



TUGAS AKHIR- SB-184830

# PENGARUH BEBERAPA METODE PENCUCIAN TERHADAP HIGIENITAS DAN KUALITAS DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) INDUSTRI

Nurul Wulandari  
0131154000046

Dosen Pembimbing:  
Dr.techn. Endry Nugroho Prasetyo, MT.  
Isdiantoni, SP., MP.

DEPARTEMEN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA 2019





**TUGAS AKHIR- SB-184830**

**PENGARUH BEBERAPA METODE PENCUCIAN  
TERHADAP HIGIENITAS DAN KUALITAS DAUN  
KELOR (*Moringa oleifera*) INDUSTRI**

**Nurul Wulandari  
0131154000046**

**Dosen Pembimbing:  
Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, MT.  
Isdiantoni, SP., MP.**

**DEPARTEMEN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA 2019**





**FINAL PROJECT - SB-184830**

**THE EFFECT OF WASHING METHODS ON  
HYGIENIC AND QUALITY LEVEL OF INDUSTRIAL  
*Moringa oleifera* LEAVES**

**Nurul Wulandari  
0131154000046**

**Supervisor  
Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, MT.  
Isdiantoni, SP., MP.**

**BIOLOGY DEPARTMENT  
FACULTY OF SCIENCE  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA 2019**



## LEMBAR PENGESAHAN

### PENGARUH BEBERAPA METODE PENCUCIAN TERHADAP HIGIENITAS DAN KUALITAS DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) INDUSTRI

#### TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar  
Sarjana Sains  
Pada  
Departemen Biologi  
Fakultas Sains  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh:

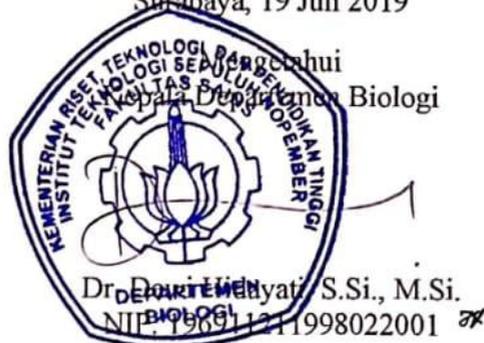
**NURUL WULANDARI**  
NRP. 01311540000046

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir :

Dr.techn. Endry Nugroho Prasetyo, MT. ....(Pembimbing I)

Isdiantoni, SP., MP.....(Pembimbing II)

Surabaya, 19 Juli 2019





PENGARUH BEBERAPA METODE PENCUCIAN  
TERHADAP HIGIENITAS DAN KUALITAS DAUN KELOR  
(*Moringa oleifera*) INDUSTRI

**Nama Mahasiswa : Nurul Wulandari**  
**NRP : 01311540000046**  
**Departemen : Biologi**  
**Dosen Pembimbing: Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, MT.**  
**Isdiantoni, SP., MP.**

Abstrak.

*Moringa oleifera memiliki banyak manfaat untuk produk pangan, kosmetik dan medis. Pengolahan daun M. oleifera terdiri dari tahap pencucian dengan air bersih dan larutan garam. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh metode pencucian terhadap higienitas dan kualitas daun M. oleifera industri. Dalam penelitian ini, empat jenis metode pencucian daun M. oleifera diterapkan untuk mendapatkan perbandingan antara beberapa jenis sumber air yaitu air sumur, PDAM, air isi ulang dan air kemasan (AMDK). Selanjutnya, dua jenis sumber garam juga diterapkan yaitu garam dapur dan garam krosok. Parameter higienitas M. oleifera adalah jumlah lempeng total (TPC), MPN coliform, keberadaan Salmonella sp., dan jumlah koloni Staphylococcus aureus. Sementara itu, kapasitas antioksidan dan tingkat flavonoid juga ditentukan sebagai tingkat kualitas daun M. oleifera. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode pencucian yang paling efektif adalah menggunakan kombinasi AMDK dan garam dapur dengan jumlah total mikroba (TPC), nilai MPN, S. aureus masing-masing sebesar  $0,9 \times 10^4$  CFU / gram, 0,55 / gram,  $0,2 \times 10^2$  CFU / gram dengan semua hasil positif dalam uji Salmonella sp. Kualitas M. oleifera terbaik dicapai dengan mencuci daun dengan air isi ulang dan garam krosok dengan jumlah tingkat kapasitas flavonoid dan antioksidan masing-masing 8,57 mgQE / gram dan 69%.*

*Kata Kunci: Antioksidan, Flavonoid, Higienitas, M. oleifera, Pencucian*

THE EFFECT OF WASHING METHODS ON HYGIENIC  
AND QUALITY LEVEL OF INDUSTRIAL *Moringa oleifera*  
LEAVES

**Student Name : Nurul Wulandari**  
**NRP : 0131154000046**  
**Departement : Biology**  
**Supervisor : Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, MT.**  
**Isdiantoni, SP., MP.**

*Abstract*

*Moringa oleifera* has many function such as food, cosmetic and medical product. *M. oleifera* leaves processing consists of washing step by clean water and salt solution. The purpose of the study was to determine the effect of washing method to hygienic and quality of industrial *M. oleifera* leaves. In this study, four types of *M. oleifera* leaves washing method were applied to obtain comparation between several types of water sources namely well water, government water treatment, refilled water and bottled water. Further, two types of salt sources were as well applied namely commercial salt and raw salt. The parameter of *M. oleifera* hygienic were total plate count, MPN coliform, *Salmonella* sp. present, and *Staphylococcus aureus* cell number. Meanwhile, the antioxidant capacity and flavonoid level were as well determine as quality level of *M. oleifera* leaves. The results showed that the most effective washing method were using a combination bottled water and commercial salt with total plate count, MPN, *S. aureus* value as  $0.9 \times 10^4$  CFU/ gram, 0.55/ gram,  $0.2 \times 10^2$  respectively with all positive results in *Salmonella* sp. test. The best *M. oleifera* quality was achieved by washing the leaves with refilled water and raw salt with number of level of flavonoid and antioxidant capacity percentage were 8.57 mgQE/ gram and 69% respectively.

**Keywords:** Antioxidant, Flavonoid, Hygienic, *M. Oleifera*, Washing.



## KATA PENGANTAR

Dengan menyebut nama Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Panyayang, penulis memanjatkan puji syukur atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul “**Pengaruh Beberapa Metode Pencucian terhadap Higienitas dan Kualitas Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Industri**”. Tugas Akhir ini telah penulis susun dengan maksimal serta dengan adanya bantuan dari berbagai pihak sehingga dapat memperlancar penyusunan proposal ini. Oleh karena itu, penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada Bapak Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, MT. selaku Pembimbing I, Bapak Isdiantoni, SP., MP. selaku Pembimbing II, Ibu Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si. selaku Penguji I, dan Ibu Dr. Enny Zulaikha, MP. selaku Penguji II.

Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Ayah dan Ibu, serta kakak – kakak atas doanya. Tidak lupa juga teman – teman angkatan Biologi 2015, dan seluruh pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini.

Terlepas dari semua itu, penulis menyadari sepenuhnya bahwa masih ada kekurangan baik dari segi susunan kalimat maupun tata bahasanya. Oleh sebab itu, dengan tangan terbuka penulis menerima segala saran dan kritik dari pembaca agar penulis menjadi lebih baik lagi.

Surabaya, 18 Juli 2019

Penulis



## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN.....	vii
ABSTRAK .....	ix
KATA PENGANTAR.....	xiii
DAFTAR ISI.....	xv
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR GAMBAR .....	xix
DAFTAR LAMPIRAN .....	xxi
<b>BAB I .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Batasan Masalah .....	2
1.4 Tujuan .....	3
1.5 Manfaat .....	3
<b>BAB II.....</b>	<b>5</b>
2.1 Kelor ( <i>Moringa oleifera</i> ) .....	5
2.2 Proses Pencucian Daun .....	7
2.2.1 Garam .....	9
2.2.2 Air.....	10
2.3 Standar Uji Kelayakan.....	16
2.3.1 Uji MPN <i>Coliform</i> .....	17
2.3.2 Uji TPC.....	18
2.3.3 Uji <i>Salmonella</i> sp. ....	19
2.3.4 Uji <i>Staphylococcus aureus</i> .....	20
2.4 Antioksidan.....	20
2.5 Metode DPPH.....	22
2.6 Flavonoid .....	23
2.7 Metode Kolorimetri .....	24
<b>BAB III.....</b>	<b>27</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	27
3.2 Metode Penelitian .....	27

3.2.1	Pengambilan Sampel .....	27
3.2.2	Uji MPN <i>Coliform</i> .....	28
3.2.3	Uji ALT .....	29
3.2.4	Uji <i>Salmonella</i> sp.....	30
3.2.5	Uji <i>Staphylococcus aureus</i> .....	30
3.2.6	Uji Total Flavonoid & Antioksidan.....	31
3.3	Rancangan Penelitian.....	33
BAB IV	.....	35
4.1	Analisis Total Mikroba pada Sampel Daun <i>M. oleifera</i> Industri .....	35
4.2	Perkiraan Angka Terdekat <i>Coliform</i> Sampel Daun <i>M.</i> <i>oleifera</i> Industri.....	37
4.3	Analisis Cemaran Bakteri Enterik pada Sampel Daun <i>M.</i> <i>oleifera</i> industri.....	38
4.4	Pengaruh Metode Pencucian terhadap Kualitas Daun <i>M.</i> <i>oleifera</i> .....	42
BAB V	.....	45
5.1	Kesimpulan .....	45
5.2	Saran .....	45
DAFTAR PUSTAKA	.....	47
LAMPIRAN	.....	57
BIODATA PENULIS	.....	69

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Standar mutu air bersih.....	13
Tabel 2.2	Standar mutu air minum.....	15
Tabel 2.3	Batas cemaran mikrobiologis serbuk nabati.....	17
Tabel 4.1	Hasil analisis mikrobiologi pada air dan garam.....	35
Tabel 4.2	Hasil uji <i>Salmonella</i> sp. ....	40



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Morfologi <i>Moringa oleifera</i> .....	6
Gambar 2.2	Proses pencucian daun <i>M. oleifera</i> .....	8
Gambar 4.1	Hasil uji TPC.....	36
Gambar 4.2	Hasil uji MPN <i>Coliform</i> .....	38
Gambar 4.3	Hasil uji <i>S. aureus</i> .....	39
Gambar 4.5	Hasil uji <i>Salmonella sp.</i> .....	41
Gambar 4.6	Hasil uji kadar flavonoid dan persentase antioksidan .....	42



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Skema penelitian.....	57
Lampiran 2	Hasil Uji MPN <i>Coliform</i> .....	58
Lampiran 3	Hasil Uji TPC.....	59
Lampiran 4	Hasil Uji <i>Staphylococcus aureus</i> .....	60
Lampiran 5	Hasil Uji <i>Salmonella</i> sp. ....	61
Lampiran 6	Hasil Absorbansi dan Kurva Standar Quersetin .....	62
Lampiran 7	Hasil Absorbansi Uji Kadar Flavonoid.....	63
Lampiran 8	Hasil Absorbansi Uji Aktivitas Antioksidan .....	65
Lampiran 9	Foto Perlakuan Sampel .....	67



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Daun *Moringa oleifera* dapat diproses menjadi olahan industri herba seperti, obat, teh, atau serbuk (Razis *et al* 2014). Pada pemanfaatan daun *M. oleifera* untuk produk industri dilakukan proses pengolahan dari proses penyortiran, pencucian, pengeringan, pengolahan bahan mentah menjadi bahan jadi dan pengemasan produk (Sauveur, 2010). Pencucian bahan baku dilakukan untuk menghilangkan kotoran – kotoran yang menempel seperti tanah dan debu. Selain itu mikroorganisme patogen juga dapat menjadi kontaminan yang berbahaya apabila masuk ke dalam tubuh manusia saat dikonsumsi dan menyebabkan infeksi (Said *et al*, 2005).

Industri herba di Kabupaten Sumenep, Madura mengolah daun *M. oleifera* yang menghasilkan produk akhir berupa serbuk nabati. Pada industri herba di Kabupaten Sumenep, Madura proses pencucian dilakukan dengan menggunakan air sumur atau air PDAM. Menurut standar pencucian skala industri terdapat tiga tahap proses pencucian, yaitu tahap pertama pencucian menggunakan air untuk menghilangkan kotoran, tahap kedua pencucian menggunakan larutan garam, dan tahap ketiga adalah pembilasan (Sauveur *et al*, 2010).

Kualitas air yang digunakan untuk mencuci sangat mempengaruhi kualitas bahan baku. Air yang digunakan untuk proses pencucian harus bersih dan tidak mengandung cemaran diluar batas maksimal. Menurut WHO (1971) air yang digunakan dalam proses pencucian merupakan air standar air minum. Kondisi air yang bersih efektif untuk pencucian bahan baku agar tidak tercemar oleh air pencuci (Dinanti *et al*, 2015). Penggunaan larutan garam ditujukan untuk membunuh bakteri patogen. Larutan garam dapat menyebabkan sel – sel bakteri menjadi lisis dan mati (Arisandi *et al*, 2017). Garam yang digunakan adalah

garam yang mudah ditemukan di Kabupaten Sumenep, yaitu garam dapur dan garam krosok.

Menurut Peraturan Pemerintah Republik Indonesia nomor 66 (2014) pasal 8 ayat 1 huruf d tentang standar baku mutu kesehatan lingkungan untuk media pangan dalam mempertahankan kondisi pangan yang sehat dan higienis yang bebas dari bahaya cemaran biologis, kimia, dan benda lain. Proses pengolahan yang benar sangat dianjurkan untuk menjaga mutu pangan, khususnya dalam proses pencucian yang berfungsi untuk mengurangi cemaran. Selain untuk mengurangi cemaran, air yang digunakan merupakan senyawa bersifat polar yang dapat melarutkan senyawa polar pula. Senyawa polar pada daun contohnya adalah senyawa golongan fenol, salah satunya flavonoid (Romadanu *et al*, 2014).

Berdasarkan hal tersebut, pada penelitian ini akan dilakukan pengujian pada produk yang dihasilkan berupa serbuk nabati untuk mengetahui metode pencuci yang paling efektif untuk mengurangi cemaran dan tetap menjaga kualitas daun *M. oleifera* industri. Untuk mengetahui tingkat higienitas dari pencucian daun *M. oleifera* yang sesuai dengan Standar Nasional Indonesia pada jenis serbuk nabati dilakukan uji MPN *coliform*, TPC, *Salmonella* sp., dan *S. aureus*., sedangkan untuk menguji kualitas daun dilakukan uji total flavonoid dan uji antioksidan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Apakah metode pencucian menggunakan beberapa jenis air dan garam memenuhi SNI 7388 (2009) tentang Batas maksimum cemaran mikroba dalam pangan?
2. Apakah proses pencucian mempengaruhi kadar flavonoid dan persentase aktivitas antioksidan pada daun *M. oleifera* industri?

