

Kode>Nama RumpunIlmu : 354/ IlmuGizi

# LAPORAN AKHIR PENELITIAN MANDIRI



POTENSI FORMULA *Anrederacordifolia (Ten.) Steenis* DAN  
*Aloe vera* DALAM PANGAN SEBAGAI PENGHAMBAT  
PERTUMBUHAN MIKROORGANISME DENGAN  
METODE MPN DAN TPC TEST

Oleh :

Mujayanto, SKM, M.PH      NIP 197201142000031004  
Dr. Juliana Christyaningsih      NIP 196807011988032001

JURUSAN GIZI  
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES SURABAYA  
2018

# HALAMAN PENGESAHAN

Judul

: Potensi formula *Anrederacordifolia* (ten.) Steenis dan *Aloe vera* dalam pangan sebagai penghambat pertumbuhan mikroorganism dengan metode MPN dan TPC test

## Peneliti Utama

Nama Lengkap

: Mujayanto, SKM, M.PH

NIP

: 197201142000031004

Program Studi

: Gizi

Nomor HP

: 08155015868

Alamat surel

: [ikydh@gmail.com](mailto:ikydh@gmail.com)

## Anggota (1)

Nama Lengkap

: Dr. Juliana Christyaningsih, Ir., M.Kes

NIP/NIDN

: 196807011988032001

Program Studi

: Gizi

Poltekkes

: Kemenkes Surabaya

Tahun Pelaksanaan

: 7 bulan

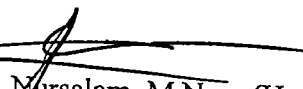
Sumber Dana Penelitian

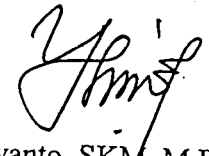
: Poltekkes Besarnya : Rp5.000.000,-

Pakar Penelitian

Surabaya, 29 Oktober 2018

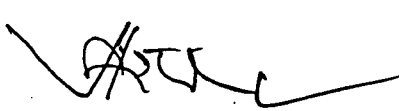
Ketua

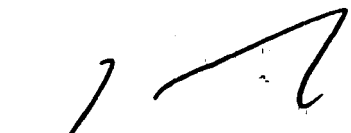
  
Prof. Dr. Nursalam, M.Nurs (Hons)  
NIP 196612251989031004

  
Mujayanto, SKM, M.PH  
NIP 197201142000031004

Ketua Unit Penelitian Poltekkes

Direktur Poltekkes Kemenkes Surabaya

  
Setiawan, S.KM., M.Psi  
NIP 196304211985031005

  
Drg. Bambang Hadi Sugito, M.Kes  
NIP 196204291993031002

## **PENELITIAN MANDIRI**



### **POTENSI FORMULA *Anrederacordifolia (Ten.)Steenis* DAN *Aloe vera* DALAM PANGAN SEBAGAI PENGHAMBAT PERTUMBUHAN MIKROORGANISME DENGAN METODE *MPN* DAN *TPC TEST***

Oleh :

Mujayanto, SKM, M.PH      NIP 197201142000031004  
Dr. Juliana Christyaningsih      NIP 196807011988032001

**JURUSAN GIZI  
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES SURABAYA  
MEI 2018**

## HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Potensi formula *Anrederacordifolia (ten.) Steen* dan *Aloe vera* dalam pangane sebagai penghambat pertumbuhan mikroorganism dengan metode MPN dan TPC test

### Peneliti Utama

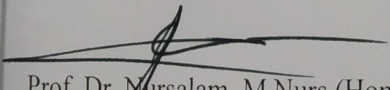
Nama Lengkap : Mujayanto, SKM, M.PH  
NIP : 197201142000031004  
Program Studi : Gizi  
Nomor HP : 08155015868  
Alamat surel : [ikydho@gmail.com](mailto:ikydho@gmail.com)

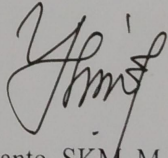
### Anggota (1)

Nama Lengkap : Dr. Juliana Christyaningsih, Ir., M.Kes  
NIP/NIDN : 196807011988032001  
Program Studi : Gizi  
Poltekkes : Kemenkes Surabaya  
Tahun Pelaksanaan : 7 bulan  
Sumber Dana Penelitian : Poltekkes Besarnya : Rp5.000.000,-

