

## PENAPISAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBINASI YOGURT DAN JUS TOMAT DIBANDINGKAN VITAMIN C

NAILATUL HIDAYAH\*, DJOKO AGUS PURWANTO\*\*, ISNAENI\*\*

\*Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

\*\*Dosen Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

Kampus B UNAIR Jalan Dharmawangsa Dalam Surabaya 60286, Telp. 031-5033710

Email: [nailatulhidayah@rocketmail.com](mailto:nailatulhidayah@rocketmail.com)

### ABSTRACT

*The aim of this study is to obtain an optimal combination of yogurt and tomato juice with maximum antioxidant activity by determining  $IC_{50}$  antioxidant properties of yogurt and tomato juice combinations (1:9, 2:8, 4: 6, 5: 5, 6: 4 (b/b)) acetone 80% extracts using the DPPH method and compare with  $IC_{50}$  antioxidant activity of vitamin C. Antioxidant activity assay by DPPH method performed spectrophotometrically by measuring the decrease in absorbance of DPPH after 60 minutes. To find the combination of tomato yogurt that has maximum antioxidant activity used one-way ANOVA statistical analysis. From the observation, the  $IC_{50}$  values of tomato juice was  $7.22 \times 10^3$  ppm and equivalent to 180.3771 mg of dissolved solids. The  $IC_{50}$  value of tomato yogurt 1:9 was not determined because it was out of the compatibility requirement. The  $IC_{50}$  value of tomato yogurt 2:8 could not reach  $IC_{50}$  value and  $IC_{50}$  values of tomato yogurt 4: 6, 5: 5, and 6: 4 respectively  $1.41 \times 10^4$  ppm,  $1.08 \times 10^4$  ppm,  $2.01 \times 10^4$  ppm which were equivalent to 353.6550 mg, mg 270.9862, and 503.4577 mg of dissolved solids, while the yogurt did not reach the  $IC_{50}$  value. From the results of one-way ANOVA statistical analysis, it could be concluded that the optimal composition of tomato yogurt was in ratio 5: 5 (b/b) of yogurt and tomato juice with  $IC_{50}$  ratio of 0,0258% times the vitamin C. It means that tomato yogurt is prospective to be a source of antioxidant.*

**Keywords :** yogurt, tomato juice, antioxidant, DPPH, vitamin C

### PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan salah satu pemicu penyakit kronis dan degeneratif seperti kanker, penyakit autoimun, penuaan, katarak, rheumatoid arthritis, kardiovaskuler dan neurodegeneratif (Pham-Huy, 2008). Untuk menetralkan radikal bebas, tubuh manusia mensintesis antioksidan, namun pada keadaan tertentu sistem pertahanan pada manusia terhadap radikal bebas tidak cukup untuk mencegah kerusakan yang terjadi, sehingga suplemen makanan yang mengandung antioksidan dapat digunakan untuk membantu tubuh manusia mengurangi kerusakan oksidatif (Kullisar *et al.*, 2003).

Salah satu sumber antioksidan alami yang belum dimanfaatkan secara maksimal adalah tomat. Tomat mengandung senyawa-senyawa antioksidan diantaranya likopen, fenolik, flavonoid, vitamin C, dan vitamin E (Beutner *et al.*, 2001). Sehingga dilakukan inovasi *nutraceutical* antioksidan dari

tomat yang dikombinasi dengan yogurt untuk mendapatkan manfaat yang bervariasi. Selain itu telah terbukti bahwa beberapa bakteri asam laktat memiliki aktivitas antioksidan. Bakteri asam laktat memproduksi peredam radikal hidroksil yang dapat berupa senyawa-senyawa metabolit yang dihasilkan oleh bakteri atau hasil degradasi dari protein susu (Virtanen *et al.*, 2007). Mekanisme antioksidan probiotik antaralain melalui peredaman ROS (*Reactive Oxygen Species*), mengkelat ion logam, inhibisi enzim, dan menghambat autoksidasi askorbat (Tawalkar dan Kailasapathy, 2003). Aktivitas antioksidan probiotik tergantung dari jenis bakteri asam laktat yang digunakan. Peningkatan aktivitas antioksidan juga didapatkan dengan kombinasi dua atau tiga bakteri. Bakteri asam laktat yang memiliki aktivitas antioksidan relatif tinggi diantaranya *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactococcus lactis* (Virtanen *et al.*, 2007) sehingga dalam penelitian ini digunakan yogurt

dengan kombinasi probiotik *L. acidophilus* dan *L.lactis*.