## 1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Sampel daun *M. oleifera* yang diuji diambil dari Desa Talango, Sumenep, Madura
2. Jenis air yang digunakan adalah air sumur, air PDAM, air isi ulang di Desa Talango, Sumenep, Madura dan AMDK Cleo ukuran 1,5 L produksi PT. Sariguna Primatirta, Tbk. Pandaan Kabupaten Pasuruan.
3. Garam yang digunakan adalah garam krosok di Desa Talango, Sumenep, Madura dan garam dapur merk “Dua Anak Pintar” produksi PT. Budiono MBP, Kabupaten Pamekasan.
4. Uji higienitas yang dilakukan sesuai dengan SNI 7388 (2009), yaitu uji ALT/TPC, uji APM/MPN, uji *Salmonella* sp., dan uji *S. aureus*.

#### **1.4 Tujuan**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh metode pencucian yang sesuai untuk memenuhi SNI 7388 (2009) terhadap tingkat higienitas dan kualitas daun *M. oleifera* industri.

#### **1.5 Manfaat**

Manfaat dari penelitian ini berupa rekomendasi metode pencucian dengan kualitas dan tingkat higienitas terbaik untuk daun *M. oleifera* industri dalam menjaga baku mutu pangan sesuai SNI.



## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kelor (*Moringa oleifera*)

Tanaman kelor (*Moringa oleifera*) merupakan bagian dari famili Moringaceae. *M. oleifera* adalah tanaman asli Asia Selatan, terutama di lembah Himalaya, India. *M. oleifera* tumbuh di Negara lain pada daerah tropis atau subtropics seperti Pakistan, Afghanistan, Sri Lanka, Bangladesh, Brazil dan Paraguay (Tejas *et al*, 2012). *M. oleifera* dapat tumbuh di daerah tropis ataupun subtropis dengan suhu 25 – 35°C dan curah hujan 250 – 3000 mm pada semua jenis tanah (Gopalakrishnan *et al*, 2016) dan tahan terhadap musim kemarau hingga 6 bulan (Aminah *et al*, 2015)

Berikut merupakan klasifikasi taksonomi dari *M. oleifera* (Tejas *et al*, 2012);

Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: Tracheobionta
Super divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Dilleniidae
Ordo	: Capparales
Family	: Moringaceae
Genus	: <i>Moringa</i>
Species	: <i>Moringa oleifera</i>

Tanaman *M. oleifera* merupakan jenis tanaman perdu dengan tinggi 7 – 11 meter. Batangnya berkayu dan tegak mempunyai diameter hingga 45 cm dengan cabang yang rapuh.. Tanaman *M. oleifera* merupakan tanaman berumur panjang dan berbunga sepanjang tahun. Pada umumnya di Indonesia bunga *M. oleifera* berwarna putih kekuningan dengan tudung pelepah bunganya berwarna hijau dan mengeluarkan aroma semerbak Bunga *M. oleifera* merupakan jenis bunga biseksual dengan ukuran panjang 0,7 – 1 cm dan luas 2 cm. (Aminah *et al*, 2015;

Tejas *et al*, 2012). Buah *M. oleifera* mempunyai bentuk panjang dengan ukuran panjang antara 20 – 60 cm berwarna hijau saat muda dan cokelat tua saat tua. Buah tersebut akan menghasilkan biji *M. oleifera* yang berbentuk segitiga dengan warna hijau terang – cokelat kehitaman saat tua yang dilapisi selaput seperti kertas tipis. Pada kondisi kering biji *M. oleifera* mempunyai rata – rata berat berkisar 18 – 36 gram/100 biji (Aminah *et al*, 2015). Daun *M. oleifera* merupakan daun majemuk *bipinnate* atau *tripinnate* dengan panjang hingga 45 cm dan helai daunnya berbentuk menyirip dengan panjang 1 – 2 cm (Tejas *et al*, 2012).



(a)



(b)



(c)



(d)

Gambar 2.1 Morfologi *Moringa oleifera* (Shaltout *et al*, 2017)

(a) Bunga *M. oleifera*      (b) Biji *M. oleifera*  
 (c) Daun *M. oleifera*      (d) Buah *M. oleifera*

Daun *M. oleifera* mengandung banyak nutrisi antara lain kalsium, besi, protein, vitamin A, vitamin B, dan vitamin C (Misra and Misra, 2014). Daun *M. oleifera* juga mengandung berbagai macam asam amino, antara lain asam aspartate, asam glutamat, alanin, valin, leusin, isoleusin, arginin, triptopan, sistein dan metionin (Simbolan *et al*, 2007). Berdasarkan Verma (2009) daun *M. oleifera* mengandung fenol dalam jumlah banyak sebagai penangkal radikal bebas. Senyawa aktif lain pada daun kelor yang mempunyai aktivitas antioksidan adalah asam askorbat, fenolat, karotenoid, asam tocopherol (Anwar *et al*, 2007; Jadoon *et al*, 2015; Ramabulana *et al*, 2016).

Pada umumnya di beberapa wilayah Indonesia bagian timur *M. oleifera* dikonsumsi sebagai sayuran. Penemuan terbaru daun *M. oleifera* bermanfaat dibidang farmakologi karena kandungan antioksidan dan antimikrobia, yaitu sebagai antimikroba, antijamur, antihipertensi, antihiperqlikemik, antitumor, antikanker, dan anti-implamasi (Toma and Deyno, 2014). Selain dibidang farmasi, daun *M. oleifera* juga dapat dimanfaatkan sebagai produk kosmetik (minyak, sabun dan pelembab) serta sebagai produk olahan makanan lain, seperti pudding, biscuit, roti dan teh (Aminah *et al*, 2015).

Pada pemanfaatan daun *M. oleifera* untuk produk industri dapat dipanen 3 – 4 bulan setelah tanam. Panen dilakukan berlangsung setiap 30 – 45 hari pada pagi hari atau sore hari dengan kriteria daun pada cabang 30 cm – 1 m dari tanah (Sauveur, 2010). Pada pemanenan daun *M. oleifera* untuk industri pangan kebersihan harus dijaga dengan menghindari air atau embun pada permukaan daun agar tidak tumbuh jamur (Bidima, 2016).

## **2.2 Proses Pencucian Daun**

Proses pencucian daun dilakukan untuk menghilangkan kotoran – kotoran yang menempel seperti tanah dan debu. Daun juga dapat terkontaminasi oleh residu pestisida yang membahayakan bagi kesehatan (Widyantari *et al*, 2015). Selain

itu mikroorganisme patogen juga dapat menjadi kontaminan yang berbahaya apabila masuk ke dalam tubuh manusia saat dikonsumsi dan menyebabkan infeksi (Said *et al*, 2005). Macam bakteri yang sering ada pada permukaan daun adalah *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Lactobacillus acidophilus* sp., *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Pseudomonas* sp., *Corynebacterium* sp., *Micrococcus* sp. (Khaq and Dewi, 2016)

Proses pencucian daun *M. oleifera* ada 3 tahap. Tahap pertama adalah pencucian pertama menggunakan air bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel. Tahap kedua adalah pencucian menggunakan larutan garam untuk menghilangkan mikroorganisme patogen. Tahap terakhir adalah tahap pembilasan untuk membersihkan sisa larutan garam dan kotoran (Sauver *et al*, 2010). Proses pencucian sangat berpengaruh pada higienitas daun *M. oleifera*. Air yang bersih efektif untuk proses pencucian, sedangkan air yang tercemar tidak efektif untuk proses pencucian karena dapat mencemari bahan yang dicuci. Selain air yang dapat mempengaruhi keberadaan cemaran mikrobiologis, digunakan larutan garam untuk mengurangi bakteri patoogen. Larutan garam dapat menyebabkan sel – sel mikroorganisme menjadi lisis (Arisandi *et al*, 2017).



Gambar 2.2 Proses pencucian daun *M. oleifera* (Kementerian Pertanian, 2014).

### 2.2.1 Garam

Garam adalah benda padat berwarna putih berbentuk Kristal yang merupakan kumpulan senyawa dengan bagian terbesar Natrium Klorida (>80%) serta senyawa lainnya, seperti Magnesium Klorida, Magnesium sulfat, dan Kalsium Klorida. Sumber garam yang didapat di alam berasal dari air laut, air danau asin, deposit dalam tanah, tambang garam, sumber air dalam tanah (Burhanuddin, 2001). Komponen – komponen tersebut mempunyai peranan yang penting bagi tubuh manusia, sehingga diperlukan konsumsi garam dengan ukuran yang tepat untuk menunjang kesehatan manusia. Konsumsi garam per orang per hari diperkirakan sekitar 5 – 15 gram atau 3 kilogram per tahun per orang (Winarno 1995 dalam Amalia, 2007).

Dalam suatu proses fermentasi bahan pangan, natrium klorida bermanfaat untuk membatasi pertumbuhan organisme pembusuk dan mencegah pertumbuhan sebagian organisme. Garam dapat memperpanjang umur simpan produk, karena garam mempunyai sifat bakteriosid (daya membunuh) dan bakteriostatik (daya menghambat). Aksi osmotik larutan garam terhadap bahan pangan disebabkan karena bahan pangan bertindak sebagai membran semipermeabel menurunkan kadar air sehingga garam berperan untuk menghambat kegiatan bakteriologis dan enzimatis (Amalia *et al*, 2016). Garam menyebabkan perbedaan tekanan osmosis antara dalam dan luar sel semakin besar sehingga zat yang terdapat dalam sel akan keluar (Hardjo, 2005).

#### 2.2.1.1 Garam Krosok

Garam krosok adalah garam yang dihasilkan dari proses penguapan dan kristalisasi air laut. Garam krosok memiliki kualitas yang rendah, yaitu NaCl hanya 85% dan mengandung bahan pengotor seperti magnesium sulfat ( $MgSO_4$ ), kalsium sulfat ( $CaSO_4$ ), magnesium klorida ( $MgCl_2$ ), kalium klorida (KCl) dan pengotor tanah (Nur *et al*, 2013). Garam krosok tidak dapat dikonsumsi secara langsung maupun sebagai bahan baku atau bahan penolong untuk kebutuhan industri seperti industri soda,

minyak, tekstil dan sebagainya karena kadar NaCl nya masih dibawah Standar Nasional Indonesia (Sumada *et al*, 2016). Menurut Kemenperin RI, garam krosok dapat digunakan untuk pakan ternak hewan, pengolahan air limbah dan industri penyamakan kulit.

### **2.2.1.2 Garam Dapur**

Garam dapur atau juga sering disebut garam konsumsi adalah garam konsumsi beryodium dengan kandungan natrium klorida (NaCl) minimum 94,7 % atas dasar basis kering (adbk), air maksimum 7 %, bagian yang tidak larut dalam air maksimum 0,5 %, kandungan cadmium (Cd) maksimum 0,5 mg/kg, kandungan timbal (Pb) maksimum 10 mg/kg, kandungan Raksa (Hg) maksimum 0,1 mg/kg dan kandungan arsen (As) maksimum 0,1 mg/kg, serta kandungan KIO<sub>3</sub> minimal 30 mg/kg (Sumada *et al*, 2016). Garam dapur merupakan garam laut (garam krosok) yang telah melalui proses penambahan yodium. Garam dapur melewati proses pencucian dan pemurnian sehingga mempunyai kadar NaCl lebih tinggi dengan berkurangnya bahan pengotor pada garam (Nur *et al*, 2013). Menurut Kemenperin RI Garam dapur banyak digunakan sebagai zat tambahan pada pangan. Peran utama garam dapur ialah sebagai pemenuh kebutuhan yodium dalam tubuh.

### **2.2.2 Air**

Air merupakan senyawa kimia berbentuk cairan yang tidak berwarna, tidak berbau dan tak ada rasanya dengan rumus kimia, yaitu H<sub>2</sub>O. Air mempunyai titik beku 0°C pada tekanan 1 atm, titik didih 100°C dan kerapatan 1,0 g/cm<sup>3</sup> pada suhu 4°C. Wujud air dapat berupa cairan, gas (uap air) dan padatan (es). Sumber air di bumi dapat berasal dari air hujan, air permukaan, air tanah dan air laut. Air dapat berperan sebagai pelarut zat kimia seperti garam dan gula (Susana, 2003). Air mudah melarutkan berbagai partikel, seperti mineral anorganik, logam berat dan mikroorganisme yang membuatnya terkontaminasi dan menjadi

air mineral pada umumnya (Santosa *et al*, 2008). Selain itu, air bersifat polar sehingga mampu melarutkan senyawa polar. Pada umumnya air digunakan sebagai air minum, keperluan rumah tangga, pengairan, peternakan, perikanan, dan industri (Susana, 2003).

Menurut Peraturan Pemerintahan RI 82/2001 tentang Pengendalian Kualitas Air, air diklasifikasikan menjadi empat kelas, yaitu:

1. Kelas satu, air yang peruntukannya dapat digunakan untuk air baku air minum, dan atau peruntukan lain yang mempersyaratkan mutu air yang sama dengan kegunaan tersebut;
2. Kelas dua, air yang peruntukannya dapat digunakan untuk prasarana/sarana rekreasi air, pembudidayaan ikan air tawar, peternakan, air untuk mengairi pertanian, dan atau peruntukan lain yang mempersyaratkan mutu air yang sama dengan kegunaan tersebut;
3. Kelas tiga, air yang peruntukannya dapat digunakan untuk pembudidayaan ikan air tawar, peternakan, air untuk mengairi pertanian, dan atau peruntukan lain yang mempersyaratkan air yang sama dengan kegunaan tersebut;
4. Kelas empat, air yang peruntukannya dapat digunakan untuk mengairi, pertanian dan atau peruntukan lain yang mempersyaratkan mutu air yang sama dengan kegunaan tersebut

Menurut aturan WHO (Geneva, 1971), dalam industri pengolahan atau pengawetan bahan makanan dan minuman ditetapkan peraturan mengenai standar kualitas air dan penggunaan bahan kimia. Air yang digunakan untuk mencuci bahan baku harus memenuhi syarat standar air minum menurut WHO, yaitu tidak berasa, tidak berwarna, dan tidak berbau; bersih dan jernih; tidak mengandung logam / bahan kimia berbahaya; dan derajat kesadahan nol. Air yang digunakan selama proses pembuatan produk harus memenuhi syarat standar yang

ditetapkan untuk memperkecil kemungkinan mengandung unsur-unsur berbahaya (Putri, 2010).

