

BIOSENSOR pH BERBASIS ANTOSIANIN STROBERI DAN KLOROFIL DAUN SUJI SEBAGAI PENDETEKSI KEBUSUKAN *FILLET* DAGING AYAM

pH Biocensor Based Anthocyanin from Strawberry and Chlorophyll rom Suji Leaf as a Detector of Chicken Fillet Deterioration

Karina Kristanti Ekarani Rahardjo^{1*}, Simon Bambang Widjanarko¹

1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi, Email: kristanti.karina@yahoo.com

ABSTRAK

Daging ayam merupakan salah satu bahan pangan yang banyak dikonsumsi. Daging ayam menjadi salah satu penyumbang besar kasus keracunan pangan di Indonesia karena tergolong dalam *perishable food* dikarenakan kandungan air dan protein yang tinggi serta kondisi lingkungan yang cocok untuk pertumbuhan mikroorganisme. Pembuatan biosensor pH yang dikombinasikan dengan ekstrak stroberi dan daun suji dirasa dapat menjadi solusi keracunan pangan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui proporsi ekstrak stroberi dan daun suji yang tepat, sehingga dihasilkan biosensor pH yang dapat mendeteksi kebusukan *fillet* daging ayam. Penelitian ini disusun menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok dengan 1 faktor percobaan, yakni proporsi ekstrak stroberi dan ekstrak daun suji yang terdiri dari 4 level (10%:20%, 15%:15%, 20%:10%, 25%:5% (v/v_{total})). Data dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) dilanjutkan dengan uji lanjut BNT dengan selang kepercayaan 5%. Pemilihan perlakuan terbaik dilakukan dengan metode *Multiple Attribut*. Perlakuan terbaik adalah biosensor pH dengan proporsi 25%:5% (v/v_{total}).

Kata kunci: Biosensor pH, Daging Ayam, Ekstrak Stroberi, Ekstrak Daun Suji

ABSTRACT

Chicken meat is one type of food that majority consumed. Chicken meat become one of high contributor of food poisoning cases in Indonesia, because classified in perishable food due to water content, protein and suitable environmental conditions for the microbes growth. pH biocensor combined with strawberry and suji leaf extract is expected to be a solution for food poisoning cases. The purpose of this research was to know the proportion of strawberry and suji leaf extract to produce pH biocensor that able to detect chicken fillet deterioration. The research was conducted with a Randomized Block Design with 1 factor that was strawberry and suji leaf extract, consist of 4 levels (10%:20%, 15%:15%, 20%:10%, 25%:5% (v/v_{total})). The data was analyzed with Analysis of Variant (ANOVA) and continued with BNT test with 5 % interval. The best treatment was determined by Multiple Attribute method. The best treatment was pH biocensor with proportion 25%:5% (v/v_{total}).

Keywords : Chicken Meat, pH Biocensor, Strawberry Extract, Suji Leaf Extract

PENDAHULUAN

Daging ayam merupakan salah satu bahan makanan yang mayoritas dikonsumsi masyarakat Indonesia. Tingkat konsumsi daging ayam per kapita mulai tahun 2010 hingga 2011 berturut-turut adalah sebesar 3.55 kg/kapita/tahun dan 3.65 kg/kapita/tahun [1]. Daging ayam dan olahannya tergolong dalam *perishable food* karena kandungan air dan proteinnya yang tinggi yang cocok untuk pertumbuhan mikroba. Kasus keracunan setelah memakan

daging ayam di Indonesia sering dilaporkan, salah satunya warga yang dilaporkan meninggal dunia pada tahun 2004 [2].

Beberapa tahun terakhir telah diciptakan “kemasan pintar”, yakni sistem pengemasan yang mampu memberikan fungsi *intelligent* yaitu pendeteksi, perekam, komunikasi dan perasa [3]. Salah satu konsep kemasan pintar yang banyak dikembangkan adalah adanya indikator kesegaran di dalam kemasan. Beberapa jurnal yang telah menulis tentang sensor kesegaran, yakni pembuatan sensor dengan memanfaatkan pewarna indikator pH *bromocresol green* yang sensitif terhadap keberadaan volatil amin untuk mendeteksi kebusukan ikan [4], purifikasi antosianin dan aplikasinya sebagai indikator perubahan pH [5], penggabungan pigmen antosianin dan klorofil sebagai indikator perubahan pH, dimana pada pH basa akan berubah menjadi kuning [6] dan pembuatan *film* berantosianin dari kulit anggur sebagai indikator kerusakan dari daging babi beku [7].

Pada penelitian ini memanfaatkan antosianin dari ekstrak stroberi dan klorofil dari daun suji sebagai biosensor pH. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui proporsi ekstrak stroberi dan daun suji yang tepat, sehingga dihasilkan biosensor pH yang dapat mendeteksi kebusukan *fillet* daging ayam. Buah stroberi digunakan karena merupakan salah satu buah yang mengandung antosianin, sedangkan daun suji digunakan karena mengandung pigmen klorofil yang tinggi [8]. Antosianin dapat digunakan sebagai indikator pH alami. Pada media asam akan berwarna merah dan pada media basa akan berwarna biru hingga kuning. Klorofil juga mampu berubah warna seiring perubahan pH, yakni pada media asam akan berwarna kecoklatan (zaitun kusam) dan pada media basa akan berwarna hijau terang.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain tepung tapioka merk Rose Brand yang dibeli dari toko Alfamart; stroberi (*Fragaria x ananassa*) berwarna 80% merah, berdiameter 2.2–2.6 cm yang dibeli dari Pasar Besar-Malang; daun suji (*Pleomele angustifolia*) berwarna hijau tua/ 7-10 helai dibawah pucuk daun dengan diameter 2.9–3.2 cm yang diperoleh dari lahan warga perumahan Puri Indah-Sidoarjo, daging ayam *broiler* umur 40 hari yang dibeli dari Pasar Besar – Malang, CMC dan gliserol yang dibeli di C.V Makmur Sejati. Bahan analisis dengan kemurnian p.a terdiri dari HCl 0.2 (Merk), NaOH 20% (BDH) yang dibeli dari C.V Makmur Sejati dan acetone 95% yang diperoleh dari Toko Kimia Panadia. Bahan analisis dengan kemurnian teknis seperti KCl 0.2 M, asam asetat 0.2 M, Na-asetat 0.2 M, asam perklorat 6%, H₃BO₄ 3%, Na₂B₄O₇ 0.02 N, indikator fenolftalein, indikator metil merah, *plate count agar* (PCA), larutan *butterfield's phosphate buffered* dan aquades yang dibeli dari C.V Makmur Sejati serta acetone 80% yang diperoleh dari toko Krida Tama Persada. Bahan pembantu seperti kertas saring kasar, kain saring dan plastik wrap dibeli dari toko Krida Tama Persada dan stereofoam yang dibeli dari toko Jati Plastik Sidoarjo.