Kombinasi yogurt dan jus tomat ini diharapkan tidak hanya menjadi suplemen antioksidan, namun juga suplemen dengan manfaat yang bervariasi. Dalam mengkombinasikan yogurt dan jus tomat hal penting yang perlu diperhatikan adalah kompatibilitas campuran, dilihat dari jumlah bakteri asam laktat dan *performance* campuran apakah terjadi pemisahan fase. Dari penelitian pendahuluan diketahui bahwa kandungan likopen pada berbagai perbandingan komposisi yogurt dan tomat berbeda-beda, sehingga diperlukan eksplorasi tentang aktivitas antioksidan pada perbandingan komposisi yogurt dan jus tomat yang berbeda. Untuk mendapatkan perbandingan komposisi yogurt dan jus tomat yang memiliki aktivitas antioksidan optimal, dilakukan uji aktivitas antioksidan.

Pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak atau sampel uji secara *in-vitro* dapat dilakukan dengan berbagai macam metode, meliputi : (1) ORAC method (*Oxygen Radical Absorbance Capacity method*); (2) TRAP method (*total Radical-Trapping Antioxidant Parameter method*); (3) TEAC method (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity method*); (4) PRSC method (*Peroxy Radical Scavenging Capacity method*); (5) DPPH (*2,2-diphenylpicrylhydrazyl*); (6) TOSC method (*Total Oxyradical Scavenging Capacity method*); (7) FRAP method (*Ferric Reducing / Antioxidant Power method*) (Mermelstein, 2007).

Pada penelitian ini, penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri. Metode ini didasarkan pada pengukuran serapan DPPH yang menunjukkan peredaman warna ungu merah (pada absorbansi 521 nm), yakni berkurangnya radikal DPPH menjadi *diphenylpicrylhydrazine* yang berkaitan dengan kemampuan sebagai penangkap radikal bebas. Pemilihan metode tersebut disebabkan karena metode tersebut lebih sederhana, alat yang dibutuhkan sedikit, serta DPPH tersedia secara komersial. Namun, pengerjaan metode ini harus dilakukan pada ruangan yang terlindung dari cahaya. Parameter yang digunakan adalah  $IC_{50}$  (*inhibitory concentration*) yaitu konsentrasi sampel yang dapat menyebabkan absorbansi DPPH turun menjadi setengahnya yang dihitung berdasarkan persamaan regresi linier (Molyneux, 2003).

Aktivitas antioksidan yogurt tomat yang optimal kemudian dibandingkan dengan aktivitas antioksidan vitamin C sebagai standar antioksidan. Pada metode ini dilakukan pengukuran kemampuan antiradikal bebas untuk menurunkan absorbansi DPPH menggunakan spektrofotometer..

## METODE PENELITIAN

### Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah blender, panci, termometer, kompor, kertas saring ukuran pori 0,45  $\mu$ m, vortex, oven, eksikator, ultrasonik, sentrifus, pH meter, mikropipet, spektrofotometer UV-Vis PerkinElmer Lambda EZ 201, timbangan mikroanalitik, timbangan analitik, autoklaf, inkubator, alat-alat gelas.

### Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah jus tomat (*Lycopersicum esculentum*), susu skim Tropicana Slim® *plain*, biakan bakteri asam laktat *L. acidophilus* dan *L. lactis*, *Phosphate Buffer Salin* (PBS) steril, *Media de Man Ragosa Shorpe* (MRS) *broth* steril, *Media de Man Ragosa Shorpe* (MRS) agar steril, aseton (*pro analisis*), *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil* (DPPH), aquades dan vitamin C (*pro analisis*).

### 1. Pembuatan Yogurt

Satu liter susu dipasteurisasi pada suhu 80-85°C selama 30 menit. Kemudian didinginkan sampai suhu 45°C. Starter *L. acidophilus* dan *L. lactis*, masing-masing 15 ml ditambahkan pada susu, aduk ad homogen kemudian diinkubasi pada suhu 37°C hingga susu menggumpal dan mencapai pH tertentu (Lee dan Lucey, 2010). Yogurt yang telah jadi dievaluasi pH, dan angka lempeng total.

### 2. Pembuatan Jus Tomat

Dilakukan pencucian buah tomat, kemudian kulit buah dan bijinya dibuang, lalu dihancurkan dengan menggunakan blender sampai halus,  $\pm$  2 menit sampai menjadi jus tomat yang halus.

### 3. Pembuatan Yogurt Tomat

Yogurt dan jus tomat yang telah dibuat di campur dan diblender dengan perbandingan komposisi yogurt dan jus tomat sebesar 1:9, 2:8, 4:6, 5:5, dan 6:4 (b/b).

#### 4. Uji Kompatibilitas Campuran Yogurt dan Tomat

Uji kompatibilitas dilakukan dengan cara menghitung Angka Lempeng Total empat perbandingan kombinasi yogurt tomat. Yogurt tomat dinyatakan kompatibel apabila Angka Lempeng Total lebih besar atau sama dengan  $10^7$  cfu/g berdasarkan persyaratan yogurt dalam SNI.

