

**PENGUNAAN EKSTRAK ETANOL DAUN SALAM (*SYZYGIUM POLYANTHUM* (WIGHT))
 PADA SOSIS DAGING SAPI UNTUK PENGHAMBATAN KERUSAKAN OKSIDATIF**
**UTILIZATION OF ETHANOLIC EXTRACT OF SALAM (*SYZYGIUM POLYANTHUM* (WIGHT))
 LEAVES ON BEEF SAUSAGE FOR INHIBITION OF OXIDATIVE DAMAGE**

Priscacylia Clarita Rasini Pirimoy, Rohadi, Iswoyo

INFO ARTIKEL

Submit: 10 April 2019
 Perbaikan: 20 April 2019
 Diterima: 25 April 2019

Keywords:

Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight)), sausage, antioxidant, TBARS

ABSTRACT

Oxidation is a major cause of damage of fats and fatty products. Beef sausages are susceptible to quality damage due to oxidation. The synthetic antioxidants BHA and BHT are often added to sausages for inhibition of fat oxidation. However consumers have not fully received the use of synthetic antioxidants, because they have negative opinion about the impact in health. This study aimed to analyze the effect of adding salam leaves (EEDS) ethanolic extract at various concentrations (500, 750, 1000, 1250 and 1500 ppm) on the inhibition of oxidative damage to beef sausage during storage (0-114 hours) at room temperature. This study used randomized completely design (RAL) of one factor (EEDS concentration) with 6 treatments, and 3 replications. Variables include peroxide number, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) number and acid number. The result showed that the values of total phenolic and EEDS flavonoids were 13.36 ± 0.49 g-GAE/100g and 1.67 ± 0.018 g-QE/100g, respectively. The antioxidant activity of EEDS in the radical scavenging activity (RSA)-DPPH test was stronger than that of BHT, which was respectively 75.68% and 60% (60 μ l/ml). There was a significant difference in the value of peroxide number, TBARS number, and acid number of beef sausages in addition to various EEDS concentrations (500-1500 ppm) during storage ($p < 0.05$). The addition of EEDS 1500 ppm was the most effective against the inhibition of oxidative damage in beef sausage.

1. PENDAHULUAN

Penggunaan antioksidan sintesis pada lipid dan pangan berminyak adalah metode yang umum dan efektif untuk penghambatan kerusakan oksidatif. Penambahan antioksidan sintetik seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), *propyl gallate* (PG), *tert-butylhydroquinone* (TBHQ) pada pangan belum sepenuhnya diterima konsumen, karena bersifat toksik dan karsinogenik (Vayupharp dan Laksanalamal, 2012; Rohadi *et al.*, 2017). Antioksidan tumbuhan terbukti dapat menghambat kerusakan oksidatif melalui reaksi reduksi, mengkelat logam katalitik dan menangkap

radikal bebas (Brewer, 2012; Rohadi *et al.*, 2016).

Daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.]) mengandung minyak atsiri (sitral dan eugenol), tanin, flavonoid, dan eugenol dan mempunyai aktivitas antioksidan yang bermanfaat bagi kesehatan serta berperan penting dalam mempertahankan mutu produk pangan dari kerusakan oksidatif (Hidayati *et al.*, 2017; Yulianti dan Cakrawati, 2017). Ekstrak etanol daun salam bersifat antioksidan sangat kuat (Bahriul *et al.*, 2014; Hidayati *et al.*, 2017).

Sosis adalah makanan sistem emulsi (o/w) yang terbuat dari daging berkadar lipid maksimal 25% (BSN SNI-0222, 1995). Selama penyimpanan kualitas sosis menurun karena oksidasi lemak. Oksidasi lemak akan menurunkan kualitas sosis karena terjadi perubahan terhadap tekstur, rasa dan aroma sehingga sosis harus ditambahkan antioksidan serta disimpan pada suhu rendah (*chilling* atau *freezing*). Senyawa antioksidan sintesis yang biasa ditambahkan dalam produk sosis adalah BHA (*butylated hydroxyanisole*) dan

Priscacylia Clarita Rasini Pirimoy, Rohadi*, Iswoyo
 Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Semarang
 Jl. Arteri Soekarno-Hatta, Tlogosari, Semarang-50196
 *E-mail: rohadijarod ftp@usm.ac.id

BHT (*butylated hydroxytoluene*). Beberapa tahun terakhir di Jepang dan negara-negara Eropa telah menekan penggunaan antioksidan sintetis karena berpotensi sebagai karsinogenik (Mudawaroch dan Zulfanita, 2012). Selama ini daun salam dimanfaatkan masyarakat sebagai bumbu masakan dan bagian dari pengobatan tradisional.