Alat

Alat yang digunakan untuk proses ekstraksi stroberi dan daun suji antara lain blender (Phillips), pisau dan baskom. Alat yang digunakan untuk pembuatan biosensor pH adalah pelat kaca ukuran 15x8x2 cm, pengering kabinet, gelas ukur, gelas beaker (Iwaki), pengaduk/spatula, pipet ukur (Iwaki), bola hisap (Brand), labu ukur 100 ml (Iwaki), labu ukur 10 ml (Iwaki), *magnetic stirrer*, *hot plate*, termometer, pipet tetes (Bron), statif, corong gelas, plastik mika (*polyethylene*) ukuran 15x7x1.5 cm, timbangan analitik (Denver M-310), pipet tetes, corong gelas (pyrex), erlenmeyer 250 ml (Iwaki), gelas piala, labu takar, alat distilasi uap dan timbangan analitik.

Alat yang digunakan untuk analisis TPC antara lain timbangan analitik (Denver M-310), autoclave, inkubator (Thermo-Heraeus), cawan petri, tabung reaksi, *colony counter*, blender (Phillips), batang gelas bengkok, mikropipet dan pipet tetes. Alat untuk analisis TVBN adalah blender (Phillips), buret, corong gelas, erlenmeyer (Iwaki), gelas piala, labu

takar, alat distilasi uap, timbangan analitik (Denver M-310). Alat untuk mengukur warna biosensor pH adalah *color reader* CR-10 (Minolta Co.Ltd., Jepang). Alat yang digunakan untuk analisis pH yaitu pH meter (Consort type C861). Alat yang digunakan untuk mengukur total antosianin dan total klorofil menggunakan Spektrofotometer UV-Vis (Varian type Cary 50) dan *shaker* (Barnstead). Alat untuk memisahkan endapan yakni Centrifuge (Thermo type Labofuge 200). Kulkas untuk menyimpan daging ayam.

Desain Penelitian

Penelitian ini disusun dengan menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok dengan menggunakan 1 faktor yaitu proporsi ekstrak stroberi dan ekstrak daun suji yakni 10%:20%, 15%:15%, 20%:10% dan 25%:5% (v/v total). Data dianalisis dengan menggunakan metode analisis ragam (*Analysis of Variant* atau ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji lanjut BNT dengan selang kepercayaan 5%. Pemilihan perlakuan terbaik dilakukan dengan metode *Multiple Attribut*.

Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian dilakukan dengan empat tahapan yaitu pembuatan ekstrak stroberi, pembuatan ekstrak daun suji, pembuatan biosensor pH serta aplikasi biosensor pH pada *fillet* daging ayam segar.

Metode

Analisis yang dilakukan pada bahan baku ekstrak stroberi meliputi total antosianin metode spektrofotometer [9], pH [10] dan analisis warna [11]. Analisis yang dilakukan pada bahan baku ekstrak daun suji adalah analisis total klorofil metode spektrofotometer [8], pH [10] dan analisis warna [11]

Analisis yang dilakukan pada biosensor pH meliputi analisis warna [11], total antosianin metode spektrofotometer [9] dan total klorofil metode spektrofotometer [12]. Analisis yang dilakukan setiap pengamatan meliputi analisis perubahan warna (ΔH) [13], analisis pH [14], analisis TVBN (*Total Volatile Basic-Nitrogen*) [15] dan TPC (*Total Plate Count*) [16].

Prosedur Analisis

1. Analisis Warna

Sampel disiapkan dan *Color reader* dihidupkan. Kemudian ditentukan target pembacaan L , a^* , b^* dan diukur warnanya. Lalu skala warna dibaca dengan parameter L^* untuk kecerahan (lightness) dan a^* , b^* untuk nilai kromatisitas [11]. Perubahan warna/hue dinyatakan dalam ΔH yang dapat dihitung dengan rumus [13]:

$$\Delta H = \sqrt{\Delta E^2 - \Delta L^2 - \Delta C^2}$$

Dimana: $\Delta L = L^*_{0} - L^*$

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

$$\Delta C = C^*_{0} - C^*$$

Keterangan : ΔH = perubahan warna selama waktu tertentu
 ΔE = perubahan nilai L , a , b selama waktu tertentu
 ΔL = perubahan nilai L selama waktu tertentu
 ΔC = perubahan nilai C selama waktu tertentu
 L^*_{0} = nilai L untuk sampel pada kondisi awal
 L^* = nilai L untuk sampel selama waktu tertentu
 Δa = perubahan nilai a^* selama waktu tertentu
 Δb = perubahan nilai b^* selama waktu tertentu
 C^* = nilai saturasi sampel selama waktu tertentu
 C^*_{0} = nilai saturasi pada kondisi awal

2. Analisis pH

a. Sampel cair [10]

Elektroda pH meter dicelupkan dalam larutan buffer pH 4.0. Suhu pada pH meter disamakan dengan suhu kamar. Kemudian tombol ditekan dan disamakan dengan larutan buffer pH 4.0. Dilakukan perlakuan yang sama untuk larutan buffer pH 7.0. Setelah selesai, tombol dimatikan dan elektroda pH meter dicelupkan dalam sample dan dibaca nilainya.

b. Sampel padat [14]

Sampel (daging ayam) ditimbang sebanyak 5 gram. Kemudian ditambah 45 ml aquades. Lalu sampel dihaluskan menggunakan blender. Sampel yang telah halus kemudian disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh diukur pH nya.