Pakar Penelitian

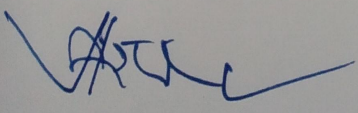
Surabaya, 29 Oktober 2018  
Ketua

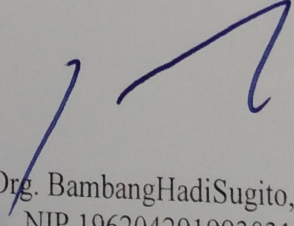
  
Prof. Dr. Nursalam, M.Nurs (Hons)  
NIP 196612251989031004

  
Mujayanto, SKM, M.PH  
NIP 197201142000031004

Ketua Unit Penelitian Poltekkes

Direktur Poltekkes Kemenkes Surabaya

  
Setiawan, S.KM., M.Psi  
NIP 196304211985031005

  
Drg. Bambang Hadi Sugito, M.Kes  
NIP 196204291993031002

## DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Sampul.....	i
Halaman Pengesahan.....	ii
Daftar Isi.....	iii
Daftar Tabel.....	iv
Daftar Gambar.....	v
Daftar Lampiran.....	vi
Abstrak.....	vii
Bab 1. Pendahuluan.....	1
Bab 2. TinjauanPustaka.....	4
Bab 3. MetodePenelitian.....	21
Bab 4. Hasil dan Pembahasan.....	28
Bab 5. Kesimpulan dan Saran.....	36
Daftar Pustaka.....	37

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Jenis Zat aktif pada tanaman struktur dan mekanisme kerja menghambat mikroba.....	10
Tabel 3.1 Definisi Operasional.....	21
Tabel 4.1 Hasil Pemeriksaan Most Probable Number (MPN) dari produk pangan yang disimpan.....	28
Tabel 4.2 Hasil Pemeriksaan Total Plate Count (TPC)/Angka Lempeng Total (ALT) dari produk pangan yang disimpan.....	28
Tabel 4.4.4. Hasil MPN Jus Buah Naga Anova.....	34
Tabel 4.4.5. Hasil TPC Donat Anova .....	35
Tabel 4.4.5. Hasil TPC Jus Buah Naga Anova.....	36

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	19
Gambar 3.1 Kerangka Operasional Penelitian.....	23
Gambar 4.1 Hasil pemeriksaan Most Probable Number (MPN) dan Jus Buah Naga yang disimpan.....	29
Gambar4.2 Hasil pemeriksaan TPC/ALT dari Buah Naga yang disimpan.....	30
Gambar4.3 Hasil pemeriksaan Most Probable Number (MPN) dan Jus Buah Naga yang disimpan.....	30

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Sarana dan Prasarana Penelitian.....	35
Lampiran 2 Susunan Organisasi Tim Penelitian.....	36
Lampiran 3 Surat Pernyataan Ketua Peneliti.....	37
Lampiran 4 Log Book Penelitian.....	38
Lampiran 5 Hasil Pemeriksaan Mikrobiologi Donat.....	39
Lampiran 6 Hasil Pemeriksaan Mikrobiologi Jus Buah Naga.....	40
Lampiran 7 Laporan Hasil Pengujian Jus Buah Naga M 1.....	43
Lampiran 8 Laporan Hasil Pengujian Jus Buah Naga M 2.....	44
Lampiran 9 Laporan Hasil Pengujian Jus Buah Naga M 3.....	45
Lampiran 10 Laporan Hasil Pengujian Jus Buah Naga T1 1.....	46
Lampiran 11 Laporan Hasil Pengujian Jus Buah Naga T1 2.....	47
Lampiran 12 Laporan Hasil Pengujian Jus Buah Naga T1 3.....	48
Lampiran 13 Laporan Hasil Pengujian Jus Buah Naga T2 1.....	49
Lampiran 14 Laporan Hasil Pengujian Jus Buah Naga T2 2.....	50
Lampiran 15 Laporan Hasil Pengujian Jus Buah Naga T2 3.....	51
Lampiran 16 Laporan Hasil Pengujian Jus Buah Naga T3 1.....	52
Lampiran 17 Laporan Hasil Pengujian Jus Buah Naga T3 2.....	53
Lampiran 18 Laporan Hasil Pengujian Jus Buah Naga T3 3.....	54



## ABSTRAK

**Pendahuluan:** Hasil survei beberapa peneliti ternyata masih ada camilan di Sekolah Dasar Negeri di kota Surabaya yang berisi pengawet yang dilarang dalam makanan, meski persentasenya kecil. Sampai saat ini penggunaan pengawet alami sebagai pengawet pangan masih belum dieksploitasi secara optimal sebagai alternatif zat antimikroba alami.

**Metode:** Formulasi serbuk daun *Anredera cordifolia (ten.) Steenis* dan gel *Aloe vera* sebagai pengawet pangan dengan proporsi 1:2; 2:1; 2:2 yang dicampurkan pada proses pembuatan makanan dan minuman. Produk pangan tersebut disimpan pada suhu 18°C dan diamati selama 1, 3, 5 hari dengan pemeriksaan *Most Probable Number* (MPN) dan *Total Plate Count* (TPC)

**Hasil:** Jika penelitian ini memberikan hasil yang positif maka pemerintah akan mendapatkan manfaat dengan adanya pengawet herbal yang terjamin keamanan pangan.