#### 5. Ekstraksi sampel

Ditimbang 7,5 gram sampel ditambah dengan aseton 80 % 10 mL dalam tabung sentrifus 15 mL, lalu diultrasonik selama 3 x 2 menit. Setiap 2 menit dilakukan pengadukan sebelum diultrasonik kembali. Hasilnya disentrifugasi 3000 rpm selama 5 menit, filtrat ditampung, residu yang didapatkan ditambah aseton 80% 10 mL dan diultrasonik kembali selama 3 x 2 menit, filtrat digabung dengan filtrat pertama. Demikian seterusnya hingga total pelarut aseton 80% yang digunakan sebanyak 110 mL. Selanjutnya ekstrak aseton 80% yang diperoleh diuapkan di lemari asam sampai  $\pm 20$  mL lalu di adkan sampai 25,0 mL.

#### 6. Pengujian Penangkapan Radikal Bebas DPPH secara Spektrofotometri

Direaksikan 1,0 mL larutan sampel pada lima konsentrasi dengan larutan DPPH 0,0028% dalam aseton 80% ad 10,0 mL. Larutan uji diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap kemudian disentrifugasi 3000 rpm selama 2 menit untuk mengendapkan partikel yang terbentuk setelah pencampuran. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 521 nm. Pengukuran absorbansi dilakukan pada menit ke-30 dan ke-60. Dilakukan replikasi 3 kali. Perhitungan aktivitas anti-radikal bebas ekstrak diukur dari peredaman absorbansi DPPH. Perhitungan aktivitas antiradikal bebas sebagai persen peredaman absorbansi DPPH menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{peredaman DPPH} = \left\{ 1 - \frac{A_s}{A_0} \right\} \times 100\%$$

Keterangan:

$A_s$ : Absorbansi hitung larutan sampel

$A_0$ : Absorbansi larutan DPPH

Nilai peredaman 0% menunjukkan larutan uji tidak memiliki aktivitas anti-radikal bebas, sedangkan nilai peredaman 100% menunjukkan peredaman total. Berdasarkan pengukuran dan

data yang diperoleh, dibuat kurva antara konsentrasi sampel dalam satuan ppm (x) dengan % peredaman DPPH (y), kemudian dibuat persamaan regresi linier menggunakan rumus:

$$y = bx + a$$

y = % peredaman DPPH.

x = konsentrasi sampel dalam satuan ppm.

Selanjutnya dimasukkan nilai y = 50 % sehingga diperoleh harga *inhibitory concentration* ( $IC_{50}$ ) yaitu konsentrasi sampel yang memiliki penghambatan absorbansi DPPH sebesar 50%. Semakin rendah nilai  $IC_{50}$  menunjukkan aktivitas anti-radikal bebas yang semakin tinggi.

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

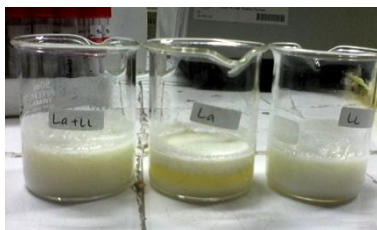
Dari hasil optimasi didapatkan bahwa yogurt memenuhi syarat sediaan yogurt setelah inkubasi selama 20 jam pada suhu ruang (30°C).

Hasil pengukuran pH yogurt disajikan dalam Tabel 1, pengukuran pH dilakukan pada suhu 23°C. Terjadinya penurunan pH dari susu skim menunjukkan bahwa telah terjadi proses fermentasi oleh bakteri probiotik dan pH dari yogurt berbeda-beda tergantung dari bakteri probiotik yang ada dalam susu.

Dilihat dari penampilan fisiknya, yogurt *L. acidophilus* mengalami pemisahan fase sedangkan yogurt kombinasi dan yogurt *L. lactis* tetap homogen setelah inkubasi selama 20 jam pada suhu ruang (30°C). Selain itu dapat dilihat bahwa yogurt *L. acidophilus* memiliki tekstur yang lebih kasar karena terdapat gumpalan-gumpalan, sedangkan yogurt *L. lactis* dan yogurt kombinasi lebih lembut dan tidak terdapat gumpalan-gumpalan seperti ditampilkan pada Gambar 1 dan 2.

**Tabel 1.** Hasil pengukuran pH susu skim, yogurt *L. lactis*, yogurt *L. acidophilus*, dan yogurt kombinasi *L. lactis* dan *L. acidophilus* 1:1

Sampel	pH
Susu skim	6,51 $\pm$ 0,02
Yogurt <i>L. lactis</i>	5,66 $\pm$ 0,03
Yogurt <i>L. acidophilus</i>	6,28 $\pm$ 0,01
Yogurt kombinasi <i>L. lactis</i> dan <i>L. acidophilus</i> (1:1)	5,69 $\pm$ 0,00



**Gambar 1.** Penampilan fisik yogurt (a) yogurt kombinasi *L. lactis* dan *L. acidophilus* (1:1) tampak homogen (b) yogurt *L. acidophilus* terjadi pemisahan fase (c) yogurt *L. lactis* tampak homogen.