Mulyadi, (2010) mengatakan bahwa ekstrak daun salam dapat memperpanjang umur simpan bakso ikan Patin yang disimpan pada suhu ruang selama 36 jam. Yulianti dan Cakrawati, (2017) menyatakan penambahan ekstrak daun Salam 2% mampu memperpanjang umur simpan bakso daging sapi hingga 48 jam. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh penambahan ekstrak etanol daun Salam (EEDS) pada berbagai konsentrasi (500, 750, 1000, 1250 dan 1500 ppm) terhadap penghambatan kerusakan oksidatif sosis daging sapi selama penyimpanan (0-114 jam) pada suhu ruang.

2. BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama berupa daun Salam (*Syzygium polyanthum* [Wight] segar, minyak sawit, tepung tapioka, susu skim, daging sapi serta antioksidan BHT. Bahan kimia yang dibutuhkan untuk ekstraksi dan analisis adalah etanol, metanol, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), AlCl_3 , CH_3COOH , akuades, *Folin-Ciocalteu Reagent*, Na_2CO_3 , asam galat, *petroleum ether* (PE), *amonium thiocyanate*, FeCl_2 , FeSO_4 , BaCl_2 , TBA, TCA, heksan, aseton, alkohol netral 95%, KOH 0,0792 N, indikator larutan *Fenolphthalein*. Peralatan dipakai meliputi timbangan analitik, *cabinet dryer*, blender, ayakan mesh 60, *rotary vacuum evaporator*, kertas saring, *freeze dryer*, spektrofotometer UV-Vis, *grinder*, *waterbath*, dan alat-alat gelas untuk analisis.

Metode

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor (konsentrasi ekstrak etanol daun Salam (EEDS), dengan 6 perlakuan (0, 500, 750, 1000, 1250 dan 1500 ppm), dan 3 kali ulangan. Sampel disimpan pada suhu ruang selama 5 hari. Variabel pengamatan meliputi angka peroksida, angka *thiobarbituric acid reactive substances* (TBARS) dan angka asam. Analisis data menggunakan analisis varian (Anova), jika terdapat perbedaan nyata antar perlakuan dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) taraf 5%. Data disajikan sebagai rata-rata \pm standar deviasi.

Prosedur Penelitian

Pembuatan EEDS

Sebanyak 250 g bubuk daun Salam kering (60 mesh) dimaserasi dengan etanol 70% (1:3/29 \pm 2°C/24 jam), campuran difiltrasi dengan kertas saring Whatman. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* (60°C;60 menit) sehingga dihasilkan ekstrak kental. Sisa pelarut pada ekstrak dihilangkan dengan penyemprotan gas nitrogen (N_2), dan ekstrak dikering-bekukan dengan *freeze dryer*. Dihitung *yield* ekstraksi dan sifat antioksidan EEDS meliputi total fenolik (Ebrahimzadeh *et al.*, 2008), total flavonoid (Chang *et al.*, 2002) dan RSA-DPPH (Gulcin *et al.*, 2004).

Preparasi sosis sapi

Daging sapi giling halus dicampur dengan bahan lain yakni minyak sawit (5%), tepung tapioka (10%), susu skim (3,5%) dan air es (30%) hingga terbentuk massa yang dapat dibentuk (*dough*). EEDS ditambahkan pada adonan sesuai perlakuan (500, 750, 1000, 1250, dan 1500 ppm) dan dimasukkan ke dalam selongsong. Sebagai pembanding digunakan sosis tanpa penambahan EEDS (kontrol negatif) dan penambahan BHT (kontrol positif). Sosis mentah (*uncooked*) dikukus (75 \pm 5°C;45 menit), dilanjutkan *tempering* dan disimpan (suhu ruang). Pengamatan meliputi uji angka peroksida, angka TBRS dan angka asam.