**Kata kunci:** *Anrederacordifolia (ten.) Steenis*, *Aloe verachinensis*, MPN, TPC



# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar belakang**

Keamanan pangan merupakan kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia. Adanya bahan tambahan pangan menjadi salah satu alternatif dalam meningkatkan mutu bahan pangan, nilai gizi, cita rasa, penampilan dan dapat mengurangi pencemaran pangan terutama terhadap kerusakan oleh mikroba. Salah satu bahan tambahan pangan yang digunakan dalam mengurangi kerusakan bahan pangan adalah zat pengawet. Zat pengawet secara umum digolongkan menjadi dua, yaitu pengawet sintetis dan pengawet alami (Cahyadi, 2006). Hasil survei Suhariyadi (2015), masih ada camilan di Sekolah Dasar Negeri di kota Surabaya yang berisi boraks sebagai pengawet yang dilarang dalam makanan, meski persentasenya kecil (0,29%), bila dibandingkan dengan peneliti sebelumnya Tumbel(2010), Triastuti (2013), Sultan (2013) dan Sastaviyana (2013). Wariyah (2013) menunjukkan bahwa masih terdapat 4% sampel Pangan Jajanan Anak Sekolah (PJAS) dengan pengawet sodium benzoat dan asam sorbat tidak memenuhi syarat (TMS) dan pemanis sodium siklamat 8% sampel. PJAS mengandung boraks ada 3% sampel (cilok, sosis, kerupuk rambak) dan 1% sampel pada bubur kacang hijau dan cimol ditemukan berformalin.

Penggunaan zat pengawet alami saat ini menjadi hal yang menarik di kalangan masyarakat maupun industri pangan, karena penggunaan zat pengawet sintetis yang berlebihan maupun dikonsumsi secara terus-menerus memberikan efek negatif bagi kesehatan tubuh (Afrianti, 2010). Sampai saat ini penggunaan pengawet alami sebagai pengawet pangan masih belum dieksploitasi secara optimal sebagai zat antimikroba alternatif. Tumbuhan dapat mensintesa berbagai jenis senyawa bioaktif yang dapat berperan sebagai anti mikroba, seperti senyawa fenol dan turunannya, terpena dan terpenoid, alkaloid, polipeptida dan steroid (Putra, 2014). Zat-zat pada tanaman dapat mempengaruhi sel mikroba melalui berbagai macam mekanisme, termasuk menyerang fosfolipid bilayer dari membran sel, mengganggu sistem enzim, berinteraksi dengan material genetik dari bakteri, dan membentuk asam lemak hidroperoksidas yang disebabkan oleh oksigenase dari asam lemak tidak jenuh (Tajkarimi et.al, 2010).

Hasil penelitian Rima (2017), menunjukkan bahwa dekok daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dapat memperpanjang masa simpan tahu putih selama 6 hari pada suhu ruang. Rofiatiningrum (2015) meneliti tentang pemanfaatan gel lidah buaya (*Aloe vera chinensis*) mampu menghambat pertumbuhan jamur *Penicillium sp* dan *Monilia sitophila*. Dari hasil beberapa penelitian di atas, penulis tertarik untuk menggabungkan kedua tanaman tersebut menjadi suatu produk pengawet alami yang aman bagi kesehatan. Daun Binahong dan Lidah buaya merupakan tanaman yang biasa dikonsumsi oleh masyarakat sehingga merupakan herbal yang aman. Penggunaan perpaduan daun Binahong dan Lidah buaya belum teruji sebagai pengawet pangan karena itu penelitian ini perlu dilakukan agar masyarakat mendapatkan pengawet herbal yang aman dibandingkan dengan pengawet kimia.

Pengujian laboratorium dibidang mikrobiologi yang ditujukan untuk menganalisis jumlah mikroba dalam makanan dan minuman dilakukan dengan metode *Most Probable Number* (MPN) dan *Total Plate Count* (TPC). Analisis *Most Probable Number* (MPN) merupakan angka perkiraan (per ml / per gram atau per 100 ml / per 100 gram) mikroba yang ada dalam contoh, berdasarkan pada keberadaannya dalam alikuot replikat yang disiapkan melalui pengenceran desimal. Analisis *Total Plate Count* (TPC), untuk menunjukkan jumlah mikroba aerob mesofilik per gram atau per mL, contoh yang ditentukan melalui metode standar, dengan satuan: *colony forming unit* /g (CFU/g) (SNI, 2009)

## **Identifikasi masalah**

Penggunaan zat pengawet alami saat ini menjadi hal yang menarik di kalangan masyarakat maupun industri pangan, karena penggunaan zat pengawet sintetik yang berlebihan maupun dikonsumsi secara terus-menerus memberikan efek negatif bagi kesehatan tubuh. Penggunaan daun Binahong dan Lidah buaya belum teruji sebagai pengawet pangan karena itu penelitian ini perlu dilakukan agar masyarakat mendapatkan pengawet herbal yang aman dibandingkan dengan pengawet kimia. Pengujian laboratorium sebagai pengawet secara mikrobiologi dilakukan dengan parameter *Most Probable Number* (MPN) dan *Total Plate Count* (TPC).