**Gambar 2.** Penampakan yogurt dari atas (a) yogurt kombinasi *L. lactis* dan *L. acidophilus* (1:1) dan (b) yogurt *L. lactis* memiliki tekstur yang halus (c) yogurt *L. acidophilus* memiliki tekstur yang kasar.

Hasil penentuan angka lempeng total yogurt disajikan dalam Tabel 2. Angka lempeng total dilakukan secara duplo untuk masing-masing sampel.

**Tabel 2.** Angka lempeng total yogurt setelah inkubasi selama 20 jam pada suhu ruang (30°C)

Sampel	Angka lempeng total (cfu/g)
Yogurt <i>L. lactis</i>	$2,38 \times 10^8$
Yogurt <i>L. acidophilus</i>	$1,61 \times 10^8$
Yogurt kombinasi <i>L. lactis</i> dan <i>L. acidophilus</i> (1:1)	$6,90 \times 10^7$

Angka lempeng total dari ketiga yogurt telah memenuhi persyaratan sediaan yogurt. Dalam SNI tahun 2009, syarat angka lempeng total sediaan yogurt adalah  $\geq 10^7$  cfu/g. Namun terjadi penurunan angka lempeng total jika kedua bakteri dikombinasikan. Hal ini mengindikasikan adanya interaksi dari probiotik *L. lactis* dan *L. acidophilus*. Interaksi ini dapat berupa penghambatan pertumbuhan probiotik akibat kompetisi nutrisi

dalam media susu sehingga jumlah probiotik yang tumbuh lebih sedikit. Untuk mengetahui lebih lanjut interaksi yang terjadi pada yogurt dengan kombinasi dua bakteri ini dilakukan uji aktivitas antioksidan pada yogurt dengan probiotik *L. lactis*, yogurt dengan probiotik *L. acidophilus* dan yogurt dengan kombinasi *L. lactis* dan *L. acidophilus* pada perbandingan 1:1 (b/b)

**Tabel 3.** Hasil pengukuran % peredaman DPPH oleh ekstrak aseton 80% yogurt *L. lactis*, yogurt *L. acidophilus*, dan yogurt kombinasi *L. lactis* dan *L. acidophilus* (1:1)

Konsentrasi sampel (ppm)	Rata-rata % peredaman
<i>L. lactis</i>	
$2,35 \times 10^4$	$22,451 \pm 2,113$
$1,88 \times 10^4$	$19,749 \pm 1,558$
$1,41 \times 10^4$	$13,191 \pm 1,618$
$9,41 \times 10^3$	$13,786 \pm 0,126$
$4,71 \times 10^3$	$4,651 \pm 0,042$
<i>L. acidophilus</i>	
$2,48 \times 10^4$	$11,650 \pm 0,307$
$1,98 \times 10^4$	$11,722 \pm 2,991$
$1,49 \times 10^4$	$8,032 \pm 1,330$
$9,91 \times 10^3$	$8,466 \pm 0,102$
$4,96 \times 10^4$	$7,525 \pm 2,330$
Kombinasi <i>L. lactis</i> dan <i>L. acidophilus</i> (1:1)	
$2,68 \times 10^4$	$15,480 \pm 1,103$
$2,14 \times 10^4$	$12,316 \pm 0,870$
$1,61 \times 10^4$	$8,140 \pm 0,588$
$1,07 \times 10^4$	$8,249 \pm 1,022$
$5,35 \times 10^4$	$4,407 \pm 0,508$

Dari hasil uji statistik diketahui bahwa aktivitas antioksidan ketiga jenis yogurt adalah sama. Hal ini membuktikan bahwa kombinasi probiotik belum tentu memberikan aktivitas antioksidan yang lebih besar karena pada jenis bakteri tertentu dapat terjadi interaksi jika berada dalam satu media. Sehingga untuk membuat yogurt tomat dapat dipilih salah satu dari ketiga yogurt. Disini peneliti memilih yogurt *L. lactis* karena tidak adanya interaksi, pertimbangan efisiensi produksi dan penampilan fisik yogurt. Jika dibandingkan dengan yogurt *L. acidophilus*, yogurt *L. lactis* memiliki tampilan fisik yang lebih baik. Yogurt *L. acidophilus* cepat mengalami pemisahan dan memiliki tekstur yang

lebih kasar, sedangkan yogurt *L.lactis* lebih homogen dan bertekstur lembut. Sehingga dalam penelitian ini dipilih yogurt *L.lactis* untuk dicampurkan dengan jus tomat.