Ekstraksi minyak sosis

Sebanyak 10 gram sosis dihaluskan sambil ditambahkan 100 ml kloroform, kemudian dihomogenisasi dengan *homogenizer* (Ultra turrax; 2500 rpm/2-3 menit). Campuran difiltrasi dengan kertas saring Whatman No. 1. Air (20 ml) ditambahkan ke dalam filtrat dan didiamkan pada corong pemisah, hingga terjadi pemisahan. Fraksi kloroform didekantasi, ditambahkan padanya 1 gram Na_2SO_4 , kemudian disentrifus (2.100 x g/5 menit). Fraksi lemak dipisahkan untuk dianalisis angka peroksida, angka TBARS dan angka asam.

Analisis Sifat Kimia

Angka peroksida

Analisis angka peroksida dilakukan sesuai prosedur Agurrezabal *et al.*, (2000). Sebanyak 10 ml ekstrak lipid ditambahkan 15 ml asam asetat glasial dan 1 ml larutan potasium iodin (KI) jenuh. Campuran diagitasi dan disimpan pada ruang gelap selama 5 menit. Selanjutnya campuran tersebut dititrasi dengan 0,02 N larutan sodium tiosulfat, dan ditambahkan indikator pati. Angka peroksida ditentukan dengan persamaan:

$$\text{Angka Peroksida } \left(\frac{\text{ml.eq}}{\text{kg}} \right) = \frac{(A-B) \times N \times 1000}{\text{Berat Sampel (g)}} \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan:

A = Volume larutan Na₂S₂O₃ titrasi blanko (ml)

B = Volume larutan Na₂S₂O₃ titrasi sampel (ml)

N = Normalitas larutan Na₂S₂O₃ (N)

Analisis TBARS sampel

Analisis TBARS dilakukan menurut Maqsood (2010) secara garis besar sebagai berikut: Sebanyak 0,5 mL minyak hasil ekstraksi sampel, dicampur dengan 2,5 mL TBA reagent (0,375% asam tiobarbiturat, 15% asam trikloroasetat dan 0,25 N HCl). Campuran dipanaskan (dicelup) pada air mendidih selama 10 menit, hingga terbentuk warna pink. Selanjutnya didinginkan dengan air mengalir dan campuran dihomogenkan (divortex pada 3.000 rpm/25°C) selama 10 menit. Bagian supernatan diambil untuk diukur absorbansinya (OD) pada λ = 532 nm (Spektrometer UV-1601 Shimadzu). Untuk menera angka TBARS sampel, dibuat kurva standar dengan senyawa 1,1,3,3-tetramethoxypropane (TMP) pada konsentrasi 0,61–20,9 μM/L. Nilai TBARS sampel dinyatakan sebagai (μM-MDA equivalent/L).

Analisis angka asam

Sebanyak 2,5 mL minyak sosis hasil ekstraksi dimasukkan dalam erlenmeyer 200 ml, ditambahkan 25 mL alkohol 96%, dan dipanaskan (10 menit) dalam penangas air sambil diaduk. Larutan tersebut kemudian dititar dengan KOH 0,0792 N dengan indikator larutan fenolphthalein 1% dalam alkohol, sampai tepat terlihat warna merah jambu, setelah itu dihitung jumlah mg KOH yang digunakan untuk menetralkan asam lemak bebas dalam 1 g minyak, dengan rumus:

$$\text{Bilangan asam ((mg KOH)/g sampel)} = \frac{(A \times N \times 56,1)}{G} \dots\dots\dots(2)$$

Keterangan :

A = jumlah KOH untuk titrasi (mL)

N = normalitas larutan KOH

G = bobot contoh (g)

56,1 = berat molekul KOH

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik EEDS

Ekstrak etanolik daun salam yang diperoleh adalah 11,42 ± 0,005%. Hasil ini lebih tinggi dari penelitian sebelumnya 8,06% (Ekawati, 2007) dan lebih rendah dari 16,66% (Azis *et al.*, 2014). Perbedaan *yield* yang cukup besar diduga disebabkan antara lain oleh faktor suhu, varietas,

lama waktu ekstraksi, ukuran sampel (*mesh*), jenis dan polaritas pelarut. Pada penelitian ini ekstraksi dilakukan pada suhu ruang, sedangkan peneliti lain pada suhu 80°C (Azis *et al.*, 2014). Hasil analisis total fenolik, flavonoid dan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis *yield*, total fenolik, flavonoid dan RSA-DPPH