### **2.2.2.1 Air Sumur**

Sumur merupakan konstruksi yang banyak digunakan oleh masyarakat untuk mengambil air dengan kedalaman 7 – 10 meter dari permukaan tanah (Hapsari, 2015). Air sumur merupakan air yang bersumber dari air tanah. Air tanah memiliki beberapa kelemahan dibanding sumber air lainnya karena air tanah mengandung zat-zat mineral dalam konsentrasi tinggi antara lain magnesium, kalsium dan besi yang menyebabkan kesadahan (Munfiah *et al*, 2013). Kualitas air sumur dapat dipengaruhi oleh rembesan air limbah rumah tangga, limbah kimia, laundry, rembesan air sungai terdekat yang sudah tercemar, dan lainnya (Sasongko *et al*, 2014). Air mudah meresap dan melewati pori-pori tanah sehingga bercampur dengan materi lain sehingga jika air limbah atau air yang sudah tercemar melewati pori-pori tanah dapat mencemari sumber air yang masih bersih. Hal tersebut menyebabkan air tanah mudah mengalami pencemaran (Hapsari, 2015).

### **2.2.2.2 Air PDAM**

Air PDAM air yang diproduksi melalui proses penjernihan dan penyehatan sebelum dialirkan kepada konsumen melalui suatu instalasi berupa saluran sumber air (pipa) yang dikelola oleh pemerintah maupun swasta (Chandra, 2012). Air PDAM menggunakan air baku sebagai bahan utama. Air baku tersebut antara lain air tanah dalam, mata air, dan sungai. Air tanah dalam dan mata air biasanya berkualitas baik dan hanya memerlukan pengolahan sederhana untuk dapat digunakan sebagai air minum yang memenuhi syarat, sedangkan air permukaan biasanya memerlukan pengolahan lengkap agar dapat mencapai standar fisika, kimia dan biologi. Kualitas air permukaan juga bergantung pada topografi tempat sumber berada dan musim (Raini *et al*, 2004). Pada umumnya air baku tersebut

telah melalui beberapa proses secara fisika maupun kimia sebelum dialirkan ke pelanggan. Proses pengolahan air PDAM antara lain, filtrasi, aerasi, koagulasi, dan penambahan kaporit. Standar kualitas air PDAM di Indonesia tidak menyesuaikan standar air minum melainkan menyesuaikan standar air bersih karena harus diolah (perebusan) lagi untuk bisa dikonsumsi.

Tabel 2.1 Standar mutu air bersih.

No	Parameter	Satuan	Kadar maksimum	Keterangan
A.	<u>FISIKA</u>			
1.	Bau	-	-	Tidak berbau
2.	Jumlah zat padat terlarut (TDS)	mg/L	1500	-
3.	Kekeruhan	Skala NTU	25	-
4.	Rasa	-	-	Tidak berasa
5.	Suhu	°C	Suhu udara ± 3°C	-
6.	Warna	Skala TCU	50	
B.	<u>KIMIA</u>			
1.	Air raksa	mg/L	0,001	
2.	Arsen	mg/L	0,05	
3.	Besi	mg/L	1	
4.	Fluorida	mg/L	1,5	
5.	Kadnium	mg/L	0,005	
6.	Kesadahan	mg/L	500	
7.	Klorida	mg/L	600	
8.	Kromium	mg/L	0,05	
9.	Mangan	mg/L	0,5	
10.	Nitrat	mg/L	10	
11.	Nitrit	mg/L	1	
12.	pH	-	6,5 – 9	Merupakan batas minimum dan maksimum.
13.	Selenium	mg/L	0,01	
14.	Seng	mg/L	15	
15.	Sianida	mg/L	0,1	Khusus air hujan
16.	Sulfat	mg/L	400	pH
17.	Timbal	mg/L	0,05	minimum 5,5

Lanjutan Tabel 2.1 Standar mutu air bersih.

No	Parameter	Satuan	Kadar maksimum	Keterangan
C	<u>MIKROBIOLOGI</u> Total koliform (MPN)	Jumlah per 100 ml	50 10	Bukan air perpipaan Air perpipaan
D	<u>RADIOAKTIF</u>			
1.	Aktivitas Alpha	Bq/L	0,1	
2.	Aktivitas Beta	Bq/L	1	

Sumber: Permenkes Nomor: 416/MEN.KES/PER/IX/1990  
Tentang Syarat-syarat Dan Pengawasan Kualitas Air.

### 2.2.2.3 Air minum

Air minum adalah air yang telah memenuhi persyaratan kesehatan, melalui proses pengolahan ataupun tidak melalui proses pengolahan tetapi dapat langsung diminum oleh masyarakat (Permenkes RI No. 492/MENKES/PER/IV/ 2010). Sedangkan berdasarkan Keputusan Menteri Perindustrian dan Perdagangan Republik Indonesia Nomor 651/MPP/Kep/10/2004 tentang Persyaratan Teknis Depot Air Minum Dan Perdagangannya, yang dimaksud dengan air minum adalah sumber air baku yang telah diproses terlebih dahulu dan aman untuk diminum oleh masyarakat.

Pada umumnya air minum yang beredar secara komersial dapat dibagi menjadi 2, yaitu air minum dalam kemasan dan air isi ulang (depo). Menurut SNI (Standar Nasional Indonesia), definisi air minum dalam kemasan (AMDK) adalah air yang telah diolah dengan perlakuan khusus dan dikemas dalam botol atau kemasan lain dan memenuhi persyaratan air minum. Sumber air dalam kemasan diperoleh dari mata air pegunungan.

Air isi ulang (depo) adalah air baku yang mengalami proses pengolahan menjadi air minum. Proses pengolahannya menggunakan prinsip filtrasi dan desinfeksi. Proses filtrasi dimaksudkan untuk memisahkan kontaminan tersuspensi juga

memisahkan campuran yang berbentuk koloid dalam air, termasuk termasuk mikroorganisme. Sedangkan desinfeksi untuk

Tabel 2.2 Standar mutu air minum.

No	Parameter	Satuan	Kadar maksimum	Keterangan
A.	<u>FISIKA</u>			
1.	Bau	-	-	Tidak berbau
2.	Jumlah zat padat terlarut (TDS)	mg/L	1000	-
3.	Kekeruhan	Skala NTU	5	-
4.	Rasa	-	-	Tidak berasa
5.	Suhu	°C	Suhu udara ± 3°C	-
6.	Warna	Skala TCU	15	
B.	<u>KIMIA</u>			
1.	Air raksa	mg/L	0,001	
2.	Aluminium	mg/L	0,2	
3.	Arsen	mg/L	0,05	
4.	Barium	mg/L	1	
5.	Besi	mg/L	0,3	
6.	Fluorida	mg/L	1,5	
7.	Kadmium	mg/L	0,005	
8.	Kesadahan	mg/L	500	
9.	Klorida	mg/L	250	
10.	Kromium	mg/L	0,05	
11.	Mangan	mg/L	0,1	
12.	Natrium	mg/L	200	
13.	Nitrat	mg/L	10	
14.	Nitrit	mg/L	1	
15.	Perak	mg/L	0,05	
16.	pH	-	6,5 - 8,5	Merupakan batas minimum dan maksimum
17.	Selenium	mg/L	0,01	
18.	Seng	mg/L	5	
19.	Sianida	mg/L	0,1	

Lanjutan Tabel 2.2 Standar mutu air minum.

No	Parameter	Satuan	Kadar maksimum	Keterangan
20.	Sulfat	mg/L	400	
21.	Sulfida	mg/L	0,05	
22.	Tembaga	mg/L	1	
23.	Timbal	mg/L	0,05	
C	<u>MIKROBIOLOGI</u>			
1.	Koliform tinja	Jumlah per	0	
2.	Total koliform	100 ml		
D	<u>RADIOAKTIF</u>			
1.	Aktivitas Alpha	Bq/L	0,1	
2.	Aktivitas Beta	Bq/L	1	

Sumber: Permenkes Nomor: 416/MEN.KES/PER/IX/1990  
Tentang Syarat-syarat Dan Pengawasan Kualitas Air

membunuh mikroorganisme tidak hilang pada proses filtrasi (Athena, 2004). Air isi ulang merupakan air olahan depot air minum yang dapat dikonsumsi secara langsung. Menurut Keputusan Menperindag RI Nomor 651/MPP/Kep/10/2004 tentang Persyaratan Teknis Depot Air Minum dan Perdagangannya, air isi diproduksi dengan beberapa tahap filtrasi dan desinfeksi. Proses desinfeksi dapat melalui proses ozonisasi, penyinaran ultraviolet atau *reversed osmosis* (RO) untuk mematikan bakteri patogen.

### 2.3 Standar Uji Kelayakan

Pada proses pencucian daun *M. oleifera* berpengaruh pada kualitas produk yang dihasilkan. Pada produk yang dihasilkan perlu adanya standarisasi kelayakan untuk melindungi keamanan dan keselamatan konsumen. Perlu adanya uji kelayakan yang sesuai kategori produk yang dihasilkan. Uji kelayakan dilakukan berdasarkan batasan cemaran mikrobiologis yang telah ditetapkan oleh Badan Standar Nasional Indonesia (SNI). Berdasarkan SNI (2009) standar uji yang harus dilakukan untuk jenis serbuk nabati

yang merupakan produk yang dihasilkan dari daun *M. oleifera*, yaitu uji *Total Plate Count*, *Most Probable Number*, *Salmonella sp* dan *Staphylococcus aureus*.

Tabel 2.3 Batas cemaran mikrobiologis serbuk nabati.

Jenis Cemaran Mikroba	Batas Maksimum
ALT (30°C, 72 jam)/ TPC	5 x 10 <sup>4</sup> koloni/gram
APM Koliform/ MPN	10/ gram
<i>Salmonella sp.</i>	Negatif/ 25 gram
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 <sup>2</sup> koloni/ gram

Sumber: SNI 7388 (2009) tentang Batas maksimum cemaran mikroba dalam pangan.

### 2.3.1 Uji MPN *Coliform*

MPN *coliform* adalah metode perhitungan mikroorganisme berdasarkan data kualitatif hasil pertumbuhan mikroorganisme pada medium cair spesifik dalam seri tabung untuk memperoleh kisaran jumlah koliform terdekat. Pada metode ini digunakan *lactose broth* untuk menumbuhkan bakteri koliform dari zat padat atau cair. *Lactose broth* menjadi sumber karbon dan nitrogen untuk pertumbuhan koliform. Fermentasi laktosa oleh koliform dibuktikan dengan timbulnya gas (Corry, 2011).

Pengujian ini dilakukan dalam tiga tahapan secara kontinu yaitu uji penduga, uji penegas, dan uji pelengkap dimana keberadaan organisme indikator *E. coli* terdeteksi dan dikonfirmasi. Pada uji penduga hasilnya positif apabila terdapat gas pada tabung dan larutan berwarna keruh yang menunjukkan adanya aktivitas berupa fermentasi laktosa oleh koliform (Corry, 2011). Uji penegas dilakukan untuk mengonfirmasi adanya hasil positif dari uji penduga karena adanya aktivitas *E. coli*. Pada uji penegas menggunakan medium BGLB dan hasilnya positif

apabila medium berubah warna menjadi hijau karena adanya aktivitas *E. coli* (Pierre, 2007). Uji pelengkap dilakukan dengan inokulasi koloni bakteri pada media agar EMB (*eosin and methylene blue*). Pembentukan pada media agar ini mengakibatkan media agar menjadi bewarna ungu tua dengan kemilau tembaga metalik dan membentuk koloni dengan pusat gelap (Willey, 2008). Untuk mengetahui jumlah bakteri *E.coli* umumnya digunakan tabel Hopkins yang lebih dikenal dengan nama MPN (*Most Probable Number*) sehingga dapat memperkirakan jumlah *E.coli* dalam sampel (Garg, 2010).

Bakteri golongan koliform dapat mencemari dan menyebabkan pembusukan bahan makanan. Koliform adalah kelompok bakteri sebagai indikator untuk mengetahui pencemaran bakteri patogen pada suatu sumber air. Koliform pada umumnya terdiri dari anggota genus *Escherichia*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Shigella*, *Salmonella*, dan *Klebsiella*. Koliform dapat menyebabkan terjadinya intoksikasi yang memiliki beberapa gejala pada gangguan saluran pencernaan seperti diare, muntah – muntah dan demam (Darna *et al*, 2017).

### 2.3.2 Uji TPC

Menurut SNI 7388 tahun 2009, yang dimaksud dengan TPC adalah jumlah mikroba aerob mesofilik yang ditemukan dalam per gram atau per milliliter sampel yang ditentukan melalui metode standar pada media agar. Mikroba yang dimaksud termasuk bakteri, kapang, dan ragi (Puspendari and Ani, 2015). TPC dilakukan dengan penanaman bakteri atau sampel ke dalam media agar. Medium agar yang digunakan adalah NA (*nutrient agar*) sebagai media pertumbuhan dan sumber nutrisi untuk bakteri (Dwidjoseputro, 2005).

TPC merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk menghitung jumlah mikroba dalam bahan pangan. Metode hitungan cawan (TPC) merupakan metode yang paling banyak digunakan dalam analisa, karena koloni dapat dilihat langsung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop. ALT dapat

dipergunakan sebagai indikator proses higienitas sanitasi produk, analisis mikroba lingkungan pada produk jadi, indikator proses pengawasan, dan digunakan sebagai dasar kecurigaan dapat atau tidak diterimanya suatu produk berdasarkan kualitas mikrobiologinya (Puspendari and Ani, 2015).

Tahap-tahap utama dalam analisa TPC meliputi pembuatan media, pengenceran dan penanaman bakteri. Dalam pembuatan media ini, media biakan diperlukan untuk tumbuhnya bakteri yang ditanam. Sehingga media biakan yang baik harus dapat menyediakan nutrisi, tempat inkubasi, dan terpenuhinya kebutuhan oksigen yang diperlukan oleh mikroba. (Dwidjoseputro, 2005).