Dari hasil pengamatan didapatkan aktivitas antioksidan jus tomat lebih tinggi daripada yogurt. Oleh karena itu dilakukan uji kompatibilitas yogurt tomat pada perbandingan 1:9, 2:8, 4:6, dan 5:5 (b/b) dimana jumlah tomat lebih banyak daripada yogurt. Dari segi penampilan fisik, keempat perbandingan komposisi dapat bercampur atau kompatibel, namun dari angka lempeng total, perbandingan 1:9 tidak memenuhi syarat sediaan yogurt karena memiliki angka lempeng total kurang dari  $10^7$  cfu/g. Sedangkan pada perbandingan 2:8, 4:6, dan 5:5, angka lempeng total memenuhi syarat, seperti disajikan dalam Tabel 4. Artinya untuk mendapatkan angka lempeng total minimal  $10^7$  cfu/g, dibuat yogurt tomat dengan perbandingan minimal 2:8 (dari jumlah yogurt). Sehingga untuk selanjutnya, dilakukan uji aktivitas antioksidan pada yogurt tomat dengan perbandingan 2:8, 4:6, dan 5:5.

**Tabel 4.** Hasil penghitungan angka lempeng total kombinasi yogurt dan jus tomat pada empat perbandingan

Sampel	Angka Lempeng Total (cfu/g)
Yogurt <i>L. lactis</i>	$2,18 \times 10^8$
Yogurt Tomat 1:9	$2,38 \times 10^6$
Yogurt Tomat 2:8	$3,15 \times 10^7$
Yogurt Tomat 4:6	$5,55 \times 10^7$
Yogurt Tomat 5:5	$1,62 \times 10^7$

Pada perbandingan 2:8, % peredaman DPPH pada konsentrasi sampel paling besar tidak mencapai 50%. Untuk mencapai %peredaman sebesar 50%, diperlukan konsentrasi sampel yang lebih besar. Semakin besar konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk dapat meredam 50% DPPH, maka semakin kecil aktivitas antioksidan dari sampel tersebut. Pada perbandingan 4:6, nilai  $IC_{50}$  sampel sebesar  $1,41 \times 10^4$  ppm sedangkan pada perbandingan 5:5, nilai  $IC_{50}$  sampel sebesar  $1,08 \times 10^4$  ppm. Dari nilai  $IC_{50}$  yang didapatkan, diketahui terjadi peningkatan aktivitas antioksidan dengan meningkatnya jumlah yogurt. Sehingga

dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan pada yogurt tomat dengan perbandingan 6:4 dan didapatkan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $2,01 \times 10^4$  ppm. Artinya terjadi penurunan aktivitas antioksidan dengan penambahan yogurt, oleh karena itu penentuan aktivitas antioksidan kombinasi yogurt tomat dilakukan sampai pada perbandingan 6:4. Namun nilai  $IC_{50}$  ini merupakan hasil perhitungan kelompok data, sehingga diperlukan analisis statistik untuk mengetahui apakah nilai  $IC_{50}$  berbeda secara signifikan. Besarnya peredaman aktivitas antioksidan masing-masing yogurt tomat pada lima konsentrasi dibandingkan dengan *one-way* ANOVA.

Hasil uji statistik *one-way* ANOVA terhadap yogurt tomat pada perbandingan 2:8, 4:6, 5:5, dan 6:4 menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan keempat yogurt tomat tidak berbeda signifikan, atau bisa dikatakan sama. Namun jika dibandingkan dengan jus tomat, yogurt tomat 6:4 memiliki aktivitas antioksidan lebih kecil, sedangkan yogurt tomat 2:8, 4:6, dan 5:5 memiliki aktivitas antioksidan yang sama dengan jus tomat dan yogurt tomat 6:4 memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kecil dari jus tomat. Dengan aktivitas antioksidan yogurt yang lebih kecil daripada jus tomat, seharusnya penambahan yogurt akan menimbulkan turunnya aktivitas antioksidan dari campuran karena penambahan aktivitas antioksidan dari yogurt tidak sebanding dengan penurunan aktivitas antioksidan jus tomat.