Variabel EEDS	Jumlah	Satuan
Hasil (<i>yield</i>)	11,42 ± 0,01	%
Total fenolik	13,46 ± 0,38	g-GAE/100 g
Total flavonoid	1,67 ± 0,02	g-QE/100 g
RSA-DPPH	75,69 ± 0,01	%

n = 3

Hasil analisis total fenolik dan flavonoid EEDS berturut-turut sebesar 13,455 ± 0,38 (g-GAE/100 g) dan 1,67 ± 0,02 (g-QE/100 g ekstrak). Sedangkan Dewi (2012), mengatakan uji total fenolik dan flavonoid ekstrak metanol daun Salam berturut-turut 6,83 g-GAE/100 g dan 2,5 g-QE/100g ekstrak. Perbedaan nilai total flavonoid ekstrak daun Salam sangat dimungkinkan, karena perbedaan umur daun, suhu, lama waktu ekstraksi, ukuran simplisia (*mesh*), jenis dan polaritas pelarut. Bahriul *et al.*, (2014) mengatakan ekstrak daun salam mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tannin, tetapi tidak mengandung senyawa alkaloid. Semakin tua usia daun, maka semakin tinggi konsentrasi ketiga kelompok senyawa tersebut.

Hasil uji penangkapan radikal bebas DPPH pada EEDS 75,69 ± 0,01%. Nilai ini jauh lebih kecil dibanding penelitian sebelumnya (Bahriul *et al.*, 2014; Hidayati *et al.*, 2017). Nilai uji RSA-DPPH (159,73 μg/mL) dari ekstrak metanol, etil asetat, diklorometan dan heksan daun Salam berturut-turut sebesar 84,9%; 79,9%; 52,7% dan 47,5% (Hidayati *et al.*, 2017). Nilai IC₅₀ ekstrak metanol daun Salam (EMDS) sebesar 44,35 μg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa antioksidan EMDS sangat kuat (Hidayati *et al.*, 2017). Hal senada diungkapkan Bahriul *et al.*, (2014) bahwa nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun Salam tua, tengah dan muda berturut turut 37,44 ppm, 14,89 ppm dan 11 ppm. Verawati *et al.*, (2017) menyatakan nilai IC₅₀ ekstrak daun Salam dengan metode maserasi sebesar 35,06 ppm.

Jika nilai IC₅₀ suatu ekstrak < 50 ppm maka aktivitas antioksidannya kategori sangat kuat, jika IC₅₀, 50-100 ppm berarti kuat, nilai IC₅₀ antara 100-150 ppm berarti lemah, serta bila IC₅₀ > 200

ppm kategori sangat lemah (Molyneux, 2004). Potensi EEDS sebagai antioksidan alami dari famili *Myrtaceae* disebabkan oleh adanya komponen bioaktif seperti asam gallat, eugenol, kampferol, kuersetin dan tanin (Hidayati *et al.*, 2017).

Bilangan Peroksida (PoV)

Hasil analisis angka peroksida sosis daging sapi dari berbagai penambahan EEDS dan lama penyimpanan terlihat pada Tabel 2. Hasil uji lanjut DMRT menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata angka peroksida antar perlakuan pada semua umur simpan ($p < 0,05$). Pada awal penyimpanan (hari ke-0) pada masing-masing sampel sudah terdapat peroksida yang berbeda ($p < 0,05$). Artinya sudah terjadi oksidasi lipid pada semua sampel pada tingkat oksidasi berbeda, yang diinisiasi oleh abstraksi atom hidrogen dari atom karbon (C) berikatan rangkap (Ferrari dan Torres, 2002), sehingga terbentuk peroksida sebagai produk primer autoksidasi 0,063 - 0,364 (meq/kg lipid).