3. Analisis Total Antosianin Metode Spektrofotometer [9]

a. Preparasi sampel padat

Sampel dihancurkan kemudian ditimbang sebanyak 20 g. Kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 ml, kemudian diekstrak dengan menambahkan pelarut HCl 1% dalam metanol sampai tanda batas. Sampel diekstrak dan dihomogenkan selama 4 jam dalam *shaker*. Setelah itu, disaring dengan menggunakan kertas saring wathmant no 1. Filtrat yang didapat kemudian disentrifuse selama 10 menit pada putaran angka 7 (3850 rpm).

b. Preparasi sampel cair

Hasil preparasi sampel (filtrat) dipipet sebanyak 1 ml dan dimasukkan dalam labu ukur 10 ml, kemudian diencerkan dengan menggunakan larutan buffer pH 1.0 sampai tanda batas. Kemudian diambil 1 ml larutan hasil preparasi dan dimasukkan dalam labu ukur 10 ml, lalu diencerkan dengan menggunakan larutan buffer pH 4.5 sampai tanda batas. Kemudian diukur absorbansi tiap sampel pada λ maks dan λ 700 nm. Absorbansi dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$A = (A_{\lambda_{\max}} - A_{\lambda_{700 \text{ nm}}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{\lambda_{\max}} - A_{\lambda_{700 \text{ nm}}})_{\text{pH } 4,5}$$

Kemudian total antosianin dihitung dengan rumus :

$$\text{Total antosianin (mg/L)} = \frac{(A \times \text{BM} \times \text{FP} \times 1000)}{\epsilon \times 1}$$

Keterangan: ϵ = koefisien absorpsivitas = 26900 L/mol dinyatakan sebagai *Cyanidin-3-glukoside*

BM (Berat Molekul) *Cyanidin-3-glukoside* = 449.2

FP = Faktor Pengenceran

1 = lebar kuvet (1 cm)

λ_{\max} = menunjukkan serapan paling tinggi pada sampel

$\lambda_{700 \text{ nm}}$ = menunjukkan serapan *Cyanidin-3-glukoside*

4. Analisis Total Klorofil Metode Spektrofotometer

a. Sampel Cair [8]

Sebanyak 1.5 ml ekstrak (daun suji) dicampur dengan 8.5 ml acetone 99.5%. Kemudian dibiarkan selama 1 malam di dalam kulkas. Campuran disentrifuse 5000 rpm selama 5 menit. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 645 nm (klorofil a) dan 663 nm (klorofil b) atau 652 nm (klorofil total). Kadar klorofil dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar (mg/l)} = 20.2 (A_{645 \text{ nm}}) + 8.02 (A_{663 \text{ nm}})$$

atau

$$\text{Kadar (mg/l)} = \frac{1000 \times A_{652 \text{ nm}}}{34.5}$$

b. Sampel Padat [12]

Sampel ditimbang sebanyak 2 g. Lalu ditambahkan dengan aseton 80% sebanyak 8 ml. Setelah itu sampel disentrifugasi selama 20 menit. Sampel kemudian disaring menggunakan kertas saring. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 663 nm dan 645 nm. Kadar klorofil dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar (mg/l)} = 20.2 (A_{645 \text{ nm}}) + 8.02 (A_{663 \text{ nm}})$$

5. Analisis TPC (Total Plate Count) [16]

Sampel ditimbang sebanyak 25 g, kemudian dimasukkan dalam wadah steril. Kemudian ditambahkan 225 ml larutan *butterfield's phosphate buffered* lalu dihomogenkan selama 2 menit. Homogenat ini merupakan larutan pengenceran 10^{-1} . Lalu homogenat diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam 9 ml larutan *butterfield's phosphate buffered* untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} . Dilakukan pengocokan minimal 25 kali pada setiap pengenceran. Lakukan hal yang sama untuk pengenceran 10^{-3} dst (sesuai kondisi sampel). Kemudian pipet sebanyak 1 ml dari pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , dst lalu masukkan ke dalam cawan petri steril. Lakukan secara duplo untuk setiap pengenceran. Tambahkan 12-15 ml PCA yang sudah didinginkan hingga mencapai suhu $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ke dalam masing-masing cawan yang sudah berisi sampel. Setelah agar menjadi padat, dilakukan inkubasi pada cawan-cawan tersebut dalam posisi terbalik dalam inkubator selama 48 jam \pm 2 jam pada suhu 22°C . Dilakukan penghitungan koloni setelah inkubasi selesai (25-250 koloni) dengan rumus :

$$N = \frac{\sum c}{[(1 \times n_1) + (0.1 \times n_2)] \times (d)}$$

Keterangan : N = jumlah koloni pada sampel (koloni/ml atau koloni/g)

$\sum c$ = jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung

n_1 = jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung

n_2 = jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung

d = pengenceran pertama yang dihitung

6. Analisis TVBN (Total Volatile Basic Nitrogen) [15]

Sampel ditimbang sebanyak 10 g \pm 0.1 g. Kemudian ditambahkan 90 ml asam perklorat 6%. Sampel dihomogenkan selama 2 menit. Sampel disaring menggunakan kertas saring kasar dan didapatkan ekstrak (filtrat). Setelah itu ekstrak sebanyak 50 ml dimasukkan ke tabung destilasi. Kemudian ditambahkan beberapa tetes indikator *Fenolftalein* dan beberapa tetes silikon anti-foaming. Pasangkan tabung destilasi pada peralatan destilasi uap, lalu ditambahkan 10 ml NaOH 20%. Siapkan penampung erlenmeyer yang berisi 100 ml H_3BO_4 3% dan 3-5 tetes indikator Tashiro. Kemudian lakukan destilasi uap kurang lebih 10 menit sampai memperoleh distilat 100 ml sehingga pada volume akhir terdapat kurang lebih 200 ml larutan berwarna hijau. Lakukan destilasi larutan blanko dengan mengganti ekstrak sampel dengan 50 ml PCA 6%, pengerjaan selanjutnya sama dengan contoh. Lakukan titrasi terhadap distilat sampel dan blanko dengan menggunakan larutan HCl 0.02 N. Titik akhir titrasi ditandai dengan terbentuknya kembali warna ungu. Kadar TVBN dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Kadar TVB-N (mg/100 g)} = \frac{(V_c - V_b) \times N \times 14.007 \times 2 \times 100}{W}$$

Keterangan : V_c = volume larutan HCl pada titrasi sampel

V_b = volume larutan HCl pada titrasi blanko

N = normalitas larutan HCl

W = berat sampel (g)

14.007 = berat atom nitrogen

1 = faktor pengenceran

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Karakteristik Bahan Baku

Karakteristik buah stroberi dan daun suji yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan hasil analisis, diperoleh nilai antosianin dari buah stroberi sebesar 155.06 mg/L. Menurut beberapa penelitian, total antosianin buah stroberi berkisar

antara 143.4 – 385.1 mg/L [17]. Total antosianin pada buah akan berubah seiring dengan tingkat kematangannya. Daun suji yang digunakan dalam penelitian ini memiliki nilai total klorofil sebesar 18.92 mg/g. Hasil penelitian tersebut lebih tinggi bila dibandingkan dengan hasil penelitian terdahulu dimana total klorofil berkisar antara 5.07-13.77 mg/g [18]. Adanya perbedaan nilai antara keduanya, dapat disebabkan karena perbedaan spesies dari daun suji yang digunakan dalam penelitian serta umur daun suji. Berdasarkan faktor umur tanaman, dikatakan bahwa semakin tua umur tanaman maka akan menghasilkan kandungan klorofil yang tinggi [19].