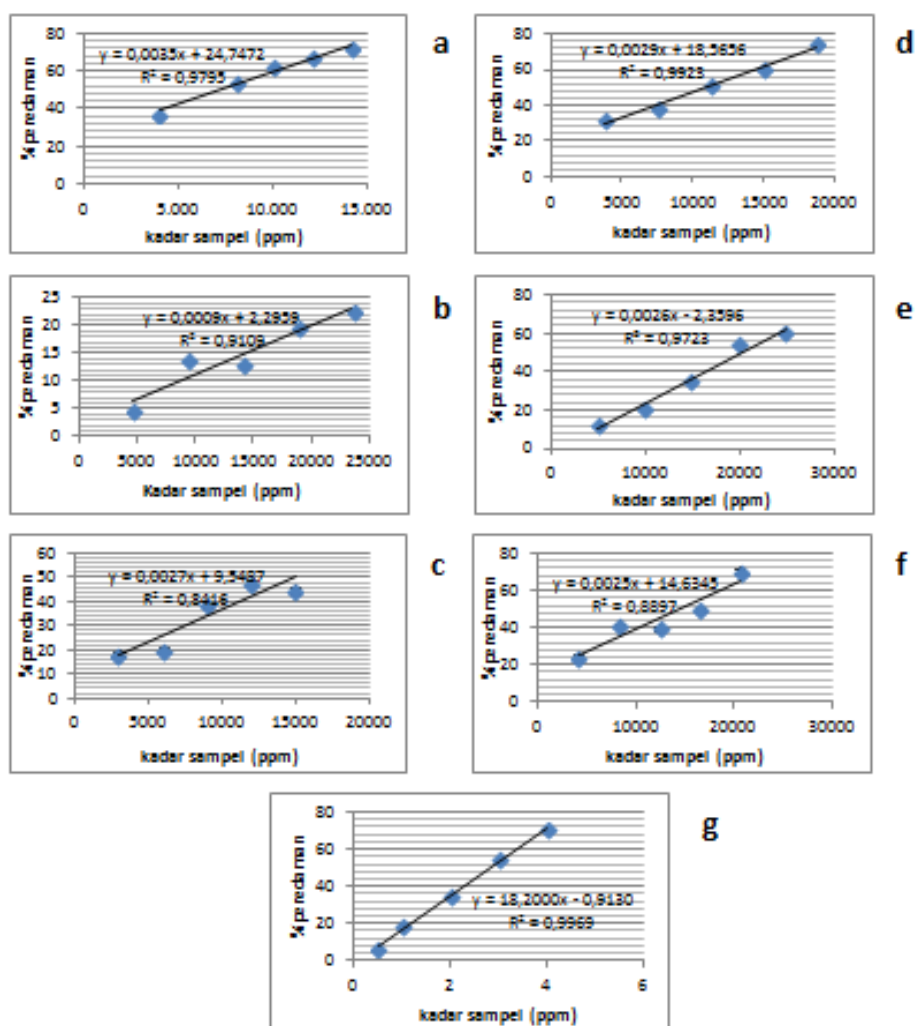
**Tabel 5.** Hasil uji aktivitas antioksidan jus tomat, yogurt, yogurt tomat dan vitamin C

Konsentrasi sampel (ppm)	Rata-rata % peredaman
Jus Tomat <sup>a</sup>	
$1,42 \times 10^4$	$71,826 \pm 1,406$
$1,22 \times 10^4$	$67,177 \pm 1,896$
$1,02 \times 10^4$	$61,967 \pm 2,178$
$8,12 \times 10^3$	$54,544 \pm 3,520$
$4,06 \times 10^4$	$36,915 \pm 2,376$
Yogurt <sup>b</sup>	
$2,35 \times 10^4$	$22,451 \pm 2,113$
$1,88 \times 10^4$	$19,749 \pm 1,558$
$1,41 \times 10^4$	$13,191 \pm 1,618$
$9,41 \times 10^3$	$13,786 \pm 0,126$
$4,71 \times 10^3$	$4,651 \pm 0,042$
Yogurt Tomat 2:8 <sup>b</sup>	

$1,50 \times 10^4$	$44,695 \pm 2,554$
$1,20 \times 10^4$	$48,322 \pm 3,533$
$8,98 \times 10^3$	$38,865 \pm 2,609$
$5,99 \times 10^3$	$20,203 \pm 0,798$
$3,00 \times 10^4$	$17,980 \pm 0,847$
Yogurt tomat 4:6 <sup>b</sup>	
$2,06 \times 10^4$	$71,004 \pm 2,366$
$1,65 \times 10^4$	$49,814 \pm 0,492$
$1,24 \times 10^4$	$39,870 \pm 0,394$
$8,24 \times 10^3$	$41,326 \pm 2,696$
$4,12 \times 10^3$	$24,226 \pm 1,624$
Yogurt tomat 5:5 <sup>a</sup>	
$1,87 \times 10^4$	$73,771 \pm 5,332$
$1,49 \times 10^4$	$60,738 \pm 2,666$
$1,12 \times 10^4$	$50,601 \pm 2,050$
$7,47 \times 10^3$	$38,306 \pm 1,208$

$3,74 \times 10^3$	$31,093 \pm 1,523$
Yogurt Tomat 6:4 <sup>b</sup>	
$2,31 \times 10^4$	$59,857 \pm 0,760$
$1,84 \times 10^4$	54,839
$1,38 \times 10^4$	$35,305 \pm 0,646$
$9,22 \times 10^3$	$20,609 \pm 1,521$
$4,61 \times 10^3$	$12,127 \pm 0,373$
Vitamin C <sup>c</sup>	
0,5	$6,643 \pm 0,762$
1	$18,492 \pm 0,762$
2	$35,548 \pm 2,793$
3	$55,356 \pm 0,886$
4	$70,497 \pm 1,195$

\*Data dengan huruf yang berbeda memiliki perbedaan yang signifikan pada derajat kebebasan 0,05.