Selanjutnya pada pengamatan hari ke-1 ada peningkatan angka peroksida pada tiap sampel sangat nyata ($p < 0,05$). Peroksida yang sudah terbentuk dari awal pada sampel, menstimulir terjadinya reaksi berantai (fase propagasi), sehingga peningkatan peroksida sangat cepat pada semua sampel pada rentang 0,734 meq-O₂/kg (EEDS-1500)-3,625 meq-O₂/kg.lemak (EEDS-0). Fase propagasi diduga terus berlangsung hingga hari ke-3, sebab masih terjadi peningkatan angka peroksida cukup tinggi antara 2,036 meq-O₂/kg.lemak (EEDS-1500) hingga 3,413 meq-O₂/kg.lemak (EEDS-0). Peningkatan angka peroksida terus berlanjut pada Kontrol (EEDS-0) dan sampel dengan penambahan EEDS konsentrasi rendah. Namun peningkatan angka peroksida tidak terjadi pada sampel EEDS-1000 dan EEDS-1500, meskipun masih berlangsung autoksidasi lipid namun cenderung melambat. Penambahan EEDS (500-1500 ppm) pada sosis sapi mampu menghambat pembentukan angka peroksida 16,4-64,9% (EEDS-500) hingga penyimpanan hari ke-5, jauh lebih tinggi dibanding antioksidan BHT (200 ppm) sebesar 13,1%.

Angka peroksida kumulatif pada sosis Sapi hingga akhir pengamatan pada hari ke-5 pada kisaran 12,213 meq-O₂/kg.lemak (EEDS 0%) hingga 4,28 meq-O₂/kg.lemak (EEDS 1500 ppm). Peroksida bersifat tidak stabil dan akan terdekomposisi menjadi produk yang stabil seperti senyawa aldehid (*malonaldehyde*, *hydroxynonenal*, *hydroxyhexenal*), keton, hidrokarbon, epoksi, alkohol dan molekul organik yang lain sebagai produk sekunder dari oksidasi lipid (Ferrari dan

Torres, 2002; Skibsted, 2010). Disamping dengan metode titimetri (titrasi), pengukuran angka peroksida juga dilakukan dengan spektrofotometri pada $\lambda = 500-510$ nm (Shahidi dan Zhong, 2005).

Tabel 2. Nilai pertambahan angka peroksida sosis Sapi pada berbagai umur simpan (meq-O₂/kg sampel)

Perlakuan (ppm)	Masa simpan (hari ke-)			
	0	1	3	5
EEDS-0	0,364 ^g	3,625 ^e	3,413 ^d	4,811 ^d
BHT-200	0,324 ^f	3,355 ^{de}	3,325 ^{cd}	3,603 ^c
EEDS-500	0,255 ^e	3,202 ^{cd}	3,280 ^{cd}	3,468 ^c
EEDS-750	0,211 ^d	3,113 ^{cd}	3,103 ^{cd}	3,339 ^c
EEDS-1000	0,157 ^c	2,902 ^c	2,793 ^{bc}	2,866 ^b
EEDS-1250	0,113 ^b	2,369 ^b	2,415 ^{ab}	1,668 ^a
EEDS-1500	0,063 ^a	0,734 ^a	2,036 ^a	1,456 ^a

Keterangan : Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan ($p < 0,05$), $n=3$.

Angka dalam sel adalah nilai peningkatan (Δ) angka peroksida.

Wahyudi *et al.*, (2018) menyebutkan penambahan fraksi etil asetat (0,1-1%) dari ekstrak aseton daun Salam mampu mereduksi angka peroksida pada minyak goreng curah 6,45-35%. Kingchaiyaphum dan Rachtanapun (2012) menyatakan penambahan atsiri kulit daun jeruk purut pada sosis mampu menghambat terbentuknya produk sekunder oksidasi hingga hari ke-5 penyimpanan. Angka peroksida pada suatu produk makanan yang dapat ditoleransi pada kisaran 10-20 meq-O₂/kg.lemak (Abdellah *et al.*, 2012; BSN, 2013).

Angka Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS)

Hasil analisis angka TBARS dari hasil pengujian sosis daging Sapi dengan berbagai penambahan EEDS terlihat pada Tabel 3. Tabel 3. menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata angka TBARS sosis daging sapi dengan berbagai perlakuan ($p < 0,05$) selama penyimpanan (0-5 hari). Pada awal pengamatan sudah terdeteksi konsentrasi angka TBARS yang beragam, artinya sudah terdapat produk sekunder peroksidasi lipid, yang besarnya 0,789 $\mu\text{g.MDA/kg.lemak}$ (EEDS-1500)-1,163 $\mu\text{g.MDA/kg.lemak}$ (EEDS-0). Selanjutnya pada pengamatan hari ke-1 hingga hari ke-5 terdapat peningkatan angka TBARS pada tiap sampel sangat nyata ($p < 0,05$). Pada akhir penyimpanan angka TBARS kumulatif tertinggi pada perlakuan EEDS-0 (Kontrol) sebesar 6,9 $\mu\text{g.MDA/kg.lemak}$ dan terendah pada EEDS-1500 sebesar 4,864 $\mu\text{g.MDA/kg.lemak}$. Penambahan EEDS (500-1500 ppm) pada sosis Sapi mampu

menghambat pembentukan angka TBARS terendah 6,8% (EEDS-500) dan tertinggi 29,5% (EEDS-1500). Nilai penghambatan lebih tinggi dibanding antioksidan BHT (200 ppm) sebesar 4,9% hingga hari ke-5 (data tidak ditampilkan).