### **1.2. Tujuan Penelitian**

Tujuan Umum Penelitian

Menganalisis potensi formula daun *Anredera cordifolia* (ten.) Steenis dan *Aloe vera* dalam pangan sebagai penghambat pertumbuhan mikroorganisme

Tujuan Khusus Penelitian :

1. Membuat formula daun *Anredera cordifolia (ten.) Steenis* dan *Aloe vera* sebagai pengawet pangan
2. Menganalisis *Most Probable Number* (MPN) dari produk pangan yang disimpan selama 1, 3, 5 hari pada suhu 18°C
3. Menganalisis *Total Plate Count* (TPC) dari produk pangan yang disimpan selama 1, 3, 5 hari pada suhu 18°C

1.3. **Manfaat Penelitian,**

- 1.3.1. Bagi Pemerintah (Kemenkes) : dapat membantu program pemerintah untuk berperan serta menyehatkan masyarakat dengan terjaminnya keamanan pangan.
- 1.3.2. Bagi Jurusan Gizi Poltekkes Kemenkes Surabaya: dapat menjadi rujukan untuk penelitian lebih lanjut dan sebagai karya inovatif yang terpublikasi secara international,
- 1.3.3. Bagi peneliti: merupakan pengalaman penelitian yang berharga

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Kerusakan Pangan**

Suatu bahan rusak bila menunjukkan adanya penyimpangan yang melewati batas yang dapat diterima secara normal oleh panca indera atau parameter lain yang biasa digunakan. Penyimpangan dari keadaan semula tersebut meliputi beberapa hal, diantaranya : konsistensi, tekstur, memar, berlendir, berbau busuk, gosong, ketengikan, penyimpangan pH, reaksi Browning, penggembungan kaleng (terjadi gas), penyimpangan warna, penyimpangan cita rasa, penggumpalan/pengerasan pada tepung, lubang/bekas gigitan, *candling* (keretakan pada kulit telur)

Bila ditinjau dari penyebabnya, kerusakan bahan pangan dapat dibagi menjadi beberapa jenis, yaitu:

##### **1. Kerusakan Mikrobiologis**

Pada umumnya kerusakan mikrobiologis tidak hanya terjadi pada bahan mentah, tetapi juga pada bahan setengah jadi maupun pada bahan hasil olahan. Kerusakan ini sangat merugikan dan kadang-kadang berbahaya bagi kesehatan karena racun yang diproduksi, penularan serta penularan kerusakan yang cepat. Bahan yang telah rusak oleh mikroba juga dapat menjadi sumber kontaminasi yang berbahaya bagi bahan lain yang masih sehat atau segar. Penyebab kerusakan mikrobiologis adalah bermacam-macam mikroba seperti kapang, khamir dan bakteri. Cara perusakannya dengan menghidrolisa atau mendegradasi makromolekul yang menyusun bahan tersebut menjadi fraksi-fraksi yang lebih kecil. Tumbuhnya bakteri, kapang dan khamir di dalam bahan pangan dapat mengubah komposisi bahan pangan. Beberapa diantaranya dapat menghidrolisa pati dan selulosa atau menyebabkan fermentasi gula sedangkan lainnya dapat menghidrolisa lemak dan menyebabkan ketengikan atau dapat mencerna protein dan menghasilkan bau busuk atau amoniak. Bakteri, kapang dan khamir senang akan keadaan yang hangat dan lembab. Sebagian besar bakteri mempunyai pertumbuhan antara 45–55°C dan disebut golongan bakteri termofilik. Beberapa bakteri mempunyai suhu pertumbuhannya antara 20–45°C disebut golongan bakteri mesofilik, dan lainnya mempunyai suhu pertumbuhan dibawah 20°C disebut bakteri psikofilik (Muchtadi, 1989).