**Gambar 3.** Kurva regresi linier antara kadar ekstrak aseton 80% (a) jus tomat (b) yogurt *L.lactis* (c) yogurt tomat 2:8 (d) yogurt tomat 5:5 (e) yogurt tomat 6:4 (f) yogurt 4:6 (g) vitamin C terhadap %peredaman DPPH.

Namun dalam penelitian ini ditemukan bahwa dengan penambahan yogurt sampai 50% jus tomat, aktivitas antioksidan campuran yogurt dan jus tomat sama dengan jus tomat. Sehingga diduga terdapat penambahan aktivitas antioksidan yang diakibatkan oleh interaksi yang belum diketahui antara yogurt dan jus tomat pada penambahan yogurt sebesar 50% dari campuran.

Hasil uji statistik *one-way* ANOVA terhadap yogurt tomat pada perbandingan 2:8, 4:6, 5:5, dan 6:4 menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan keempat yogurt tomat tidak berbeda signifikan, atau bisa dikatakan sama. Namun jika dibandingkan dengan jus tomat, yogurt tomat 6:4 memiliki aktivitas antioksidan lebih kecil, sedangkan yogurt tomat 2:8, 4:6, dan 5:5 memiliki aktivitas antioksidan yang sama dengan jus tomat dan yogurt tomat 6:4 memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kecil dari jus tomat. Dengan aktivitas antioksidan yogurt yang lebih kecil daripada jus tomat, seharusnya penambahan yogurt akan menimbulkan turunya aktivitas antioksidan dari campuran karena penambahan aktivitas antioksidan dari yogurt tidak sebanding dengan penurunan aktivitas antioksidan jus tomat. Namun dalam penelitian ini ditemukan bahwa dengan penambahan yogurt sampai 50% jus tomat, aktivitas antioksidan campuran yogurt dan jus tomat sama dengan jus tomat. Sehingga diduga terdapat penambahan aktivitas antioksidan yang diakibatkan oleh interaksi yang belum diketahui antara yogurt dan jus tomat pada penambahan yogurt sebesar 50% dari campuran.

Jika dibandingkan dengan yogurt, yogurt tomat 5:5 memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar sedangkan yogurt tomat 2:8 dan 4:6 memiliki aktivitas antioksidan yang sama dengan yogurt. Sehingga dapat dikatakan bahwa yogurt tomat 5:5 adalah yogurt tomat dengan kombinasi optimal yang memiliki aktivitas antioksidan maksimal karena memiliki aktivitas antioksidan yang sama dengan jus tomat dan lebih tinggi daripada yogurt. Artinya, dengan aktivitas antioksidan yang sama dengan jus tomat, yogurt 5:5 juga memiliki manfaat lain dari yogurt, seperti membantu memperlancar sistem pencernaan, sebagai antibakteri, imunomodulator dan antikarsinogen.

Nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak aseton 80% yogurt tomat 5:5 kemudian dibandingkan dengan nilai  $IC_{50}$

vitamin C. Didapatkan  $IC_{50}$  ekstrak aseton 80% yogurt tomat sebesar 0,0258% dari vitamin C. Dari rasio tersebut dapat dikatakan bahwa aktivitas antioksidan vitamin C jauh lebih besar dari ekstrak aseton 80% yogurt tomat. Hal ini tidak sesuai dengan hipotesis peneliti bahwa aktivitas antioksidan ekstrak aseton 80% yogurt tomat dengan aktivitas antioksidan optimal lebih besar dari vitamin C karena zat antioksidan dalam sampel tidak hanya vitamin C, tetapi juga terdapat likopen, senyawa fenolik, vitamin E, dan beta karoten. Hal ini dapat terjadi karena antioksidan dalam tanaman biasanya terdapat dalam campuran dan total aktivitas antioksidan dapat lebih tinggi atau lebih rendah daripada jumlah antioksidan secara individu karena adanya sinergisitas dan antagonisme (Arnao *et al.*, 2001). Selain itu, sampel merupakan *crude extract* dimana konsentrasi sampel dihitung dari seluruh berat kering sampel yang juga mengandung komponen-komponen lain selain senyawa antioksidan.