Tabel 3. Nilai pertambahan angka TBARS sosis Sapi pada berbagai umur simpan ($\mu\text{g.MDA/kg.lemak}$)

Perlakuan (ppm)	Masa simpan (hari ke-)			
	0	1	3	5
EEDS-0	1,163 ^c	1,732 ^f	1,901 ^d	2,101 ^f
BHT-200	1,147 ^c	1,616 ^e	1,852 ^d	1,945 ^e
EEDS-500	1,133 ^c	1,532 ^d	1,833 ^{cd}	1,927 ^e
EEDS-750	1,121 ^c	1,444 ^c	1,799 ^{cd}	1,859 ^d
EEDS-1000	1,093 ^c	1,377 ^{bc}	1,727 ^c	1,789 ^c
EEDS-1250	1,019 ^b	1,332 ^b	1,530 ^b	1,678 ^b
EEDS-1500	0,789 ^a	1,199 ^a	1,325 ^a	1,551 ^a

Keterangan : Superskrip huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$), $n=3$.

Angka dalam sel adalah nilai peningkatan (Δ) angka TBARS.

Angka TBARS masih relevan untuk mengukur tingkat kerusakan lipid akibat peroksidasi. Sebab *malonaldehyde* (MDA) sebagai produk utama setelah pemecahan (*breakdown*) produk primer oksidasi lipid yakni lipid *hydroperoxides* (Shahidi dan Zhong, 2005; Al-Fawaeir *et al.*, 2011). Senyawa lain yang dihasilkan adalah *hydroxynonenal*, *hydroxyhexenal* (aldehid), keton, hidrokarbon, epoksi, alkohol dan molekul organik yang lain sebagai produk sekunder dari oksidasi lipid (Ferrari dan Torres, 2002; Skibsted, 2010). Kingchaiyaphum dan Rachtanapun (2012) mengatakan penambahan atsiri kulit jeruk maupun atsiri temu kunci (5-20%) pada sosis mampu menekan oksidasi lipid hingga hari ke-5 penyimpanan (< 5 ppm MDA/kg). Hasil tersebut setara dengan penambahan EEDS 1500 ppm pada sosis. Senada dengan hasil tersebut diungkapkan Jayawardana *et al.*, (2015) bahwa penambahan bubuk daun kelor (*Moringa oleifera*) 500-1000 ppm pada sosis mampu menekan angka TBARS ($< 2,4$ $\mu\text{g.MDA/kg}$) hingga hari ke-5 penyimpanan.

Angka Asam

Hasil analisis angka asam sosis daging sapi dengan berbagai penambahan EEDS terlihat pada Tabel 4. Berdasarkan data Tabel 4 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata angka asam pada sosis Sapi dengan berbagai perlakuan ($p < 0,05$) selama penyimpanan (0-5 hari).

Pada awal pengamatan sudah terdeteksi konsentrasi asam lemak bebas (ALB) yang beragam, artinya sudah terdapat ALB yang

besarnya setara dengan 1,25 mg-KOH/g.lemak (EEDS-1500)-1,54 mg-KOH/g.lemak (EEDS-0). Diduga konsentrasi ALB berasal dari daging Sapi, minyak sawit dan atau susu skim yang ditambahkan pada proses pembuatan sosis. Pada standar mutu sosis SNI 3820:2015 tidak disebutkan batasan angka asam (BSN, 2015), namun untuk minyak goreng angka asam tidak boleh lebih dari 0,6 m-KOH/g (BSN, 2013). Semakin tinggi nilai angka asam, indikasi semakin tinggi konsentrasi ALB pada bahan.