Semua bakteri yang tumbuh pada makanan bersifat heterotropik yaitu membutuhkan zat organik untuk pertumbuhannya. Dalam metabolismenya bakteri heterotropik menggunakan protein, karbohidrat, lemak dan komponen makanan lainnya sebagai sumber karbon dan energi untuk pertumbuhannya. Jika tumbuh pada bahan pangan, bakteri dapat menyebabkan berbagai perubahan pada penampakan maupun komposisi kimia dan cita rasa bahan pangan tersebut. Perubahan yang dapat terlihat dari luar yaitu perubahan warna, pembentukan lapisan pada permukaan makanan cair atau padat, pembentukan lendir, pembentukan endapan atau kekeruhan pada minuman, pembentukan gas, bau asam, bau alkohol, bau busuk dan berbagai perubahan lainnya (Fardiaz, 1992).

## 2. Kerusakan Mekanis

Kerusakan mekanis disebabkan adanya benturan-benturan mekanis. Kerusakan ini terjadi pada : benturan antar bahan, waktu dipanen dengan alat, selama pengangkutan (tertindih atau tertekan) maupun terjatuh, sehingga mengalami bentuk atau cacat berupa memar, tersobek atau terpotong.

## 3. Kerusakan Fisik

Kerusakan fisik ini disebabkan karena perlakuan-perlakuan fisik, misalnya terjadinya “*case hardening*” karena penyimpanan dalam gudang basah menyebabkan bahan seperti tepung kering dapat menyerap air sehingga terjadi pengerasan atau membatu. Dalam pendinginan terjadi kerusakan dingin (*chilling injuries*) atau kerusakan beku (*freezing injuries*) dan “*freezer burn*” pada bahan yang dibekukan. Sel-sel tenunan pada suhu pembekuan akan menjadi kristal es dan menyerap air dari sel sekitarnya. Akibat dehidrasi ini, ikatan sulfhidril ( $-SH$ ) dari protein akan berubah menjadi ikatan disulfida ( $-S-S-$ ), sehingga fungsi protein secara fisiologis hilang, fungsi enzim juga hilang, sehingga metabolisme berhenti dan sel rusak kemudian membusuk. Pada umumnya kerusakan fisik terjadi bersama-sama dengan bentuk kerusakan lainnya.

## 4. Kerusakan Biologis

Yang dimaksud dengan kerusakan biologis yaitu kerusakan yang disebabkan karena kerusakan fisiologis, serangga dan binatang pengerat (*rodentia*). Kerusakan fisiologis meliputi kerusakan yang disebabkan oleh reaksi-reaksi metabolisme dalam bahan atau oleh enzim-enzim yang terdapat didalam bahan itu sendiri secara alami sehingga terjadi autolisis dan berakhir dengan kerusakan serta pembusukan. Contohnya daging akan membusuk oleh proses autolisis, karena itu daging mudah rusak dan busuk bila disimpan pada suhu kamar. Keadaan serupa juga dialami pada beberapa buah-buahan.

## 5. Kerusakan Kimia

Kerusakan kimia dapat terjadi karena beberapa hal, diantaranya : “*coating*” atau enamel, yaitu terjadinya noda hitam FeS pada makanan kaleng karena terjadinya reaksi lapisan dalam kaleng dengan H<sub>2</sub>S yang diproduksi oleh makanan tersebut. Adanya perubahan pH menyebabkan suatu jenis pigmen mengalami perubahan warna, demikian pula protein akan mengalami denaturasi dan penggumpalan. Reaksi *browning* dapat terjadi secara enzimatis maupun non-enzimatis. *Browning* nonenzimatis merupakan kerusakan kimia yang mana dapat menimbulkan warna coklat yang tidak diinginkan.

## 2.2 Mikroorganisme

Hampir semua bahan pangan telah tercemar oleh mikroorganisme baik sedikit ataupun banyak. Mikroba biasanya berasal dari lingkungan sekitar yang kebanyakan merupakan mikroba pembusuk, selain itu, mikroba dapat berasal dari hasil olahan suatu bahan pangan serta pada kondisi tertentu saat penyimpanan. Bahan pangan sangat jarang dijumpai dalam keadaan steril karena mikroba ada dimana-mana (Suter, 2000). Pada bahan makanan perlu adanya pengecekan yaitu pemeriksaan kemasan dan tanggal kadaluarsa, terutama untuk bahan pangan di rumah sakit. Pengecekan dilakukan untuk menghindari penerimaan bahan makanan yang rusak kemasannya atau kadaluarsa, sehingga sesuai dengan permintaan dan segera digunakan untuk proses pelayanan gizi. Makanan kadaluarsa yaitu makanan yang tidak boleh dipergunakan lagi menurut waktu yang telah ditentukan (Jayani dan Widodo, 2013). Tanda-tanda atau ciri-ciri yang dapat dikenali pada makanan yang sudah kadaluarsa yaitu bahan makanan tersebut telah mengalami kerusakan dan mengalami perubahan pada warna, bau, rasa, tekstur dan kekentalannya. Penyebab terjadinya kerusakan pada makanan kadaluarsa akibat pelepasan pada makanan dan tidak berfungsinya lagi bahan pengawet pada makanan, serta dapat terjadi karena reaksi-reaksi zat kimia beracun yang terkandung pada makanan dalam jenjang waktu tertentu (Rustini, 2010)

