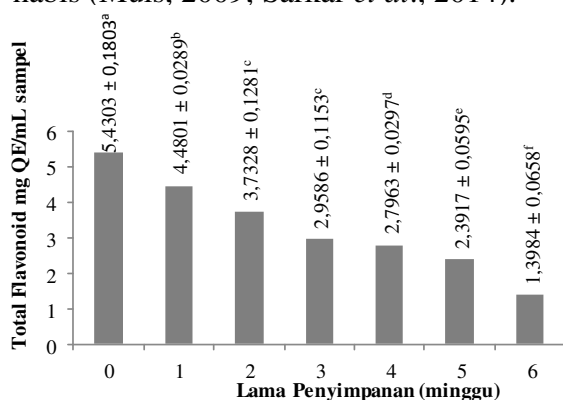
Keterangan: Notasi huruf menunjukkan adanya beda nyata ($p < 0,05$)

Gambar 8. Kandungan total fenolik pada produk minuman sari buah leunca terpilih selama penyimpanan

Kandungan Total Flavonoid selama Penyimpanan

Berdasarkan hasil uji statistik didapatkan bahwa penyimpanan memiliki pengaruh yang nyata ($p < 0,05$) terhadap kandungan total flavonoid minuman sari buah leunca. Hasil uji lanjut disajikan dalam Gambar 9.

Selama penyimpanan, kandungan flavonoid mengalami penurunan yang diakibatkan oleh semakin menurunnya jumlah senyawa flavonoid yang dapat bereaksi dengan senyawa radikal bebas. Penangkalan radikal bebas dilakukan dengan cara pemberian atom hidrogen pada senyawa radikal bebas yang kemudian menjadi stabil. Banyaknya senyawa radikal bebas yang meningkat selama penyimpanan tidak dapat ditahan karena senyawa flavonoid yang telah bereaksi dengan radikal bebas semakin habis (Muls, 2009; Sarkar *et al.*, 2014).



Keterangan: Notasi huruf menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)

Gambar 9. Kandungan total flavonoid pada produk minuman sari buah leunca terpilih selama penyimpanan

Mikrobiologi selama Penyimpanan

Analisis mikrobiologi yang dilakukan meliputi analisis Angka Lempeng Total, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus*. Jumlah angka lempeng total yang terkandung dalam minuman sari buah meningkat seiring lamanya waktu penyimpanan. Pada minggu ke-2, jumlah angka lempeng total yang ada masih masuk ke dalam batas yang ditetapkan oleh SNI yaitu maksimal $2,0 \times 10^2$ koloni/ml. Bakteri yang paling umum tumbuh dalam produk minuman sari buah adalah bakteri *Bacillus cereus*. Selain itu, kapang dan khamir juga memiliki kemungkinan untuk tumbuh pada produk minuman sari buah yang disimpan. (Aneja *et al.*, 2014). Hasil uji mikrobiologis minuman sari buah leunca selama penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 Mikrobiologi minuman sari buah leunca selama penyimpanan

Minggu ke-	TPC (CFU/ml)	<i>S. aureus</i> (CFU/ml)	Koliform (APM/ml)
0	$<2,5 \times 10^2$ ($3,2 \times 10^1$)	$<2,5 \times 10^2$ (0)	$<3,0$
1	$<2,5 \times 10^2$ ($1,1 \times 10^2$)	$<2,5 \times 10^2$ (0)	$<3,0$
2	$<2,5 \times 10^2$ ($1,7 \times 10^2$)	$<2,5 \times 10^2$ (0)	$<3,0$
3	$2,6 \times 10^2$	$<2,5 \times 10^2$ (0)	$<3,0$
4	$6,1 \times 10^2$	$<2,5 \times 10^2$ (0)	$<3,0$
5	$8,7 \times 10^2$	$<2,5 \times 10^2$ (0)	$<3,0$
6	$1,3 \times 10^3$	$<2,5 \times 10^2$ (0)	$<3,0$

Pengujian *S. aureus* dari awal penyimpanan hingga minggu akhir penyimpanan menunjukkan hasil yang sama, yaitu $<2,5 \times 10^2$ CFU/ml. Jumlah ini tidak melewati batas yang ditentukan oleh SNI sehingga minuman sari buah leunca dapat dikatakan tidak tercemar *S. aureus*. Pengujian *E. coli* juga menunjukkan hasil bahwa minuman sari buah leunca tidak tercemar *E. coli*. Dikatakan demikian karena pada tahap awal uji *E. coli* yaitu tahap pendugaan koliform, sampel menunjukkan hasil yang negatif.