Tabel 4. Nilai pertambahan (Δ) angka asam sosis daging Sapi pada berbagai umur simpan (mg-KOH/g.lemak)

Perlakuan (ppm)	Masa simpan (hari ke-)			
	0	1	3	5
EEDS-0	1,54 ^e	0,63 ^d	2,17 ^e	1,98 ^e
BHT-200	1,47 ^d	0,55 ^c	1,53 ^d	1,68 ^d
EEDS-500	1,39 ^c	0,55 ^c	1,20 ^c	1,66 ^d
EEDS-750	1,34 ^b	0,49 ^c	0,90 ^b	1,62 ^d
EEDS-1000	1,33 ^b	0,39 ^b	0,56 ^a	1,46 ^c
EEDS-1250	1,31 ^b	0,36 ^{ab}	0,45 ^a	1,32 ^b
EEDS-1500	1,25 ^a	0,31 ^a	0,34 ^a	1,10 ^a

Keterangan : Superskrip huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Angka dalam sel adalah nilai peningkatan (Δ) angka asam.

Selanjutnya pada pengamatan hari ke-1 hingga hari ke-5 terdapat peningkatan angka asam pada tiap sampel sangat nyata ($p < 0,05$). Pada akhir penyimpanan angka asam kumulatif tertinggi pada perlakuan EEDS-0 (Kontrol) setara dengan 6,32 mg-KOH/g.lemak dan terendah pada EEDS-1500 setara 3,0 mg-KOH/g.lemak. Penambahan EEDS (500-1500 ppm) pada sosis Sapi mampu menghambat pembentukan angka asam terendah 24,05% (EEDS-500) dan tertinggi 52,5% (EEDS-1500), nilai penghambatan EEDS lebih tinggi dibanding antioksidan BHT (200 ppm) sebesar 17,25% hingga hari ke-5. Konsentrasi ALB sesungguhnya bukan produk dari oksidasi lemak, melainkan produk dari hidrolisis lemak baik secara enzimatis maupun oleh asam kuat dan proses termal.

4. CONCLUSION

EEDS memiliki kapasitas antioksidatif dan potensial dimanfaatkan sebagai antioksidan alami untuk pencegahan oksidasi lipid dan produk pangan berminyak. Penambahan EEDS pada konsentrasi 1500 ppm efektif untuk penghambatan kerusakan oksidatif pada sosis daging Sapi.