Tabel 1. Karakteristik Fisik dan Kimia Ekstrak Stroberi dan Ekstrak Daun Suji

No.	Parameter	Hasil Analisis	
		Stroberi	Daun Suji
1	Total Antosianin (mg/L)	155.06	-
2	Total Klorofil (mg/g)	-	18.92
3	pH	2.91	5.39
4	Kecerahan (L)	25.8	28.27
5	Kemerahan (a)	18.7	6.35
6	Kekuningan (b)	15.8	24.87

2. Karakteristik Fisik Biosensor pH

Nilai rerata warna biosensor pH akibat berbagai perlakuan proporsi ekstrak stroberi dan daun suji disajikan dalam Tabel 2. Proporsi ekstrak stroberi dan daun suji berpengaruh terhadap tingkat kemerahan dan kekuningan dari biosensor pH.

Tabel 2. Rerata Warna (L,a+,b+) Biosensor pH Akibat Perlakuan Proporsi Ekstrak Stroberi dan Ekstrak Daun Suji

Proporsi Ekstrak Stroberi : Ekstrak Daun Suji (%) (v/v _{total})	Kecerahan (L)	Kemerahan (a+)	Kekuningan (b+)
10 : 20	43.60	21.52 a	36.72 c
15 : 15	46.97	24.00 a	35.27 b
20 : 10	48.02	29.62 b	32.57 ab
25 : 5	46.45	32.47 b	31.35 a
BNT 5%	-	4.21	3.83

Keterangan : 1. Setiap data merupakan rerata dari 4 ulangan, 2. Angka yang didampingi huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p < 0.05$)

Tingkat kecerahan warna dari biosensor pH sangat dipengaruhi oleh faktor penambahan ekstrak stroberi dan ekstrak daun suji, dimana semakin banyak ekstrak stroberi dan daun suji yang ditambahkan akan menghasilkan nilai kecerahan yang rendah. Penurunan nilai kecerahan tersebut, disebabkan karena akumulasi dari keberadaan senyawa pigmen alami yaitu antosianin dari buah stroberi dan klorofil yang berasal dari daun suji.

Pada Tabel 2, dapat dilihat bahwa tingkat kemerahan dari biosensor pH dipengaruhi oleh jumlah penambahan ekstrak stroberi. Hal ini disebabkan karena buah stroberi memiliki warna merah sebagai akibat dari keberadaan pigmen antosianin pada sari buah stroberi. Terlihat pula bahwa nilai kekuningan dari biosensor pH sangat dipengaruhi oleh faktor penambahan ekstrak daun suji. Peningkatan konsentrasi ekstrak daun suji yang ditambahkan ke dalam suspensi biosensor pH, akan meningkatkan nilai kekuningan dari biosensor pH. Hal ini disebabkan karena keberadaan pigmen klorofil yang terkandung dalam daun suji terutama klorofil b yang berwarna hijau kekuningan [20], adanya pencampuran antara klorofil dengan antosianin sehingga intensitas warna kuning meningkat serta adanya pemanasan saat pembuatan biosensor pH sehingga terjadi degradasi warna dari klorofil [21].

3. Karakteristik Kimia Biosensor pH

Tabel 3. Rerata Total Antosianin dan Total Klorofil Biosensor pH Akibat Konsentrasi Ekstrak Stroberi dan Ekstrak Daun Suji

Proporsi Ekstrak Stroberi : Ekstrak Daun Suji (%) (v/v _{total})	Rerata Total Antosianin (mg/L)	Rerata Total Klorofil (mg/g)
	10 : 20	4.31 a
15 : 15	9.22 b	1.94
20 : 10	11.91 c	1.28
25 : 5	16.46 d	0.96
BNT 5%	2.53	-

Keterangan : 1. Setiap data merupakan rerata dari 4 ulangan, 2. Angka yang didampingi huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p < 0.05$)

Proporsi ekstrak stroberi dan daun suji berpengaruh terhadap total antosianin dari biosensor pH. Pada Tabel 3, dapat terlihat bahwa rerata total antosianin akan terus meningkat seiring dengan penambahan ekstrak stroberi. Antosianin dapat digunakan sebagai indikator perubahan pH pada produk pangan karena adanya beberapa senyawa penyusun seperti kation flavilium yang mempunyai respon yang baik terhadap perubahan pH [22]. Pada Tabel 3, terlihat bahwa semakin banyak penambahan ekstrak daun suji, maka akan semakin tinggi pula total klorofil yang terkandung dalam biosensor pH. Klorofil dapat berubah warna seiring dengan perubahan pH lingkungan. Pada pH asam, atom Mg akan diganti dengan atom H sehingga terbentuk senyawa yang disebut feofitin yang berwarna zaitun kusam (kecoklatan). Sedangkan pada pH basa akan terbentuk senyawa klorofilin yang berwarna hijau terang [20]. Adanya kandungan pigmen klorofil dan antosianin dalam biosensor pH biosensor pH tersebut diharapkan dapat berperan sebagai pendeteksi adanya perubahan pH bahan pangan.

4. Pengaplikasian Biosensor pH pada *Fillet Daging Ayam*

Perubahan Warna/Hue dari biosensor pH disetiap pengamatan dapat disajikan pada Tabel 4. Proporsi ekstrak stroberi dan daun suji berpengaruh terhadap perubahan warna dari biosensor pH pada tiap hari pengamatan.