### 2.3.3 Uji *Salmonella* sp.

*Salmonella* sp. adalah bakteri gram-negatif berbentuk batang tanpa spora dengan ukuran 0,7 -1,5 x 2,5  $\mu\text{m}$ . *Salmonella* dapat tumbuh pada suhu 5 - 47°C dan optimum pada suhu 35 – 37°C, pH pertumbuhan sekitar 4 – 9 dengan pH optimum 6,5 – 7,5. Bakteri ini memiliki sifat parasit yang menyebabkan reaksi peradangan tractus intestinal pada manusia dan hewan. *Salmonella* digolongkan dalam bakteri patogenik yang menjadi penyebab *foodborne disease* yang disebut Salmonellosis (Khaq and Dewi, 2016)

Berdasarkan SNI (2008) ada beberapa tahapan yang harus dilakukan untuk mendeteksi dan isolasi *Salmonella* sp dari bahan makanan, yaitu pertama tahap pra-pengkayaan yang dilakukan untuk homogenisasi, berfungsi untuk meningkatkan pertumbuhan bakteri. Kedua tahap pengayaan yang bertujuan untuk menekan pertumbuhan bakteri kompetitif lain sehingga bakteri *Salmonella* sp. dapat tumbuh, pada tahap ini media yang umum digunakan yaitu *selenith cysteine*, *tetrathionate broth* dan *rappaport vassiliadis*. Tahap ketiga yaitu uji penegas (uji biokimiawi), digunakan untuk bakteri gram-negatif yang memfermentasi glukosa, laktosa atau sukrosa dan membentuk hidrogen sulfida. Media selektif yang umum digunakan adalah *Salomonella* –

*Shigella Agar* (SSA). Pada medium tersebut jika tumbuh koloni *Salmonella sp.*, koloni tersebut tidak akan berwarna (*colorless*) dengan inti hitam besar di tengah (Khaq and Dewi, 2016). Setelah uji biokimiawi selesai dilanjutkan dengan uji serologis (Tille, 2014).

#### **2.3.4 Uji *Staphylococcus aureus***

*S. aureus* merupakan bakteri gram positif dengan diameter 0,5 $\mu$ m-1,0 $\mu$ m berbentuk seperti rangkaian buah anggur tidak membentuk spora dan tidak bergerak (SNI 16 2332.9: 2011). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang beredar di mana-mana, seperti udara, debu, air, susu, makanan, peralatan makan, lingkungan dan tubuh manusia atau hewan yang terdapat pada kulit, rambut/bulu dan saluran pernafasan. Manusia dan hewan merupakan sumber utama infeksi (Rahayu *et al*, 2014)

Penentuan *S. aureus* dilakukan dengan metode cawan hitung (*Plate Count*). Prinsip Metode cawan hitung agar tuang dengan cara menuangkan media *Mannitol Salt Agar* (MSA) ke dalam cawan Petri steril, biarkan membeku, kemudian sampel yang telah diencerkan diambil sebanyak 1 ml dituang diatas permukaan media. Konfirmasi koloni terduga *S. aureus* dilihat dari terbentuknya koloni berwarna kuning yang merupakan hasil aktivitas fermentasi manitol oleh *S. aureus* (Rahayu *et al*, 2014). Menurut SNI 2332.9 (2011) metode ini sesuai untuk menganalisis makanan yang diduga mengandung koloni lebih dari 100 koloni *Staphylococcus aureus* /gram.

#### **2.4 Antioksidan**

Menurut pengertian kimia antioksidan adalah senyawa – senyawa pemberi elektron. Antioksidan merupakan semua bahan yang dapat menunda atau mencegah kerusakan akibat oksidasi pada molekul sasaran. Antioksidan didefinisikan sebagai inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif yang membentuk radikal bebas yang tidak reaktif sehingga dapat mencegah penyakit – penyakit yang

dihubungkan dengan radikal bebas seperti karsinogenesis, kardiovaskuler, dan penuaan (Siagian, 2012).

Berdasarkan prinsip kerjanya, antioksidan diklasifikasikan menjadi dua kategori, yaitu antioksidan pencegah dan antioksidan pemutus rantai. Antioksidan pencegah bekerja dengan menghambat pembentukan *reactive oxygen species* (ROS), seperti enzim katalase, peroksidase, superoksida dismutase, dan transferrin. Antioksidan pemutus rantai merupakan senyawa yang menangkap radikal oksigen kemudian memutus rangkaian rantai reaksi radikal, contohnya vitamin C, vitamin E, asam urat dan polifenol (Ou *et al*, 2002).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi antioksidan alami dan sintetik. Antioksidan alami merupakan antioksidan yang diperoleh dari bahan alam, contohnya vitamin C, vitamin E, karotenoid, flavonoid, fenolik. Sedangkan antioksidan sintetik merupakan antioksidan buatan, contohnya *butylated hidroxytoluene*, *propylgalate*, *tert-butyl hydroquinone* dan *nordihydroquaretic acid* (Winarno, 1984).

Menurut Winarsi (2007), berdasarkan mekanisme kerjanya antioksidan dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu:

1. Antioksidan primer

Antioksidan primer disebut juga antioksidan enzimatis. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan primer apabila dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada senyawa radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil. Mekanismenya dengan menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutus reaksi berantai (polimerisasi). Antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase (GSH – Px).

2. Antioksidan sekunder

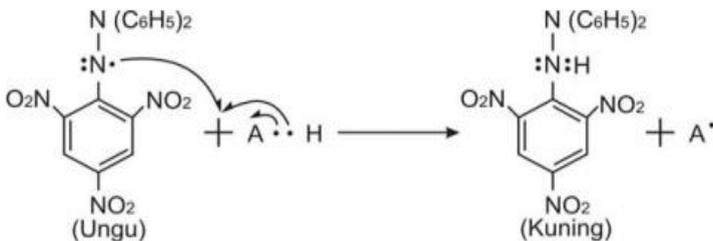
Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan eksogenus atau non – enzimatis. Mekanisme dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Antioksidan sekunder meliputi vitamin A, vitamin C, karotenoid, flavonoid, asam urat.

### 3. Antioksidan tersier

Antioksidan tersier meliputi sistem enzim DNA – *repair* dan metionin sulfoksida reduktase yang berperan dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA yang terinduksi senyawa radikal bebas dicirikan oleh rusaknya *single* dan *double strand*, baik gugus non – basa maupun basa.

## 2.5 Metode DPPH

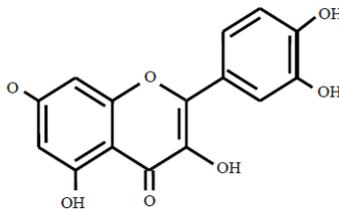
Metode DPPH merupakan metode pengujian aktivitas antioksidan dengan penyerapan radikal DPPH (2,2 diphenyl 1 pycrylhydrazyl). Kelebihan dari metode ini adalah sederhana dan membutuhkan sampel yang lebih sedikit dan waktu yang singkat. Pengukuran aktivitas antioksidan sampel dilakukan dengan panjang gelombang 517 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum DPPH. Adanya aktivitas antioksidan dari sampel mengakibatkan perubahan warna pada larutan DPPH yang semula berwarna ungu pekat menjadi kuning pucat seiring penambahan antioksidan, yaitu saat elektron tunggal pada DPPH berpasangan dengan hidrogen dari antioksidan (Wahdaningsih *et al*, 2011). Hasil dekolorisasi oleh antioksidan setara dengan jumlah elektron yang tertangkap (Dehpour *et al*, 2009).



Gambar 2.3 Mekanisme reaksi DPPH dengan antioksidan (Yamaguchi *et al*, 1998)

## 2.6 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenolik dengan struktur kimia  $C_6 - C_3 - C_6$ . Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Redha, 2010).

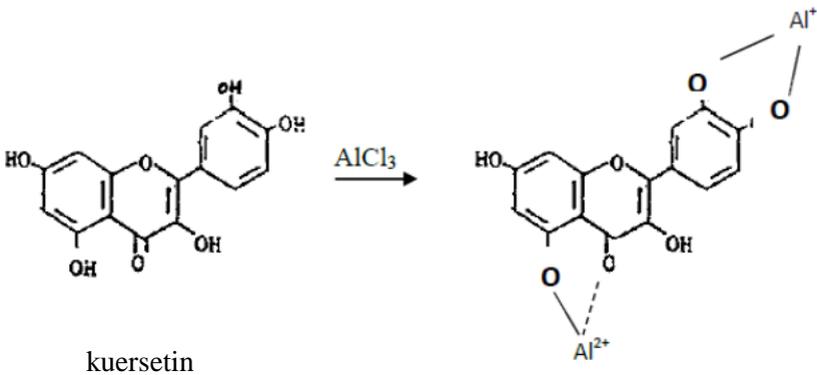


Gambar 2.4 Kerangka flavonoid (Redha, 2010)

Flavonoid dapat ditemukan pada tumbuhan hijau. Pada tumbuhan flavonoid dapat ditemukan pada bagian batang, akar, daun, bunga dan buah. Pada manusia flavonoid berperan sebagai antioksidan untuk mencegah kanker. Manfaat flavonoid antara lain untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, anti-inflamasi, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotik. Flavonoid terbagi menjadi beberapa kelas seperti flavon, flavonol, antosianin, dan isoflavon (Miean dan Mohamed, 2001).

## 2.7 Metode Kolorimetri

Prinsip penetapan kadar flavonoid metode kolorimetri menggunakan  $\text{AlCl}_3$  adalah terjadinya pembentukan kompleks antara  $\text{AlCl}_3$  dengan gugus keto pada atom  $\text{C}_4$  dan gugus hidroksi pada atom  $\text{C}_3$  atau  $\text{C}_5$  yang bertetangga dari golongan flavon dan flavonol. Oleh karena itu, digunakan senyawa kuersetin sebagai standar pada penetapan kadar flavonoid karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus keto pada atom  $\text{C}_4$  dan gugus hidroksi pada atom  $\text{C}_3$  atau  $\text{C}_5$  yang bertetangga (Azizah *et al*, 2014). Pengukuran serapan panjang gelombang dilakukan pada panjang gelombang 435 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum standar baku kuersetin (Aminah *et al*, 2017).



Gambar 2.5 Pembentukan senyawa kompleks oleh kuersetin –  $\text{AlCl}_3$  (Azizah *et al*, 2014)

Kuersetin merupakan kelompok dari flavonol, salah satu dari enam subkelas flavonoid. Kuersetin merupakan komponen bukan gula (aglikon). Kuersetin memiliki potensi pada aktivitas farmakologi, termasuk anti kanker, anti alergi, antioksidan, dan anti inflamasi. Kuersetin banyak ditemukan pada sayuran hijau, dengan jumlah yang cukup banyak dibandingkan kaempferol,

luteolin, dan apigenin (Mien dan Mohamed, 2001). Pada umumnya kuersetin mempunyai jumlah berkisar 60 – 75 % dari flavonol (Siswarni *et al*, 2017).



## **BAB III METODOLOGI**

### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2018 – April 2019 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Departemen Biologi, Fakultas Sains, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.

### **3.2 Metode Penelitian**

Pada penelitian ini menggunakan metode sesuai Standar Nasional Indonesia (SNI) 7388 tahun 2009 tentang Batas maksimum cemaran mikroba dalam pangan. Uji higienitas yang dilakukan adalah uji MPN *coliform*, uji TPC, uji *Salmonella* sp., dan uji *Staphylococcus aureus*, serta uji kandungan total flavonoid dan uji persentase aktivitas antioksidan.

#### **3.2.1 Pengambilan Sampel**

Sampel daun *M. oleifera*, air sumur, dan garam krosok diperoleh dari salah satu industri kecil bagian dari Yayasan Jala Tani Pertiwi di Desa Talango Pulau Poteran, Kabupaten Sumenep. Garam dapur yang digunakan adalah garam konsumsi “Dua Anak Pintar” produksi PT. Budiono MBP, Kabupaten Pamekasan. Sampel air PDAM didapatkan langsung dari salah satu keran air minum di kota Sumenep. Sedangkan, sampel air isi ulang dibeli dari depo air isi ulang di Desa Talango. Merk sampel Air Minum Dalam Kemasan (AMDK) yang digunakan dalam penelitian ini adalah Cleo ukuran 1,5 L produksi PT. Sariguna Primatirta, Tbk. Pandaan Kabupaten Pasuruan. Kontrol yang digunakan adalah kontrol (+), yaitu produk daun *M. oleifera* dengan lisensi BPOM, dan kontrol (-) berupa daun *M. oleifera* tanpa perlakuan pencucian. Sampel daun dan sampel air disimpan di dalam *cool box* yang berisi *cool gel*.

### 3.2.2 Uji MPN *Coliform*

Uji MPN *coliform* dilakukan untuk mengetahui kisaran terdekat jumlah bakteri koliform. Uji MPN terdiri dari tiga tahap, yaitu uji penduga, uji konfirmasi dan uji pelengkap. Pada penelitian ini hanya dilakukan uji penduga karena sudah merepresentasikan keberadaan bakteri koliform dengan adanya gelembung udara pada medium *lactose broth* akibat dari fermentasi bakteri koliform.

Pembuatan medium *lactose broth* dengan menambahkan 6,5 gram *Lactose broth* ke 500 ml aquades untuk *single strength lactose broth* dan menambahkan 13 gram *Lactose broth* ke 500 ml aquades steril untuk *double strength lactose broth*, dihomogenkan. Selanjutnya larutan fisiologis (0,85% NaCl) dibuat dengan menambahkan NaCl 8,5 gram ke 1000 ml aquades, dan dihomogenkan. Medium LB dimasukkan ke 9 tabung reaksi sebanyak 5 ml. Selanjutnya tabung yang telah berisi medium dimasukkan tabung durham dengan posisi terbalik dan tidak ada udara didalam tabung durham Medium LB dan larutan fisiologis disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C, 1 atm, selama 15 menit.

Pengenceran sampel dilakukan dengan menimbang 10 gram sampel yang dihaluskan kemudian ditambahkan larutan fisiologis 100 ml sebagai pengenceran  $10^{-1}$ . Larutan tersebut diambil 10 ml dan ditambahkan ke larutan fisiologis 90 ml sebagai pengenceran  $10^{-2}$ . Pengenceran dilakukan hingga  $10^{-3}$ . Masing – masing pengenceran diinokulasikan sebanyak 10 ml pada tabung reaksi berisi 5 ml medium *double strength lactose broth*, 1 ml sampel ke dalam tabung reaksi berisi 5 ml medium *single strength lactose broth*, dan 0,1 ml sampel ke dalam tabung reaksi berisi 5 ml medium *single strength lactose broth*. Tabung reaksi yang telah diinokulasikan sampel selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam hingga 48 jam dan dilakukan pengamatan (Kumar *et al*, 2013).

### 3.2.3 Uji ALT

Pembuatan medium *nutrient agar* dengan menambahkan 3,9 gram NA ke 100 ml aquades dan dihomogenkan. Selanjutnya larutan fisiologis (0,85% NaCl) dibuat dengan menambahkan NaCl 8,5 gram ke 1000 ml aquades, dan dihomogenkan. Medium NA dan larutan fisiologis disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C, 1 atm, selama 15 menit. Medium NA dituang 10 ml ke tiap cawan petri dan ditunggu hingga padat, dilakukan secara aseptis.