Berdasarkan analisis mikrobiologi yang telah dilakukan, produk minuman sari buah leunca dapat disimpan hingga minggu ke-2. Batas yang digunakan sesuai dengan Standar Nasional Indonesia 01-3719-1995 tentang Minuman Sari Buah.

KESIMPULAN

Formulasi minuman sari buah leunca terpilih adalah minuman sari buah leunca dengan jenis asam dari belimbing wuluh dan penambahan gula 15%. Penerimaan secara keseluruhan memiliki nilai $4,41 \pm 1,36$ (netral hingga agak suka) dan nilai $IC_{50} 2118,058 \pm 96,398$ mg/L.

Selama penyimpanan, minuman sari buah leunca dengan formulasi terpilih mengalami penurunan aktivitas antioksidan, kandungan fenolik, dan kandungan flavonoid. Berdasarkan hasil uji mikrobiologi Angka Lempeng Total

(ALT) yang dilakukan, minuman sari buah leunca mengalami peningkatan jumlah pertumbuhan mikroorganisme selama penyimpanan. Pada minggu 3, minuman sari buah leunca telah dapat dikatakan rusak karena jumlah ALT yang dimiliki telah melewati batas SNI ($<2,00 \times 10^2$ koloni/ml) yaitu sebesar $2,6 \times 10^2$ CFU/ml. Dalam hal jumlah cemaran *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, minuman sari buah leunca yang disimpan masih masuk ke dalam batasan SNI.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajenifujah-Solebo, S.O. dan Aina, J. O. 2011. Physico-chemical Properties and Sensory Evaluation of Jam Made from Black-Plum Fruit (*Vitex doniana*). Food Technology Journal 11 (3): 4772-4784
- Aksoy, L., Kolay, E., Agilonu, Y., Aslan, Z. dan Kargioglu, M. 2013. Free radical scavenging activity, total phenolic content, total antioxidant status, and total oxidant status of endemic *Thermopsis turcica*. Saudi Journal of Biological Sciences 20: 235-239.
- Amin, I. dan Lee, W. Y. 2005. Effect of Different Blanching Time on Antioxidant Properties in Selected Cruciferous Vegetable. J. Sci. Food Agric. 31: 913-917.
- Aneja, K. R., Dhiman, R., Aggarwal, N. K., Kumar, V., dan Kaur, M. 2014. Microbes Associated with Freshly Prepared Juices of Citrus and Carrots. Int. Journal of Food Science 2014(2014): 1-7.
- Arulmozhi, V., Krishnaveni, M., Karthishwaran, K., Dhamodharan, G., dan Mirunalini, S. 2010.