Tabel 4. Perubahan Warna/Hue (ΔH) Biosensor pH

Proporsi Ekstrak Stroberi : Ekstrak Daun Suji (%) (v/v _{total})	Perubahan Warna/Hue (ΔH) hari ke-			
	0	4	8	12
10:20	0	4.32 b	4.42 b	5.42 a
15:15	0	4.79 b	6.19 c	6.19 a
20:10	0	2.01 a	3.86 a	7.96 b
25:5	0	2.35 a	5.78 bc	12.00 c
BNT 5%	-	1.79	1.55	1.33

Keterangan : 1. Setiap data merupakan rerata dari 4 ulangan, 2. Angka yang didampingi huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p < 0.05$)

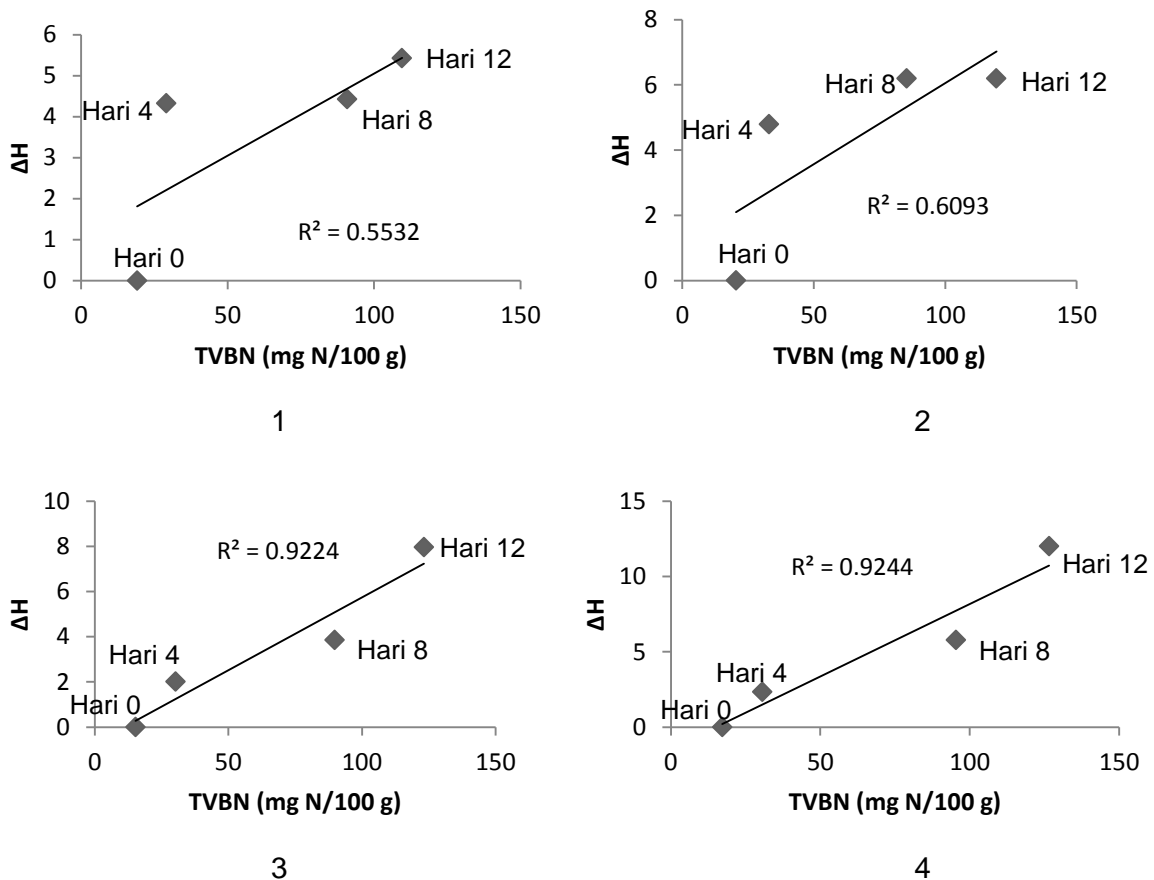
Berdasarkan Tabel 4, dapat dilihat bahwa pada semua perlakuan mengalami peningkatan perubahan warna seiring lama penyimpanan. Perubahan ΔH pada biosensor tersebut, disebabkan karena meningkatnya pH pada daging ayam akibat adanya komponen basa-basa volatil yang dihasilkan. Secara visual, pada hari ke-12 biosensor pH dengan proporsi 25%:5% akan tampak berwarna hijau kekuningan. Perubahan warna ini disebabkan karena terjadi reaksi hidrasi dari kation flavilium dan reaksi transfer proton pada grup hidroksil asam menjadi senyawa basa quinoidal yang berwarna biru, serta degradasi warna dari klorofil membentuk senyawa klorofilin yang berwarna hijau terang. Pada pH basa,

antosianin akan berwarna biru yang akan berasosiasi dengan warna hijau dari klorofil dan menghasilkan warna akhir kuning [6]. Sedangkan pada biosensor pH dengan proporsi 10%:20% dan 15%:15%, akan tampak berwarna hijau terang. Pada proporsi 20%:10%, biosensor pH berwarna sedikit kekuningan.

5. Hubungan Perubahan Warna (ΔH) Biosensor Terhadap Parameter Daging Ayam Selama Penyimpanan

5.1. Perubahan Warna (ΔH) Biosensor dan TVBN (*Total Volatile Basic Nitrogen*)

TVBN merupakan komponen gabungan dari beberapa komponen volatil amin seperti trimetilamin (TMA), amonia (NH_3) dan dimetilamin (DMA) dan senyawa TVBN tersebut bersifat basa [23].



Keterangan : Gambar 1. Perubahan Warna (ΔH) Biosensor 10%:20% terhadap Kadar TVBN Daging Ayam. Gambar 2. Perubahan Warna (ΔH) Biosensor 15%:15% terhadap Kadar TVBN Daging Ayam. Gambar 3. Perubahan Warna (ΔH) Biosensor 20%:10% terhadap Kadar TVBN Daging Ayam. Gambar 4. Perubahan Warna (ΔH) Biosensor 25%:5% terhadap Kadar TVBN Daging Ayam