Pengenceran sampel dilakukan dengan menimbang 10 gram sampel yang dihaluskan kemudian ditambahkan larutan fisiologis 100 ml sebagai pengenceran  $10^{-1}$ . Larutan tersebut diambil 10 ml dan ditambahkan ke larutan fisiologis 90 ml sebagai pengenceran  $10^{-2}$ . Pengenceran dilakukan hingga  $10^{-3}$ . Masing – masing pengenceran diinokulasikan sebanyak 1 ml ke medium NA. Sampel diratakan dan diinkubasi selama 24 jam hingga 48 jam pada suhu ruang dan dilakukan pengamatan. Pengamatan berupa penghitungan jumlah koloni antara 30 – 300 pada *colony counter* (Mailoa *et al*, 2017). Total bakteri yang tumbuh dihitung dengan menggunakan rumus perhitungan (BPOM, 2011):

$$N = \frac{\sum C}{(V(n1 + 0,1n2)) \times d}$$

Keterangan:

N : jumlah mikroba

V : volume inokulum yang dimasukkan ke dalam masing - masing

C : jumlah koloni pada cawan petri

n1 : jumlah cawan yang digunakan pada pengenceran 1

n2 : jumlah cawan yang digunakan pada pengenceran 2

d : pengenceran yang berhubungan dengan pengenceran pertama

### 3.2.4 Uji *Salmonella* sp.

Pembuatan larutan fisiologis (0,85% NaCl) dengan menambahkan NaCl 8,5 gram ke 1000 ml aquades dan dihomogenkan. Pembuatan medium *lactose broth* dengan menambahkan 6,5 gram *Lactose broth* ke 500 ml aquades untuk media pra pengkayaan. Pembuatan medium *tetrathionate brilliant green broth* (TBGB) dengan menambahkan 6,3 gram media TBGB pada aquades 100 ml dan dihomogenkan untuk media pengkayaan. Medium selektif *Salmonella – Shigella Agar* (SSA) dibuat dengan menambahkan 6,3 gram media SSA ke 100 ml aquades, dihomogenkan dan pH diatur pada angka 7. Medium LB dan larutan fisiologis disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C, 1 atm, selama 15 menit. Medium SSA dituang 10 ml ke tiap cawan petri dan ditunggu hingga padat, dilakukan secara aseptis.

Pengenceran sampel dilakukan dengan menimbang 10 gram sampel yang dihaluskan kemudian ditambahkan larutan fisiologis 100 ml sebagai pengenceran  $10^{-1}$ . Larutan tersebut diambil 10 ml dan ditambahkan ke larutan fisiologis 90 ml sebagai pengenceran  $10^{-2}$ . Pengenceran dilakukan hingga  $10^{-3}$ . Sampel diambil 1 ml dan ditambahkan ke 10 ml *lactose broth* dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi diambil dengan pipet sebanyak 1 ml, dimasukkan ke dalam 10 ml *tetrathionate brilliant green broth*, diinkubasi pada suhu 43°C selama 24 jam (pengkayaan). Selanjutnya dari tahap pengkayaan diambil dengan menggunakan ose dan goreskan pada media selektif *Salmonella Shigella Agar* (SSA) sebagai uji penegasan kemudian diinkubasikan pada suhu 35°C selama 24 jam. Koloni yang diduga positif *Salmonella* sp. pada media SSA berwarna merah jambu dengan atau tanpa inti hitam di tengah (Aprillian *et al*, 2015).

### 3.2.5 Uji *Staphylococcus aureus*

Pembuatan larutan fisiologis (0,85% NaCl) dengan menambahkan NaCl 8,5 gram ke 1000 ml aquades dan

dihomogenkan. Medium *Mannitol Salt Agar* (MSA) dibuat dengan menambahkan 11,1 gram MSA ke 100 ml aquades dan dihomogenkan. Medium MSA dan larutan fisiologis disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C, 1 atm, selama 15 menit. Medium MSA dituang 10 ml ke tiap cawan petri dan ditunggu hingga padat, dilakukan secara aseptis.

Pengenceran sampel dilakukan dengan menimbang 10 gram sampel yang dihaluskan kemudian ditambahkan larutan fisiologis 100 ml sebagai pengenceran  $10^{-1}$ . Larutan tersebut diambil 10 ml dan ditambahkan ke larutan fisiologis 90 ml sebagai pengenceran  $10^{-2}$ . Pengenceran dilakukan hingga  $10^{-3}$ . Sampel diinokulasikan ke dalam cawan Petri berisi media *Mannitol Salt Agar* (MSA) steril dan diratakan. Kemudian diinkubasi selama 24 hingga 48 jam pada suhu ruang. Jumlah koloni yang tumbuh dan media berubah menjadi kuning menunjukkan adanya *S. aureus*. Perubahan warna media menjadi kuning disebabkan karena kemampuan *S. aureus* yang dapat memfermentasikan mannitol (Rahayu *et al*, 2014).

### **3.2.6 Uji Total Flavonoid & Antioksidan**

#### **3.2.6.1 Proses Ekstraksi**

Simplisia daun *M. oleifera* diekstraksi berdasarkan Victorio (2010) dengan cara maserasi. Simplisia daun kelor yang telah digiling dimaserasi sebanyak 2 gram selama 3 hari menggunakan pelarut 40 ml ethanol 70%. Setelah 3 hari ekstrak ethanol disentrifugasi dan disaring untuk memisahkan ekstrak dan maserat. Larutan ekstrak ethanol kemudian dipanaskan pada waterbath untuk menguapkan ethanol.

#### **3.2.6.2 Uji Kandungan Total Flavonoid**

##### **3.2.6.2.1 Pembuatan Kurva Standar Kuersetin**

Kuersetin sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 10 ml etanol. Larutan stok dipipet sebanyak 1 ml dan ditambahkan etanol hingga volume 10 ml dan diperoleh konsentrasi 100 ppm. Kemudian dibuat konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, dan 5

ppm dari larutan 100 ppm tersebut. Masing – masing konsentrasi dipipet 1 ml kemudian ditambahkan 3 ml ethanol, 0,2 ml AlCl<sub>3</sub> 10% dan 0,2 ml kalium asetat 1 M dan dicukupkan dengan aquades hingga 10 ml. Sampel diinkubasi 30 menit pada suhu kamar, kemudian diukur absorbansi menggunakan spektrofotomer UV – Vis pada panjang gelombang 435 nm (Aminah *et al*, 2017).

### 3.2.6.2.2 Penetapan Kadar Flavonoid

Ekstrak daun *M. oleifera* dipipet 1 ml kemudian ditambahkan 3 ml ethanol, 0,2 ml AlCl<sub>3</sub> 10% dan 0,2 ml kalium asetat 1 M dan dicukupkan dengan aquades hingga 10 ml. Sampel diinkubasi 30 menit pada suhu kamar, kemudian diukur absorbansi menggunakan spektrofotomer UV – Vis pada panjang gelombang 435 nm (Aminah *et al*, 2017). Sampel dibuat dalam 3 replikasi untuk setiap analisis dan dihitung rata – ratanya (Aminah *et al*, 2017). Kadar flavonoid total dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Alara *et al*, 2017):

$$\text{Kadar flavonoid} = \frac{C \times V}{m}$$

Keterangan:

C : konsentrasi flavonoid contoh yang dihitung dengan menggunakan persamaan kurva standard (mg/ml)

V : volume pelarut (ml)

m : massa simplisia (gram)

### 3.2.6.3 Uji Antioksidan

Uji antioksidan dilakukan berdasarkan Tristantini (2017). Ekstrak daun *M. oleifera* dipipet 0,3 ml dan ditambahkan 0,9 ml larutan DPPH 0,1 M. Kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dan diukur pada spektrofotometri Uv -Vis pada panjang gelombang 517 nm. Prosentase aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Antioksidan} = \frac{A_c - A}{A_c} \times 100\%$$

Keterangan:

$A_c$  : Absorbansi kontrol

$A$  : Absorbansi sampel

### **3.3 Rancangan Penelitian**

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah deskripsi kuantitatif pada uji ALT, *S. aureus*, *Salmonella* sp., kadar flavonoid dan total antioksidan.



## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Analisis Total Mikroba pada Sampel Daun *M. oleifera* Industri

Tingkat higienitas pada daun *M. oleifera* industri dengan beberapa jenis sampel air dan garam diamati melalui analisis total mikroba, uji MPN, jumlah *S. aureus*, dan keberadaan *Salmonella* sp. (Tabel 4.1).

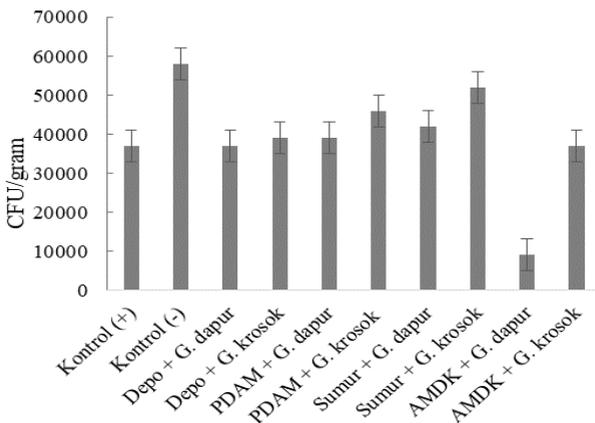
Tabel 4.1 Hasil Analisis Mikrobiologi pada Air dan Garam

Jenis batasan cemaran	Jenis bahan pencuci					
	AMDK	Depo	PDAM	Air sumur	Garam Dapur	Garam Krosok
TPC (CFU/ml atau gram)	$0,02 \times 10^4$	$0,1 \times 10^4$	$0,8 \times 10^4$	$3 \times 10^4$	$0,1 \times 10^4$	$0,5 \times 10^4$
MPN (nilai MPN/ml atau gram)	0,03	0,03	0,036	0,036	0,03	0,036
<i>S. aureus</i> (CFU/ml atau gram)	0	$0,01 \times 10^2$	$0,01 \times 10^2$	$0,2 \times 10^2$	0	0
<i>Salmonella</i> sp.	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)

Pada Tabel 4.1 dapat dilihat bahwa sumber air dengan tingkat higienitas terendah dicapai pada air sumur dengan total mikroba sebesar  $3 \times 10^4$  CFU/ml, MPN sebesar 0,036/ml, jumlah *S. aureus* sebesar  $0,2 \times 10^2$  CFU/ml dan hasil positif pada cemaran *Salmonella* sp. Rendahnya tingkat higienitas pada air sumur kemungkinan disebabkan oleh rembesan air limbah rumah tangga melalui tanah (Hapsari, 2015). Menurut Keputusan Menperindag RI Nomor 651/MPP/Kep/10/2004, air PDAM, air depo isi ulang, dan AMDK telah dilakukan pengolahan khusus seperti proses filtrasi dan desinfeksi sehingga memiliki tingkat higienitas yang lebih tinggi.

Hasil analisis mikrobiologi garam krosok menunjukkan cemaran lebih tinggi dibandingkan garam dapur dengan nilai TPC sebesar  $0,5 \times 10^2$  CFU/gram dan MPN 0,036/gram. Hal tersebut dikarenakan pada pengolahan garam krosok tidak dilakukan proses pencucian setelah kristalisasi seperti pada garam dapur (Nur *et al*, 2013). Selain itu, tingginya kadar NaCl garam dapur yaitu sebesar >94,7% lebih efektif menghambat pertumbuhan mikroorganisme dibandingkan garam krosok dengan kadar NaCl yang lebih rendah sebesar  $\pm 85\%$  (Sumada *et al*, 2016; Nur *et al*, 2013).

Higienitas daun *M. oleifera* industri dengan beberapa metode pencucian dianalisis secara mikrobiologi berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) 7388 tahun 2009 yang menyatakan bahwa batasan cemaran maksimum pada bahan pangan yang terdiri dari uji TPC (*Total Plate Count*), MPN (*Most Probable Number*), *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* sp. untuk mengetahui cemaran pada sampel. Hasil analisis mikrobiologi pada uji TPC dapat dilihat pada Gambar 4.1.

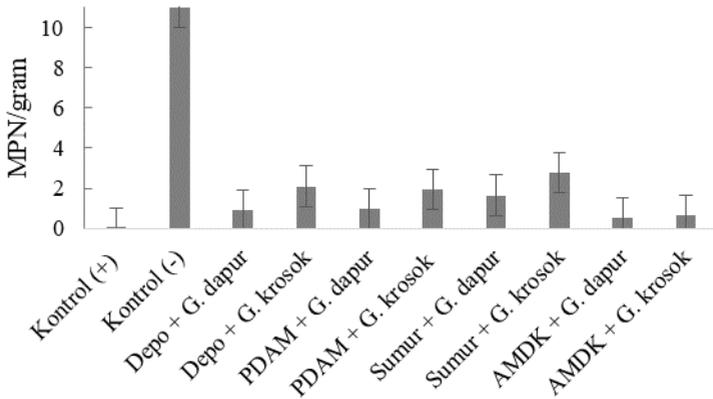


Gambar 4.1 Hasil uji TPC daun *M. oleifera* dengan berbagai metode pencucian.

Berdasarkan Gambar 4.1, pencucian menggunakan air sumur dengan garam krosok pada pengujian TPC menunjukkan jumlah koloni tertinggi diantara perlakuan lain, yaitu sebesar  $5,2 \times 10^4$  CFU/gram. Hal ini menunjukkan bahwa kualitas pencucian yang rendah disebabkan oleh jumlah cemaran mikroba yang diperoleh melebihi batasan cemaran maksimum yang telah ditetapkan SNI 7388 tahun 2009, yaitu sebesar  $5 \times 10^4$  CFU/gram. Rendahnya kualitas air sumur yang digunakan untuk mencuci daun *M. oleifera* dapat diakibatkan oleh pencemaran rembesan air limbah rumah tangga (Hapsari, 2015). Air sumur dan garam krosok yang terkontaminasi oleh mikroba dapat mencemari daun *M. oleifera* yang telah dicuci karena terjadi kontaminasi silang (Rane, 2011). Sedangkan jumlah koloni terendah pada pengujian TPC didapatkan pada pencucian menggunakan AMDK dengan garam dapur, yaitu sebesar  $0,9 \times 10^4$  CFU/gram. Hal tersebut disebabkan karena AMDK dan garam dapur sebagai pencuci memiliki cemaran terendah dibandingkan garam jenis lain, yaitu sebesar  $0,2 \times 10^4$  CFU/ml dan  $1 \times 10^4$  CFU/gram. Hal tersebut dikarenakan AMDK sebelumnya telah dilakukan pengolahan khusus seperti proses filtrasi dan desinfeksi untuk mengurangi jumlah cemaran air (Menperindag, 2004). Penggunaan garam dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme akibat perbedaan tekanan osmotik pada sel (Amalia *et al*, 2016).