Jumlah senyawa-senyawa dalam tomat yang memiliki aktivitas antioksidan sebesar  $\pm 0,1\%$  dari berat tomat (Hanson *et al.*, 2004). Dalam penelitian ini didapatkan nilai  $IC_{50}$  ekstrak aseton 80% yogurt tomat sebesar  $1,08 \times 10^4$  ppm, dengan komposisi sampel adalah 50% jus tomat dan 50% yogurt. Jika diasumsikan aktivitas antioksidan yang terukur berasal dari jus tomat saja, maka didapatkan nilai  $IC_{50}$  sekitar 5.419 ppm dan apabila dikonversi berdasarkan jumlah zat yang memiliki aktivitas antioksidan saja, maka nilai  $IC_{50}$  diasumsikan sekitar 5 ppm karena jumlah zat antioksidan dalam jus tomat sekitar 0,1% dari berat tomat. Jika dibandingkan dengan  $IC_{50}$  vitamin C yaitu 2,797 ppm didapatkan persentase  $IC_{50}$  yogurt tomat terhadap vitamin C adalah sekitar 54%, artinya aktivitas antioksidan yogurt tomat 5:5 adalah setengah kali aktivitas antioksidan vitamin C. Sehingga dapat dikatakan bahwa yogurt tomat dengan perbandingan 5:5 ini prospektif sebagai sumber antioksidan.

Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH ini adalah salah satu dari banyak metode penentuan aktivitas antioksidan, diantaranya *ORAC method (Oxygen Radical Absorbance Capacity method)*, *TRAP method (total Radical-Trapping Antioxidant Parameter method)*, *TEAC method (Trolox Equivalent Antioxidant*

*Capacity method*, PRSC method (*Peroxyl Radical Scavenging Capacity method*), TOSC method (*Total Oxyradical Scavenging Capacity method*), FRAP method (*Ferric Reducing/ Antioxidant Power method*) (Mermelstein, 2007). Oleh karena itu, penelitian ini merupakan penapisan awal untuk mengetahui aktivitas antioksidan yogurt tomat. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan total, perlu digunakan juga beberapa uji aktivitas antioksidan yang lain

## KESIMPULAN

IC<sub>50</sub> aktivitas antioksidan ekstrak aseton 80% yogurt tomat 1:9 tidak ditentukan karena tidak memenuhi syarat kompatibilitas, IC<sub>50</sub> aktivitas antioksidan ekstrak aseton 80% yogurt tomat 2:8 tidak dapat ditentukan karena dibutuhkan konsentrasi yang lebih besar untuk mencapai peredaman DPPH sebesar 50%, IC<sub>50</sub> aktivitas antioksidan ekstrak aseton 80% yogurt tomat 4:6 adalah  $1,41 \times 10^4$  ppm, yogurt tomat 5:5 adalah  $1,08 \times 10^4$  ppm, dan yogurt tomat 6:4 adalah  $2,01 \times 10^4$  ppm. Kombinasi yogurt dan jus tomat memiliki IC<sub>50</sub> aktivitas antioksidan yang optimal pada perbandingan yogurt : tomat = 5:5 (b/b). Aktivitas antioksidan yogurt tomat 5:5 lebih kecil daripada vitamin C dengan rasio IC<sub>50</sub> aktivitas antioksidan ekstrak aseton 80% kombinasi yogurt dan jus tomat pada perbandingan 5:5 terhadap IC<sub>50</sub> aktivitas antioksidan vitamin C adalah 0,0258%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arnao, M. B., Cano, A., Acosta, M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chem*, 73:239-244.
- Badan Standardisasi Nasional. 2009. *SNI 2981:2009: Standar Nasional Indonesia Yogurt*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- Bahorun, T., Soobrattee M. A., Luximon-Ramma, V., Aruoma, O. I. 2006. Free radicals and antioxidants in cardiovascular health and disease. *Internet J Med Update*, 1:1-17.
- Beutner, S., Bloedorn, B., Frixel, S., Blanco, I. H., Hoffmann, T., Martin, H. 2001. Quantitative assessment of antioxidant properties of natural colorants and phytochemicals: carotenoids, flavonoids, phenols and indigoids. The role of b-carotene in antioxidant functions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81:559–568.
- Hanson, P., Yang, R., Wu, J., Chen, J., Ledesma, D., Tsou, S. 2004. Variation for antioxidant activity and antioxidant in tomato. *J.Amer.Soc.Hort.Scr.* vol. 129 No. 5, p. 704-708.
- Kullisaar, T., Songisepp, E., Mikelsaar, M., Zilmer, K., Vihalemm, T., Zilmer, M. 2003. Antioxidative probiotic fermented goats' milk decreases oxidative stress-mediate atherogenity in human subjects. *Br J Nutr*, 90:449–456.
- Lee, W. J. dan Lucey, J. A. 2010. Formation and Physical Properties of Yogurt. *Asian-Aust. J. Anim. Sci*, 23:1123-1136.
- Mermelstein, N.H. 2007. Determining antioxidant activity. *Food Technology*. p. 63-66
- Molyneux, P. 2003. *The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity*.
- Talwalkar, A., Kailasapathy, K. 2003. Metabolic and biochemical responses of probiotic bacteria to oxygen. *J Dairy Sci*, 86:2537–2546
- Virtanen, T., Pihlanto, A., Akkanen, S., Korhonen, H. 2007. Development of Antioxidant Activity in Milk Whey During Fermentation with Lactic Acid Bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 102:106-115.