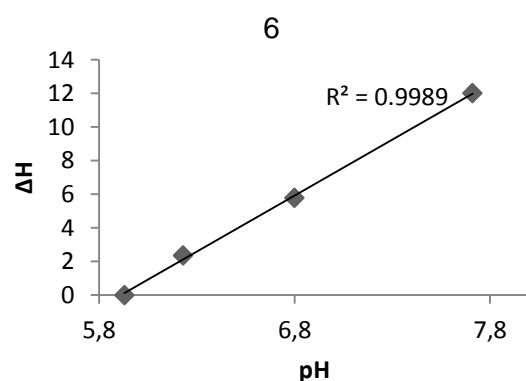
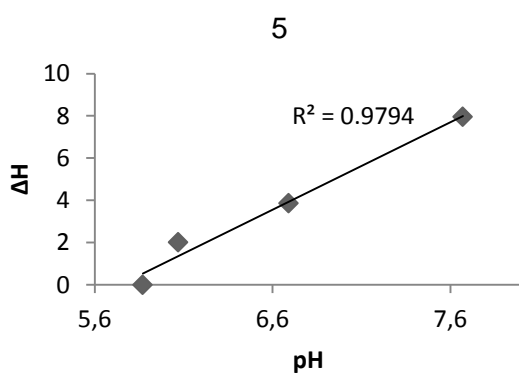
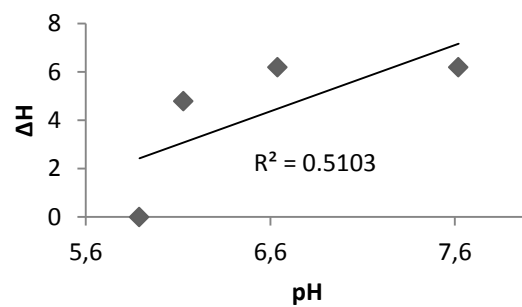
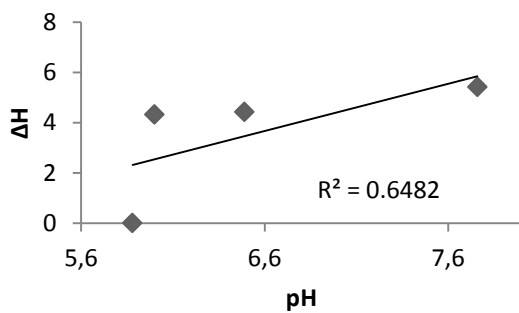
Dari gambar diatas, terlihat bahwa nilai TVBN awal masih dibawah batas maksimal yakni 30 mg N/100 g yang mengindikasikan bahwa daging memiliki kualitas yang masih baik [24]. Gambar 1 menunjukkan korelasi antara perubahan warna (ΔH) biosensor 10%:20% dengan kadar TVBN daging ayam yang bernilai 0.5532. Nilai ini menunjukkan hubungan antara perubahan warna (ΔH) dengan kadar TVBN berkorelasi positif. Gambar 2 menunjukkan hubungan perubahan warna biosensor 15%:15% dengan perubahan kadar TVBN daging ayam yang bernilai 0.6093. Nilai ini menunjukkan korelasi positif antara perubahan warna (ΔH) dengan kadar TVBN dan korelasi yang terjadi adalah linear. Pada

Gambar 3 dapat dilihat bahwa perubahan warna biosensor 20%:10% dan kadar TVBN memiliki hubungan yang erat, dengan nilai korelasi (R^2) sebesar 0.9224. Bila dibandingkan dengan biosensor 10%:20% dan 15%:15%, perubahan warna yang terjadi pada biosensor 20%:10% lebih terlihat jelas. Gambar 4 menunjukkan grafik hubungan perubahan warna biosensor 25%:5% dengan perubahan kadar TVBN daging ayam dengan nilai korelasi sebesar 0.9224. Nilai ini menunjukkan hubungan yang erat antara perubahan warna (ΔH) dengan kadar TVBN dan korelasi yang terjadi adalah linear. Bila dibandingkan dengan ketiga biosensor lainnya, perubahan warna yang terjadi pada biosensor 25%:5% paling terlihat jelas.

Terjadinya korelasi yang linear menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar TVBN yang terdapat dalam daging ayam, maka semakin tinggi pula perubahan warna yang terjadi pada biosensor. Peningkatan nilai TVBN disebabkan karena terjadi dekarboksilasi enzimatis dari asam amino yang berkaitan dengan aktivitas enzim yang dihasilkan mikroba. Dekarboksilasi asam amino akan menghasilkan senyawa-senyawa volatil amin seperti trimetilamin (TMA), dimetilamin (DMA) dan amonia (NH_3) [25] [26].

5.2 Perubahan Warna (ΔH) Biosensor dan pH

pH jaringan banyak digunakan untuk memonitor umur simpan dari daging [27] [28]. pH merupakan parameter yang paling penting pada penelitian ini karena pH menjadi tolok ukur tingkat kerusakan dari daging ayam terkait dengan adanya kemasan pintar. pH daging ayam akan mengalami peningkatan selama waktu penyimpanan. Daging ayam yang sudah tidak layak konsumsi memiliki nilai pH > 6.7 [29].



Keterangan : Gambar 5. Grafik Hubungan Perubahan Warna (ΔH) Biosensor 10%:20% dan pH Daging Ayam. Gambar 6. Grafik Hubungan Perubahan Warna (ΔH) Biosensor 15%:15% dan pH Daging Ayam. Gambar 7. Grafik Hubungan Perubahan Warna (ΔH) Biosensor 20%:10% dan pH Daging Ayam. Gambar 8. Grafik Hubungan Perubahan Warna (ΔH) Biosensor 25%:5% dan pH Daging Ayam

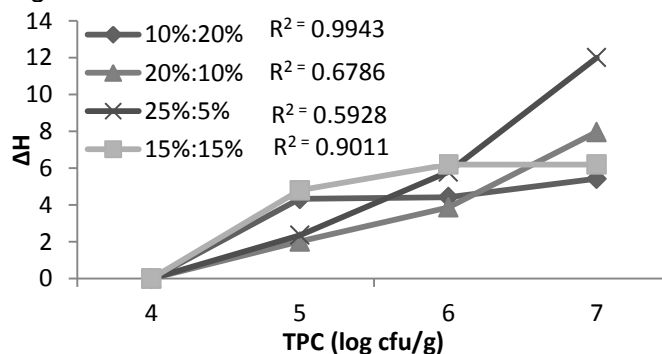
Kisaran perubahan warna (ΔH) biosensor 10%:20% antara 0–5.42 dimana terjadi perubahan warna dari hijau (asam-netral) menjadi hijau terang (basa). Gambar 5 menunjukkan kecenderungan peningkatan nilai ΔH seiring dengan meningkatnya pH daging ayam. Nilai korelasi antara perubahan warna (ΔH) biosensor 10%:20% dan pH daging ayam cukup signifikan yakni 0.6482. Indikator secara kolorimetri merespon adanya senyawa basa volatil yang dihasilkan dari dekomposisi protein pada produk pangan dengan sistem perubahan pH [30]. Perubahan warna biosensor 15%:15% dan perubahan pH daging ayam selama penyimpanan mempunyai nilai korelasi yang cukup kuat yakni 0.5103 (Gambar 6), dimana korelasinya bersifat linear. Semakin tinggi nilai pH daging ayam, maka semakin besar pula perubahan warna yang terjadi pada biosensor 15%:15%. Perubahan warna yang terjadi pada biosensor dengan proporsi 15%:15% adalah dari hijau menjadi hijau terang.