#### **4.2 Perkiraan Angka Terdekat *Coliform* Sampel Daun *M. oleifera* Industri**

Hasil perkiraan angka terdekat (MPN) *coliform* sampel daun *M. oleifera* industri tampak pada Gambar 4.2

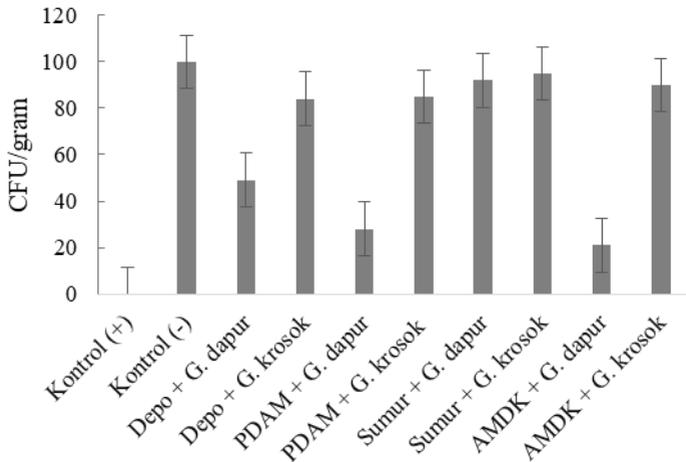


Gambar 4.2 Hasil uji MPN *coliform* sampel *M. oleifera* pada beberapa metode pencucian.

Berdasarkan Gambar 4.2, hasil uji MPN *coliform* menunjukkan bahwa semua sampel uji memiliki nilai lebih rendah dibanding standar yang telah ditetapkan SNI 7388 tahun 2009, yaitu sebesar 10 MPN/gram. Hal tersebut didukung dengan hasil analisis mikrobiologi pada jenis pencuci yang menunjukkan rendahnya jumlah cemaran pada uji MPN pada semua jenis air dan garam yang digunakan untuk mencuci daun *M. oleifera*. Pada uji MPN bakteri yang dideteksi merupakan bakteri golongan *coliform*. Pada uji MPN hasil positif diindikasikan dengan adanya gelembung hasil fermentasi laktosa dari bakteri *coliform* (Mannapperuma *et al*, 2011).

### 4.3 Analisis Cemaran Bakteri Enterik pada Sampel Daun *M. oleifera* industri

Pengujian *Salmonella* dan *S. aureus sp.* dilakukan untuk mengetahui cemaran bakteri enterik pada beberapa metode pencucian daun *M. oleifera* industri. Hasil analisis mikrobiologi pada uji *S. aureus* dan *Salmonella sp.* tampak pada Gambar 4.3 dan Tabel 4.2.



Gambar 4.3 Hasil uji *S. Aureus* sampel *M. oleifera* pada beberapa metode pencucian.

Berdasarkan Gambar 4.3, hasil uji *S. aureus* menunjukkan bahwa semua sampel uji memiliki nilai lebih rendah dibanding standar yang telah ditetapkan SNI 7388 tahun 2009, yaitu sebesar  $1 \times 10^2$  CFU/gram. Hal tersebut sesuai dengan hasil analisis mikrobiologi pada jenis pencuci air dan garam yang menunjukkan rendahnya jumlah cemaran pada uji *S. aureus* pada semua jenis air dan garam yang digunakan untuk mencuci daun *M. oleifera* industri.

Hasil uji *S. aureus* memiliki nilai cemaran yang rendah karena komposisi medium yang digunakan hanya dapat dimanfaatkan oleh bakteri golongan tertentu. Pada uji *S. aureus* dilakukan pada media selektif MSA dengan hasil positif berupa koloni berwarna kuning hasil fermentasi manitol oleh *S. aureus* (Rahayu *et al*, 2014). *S. aureus* merupakan bakteri patogen yang dapat ditemukan pada permukaan daun dan apabila keberadaannya berlebih pada bahan makanan dapat menyebabkan penyakit nekrolisis epidermis akibat adanya exfoliative toxin dan penyakit *toxic shock syndrome* akibat eksotoksin (Khaq and Dewi, 2016; Garna, 2001).

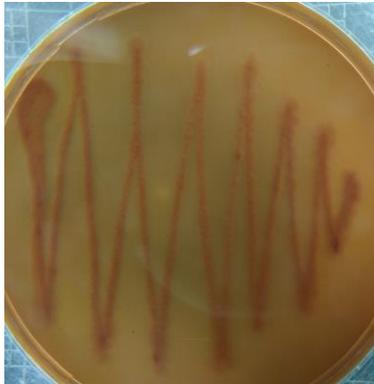
Hasil analisis keberadaan *Salmonella* sp. pada daun *M. oleifera* dengan berbagai perlakuan pencucian ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.2. Hasil uji *Salmonella* sp.

Jenis perlakuan	Hasil uji <i>Salmonella</i> sp.
Kontrol (+)	(-)
Kontrol (-)	(+)
Depo + G. Dapur	(+)
Depo + G. Krosok	(+)
PDAM + G. Dapur	(+)
PDAM + G. Krosok	(+)
Sumur + G. Dapur	(+)
Sumur + G. Krosok	(+)
AMDK + G. Dapur	(+)
AMDK + G. Krosok	(+)

Pada Tabel 4.2 menunjukkan bahwa semua sampel yang telah dicuci tercemar oleh patogen *Salmonella* sp. Hal ini didukung dengan pengujian secara kualitatif pada media spesifik SSA seperti yang tampak pada Gambar 4.4. Koloni yang tumbuh pada SSA sesuai dengan ciri yang dimiliki *Salmonella* sp, yaitu berwarna keruh atau tidak berwarna dengan atau tanpa inti hitam di tengah (Srianta *et al*, 2003). Keberadaan *Salmonella* sp. dapat mereduksi sodium tiosulfat menjadi gas  $H_2S$ , gas  $H_2S$  yang tidak larut dari besi sulfida dan bereaksi dengan ion *ferric* akan membentuk koloni berwarna hitam (Himedia, 2018). *Salmonella typhi* tergolong lemah dalam mereduksi sodium tiosulfat sehingga warna koloni yang terbentuk tidak berwarna hitam (Merck, 2010).

Hasil uji *Salmonella* sp. daun *M. oleifera* dapat dilihat pada Gambar 4.4. Koloni yang tumbuh menunjukkan warna keruh kecoklatan tanpa titik hitam di tengah yang merupakan hasil positif *Salmonella* sp. Berdasarkan hal tersebut, semua sampel daun *M. oleifera* dengan berbagai teknik pencucian dapat dianggap tidak memenuhi standar SNI 7388 tahun 2009 yang menyatakan bahwa batas minimum cemaran *Salmonella* sp. adalah negatif/25 gram sampel. Pada medium SSA dapat tumbuh *Escherichia coli* dengan ciri – ciri koloni berwarna merah muda dan *Shigella flexneri* yang memiliki ciri koloni tidak berwarna tanpa titik berwarna hitam (Himedia, 2018)

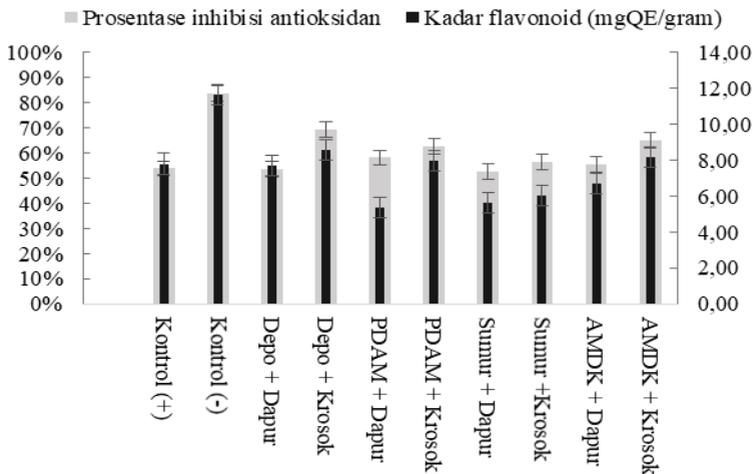


Gambar 4.4. Hasil uji positif (+) *Salmonella* sp. ditunjukkan tumbuhnya koloni berwarna keruh kecoklatan tanpa titik hitam.

*Salmonella* sp. merupakan bakteri gram negatif yang termasuk dalam bakteri patogen yang dapat tumbuh pada suhu 5 – 47°C, pH 4 – 9, dan  $A_w$  0,94 – 0,99 (Graziani *et al*, 2017). *Salmonella* sp. mampu bertahan pada konsentrasi NaCl hingga 5% sehingga pada sampel daun *M. oleifera* yang telah direndam larutan garam 1% *Salmonella* sp. tetap dapat tumbuh (Manas *et al*, 2001). Keberadaan *Salmonella* sp. pada bahan makanan dapat menyebabkan penyakit Salmonellosis, yaitu penyakit akibat infeksi pada saluran pencernaan dan usus (Yuniastuti, 2010).

#### 4.4 Pengaruh Metode Pencucian terhadap Kualitas Daun *M. oleifera*

Pengaruh metode pencucian terhadap kualitas daun *M. oleifera* dapat diketahui melalui kadar flavonoid dan prosentase inhibisi antioksidan pada sampel seperti yang tampak pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5. Hasil uji kadar flavonoid dan inhibisi antioksidan pada daun *M. oleifera* dengan berbagai metode pencucian.

Berdasarkan Gambar 4.5 diketahui bahwa kadar flavonoid tertinggi didapati pada pencucian menggunakan larutan garam krosok dengan air depo isi ulang sebesar 8,579 mgQE/gram, sedangkan nilai terendah pada pencucian menggunakan larutan garam dapur dengan air PDAM sebesar 5,391 mgQE/gram. Kadar flavonoid pada semua perlakuan pencucian lebih rendah dari pada kontrol negatif. Penurunan kadar flavonoid dipengaruhi oleh perlakuan pencucian menggunakan air dan garam. Hal tersebut disebabkan karena flavonoid umumnya memiliki ikatan dengan gugus gula (glikosida) yang menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam

air atau pelarut polar (Hassan, 2014). Air merupakan pelarut yang memiliki tetapan dielektrik tinggi sehingga mampu melarutkan senyawa polar (Mariana *et al*, 2013).

Selain itu, pada perlakuan menggunakan larutan garam, kadar flavonoid pada sampel yang dicuci dengan larutan garam krosok lebih tinggi dari pada sampel yang dicuci dengan larutan garam dapur. Hal tersebut dapat terjadi karena kandungan NaCl pada garam dapur lebih tinggi dengan massa yang sama dengan garam krosok. Garam dapur mempunyai kadar NaCl > 94,7%, sedangkan garam krosok mempunyai kadar NaCl  $\pm$ 85% (Sumada *et al*, 2016; Nur *et al*, 2013). Hal tersebut mempengaruhi tekanan osmosis yang terjadi pada sampel. Kadar NaCl yang semakin tinggi membuat perbedaan tekanan osmosis antara dalam dan luar sel semakin besar sehingga proses osmosis pelarut dan zat terlarut semakin tinggi (Hardjo, 2005).

Persentase inhibisi antioksidan tertinggi didapati pada perlakuan pencucian menggunakan larutan garam krosok dengan air depo isi ulang sebesar 69%, sedangkan yang terendah pada perlakuan pencucian menggunakan larutan garam dapur dengan air sumur sebesar 53%. Persentase inhibisi antioksidan pada semua perlakuan mengalami penurunan dan memiliki nilai lebih rendah daripada kontrol negatif. Hal tersebut disebabkan oleh senyawa yang berperan sebagai antioksidan larut selama proses pencucian oleh air dan larutan garam (Hardjo, 2005; Mariana *et al*, 2013).



## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa metode pencucian daun *M. oleifera* yang sesuai SNI 7388 (2009) adalah pencucian menggunakan larutan garam dapur dengan AMDK dengan tingkat higienitas tertinggi pada tiap parameter pengujian, sedangkan untuk uji *Salmonella* sp. semua sampel yang telah dicuci tidak memenuhi SNI 7388 (2009) dengan hasil positif pada semua perlakuan. Hasil uji kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan tertinggi didapatkan pada metode pencucian menggunakan larutan garam krosok dengan air depo, sebesar 8,579 mgQE/gram dengan persentase inhibisi 69%. Sedangkan hasil terendah pada pencucian menggunakan larutan garam dapur dengan air PDAM sebesar 5,391 mgQE/gram. Aktivitas antioksidan terendah dengan persentase 53% didapatkan pada pencucian menggunakan larutan garam dapur dengan air sumur.

#### **5.2 Saran**

Saran untuk penelitian selanjutnya yaitu pada penanaman *M. oleifera* sebaiknya dilakukan di tempat yang jauh dari sumber cemaran *Salmonella* sp. Selain itu, di industri untuk menghemat biaya pada proses pencuciannya digunakan air sumur yang telah mendapat perlakuan khusus untuk mengurangi cemaran *Salmonella* sp. pada air sumur.



## DAFTAR PUSTAKA

Alara, O. R., Abdurahmana, N. H., dan Olalere, O. A. 2017. Ethanolic Extraction of Flavonoids, Phenolics, and Antioxidants from *Vernonia amygdalina* Leaf using Two – Level Factorial Design. **Journal of King Saud University – Science**.

Amalia, Dwiyantri, R. D., dan Haitami. Daya Hambat NaCl terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. **Medical Laboratory Technology Journal**. Volume 2 Nomor 2: 42 – 45

Aminah, Tomahayu, N., dan Abidin, Z. 2017. Penetapan Kadar Flavonoid Total ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan Metode Spektrofotometri Uv – Vis. **Jurnal Fitofarmaka Indonesia**. Volume 4 Nomor 2: 226 – 230

Aminah, S., Ramdhan, T. dan Yanis, M. 2015. Kandungan Nutrisi dan Sifat Fungsional Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*). **Buletin Pertanian Perkotaan**. Volume 5 Nomor 2: 35 – 44

Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., dan Gilani, A. H. 2007. *Moringa oleifera*: A Food Plant With Multiple Medicinal Uses. **Phytotherapy Research**. Volume 21 :17 – 25.