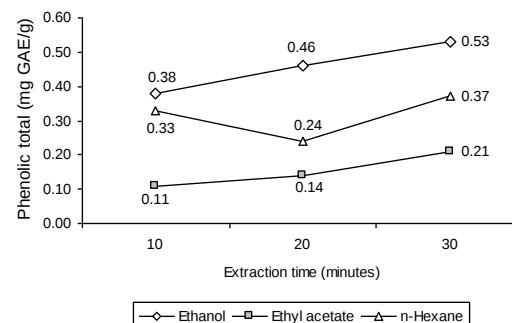
- Antioxidant and antihyperlipidemic effect of *Solanum nigrum* fruit extract on the experimental model against chronic ethanol toxicity. *Biochemistry and Biotechnology Journal* 6 (21) :42-50.
- Badan Standardisasi Nasional. 1995. SNI 01-3719-1995: Minuman Sari Buah. BSN, Jakarta.
- Badan Standardisasi Nasional. 2006. SNI 01-2332.1:2006: Cara uji mikrobiologi – Bagian 1: Penentuan *coliform* dan *Escherichia coli* pada produk perikanan. Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- Badan Standardisasi Nasional. 2011. SNI 2332.9:2011: Cara uji mikrobiologi – Bagian 9: Penentuan *Staphylococcus aureus* pada produk perikanan. Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- Bell, C., Neaves, P. dan Williams, A. P. 2005. Food Microbiology and Laboratory Practice. United Kingdom: Blackwell Publishing.
- Edmonds, J. M. dan Chweya, J. A. 1997. Black nightshade: *Solanum nigrum* L. and related species. Roma: International Plant Genetic Resources Institute,.
- Febrianti, A., Dwiyaniti, A., dan Siswaningsih, W. 2014. Pengaruh Suhu dan Lama Pemanasan Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Total Antosianin Minuman Sari Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas* L.). *J. Sains dan Teknologi Kimia* 5(2): 85-95.
- Jung, E. J., Bae, M. S., Jo, E. K., Jo, Y. H., dan Lee, S. C. 2011. Antioxidant Activity of Different Parts of Eggplant. *Journal of Medicinal Plants Research* 5: 4610-4615.
- Hartinah, B. 2012. Determination Of Optimum Blanching Temperature And Time On The Antioxidant Activity Of Black Nightshade Fruit (*Solanum nigrum* L.) using RSM. *Teknologi Pangan, Tangerang, Indonesia: Universitas Pelita Harapan, Skripsi*.
- Huang, D. J., Lin, C. D., Chen, H. J. dan Lin, Y. H. 2004. Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato constituents. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 45: 179-186.
- Koswara, S. 2006. Minuman Sari Lidah Buaya. *Jurnal Tekno Pangan & Agroindustri* 1(6) :79-81.
- Maurya, S. dan Singh, D. 2010. Quantitative analysis of total phenolic content in adhatoda vasica nees extracts. *International Journal of PhamTech Research* 2(4) : 2403-2406.
- Muls, Anton. 2009. Aktivitas Antioksidan dan Antifotooksidan Komponen Minor dari Virgin Coconut Oil. *Jurnal Riset Industri* 3(2) : 86-93.
- Sa'adah, L. I. N. dan Teti E. 2015. Karakterisasi Minuman Sari Apel Produksi Mikro dan Kecil di Kota Baru. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(2) : 374-380.
- Sarkar, S., Saha, S., Rai, C. dan Bhattacharyya, S. 2014. Effect of storage and preservatives on antioxidant status of some refrigerated fruit juices. *Int. Curr. Microbiol. App. Sci.* 3(7) :1007-1013.
- Qusti, S. Y., Abo-khatwa, A. N., dan Lahwa, M. A. 2010. Screening Of Antioxidant Activity And Phenolic Content Of Selected Food Items Cited In The Holly Quran. *EJBS* 2(1): 40-51.
- United States Department of Agriculture. 2015. *Solanum nigrum* L. Downloaded from: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?31012>

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 .doc 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 29,5 cm) dan *margin* : *top* 2,5 cm, *bottom* 2,5 cm, *left* 2.5 cm, *right* 2,0 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

No	
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 dalam [.]), **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 Judul dan 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.
 - 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 kota : Penerbit, untuk Jurnal ditulis Volume (nomor) : halaman, untuk bab dalam buku ditulis dalam nama editor (Eds), Judul buku, halaman, Kota : penerbit, untuk Prosiding ditulis dalam Nama editor (Eds), Nama prosiding, halaman, Kota : Penyelenggara Seminar, untuk Laporan ditulis Kota : lembaga pembuat laporan, untuk Thesis ditulis kota, negara : Universitas , S1/S2/S3 thesis, untuk internet ditulis diunduh alamat web, pada tgl/bulan/tahun.
 - Sitasi dalam teks : Satu penulis ditulis Nama famili, tahun; Dua penulis ditulis Nama famili dan Nama famili, tahun; lebih dari dua penulis ditulis Nama famili penulis pertama *et al.*, tahun.
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.