Kerusakan mikrobiologis sangat merugikan dan terkadang atau bahkan sering menimbulkan bahaya bagi kesehatan karena racun yang diproduksinya. Bahan yang telah rusak oleh mikroba dapat menjadi sumber kontaminasi yang berbahaya bagi bahan lain yang masih segar. Penyebab kerusakan mikrobiologis adalah berbagai mikroorganisme seperti khamir, kapang dan bakteri. Cara mikroba untuk merusak bahan pangan yaitu dengan menghidrolisis atau mendegradasi makro molekul yang menyusun bahan tersebut menjadi fraksi-fraksi yang lebih kecil serta dapat mengeluarkan toksin (Suter, 2000). Faktor-faktor yang dapat menyebabkan kerusakan bahan pangan, antara lain adalah :



### 1. Pertumbuhan dan aktivitas mikroba

Mikroba dapat ditemukan di tanah, air, maupun udara yang dapat menyebabkan kerusakan pangan dan berbahaya bagi tubuh karena dapat menghasilkan racun. Mikroba dalam bahan pangan dapat mengubah komposisi bahan pangan dengan cara menghidrolisis pati dan selulosa menjadi fraksi yang lebih kecil, menghidrolisis lemak dan menyebabkan ketengikan, menyebabkan fermentasi gula serta merombak protein menjadi amoniak sehingga menghasilkan bau busuk. Beberapa mikroba dapat membentuk lendir, gas, busa warna, asam, toksin dan lain-lain.

### 2. Serangga, parasit dan rodentia

Gigitan serangga dan hewan pengerat (rodentia) akan melukai permukaan bahan pangan sehingga menyebabkan kontaminasi oleh mikroba. Parasit banyak ditemukan dalam daging misalnya cacing pita pada daging babi yang dapat menjadi sumber kontaminasi. Hewan pengerat seperti tikus juga sangat merugikan karena selain banyak memakan bahan pangan, juga kotoran, rambut, dan urine tikus adalah media tumbuhnya mikroba serta menimbulkan bau yang tidak enak.

### 3. AW (kandungan air dalam pangan)

Yaitu jumlah air bebas di dalam pangan yang dapat digunakan oleh mikroba untuk proses pertumbuhannya. Bila terjadi kondensasi udara pada permukaan bahan pangan atau dalam pengepakan buah dan sayuran menghasilkan air dari respirasi dan transpirasi maka dapat membantu pertumbuhan mikroba.

### 4. Suhu (pemanasan atau pendinginan)

Pemanasan berlebih dapat menyebabkan denaturasi protein, kerusakan vitamin, pemecahan emulsi dan degradasi lemak. Pembekuan pada buah dan sayuran dapat menyebabkan “thawing” setelah dikeluarkan dari tempat pembekuan, sehingga mudah terkontaminasi oleh mikroba. Selain itu juga dapat menyebabkan denaturasi protein susu dan penggumpalan, sehingga suhu penyimpanan harus disesuaikan dengan jenis bahan pangan.

### 5. Waktu

Jika bahan pangan disimpan dalam waktu lama akan mudah rusak atau busuk karena masing-masing bahan pangan memiliki batas masa simpannya sendiri-sendiri atau yang disebut masa kadaluarsa.

### 6. Udara

Udara terutama oksigen selain dapat merusak vitamin terutama vitamin A dan C, warna bahan pangan dan kandungan lainnya. Jika digunakan untuk pertumbuhan kapang yang

umumnya aerobik dapat menyebabkan tengik pada bahan pangan yang mengandung lemak

### **2.3 Pengawet bahan pangan**

Proses pengawetan adalah upaya menghambat kerusakan pangan dari kerusakan yang disebabkan oleh mikroba pembusuk yang mungkin memproduksi racun atau toksin. Tujuan pengawetan yaitu menghambat atau mencegah terjadinya kerusakan, mempertahankan mutu, menghindari terjadinya keracunan dan mempermudah penanganan dan penyimpanan. Berbagai teknik yang dikenal telah digunakan untuk mengawetkan pangan antara lain dengan menggunakan pendinginan atau pemanasan, pengasapan, dan penggunaan pengawet pangan baik sintetis maupun alami.