REFERENCES

- Abdellah, A.M., Khogali El Nour Ahmed Ishag., H.M. Omer, 2012. Assessing The Sudanese Standards and Guidelines of Edible Oils: A Case Study of Sunflower Oil, American-Eurasian J. Agric. and Environ. Sci. 12 (5): 682-688.
- Aguirrezabal, M. M., J. Mateo, ., M.C. Dominguez, J.M. Zumalacargui. 2000. The Effect of Paprika, Garlic and Salt on Rancidity In Dry Sausages. Meat science. 54: 77-81.
- Azis, T., S. Febrizky., D.M. Aris. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Persen Yield Alkaloid dari Daun Salam India (*Murraya koenigii*). Teknik Kimia.,20 (2): 1-6.
- Badan Standardisasi Nasional. 2013. Standar Nasional Indonesia Minyak Goreng. SNI 37741:2013 ICS 67.200.10.
- Badan Standardisasi Nasional. 2015. Standar Nasional Indonesia Sosis SNI 3820:2015.
- Bahriul, P., Nurdin Rahman., M.D. Anang Wahid. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dengan Menggunakan 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil. J. Akad. Kim. 3(3): 143-149.
- Brewer, M.S. 2011. Natural Antioxidant: Source, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Application. Comprehensive Reviews. Food Science and Food Safety. 10: 221-247.
- Chang C., M. Yang., J. Wen Hand Chern. 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. J. Food Drug Anal. 10: 178-182.
- Dewi, R. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksitas Metabolit Sekunder Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) dan Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk). Skripsi, Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB.
- Ebrahimzadeh, M.A., F. Pourmorad., S. Hafezi. 2008. Antioxidant Activities of Iranian Corn Silk. Turk Journal Biology. 32: 43-49.
- Ekawati, R. A. 2007. Potensi Antioksidan Daun Salam (*Eugenia polyantha* (Wight.) Pada Lingkungan Agrobiofisik Yang Berbeda. Skripsi. Program Studi Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. IPB: Bogor.
- Ferrari, C.K.B., Torres., A.F.S. Elizabeth. 2010. Lipid Oxidation and Quality Parameters of Sausages Marketed Locally in The Town of Sao Paulo (Brazil). Czech J. Food Sci. 20 (4): 144-150.
- Gulcin, I., I.G. Sat., S. Beydemir., M. Elmastas., O.I. Kufrevioglu, . 2004. Comparison of Antioxidant Activity of Clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) Buds and Lavender (*Lavandula stoechas* L). Food Chemistry. 87: 393-400.
- Hidayati, M.D., T. Ersam., K. Shimizu., S. Fatmawati. 2017. Antioxidant Activity of *Syzygium polynthum* Extracts. Indones. J. Chem. 17 (1): 49 – 53.
- Jayawardana, B.C., R. Liyanage., N. Lalantha., S. Iddamal goda., P. Weththasinghe. 2015. Antioxidant and Antimicrobial Activity of Drumstick (*Moringa oleifera*) Leaves in Herbal Chicken Sausages. LWT - Food Science and Technology. 64: 1204-1208.
- Kingchaiyampum, W., C. Rachtanapun. 2012. Antimicrobial and Antioxidative Activities of Essential Oils In Chinese Sausage (Kun-Chiang). As. J. Food Ag-Ind. 5 (2): 156-162.
- Maqsood, S., S. Benjakul. 2010. Comparatives Studies of Four Different Phenolic Compound on In Vitro Antioxidative Activity and The Preventive Effect on Lipid Oxidation of Fish Oil Emulsion and Fish Mince. Food Chemistry 119: 123-132.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. Songklanakarin J. Sci.Technol. 26: 211-219.
- Mudawaroch, R. E., Zulfanita. 2012. Kajian Berbagai Macam Antioksidan Alami dalam Pembuatan Sosis. Surya Agritama, 1 (1): 71-84.
- Mulyadi, S. 2010. Pengaruh Penambahan Ekstrak Daun Salam Terhadap Mutu dan Umur Simpan Bakso Ikan Patin. Skripsi. Fakultas Teknologi Pangan. Universitas Brawijaya, Malang.
- Rohadi., S. Raharjo., I.I. Falah., U. Santoso. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Duwet (*Syzygium cumini* Linn.) Pada Peroksidasi Lipida secara In Vitro. Agritech. 36 (1): 30-37.
- Rohadi., U. Santoso., S. Raharjo., I.I Falah. 2017. Determination of Antioxidant Activity and Phenolic Compounds of Methanolic Extract of Java Plum (*Syzygium cumini* Linn. (Skeel) Seed. Indonesian Food and Nutrition Progress (IFNP). 13 (1): 9-20.
- Saad Al-Fawaeir, E. Özgür Akgül, Tuncer Çaycı, Hilmi Demirin, Yasemin Gülcan Kurt, Ibrahim Aydın, Mehmet Ağılı, Esin Özkan, Halil Yaman, Erdinç Çakır, M. Kemal Erbil, 2011. Comparison of two Methods for Malondialdehyde Measurement, J. Clin. Anal. Med. 2 (2): 11-4.
- Skibsted, L.H. 2010. Understanding Oxidation Processes in Foods didalam Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications. Eric A. Decker, J. Ryan, Elias dan D. Julian McClements (ed.). Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, UK.
- Shahidi, F., Y. Zhong. 2005. Lipid Oxidation: Measurement Methods. Dalam Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 6th. Ed., 6th. Vol. Fereidoon Shahidi (ed.). John Wiley & Sons, Inc.
- Vayupharap, B., V. Laksanalamal. 2012. Recovery of Antioxidant from Grape Seeds and its Application in Fried Food. Journal Food Process Technology. 3 (4): 1-6.
- Verawati., D. Nofiandi., Petmawati. 2017. Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Kadar Fenolat dan Aktivitas Antioksidan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp). Jurnal Katalisator. 2 (2): 53-60.
- Wahyudi., A. Vritta., Aini., N. Afifah., D. Puspita., A. Ramadhanni., K. Dewi. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dan Uji Bilangan Peroksida-Nya Terhadap Minyak Goreng Curah. ejournal.umm.ac.id/index.php/ftsh/about. p.55-63.
- Yulianti, T., D. Cakrawati. 2017. Pengaruh Penambahan Ekstrak Daun Salam Terhadap Umur Simpan Bakso. Agrotek. 11 (2): 37-44.