Gambar 7 menunjukkan nilai korelasi yang sangat erat antara perubahan warna (ΔH) biosensor 20%:10% dan pH daging ayam, dengan nilai korelasi (R^2) sebesar 0.9794. Perubahan warna yang terjadi pada biosensor 20%:10% adalah dari merah hingga kekuningan. Gambar 8 menunjukkan nilai korelasi yang sangat erat antara perubahan warna (ΔH) biosensor 25%:5% dan pH daging ayam, dengan nilai korelasi (R^2) sebesar 0.9989. Semakin tinggi nilai pH daging, maka perubahan warna yang terjadi pada biosensor juga semakin besar. Perubahan warna yang terjadi pada biosensor dengan proporsi 25%:5% adalah dari merah tua menjadi hijau kekuningan. Perubahan warna pada biosensor 25%:5% dapat teramati paling jelas bila dibandingkan dengan ketiga biosensor yang lainnya.

5.3 Perubahan Warna (ΔH) Biosensor dan TPC

Salah satu metode untuk melihat kesegaran daging ayam adalah dengan analisis total mikroorganisme (TPC). Semakin lama penyimpanan, maka semakin tinggi pula jumlah mikroorganisme yang tumbuh pada daging ayam. Batas maksimum cemaran mikroba yaitu 1×10^6 cfu/g atau 6 log cfu/g [31] [32].

Gambar 9 menunjukkan koefisien korelasi antara perubahan warna dan nilai TPC masing-masing biosensor. Dari gambar tersebut, menunjukkan bahwa terjadi korelasi yang cukup erat antara perubahan warna pada biosensor dan nilai TPC daging ayam. Dimana semakin besar perubahan warna yang terjadi pada biosensor, maka nilai TPC daging ayam juga semakin meningkat.

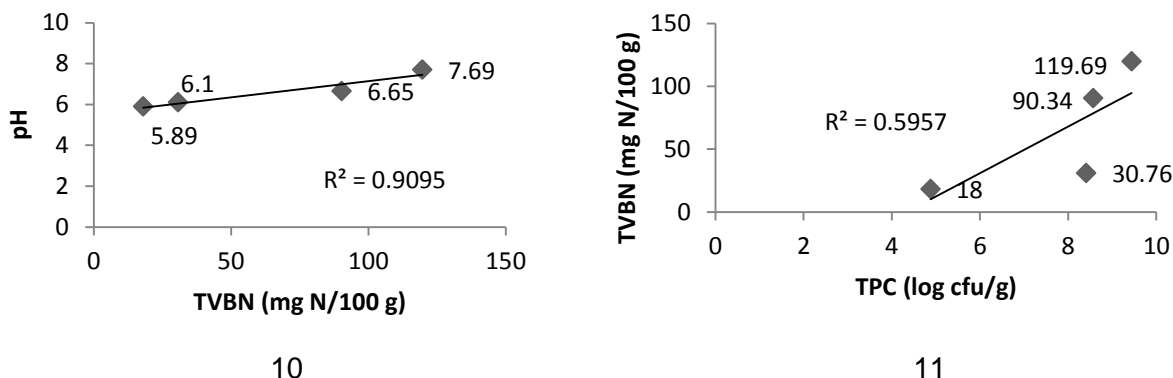


Gambar 9. Hubungan Perubahan Warna Biosensor dan TPC Daging Ayam Selama Penyimpanan

6. Korelasi Antar Parameter Uji Daging Ayam

Salah satu dampak dari meningkatnya kadar TVBN adalah meningkatnya pH produk. Gambar 10 menyajikan data korelasi antar kedua parameter adalah linear dengan koefisien korelasi (R^2) sebesar 0.9095. Semakin tinggi kadar TVBN maka semakin tinggi pula pH daging ayam. Hal ini disebabkan karena TVBN merupakan senyawa volatil yang bersifat basa sehingga dapat meningkatkan pH daging ayam. Dari Gambar 11 menunjukkan bahwa semakin lama penyimpanan maka kadar TVBN daging ayam akan semakin meningkat. Hal ini diduga karena semakin meningkatnya jumlah mikroba psikrofilik yang tumbuh. Koefisien korelasi kedua parameter sebesar 0.5957. Hal tersebut diartikan sebagai terdapat pengaruh antara nilai TPC dalam meningkatkan kadar TVBN sebesar 59%. Hal ini disebabkan karena

mikroba yang tumbuh pada daging ayam bersifat psikrofilik dan mampu menguraikan komponen gizi menjadi senyawa yang berbau busuk. Kadar TVBN meningkat sebagai hasil metabolisme dari bakteri. Selama penyimpanan, bakteri akan tumbuh dan menghasilkan perubahan kimia dan sensori pada daging ayam [4].



Keterangan : Gambar 10. Grafik Hubungan antara kadar TVBN dan pH Daging Ayam Selama Penyimpanan. Gambar 11. Grafik Hubungan antara kadar TVBN dan TPC Daging Ayam Selama Penyimpanan

SIMPULAN

Perlakuan terbaik sesuai perhitungan metode *multiple attribute* adalah biosensor pH dengan proporsi ekstrak 25%:5% (v/v total). Karakteristik biosensor perlakuan terbaik yaitu derajat kecerahan (L) 46.5; kemerahan (a) 32.5; kekuningan (b) 31.4; total antosianin 16.5 mg/L; total klorofil 1 mg/g; ΔH hari ke-0 sebesar 0; ΔH hari ke-4 sebesar 2.4; ΔH hari ke-8 sebesar 5.8; ΔH hari ke-12 sebesar 12.