Aprillian, R. Rahardjo, D., and Koesdarto, S. 2015. Evaluation of *Salmonella* sp. Contamination and Its Antibiotics Resistance Patterns Isolate from Broiler Meat Sold at Wet Market in Center of Surabaya. **Indonesian Journal of Tropical and Infectious Disease**. Volume 5 Number 6: 143 – 146

Arisandi, A., Wardani, M. K., Badami, K., dan Araninda, G. D. 2017. Dampak Perbedaan Salinitas terhadap Viabilitas Bakteri *Vibrio fluvialis*. **Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan**. Volume 9 Nomor 2: 91 – 97

Athena. 2004. **Penelitian Kualitas Air Minum dan Depot Air Minum Isi Ulang**. Puslitbang Etiologi Balitbangkes. Departemen Kesehatan.

Azizah, D. N., Kumolowati, E., dan Faramayuda, F. 2014. Penetapan Kadar Flavonoid Metode  $AlCl_3$  pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). **Jurnal Ilmiah Farmasi**. Volume 2 Nomor 2: 45 – 49

Bidima, I. M. 2016. **Production and Processing of Moringa**. The Pro-Agro Collection. Kamerun

Burhanuddin. 2001. **Strategi Pengembangan Industri Garam di Indonesia**. Yogyakarta: Kanisius.

Chandra, B. 2012. **Pengantar Kesehatan Lingkungan**. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Corry, J. E. L., Curtis, G. D. W., and Baird, R. M. 2011. **Handbook of Culture Media for Food and Water Microbiology**. Cambrige: The Royal Society of Chemistry

Darna, Masnur, T., dan Rahmawati. 2017. Analisis Cemaran Bakteri *Coliform* pada Makanan Tradisional Sotong Pangkong di Jalan Merdeka Kota Pontianak Berdasarkan Nilai *Most Probably Number* (MPN). **Jurnal Protobiont**. Volume 6 Nomor 3: 153 – 157

Dehpour, A. A., Ebrahimzadeh, M. A., Fazel, N. S., and Mohammad, N. S. 2009. Antioxidant Activity of Methanol Extract of *Ferula assa-foetida* and Its Essential Oil Composition. **Grasas Aceites**. Volume 60 Number 4: 405 – 412

Dinanti, M. R. P., Trianti, I. G. A. L., dan Satriawan, I. K. 2015. Pengaruh Perlakuan Pencucian dan Perebusan terhadap Kadar Residu Klorpirifos dan Karakteristik Kacang Panjang (*Vigna*

*sinensis*). **Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri**. Volume 3 Nomor 2: 47 – 57

Dwidjoseputro, D. 2005. **Dasar-Dasar Mikrobiologi**. Jakarta: Djambatan

Garg, N., Garg, K. L., dan Mukerji, G. 2010. **Laboratory Manual of Food Microbiology**. New Delhi: International Publishing House

Garna, H. 2001. Patofisiologi Infeksi Bakteri pada Kulit. **Sari Pediatri**. Volume 2 Nomor 4: 205 – 209

Gopalakrishnan, L., Doriya, K., and Kumar, D. S. 2016. *Moringa oleifera*: A review on Nutritive Importance and Its Medicinal Application. **Food Science and Human Wellness**. Volume 5: 49 – 56

Graziani, C., Losasso, C., Luzzi, I., Ricci, A., Scavia, G., and Pasquali, P. 2017. **Foodborne Diseases Third Edition: Salmonella**. Elsevier

Hapsari, D. 2015. Kajian ualitas Air Sumur Gali dan Perilaku Masyarakat di Sekitar Pabrik Semen Kelurahan Karangtalun Kecamatan Cilacap Utara Kabupaten Cilacap. **Jurnal Sains dan Teknologi Lingkungan**. Volume 7 Nomor 1: 1 – 17

Hardjo, M. 2005. Tepung Gadung (*Dioscorea hispida* Dennst) Bebas Sianida dengan Merendam Parutan Umbi dalam Larutan Garam. **Jurnal Matematika, Sains, dan Teknologi**. Volume 6 Nomor 2: 92 – 99

Hassan, M. N. dan Laily, A. N. 2014. Uji Kandungan Flavonoid dan Perbandingan Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Etanol

Simplisia Bunga Pepaya Gantung Saat Kuncup dan Mekar. **Jurnal Skrining Bioaktif**. Volume 1 Nomor 1: 1 – 15

Hazy, R., Ramnayaranan, A., Walker, M., and Whitridge, C. 2015. **Moringa Leaf Washing and Drying Method**. PennState College of Engineering

Hidayah, N., Hisan, A. K., Solikin, A., Irawati dan Mustikaningtyas, D. 2013. Uji Efektivitas Ekstrak *Sargassum muticum* sebagai Alternatif Obat Bisul Akibat Aktivitas *Staphylococcus aureus*. **Journal of Primary Education**. Volume 2 Nomor 1: 1 – 9

Himedia. 2018. **Technical Data: SS Agar, Modified**. Netherlands

Jadoon, S., Karim, S., Asad, M. H. H. B., Akram, M. R., Khan, A. K., Malik, A., Chen, C., and Murtaza, G. 2015. Anti-Aging Potential of Phytoextract Loaded – Pharmaceutical Creams for Human Skin Cell Longevity. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**.

Khaq, K. N. dan Dewi, L. 2016. Deteksi Cemar Bakteri Koliform dan *Salmonella* sp. pada Tempe yang Dikemas Daun Pisang di Daerah Salatiga. **Jurnal Ilmu Pertanian**. Volume 28 Nomor 1: 79 – 86

Kumar, J. S., Rajasekaran, P., Saran, N., Kumar, P. S., and Chandran, J. P. 2013. Analysis of Various Water Samples for Enterobacteriaceae by MPN Method. **Research and Reviews: A Journal of Biotechnology**. 8 – 16

Lung, J. K. S. dan Destiani, D. P. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan Metode DPPH. **Farmaka**. Volume 15 Nomor 1: 53 – 62

Mailoa, M. N., Tapotubun, A. M., and Matruty, T. E. A. A. 2017. Analysis Total Plate Count (TPC) on Fresh Steak Tuna Applications Edible Coating *Caulerpa* sp. During Stored at Chilling Temperature. **Earth and Environmental Science**. Volume 89: 1 – 6

Manas, P., Pagan, R., Leguerinel, I., Condon, S., Mafart, P., and Sala, F. 2001. Effect of Sodium Chloride Concentration in The Heat Resistance and Recovery of *Salmonella typhimurium*. **International Journal of Food Microbiology**.

Mannapperuma, W. M. G. C. K., Abayasekara, C. L., Herath, G. B. B., Werellagama, D. R. I. B., and Heinonen-Tanski, H. 2011. Comparison of Bacteriological Methods for Detecting and Enumerating Total Coliforms and *Escherchia coli* in Water. **Research Journal of Microbiology**. Volume 6 Number 12: 851 – 861

Mariana, L., Andayani, Y., dan Gunawan, E. R. 2013. Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih (*Artocarpus camansi*). **Chemical Program**. Volume 6 Nomor 2: 50 – 55

Mien, K. H. and Mohamed, S. 2001. Falvonoid (Myricetin, Quercetin, Kaempferol, Luteolin and Apigenin) Content of Edible Tropical Plants. **Journal Agricultural Food and Chemical**. Volume 49: 3106 – 3112

Misra, S., & Misra, M. K. 2014. Nutritional Evaluation of Some Leafy Vegetable Used by The Tribal and Rural People of South Odisha, India. **Journal of Natural Product and Plant Resources**. Volume 4: 23 – 28

Munfiah, S., Nurjazuli, dan Setiani, O. 2013. Kualitas Fisik dan Kimia Air Sumur Gali dan Sumur Bor di Wilayah Kerja

Puskesmas Guntur II Kabupate Demak. **Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia**. Volume 12 Nomor 2: 154 – 159

Nur, M., Marhaendrajaya, I., Sugito, Windarti, T., Arnelli, Hastuti, R., Haris, A., Rahmanto, W. H., Widodo, D. S., Ariyanto, F., Muhlisin, Z., Suseno, J. E., Setiawati, E., Sutanto, H., Priyono, Izzati, M., Hariyati, R., Tana, S., Raharjo, B., Ispriyanti, D., Farikhin, Rusgiyono, A. dan Suhartono. 2013. Pengayaan Yodium dan Kadar NaCl pada Garam Krosok Menjadi Garam Konsumsi Standar SNI. **Jurnal Sains dan Matematika**. Volume 21 Nomor 1: 1 – 6

Ou, B., Huang, D. J., Woodll, M. H., Flanagan, J. A., and Deemer, E. K. 2002. Analysis f Antioxidant Activities of Common Vegetables Employing Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assays: A Comparative Study. **Journal of Agriculture and Food Chemical**. Volume 50: 3122 – 3128

Pierre. 2007. **Fecal Bacteria In The Rivers Of The Seine Drainage Network (France)**. Bruxelles: Université Libre de Bruxelles

Puspandari, N dan Isnawati, A. 2015. Deskripsi Hasil Uji Angka Lempeng Total (ALT) pada Beberapa Susu Formula Bayi. **Jurnal Kefarmasian Indonesia**. Volume 5 Nomor 2: 106 – 112

Putri, M. F. 2010. Kandungan Gizi dan Sifat Fisik Tepung Ampas Kelapa sebagai Bahan Pangan Sumber Serat. **Teknubuga**. Volume 2 Nomor 2: 32 - 43

Rahayu, N. P. N., Kawuri, R., dan Suriani, N. L. 2014. Uji Keberadaan *Staphylococcus aureus* pada Sosis Tradisional (Urutan) yang Beredar di Pasar Tradisional di Denpasar, Bali. **Jurnal Simbiosis**. Volume 2 Nomor 1: 147 – 157

Raini, M., Isnawati, A. dan Kurniati. 2004. Kualitas Fisik dan Kimia Air PAM di Jakarta, Bogor, Tangerang dan Bekasi. **Media Litbang Kesehatan**. Volume 14 Nomor 3: 14 – 19

Ramabulana, T., Mavunda, R. D., Steenkamp, P. A., Piater, L. A., Dubery, I. A., and Madala. N. E. 2016. Perturbation of Pharmacologically Relevant Polyphenolic Compounds in *Moringa oleifera* Against Photo-oxidative Damages Imposed by gamma Radiation. **Journal of Photochemistry and Photobiology**. Volume 156: 79 – 86

Rane, S. 2011. Street Vended Food in Developing World: Hazard Analyses. **Indian Journal Microbiology**. Volume 51 Number 1: 100 – 106

Razis, A. F. A., Ibrahim, M. D. and Kntayya, S. B. 2014. Health Benefits of *Moringa oleifera*. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**. Volume 15 Number 20: 8571 – 8576

Redha, A. 2010. Flavonoid: Struktur , Sifat Antioksidan dan Peranannya dalam Sistem Biologis. **Jurnal Belian**. Volume 9 Nomor 2: 196 – 202

Rohman, A., Riyanto, S., Yuniarti, N., Saputra W. R., Utami, R., and Mulatsih, W. 2010. Antioxidant Activity, Total Phenolic, and Total Flavonoid of Extracts and Fractions of Red Fruit (*Pandanus conoideus* Lam). **International Food Research Journal**. Volume 17: 97 – 106

Romadanu, Rachmawati, S. H., dan Lestari, S. D. 2014. Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Lotus (*Nelumbo nucifera*). **Fistech**. Volume 3 Nomor 1: 1 – 7

Said, N. I. dan Marsidi, R. 2005. Mikroorganisme Patogen dan Parasit di Dalam Air Limbah Domestik serta Alternatif Teknologi Pengolahan. **Jurnal Air Indonesia**. Volume 1 Nomor 1: 65 – 81

Santosa, B. A. 2008. Characteristics of Extrudate From Four Varieties of Corn With Aquadest Addition. **Indonesian Journal of Agriculture**. Volume 1 Number 2: 85 – 94

Sasongko, E. B., Widyastuti, E., dan Priyono, R. E. 2014. Kajian Kualitas Air dan Penggunaan Sumur Gali oleh Masyarakat di Sekitar Sungai Kaliyasa Kabupate Cilacap. **Jurnal Ilmu Lingkungan**. Volume 12 Issue 2: 72 – 82

Sauveur, A. S. and Broin, M. 2010. **Growing and Processing Moringa Leaves**. Ghana: Moringa Association of Ghana

Shaltout, K. H., Ali, H. I., Mobarak, A., Baraka, D. M., and Aly, S. H. 2017. Morphological Variability Among *Moringa oleifera* (Lamark) Population in Egypt. **Egyptian Journal of Botany**. Volume 57 Number 1: 241 – 257

Siagian, P. 2012. **Keajaiban Antioksidan**. Jakarta: Gramedia

Simbolon, J. M., Sitorus, M. dan Katharina, N. 2007. **Cegah Malnutrisi dengan Kelor**. Yogyakarta: Kanisius.

Siswarni, M. Z., Putri, Y. I., dan Rinda, R. P. 2017. Ekstraksi Kuersetin dari Kulit Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.) menggunakan Pelarut Etanol dengan Metode Maserasi dan Sokletasi. **Jurnal Teknik Kimia**. Volume 6 Nomor 1: 36 – 42

Srianta dan Rinihapsari, E. 2003. Deteksi *Salmonella* pada Nasi Goreng yang Disediakan oleh Restoran Kereta Api Kelas Ekonomi. **Jurnal Teknologi dan Industri Pangan**. Volume 14 Nomor 3: 253 – 257

Sukmawati, Sudewi, S., dan Pontoh, J. 2018. Optimasi dan Validasi Metode Analisis dalam Penentuan Kandungan Total Flavonoid pada Ekstrak Daun Gedi Hijau (*Abelmoscus manihot*

L.) yang Diukur Menggunakan Spektrofotometri UV – Vis. **Jurnal Ilmiah Farmasi**. Volume 7 Nomor 3: 32 – 41

Sumada, K., Dewati, R., dan Suprihatin. 2016. Garam Industri Berbahaya Baku Garam Krosok dengan Metode Pencucian dan Evaporasi. **Jurnal Teknik Kimia**. Volume 11 Nomor 11: 30 – 36

Susana, T. 2003. Air sebagai Sumber Kehidupan. **Oseana**. Volume 28 Nomor 3: 17 – 25

Tejas, G., Umang, J., Payal, B., Tusharbindu, D., and Pravin, T. 2012. A Panoramic View on Pharmacognostic, Pharmacological, Nutritional, Therapeutic and Prophylactic Values of *Moringa oleifera* Lam. **International Research Journal of Pharmacy**. Volume 3 Number 6: 1 – 7

Toma, A., and Deyno, S. (2014). Phytochemistry and Pharmacological Activities of *Moringa oleifera*. **International Journal of Pharmacognosy**. Volume 1: 222 – 231

Trisanti, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., dan Jonathan, J. G. 2016. Pengujian Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L). **Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia**.

Verma, A.R., Vijayakumar, M., Mathela, C.S., Rao, C.V. 2009. In Vitro and In Vivo Antioxidant Properties of Different Fractions of *Moringa oleifera* Leaves. **Food Chem. Toxicol**. Volume 47: 2196 – 2201

Victorio, C. P., Lage, C. L. S., and Kuster, R. M. 2010. Flavonoid Extraction from *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burtt Et Smith Leaves using Different Procedures. **Ecletica Quimica**. Volume 35 Nomor 1: 35 – 40

Wahdanngsih, S., Setyowati, E. P., dan Wahyuono, S. 2011. Aktivitas Penangkap Radikal Bebas dari Batang Pakis (*Alsophila glauca* J. Sm). **Majalah Obat Tradisional**. Volume 16 Nomor 3: 156 – 160

Wati, Z., Hidayati, E., dan Suryadi, B. F. 2017. Deteksi Keberadaan Bakteri Enterik Patogen pada Nasi Bungkus di Sekitar Kampus Universitas Mataram. **Prosiding ISBN: 978-602-6640-02-4**

Widyantari, N. P. I., triani, I. G. A. L. dan Ginam, I. B. 2015. Pengaruh Perlakuan Pencucian dan Perebusan terhadap Kadar Residu Insektisida dan Karakteristik Sensoris pada Sayuran Kembang Kol (*Brassica oleracea* var. botrytis L). **Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri**. Volume 3 Nomor 4: 130 – 139

Willey, J. M., Linda, M. S., and Christopher, J. 2008. **Prescott, Harley, and Klein's Microbiology**. New York : Mc Graw Hill

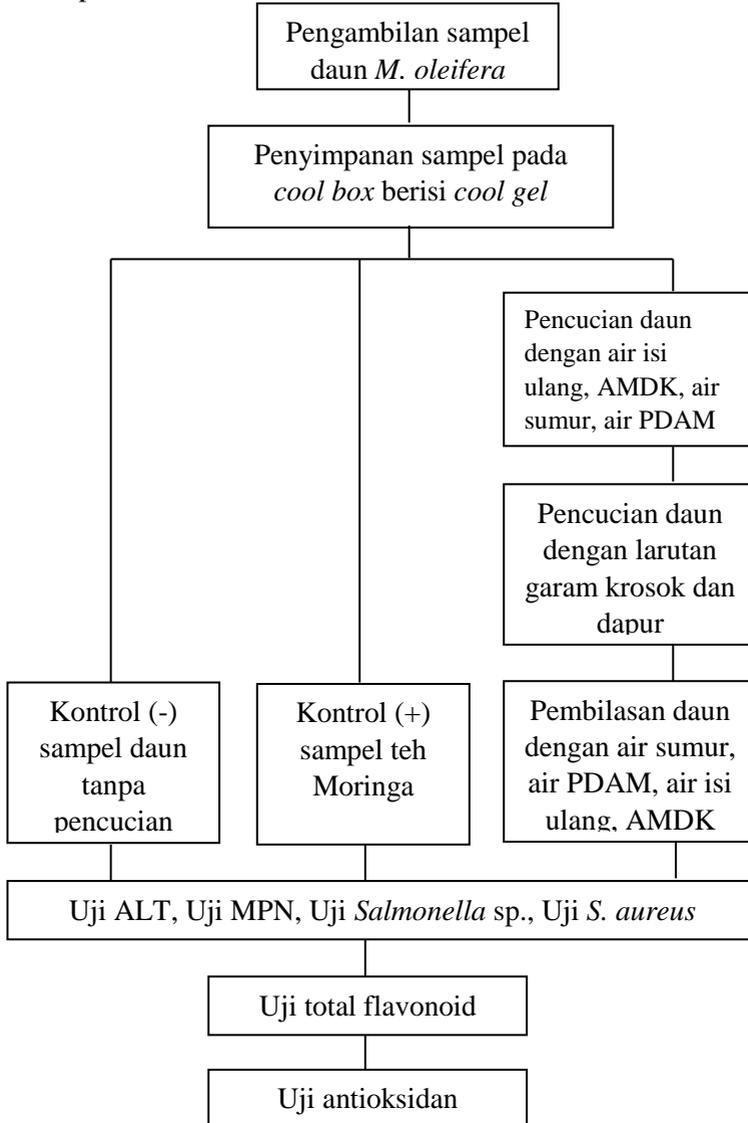
Winarsi, Hery. 2007. **Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan**. Yogyakarta: Kanisius

Yamaguchi, T., Takamura, H., Matoba, T. and Terao, J. 1998. HPLC Method for Evaluation of Free Radicals Scavenging Activity of Foods by Using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl. **Biosciences Biotechnology Biochemical**. Volume 62 Number 6: 1201 – 1204

Yuniastuti, A., Nugrahaningsih, W. H., dan Zunikhah. 2010. Efektivitas Seng (Zn) sebagai Imunostimulan dalam Produksi *Reactive Oxygen Intermediate* pada Mencit Balb/C yang Diinfeksi *Salmonella typhimurium*. **Biosaintifika**. Volume 2 Nomor 1: 53 – 60

## LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Penelitian



Lampiran 2. Tabel Hasil Uji MPN *Coliform*

Jenis sampel	Nilai MPN (MPN/gram)	Keterangan
Kontrol (+)	0,03	Memenuhi
Kontrol (-)	11	Tidak memenuhi
Depo + G. dapur	0,92	Memenuhi
Depo + G. krosok	2,1	Memenuhi
PDAM + G. dapur	0,975	Memenuhi
PDAM + G. krosok	1,95	Memenuhi
Sumur + G. dapur	1,65	Memenuhi
Sumur + G. krosok	2,765	Memenuhi
AMDK + G. dapur	0,55	Memenuhi
AMDK + G. krosok	0,68	Memenuhi

## Lampiran 3. Hasil Uji TPC

Jenis sampel	Jumlah koloni (CFU/gram)	Keterangan
Kontrol (+)	$3,7 \times 10^4$	Memenuhi
Kontrol (-)	$5,8 \times 10^4$	Tidak memenuhi
Depo + G. dapur	$3,7 \times 10^4$	Memenuhi
Depo + G. krosok	$3,9 \times 10^4$	Memenuhi
PDAM + G. dapur	$3,9 \times 10^4$	Memenuhi
PDAM + G. krosok	$4,6 \times 10^4$	Memenuhi
Sumur + G. dapur	$4,2 \times 10^4$	Memenuhi
Sumur + G. krosok	$5,2 \times 10^4$	Tidak memenuhi
AMDK + G. dapur	$0,9 \times 10^4$	Memenuhi
AMDK + G. krosok	$3,7 \times 10^4$	Memenuhi

Lampiran 4. Hasil Uji *Staphylococcus aureus*

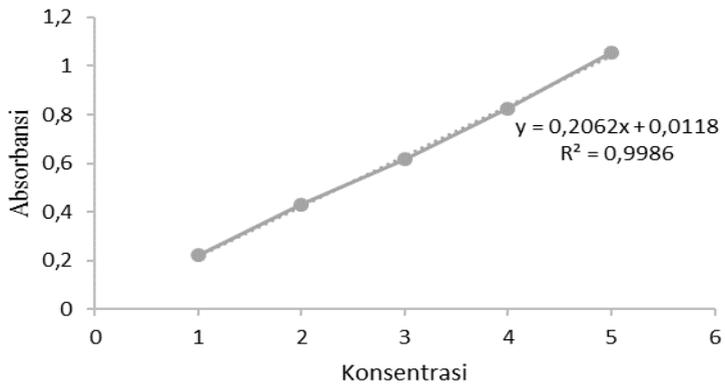
Jenis sampel	Jumlah koloni (CFU/gram)	Keterangan
Kontrol (+)	0	Memenuhi
Kontrol (-)	$1,1 \times 10^2$	Tidak memenuhi
Depo + G. dapur	$0,5 \times 10^2$	Memenuhi
Depo + G. krosok	$0,8 \times 10^2$	Memenuhi
PDAM + G. dapur	$0,3 \times 10^2$	Memenuhi
PDAM + G. krosok	$0,9 \times 10^2$	Memenuhi
Sumur + G. dapur	$0,9 \times 10^2$	Memenuhi
Sumur + G. krosok	$1 \times 10^2$	Tidak memenuhi
AMDK + G. dapur	$0,2 \times 10^2$	Memenuhi
AMDK + G. krosok	$0,9 \times 10^2$	Memenuhi

Lampiran 5. Hasil Uji *Salmonella* sp.

Jenis sampel	Warna koloni	Keterangan
Kontrol (+)	Tidak terbentuk koloni	Memenuhi
Kontrol (-)	Kecoklatan	Tidak Memenuhi
Depo + G. dapur	Kecoklatan	Tidak Memenuhi
Depo + G. krosok	Kecoklatan	Tidak Memenuhi
PDAM + G. dapur	Kecoklatan	Tidak Memenuhi
PDAM + G. krosok	Kecoklatan	Tidak Memenuhi
Sumur + G. dapur	Kecoklatan	Tidak Memenuhi
Sumur + G. krosok	Kecoklatan	Tidak Memenuhi
AMDK + G. dapur	Kecoklatan	Tidak Memenuhi
AMDK + G. krosok	Kecoklatan	Tidak Memenuhi

## Lampiran 7. Hasil Absorbansi dan Kurva Quersetin

Konsentrasi	Absorbansi
1	0,223
2	0,431
3	0,616
4	0,825
5	1,057



Lampiran 8. Hasil Absorbansi Uji Kadar Flavonoid

Jenis sampel	Ulangan	Absorbansi			Kadar flavonoid
		Abs 1	Abs 2	Abs 3	
Kontrol (-)	1	0,138	0,139	0,141	11,6375
	2	0,123	0,124	0,125	
Kontrol (+)	1	0,086	0,087	0,086	7,8026
	2	0,097	0,099	0,098	
AMDK + G. Dapur	1	0,07	0,07	0,07	6,6861
	2	0,09	0,092	0,092	
AMDK + G. Krosok	1	0,093	0,092	0,093	8,1586
	2	0,099	0,099	0,099	
Depo + G. Dapur	1	0,108	0,109	0,108	7,7055
	2	0,073	0,074	0,075	
Depo + G. Krosok	1	0,105	0,102	0,103	8,5793
	2	0,097	0,096	0,098	
PDAM + G. Dapur	1	0,072	0,075	0,074	5,3916
	2	0,061	0,061	0,061	
PDAM + G. Krosok	1	0,089	0,089	0,089	7,9482
	2	0,099	0,098	0,098	
Sumur + G. Dapur	1	0,068	0,069	0,068	5,6505
	2	0,07	0,073	0,072	
Sumur + G. Krosok	1	0,073	0,072	0,071	6,055
	2	0,078	0,075	0,076	

Contoh perhitungan kadar flavonoid

$$\text{Kadar flavonoid} = \frac{C \times V}{m}$$

Volume pelarut = 40 ml

Massa simplisia = 2 gram

Persamaan regresi linear,  $y = 0,2062x + 0,0118$

Y = hasil absorbansi sampel

C = x

$X = y - 0,0118/0,2062$

$= 0,1393 - 0,0118/0,2062$

$= 0,61909 \text{ mg/ml}$

Kadar flavonoid =  $0,61909 \times 40/2$

$= 12,3818 \text{ mgQE/gram}$

## Lampiran 9. Hasil Absorbansi Uji Aktivitas Antioksidan

Jenis sampel	Ulangan	Absorbansi			Aktivitas antioksidan
		Abs 1	Abs 2	Abs 3	
Kontrol (-)	1	0,05	0,05	0,05	84%
	2	0,045	0,043	0,043	
Kontrol (+)	1	0,13	0,129	0,13	54%
	2	0,133	0,135	0,134	
AMDK + G. Dapur	1	0,122	0,123	0,125	55%
	2	0,13	0,133	0,132	
AMDK + G. Krosok	1	0,102	0,105	0,104	65%
	2	0,095	0,099	0,093	
Depo + G. Dapur	1	0,111	0,11	0,11	54%
	2	0,154	0,155	0,155	
Depo + G. Krosok	1	0,091	0,092	0,092	69%
	2	0,084	0,084	0,083	
PDAM + G. Dapur	1	0,124	0,123	0,123	58%
	2	0,117	0,116	0,115	
PDAM + G. Krosok	1	0,105	0,104	0,104	63%
	2	0,109	0,109	0,108	
Sumur + G. Dapur	1	0,136	0,135	0,135	53%
	2	0,135	0,134	0,135	
Sumur + G. Krosok	1	0,129	0,129	0,13	56%
	2	0,119	0,12	0,121	

Contoh perhitungan aktivitas antioksidan

$$\% \text{ Antioksidan} = \frac{A_c - A}{A_c} \times 100\%$$

$A_c$  = Absorbansi kontrol

$A$  = Absorbansi sampel

$A_c = 0,286$

$$\begin{aligned} \% \text{ Antioksidan} &= (0,286 - 0,05) / 0,286 \times 100\% \\ &= 83\% \end{aligned}$$

## Lampiran 10. Foto Perlakuan Sampel



Pengambilan sampel daun kelor secara aseptis menggunakan sarung tangan



Pengambilan sampel air secara aseptis menggunakan sarung tangan dan botol steril.



Pencucian daun kelor secara aseptis menggunakan sarung tangan dan wadah steril.

## BIODATA PENULIS



Penulis dilahirkan di Madiun pada tanggal 7 Agustus 1996 sebagai anak keempat dari empat bersaudara dari pasangan Bapak Mislan dan Ibu Wiji. Penulis menyelesaikan pendidikan dasar pada tahun 2009 di SD Negeri Mlilir 1. Kemudian melanjutkan pendidikan menengah di SMP Negeri 1 Dolopo dan lulus tahun 2012. Penulis menamatkan pendidikan menengah atas di SMA Negeri 1 Geger pada tahun 2015. Penulis masuk ke Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Departemen Biologi, Fakultas Sains melalui jalur SBMPTN program Bidikmisi pada tahun 2015. Selama masa perkuliahan, penulis aktif menjadi pengurus Badan Eksekutif Mahasiswa ITS pada kepengurusan tahun 2016/2017 dan tahun 2017/2018 di Kementerian Dalam Negeri sebagai Sekretaris Kementerian. Apabila pembaca ingin berdiskusi dapat menghubungi penulis melalui email [nwulandari7896@gmail.com](mailto:nwulandari7896@gmail.com).