DAFTAR PUSTAKA

- 1) Badan Pusat Statistik. 2011. Konsumsi Daging Menurut Jenis Daging dan Daging Olah Per Kapita. <http://www.bps.go.id>. Tanggal akses: 30/9/ 2013.
- 2) Astro, Joy. 2004. Warga Pasuruan Meninggal Setelah Makan Daging Ayam. . <http://news.liputan6.com/read/72444/warga-pasuruan-meninggal-setelah-makan-daging-ayam>. Tanggal akses: 29/9/2013.
- 3) Otles, S. and Buket, Y. 2008. Intelligent Food Packaging. *Logforum* 4:3, 1-9
- 4) Pacquit A, Lau KT, McLaughlin H, Frisby J, Quilty B and Diamond D. 2007. Development of a Smart Packaging for the Monitoring of Fish Spoilage. *Journal Food Chemistry* 102, 466-470
- 5) Bondre, Sushma, Patil, Pallavi, Kulkarni, Amaraja, Pillai, M. M. 2012. Study on Isolation and Purification of Anthocyanins and Its Application as pH Indicator. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research* 3:3, 698-702
- 6) Attarian, Ana.C, Veiga-Santos,P., Citchfield, C., Parra, D.F., Lugao, A.B., Tadini, Carmen C. 2006. Investigation of Natural Additives as pH Indicators for Cassava Starch Biobased Materials. 2006 CIGR Section VI International Symposium Food of Future Engineering, Warsaw,Poland
- 7) Golasz, Luana Baptista, Silva, J., Silva, Suse.B. 2013. Film with Anthocyanins As an Indicator of Chilled Pork Deterioration. *Cienc. Tecnol Aliment Campinas* 33:1, 155-163
- 8) Prangdimurti, Endang, Muchtadi D., Astawan M., Zakharia, Fransiska .R. 2006. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Suji* (*Pleomele angustifolia N.E. Brown*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan XVII*: 2
- 9) Giusti, M.M. dan R.E. Wrolstad. 2001. Characterization and Measurement of Antocyanins by UV-Visible Spectroscopy. Oregon State University. Available online at : <http://does.org/masterli/facsample.htm-37k>. Tanggal akses: 25/10/2013.

- 10) Apriyantono; Fardiaz, D; Puspitasari N; Sedanamati, Budianto, S. 1997. Petunjuk Laboratorium, Analisis Pangan. Pusat Antar Universitas, IPB. Bogor
- 11) Yuwono, S.S. dan Susanto, T., 1998. Pengujian Fisik Pangan. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang
- 12) Porrarud, S. and Pranee, A. 2010. Microencapsulation of Zn-Chlorophyll Pigment from Pandan Leaf by Spray Drying And Its Characteristic. *International Food Research Journal* 17, 1031-1042
- 13) HunterLab Association Laboratory. 2008. Colorimeters Versus Spectrophotometers. Technical Services Department Hunter Associates Laboratory, Inc. Virginia
- 14) Bintoro, V.P. 2006. Teknologi Pengolahan Daging dan Analisis Produk. Badan Penerbit Universitas Diponegoro. Semarang
- 15) Badan Standardisasi Nasional. 2009. Penentuan Kadar Total Volatil Base Nitrogen (TVB-N) dan Trimetil Amin Nitrogen (SNI 2354.8:2009). Dewan Standardisasi Nasional. Jakarta
- 16) Badan Standardisasi Nasional. 2006. Cara Uji Mikrobiologi – Bagian 3: Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) (SNI 01-2332.3-2006). Dewan Standardisasi Nasional. Jakarta
- 17) Wang, Shiow.Y and Lin, H.S. 2000. Antioxidant Activity in Fruit and Leaves of Blackberry, Raspberry and Strawberry Varies with Cultivar and Developmental Stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 140-146
- 18) Dewa, Nyoman. 2005. Uji Stabilitas Zat Pewarna Daun Suji dalam Pembuatan Bubuk Ekstrak Daun Suji. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang
- 19) Setiari, N dan Nurchayati, Y. 2009. Eksplorasi Kandungan Klorofil pada Beberapa Sayuran Hijau Sebagai Alternatif Bahan Dasar Food Supplement. *Bioma* 11:1, 6-10
- 20) Prasetyo, Susiana dan Henny, Sunjaya. 2012. Pengaruh Rasio Massa Daun Suji dan Pelarut, Temperatur dan Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Klorofil Daun Suji Secara Batch dengan Pengontakan Dispersi. Disertasi. Universitas Katolik Parahyangan. Bandung
- 21) Harborne, J.B. 1996. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Terbitan kedua. ITB. Bandung
- 22) Vargas, F. D and Lopez, O. P. 2003. Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses. CRC Press. USA
- 23) Food Hygiene European Legislation. 1995. Fisheries Product. Official Journal L 097, 84
- 24) Egyptian Standard. 2005. Egyptian Standards of Chicken and Turkey Meat Products-2910. Egyptian Organization for Standardization and Quality Control
- 25) Pearson, D., 1991. The Chemical Analysis of Food. Churchill. London
- 26) Ruiz-Capillas, C. And Jimenez-Colmenero, F. 2004. Biogenic Amines in Meat and in Meat Product. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 44, 489-499
- 27) Muela, E. 2010. Effect of Freezing Method and Frozen Storage Duration on Instrumental Quality of Lamb Throughout Display. *Journal Meat Science* 84:4, 662-669
- 28) Sweetie, R.K. 2010. Shelf-life Extension of Convenience Meat Products Sold in Indian Supermarkets by Radiation Processing. *Journal Radiation Physics and Chemistry* 79:12, 1259-1263
- 29) Elena, Surmei and Usturoi, M.G. 2012. Studies On Freshness of Refrigerated Poultry Meat. *Fascucula: Ecotoxicologie Zootehnie si Tehnologii de Industrie Alimentara*
- 30) Miller, D.W. 2006. Food Quality Indicator Device. <http://freepatentsonline.com>. Tanggal akses: 11/3/2014.
- 31) Badan Standardisasi Nasional. 2009. Standar Mutu Karkas dan Daging Ayam. Hasil Revisi Dewan Standardisasi Nasional (SNI 3924:2009). Dewan Standardisasi Nasional. Jakarta
- 32) Pascual, A. M. and Calderón, P. V. 2000. Microbiología Alimentaria: Metodología Analítica Para Alimentos Y Bebidas. Díaz de Santos S.A. Madrid