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 033 Tahun 2012 tentang Bahan Tambahan Pangan, bahan pengawet pangan merupakan bahan tambahan pangan untuk mencegah atau menghambat fermentasi, pengasaman, penguraian, dan penguraian lainnya terhadap pangan yang disebabkan oleh mikroorganisme. Beberapa jenis bahan pengawet sintetis yang diizinkan digunakan sebagai bahan pengawet pangan antara lain asam sorbat dan garamnya, asam benzoat dan garamnya, etil p-hidroksibenzoat, metil p-hidroksibenzoat, sulfit, nisin, nitrit, nitrat, asam propionat dan garamnya, dan lizozim hidroklorida. Selain penggunaan bahan pengawet sintesis tersebut, beberapa bahan kimia yang dilarang digunakan untuk pangan seperti formalin dan boraks yang diketahui berdampak buruk terhadap kesehatan, sering disalahgunakan oleh oknum pengusaha untuk mengawetkan pangan.

Bahan pengawet dan antioksidan alami, hampir terdapat pada semua tumbuhan-tumbuhan dan buah-buahan tersebar di seluruh tanah air (Barus, 2009). Secara tradisional masyarakat telah menggunakan bahan-bahan tumbuhan untuk mengawetkan bahan pangan. Seperti misalnya untuk mengawetkan nira kelapa, aren maupun lontar, mereka biasanya menggunakan bahan-bahan tumbuhan seperti: daun manggis, kulit buah manggis, daun manggis hutan, daun jambu biji, daun jambu mete dan kayu nangka. Bahan-bahan tumbuhan ini ternyata dapat menghambat proses kerusakan nira selama proses penyadapan, sehingga diperoleh nira yang lebih baik. Bumbu makanan seperti kunyit, bawang putih, lengkuas, sereh dan lain-lain digunakan oleh masyarakat untuk mengawetkan makanan seperti dendeng. Bahan-bahan tersebut setelah diteliti ternyata mengandung berbagai senyawa bioaktif yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba. Kunir digunakan untuk menghambat ketengikan minyak kelapa. Pada kunyit telah ditemukan senyawa yang mempunyai sifat sebagai antioksidan yaitu kurkuminoid (Putra, 2014).

Bahan alam telah dikenal mengandung berbagai jenis senyawa antimikroba yang memegang peranan penting dalam sistem pertahanan alami atau kompetisi pada semua jenis organisme, baik dari mikroorganisme sampai serangga, binatang, dan tanaman (Rahman, 2007). Senyawa antimikroba merupakan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroba. Antimikroba alami dapat berasal dari sumber hewan, tumbuhan dan mikroba. Penggunaan antimikroba dalam pangan bertujuan untuk:

- (1) mengontrol proses pembusukan alami (pengawetan makanan), dan
- (2) mencegah/mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme, termasuk mikroorganisme patogen (keamanan pangan) (Tajkarimi et.al, 2010).


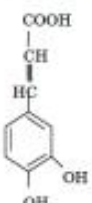
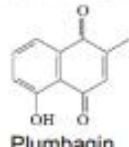
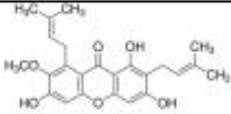
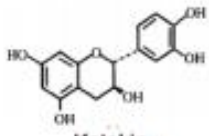
Tanaman yang banyak ditemukan mengandung senyawa antimikroba antara lain fraksi minyak esensial dari daun (rosemary, sage, kemangi, oregano, thyme, dan marjoram), bunga atau tunas (cengkeh), umbi (bawang putih dan bawang merah), biji (jintan, adas, pala, dan peterseli), rimpang (asafoetida), buah (lada dan kapulaga), atau bagian lain dari tanaman (Gutierrez et al., 2008 dan Lis-Balchin, 1997). Secara umum, tanaman obat dan rempah-rempah dan beberapa kandungan antimikrobanya termasuk GRAS, dikarenakan baik penggunaannya secara tradisional tidak ditemukan menimbulkan efek negatif atau karena adanya studi toksikologi.

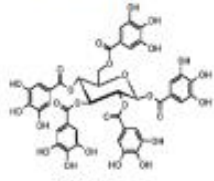

Sampai saat ini penggunaannya sebagai pengawet pangan masih belum dieksploitasi secara optimal sebagai zat antimikroba alternatif. Tumbuhan dapat mensintesa berbagai jenis senyawa bioaktif yang dapat berperan sebagai anti mikroba, seperti senyawa fenol dan turunannya, terpena dan terpenoid, alkaloid, polipeptida dan steroid (Putra, 2014). Efek antimikroba muncul dengan menyebabkan kerusakan struktur dan fungsi membran sel (Tajkarimi et.al, 2010). Zat-zat pada tanaman dapat mempengaruhi sel mikroba melalui berbagai macam mekanisme, termasuk menyerang fosfolipid bilayer dari membran sel, mengganggu sistem enzim, berinteraksi dengan material genetik dari bakteri, dan membentuk asam lemak hidroperoksidas yang disebabkan oleh oksigenase dari asam lemak tidak jenuh (Tajkarimi et.al, 2010). Kandungan zat berkhasiat dalam tanaman adalah sebagai berikut:

#### 1. Senyawa-Senyawa Fenol dan Turunannya

Tumbuh-tumbuhan dapat mensintesa berbagai jenis senyawa fenol melalui metabolisme sekunder yang ditujukan sebagai mekanisme pertahanan terhadap serangan mikroba, insekta, maupun herbivora (Cowan, 1999 dalam Putra, 2014). Beberapa senyawa fenol yang mempunyai daya antimikroba adalah fenol sederhana dan asam fenolat, kuinon, ksanton, flavonoid, tanin, serta kumarin. Beberapa contoh senyawa fenol dan mekanisme kerjanya dalam menghambat mikroba ditunjukkan dalam table 2.1.

Tabel 2.1 Jenis zat aktif pada tanaman, struktur dan mekanisme kerja menghambat mikroba

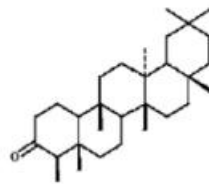
No	Senyawa	Contoh struktur molekul	Contoh sumber tanaman	Mekanisme kerja menghambat mikroba	Sumber
1	Fenol sederhana	 <p>Katekol</p>	Daun Sirih memiliki daya hambat terhadap bakteri dan kapang	Disebabkan karena gugus hidroksil yang dimiliki senyawa fenol dapat berinteraksi dengan protein membran sel mikroba melalui ikatan hidrogen, sehingga protein tersebut kehilangan fungsinya.	Cowan (1999)
	Asam fenolat	 <p>Asam kafeat</p>	<i>Artemisia dracuncululus</i> dan <i>Thymus vulgari</i> dilaporkan mempunyai daya hambat terhadap bakteri, kapang dan virus		Brantner, et al., (1996)
2	Kuinon	 <p>Plumbagin</p>	<i>Plumbago</i> , diisolasi dari akar <i>Plumbago scandens</i> , dilaporkan memiliki sifat antibakteri dan antikapang	Kuinon mampu membentuk kompleks yang <i>irreversible</i> dengan residu asam amino nukleofilik pada protein transmembran pada membran plasma, polipeptida dinding sel, serta enzim-enzim yang terdapat pada permukaan membran sel, sehingga mengganggu kehidupan sel.	Paiva, et al., (2003) dan Cowan (1999)
3	Ksanton	 <p><math>\alpha</math>-mangostin</p>	$\alpha$ -mangostin, senyawa ksanton yang diisolasi dari kulit buah manggis, memiliki daya antimikroba terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .	Bertindak sebagai inhibitor pada proses sintesis dinding sel, yaitu dengan mengikat peptida yang menjadi senyawa prekursor peptidoglikan dalam dinding sel bakteri (Bockholt, 1994).	linuma, et al. (1996)
4	Flavonoid	 <p>Katekin</p>	Katekin ditemukan pada apel, anggur, pear dan teh, secara <i>in vitro</i> mampu menghambat <i>Vibrio cholerae</i> , <i>mutan Streptococcus</i> dan <i>Shigella</i> .	Sifat antimikroba flavonoid disebabkan karena kemampuannya membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri, serta protein ekstraseluler	Cowan, (1999)

No	Senyawa	Contoh struktur molekul	Contoh sumber tanaman	Mekanisme kerja menghambat mikroba	Sumber
5	Tannin	 Galotanin	Galotanin, prosianidin. Tanin bersifat toksik terhadap kapang, bakteri dan khamir, serta menghambat perkembangan virus.	Tanin dapat membentuk kompleks dengan protein transmembran, enzim-enzim pada permukaan membran, dan protein pili (adesin), melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat mengganggu kehidupan mikroba.	Cowan (1999) dan Scalbert, (1991)
6	Koumarin	 Koumarin	Jinten ( <i>Carum carvi</i> ), dan dilaporkan mampu menghambat bakteri, kapang dan virus. melaporkan, koumarin dapat menghambat <i>Candida albicans</i> .	--	Cowan (1999), Hamburger dan Hostettmann (1991)

Keterangan: Sumber dikutip dari Putra, 2014

## 2. Terpena dan Terpenoid

Terpena dan terpenoid mempunyai daya antimikroba terhadap bakteri, kapang, virus dan protozoa (Hill, 1993 dalam Putra, 2014). Sebagai contoh *Friedilin*, terpenoid pada bunga *Mammea siamensis*, memiliki daya penghambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. Mekanisme penghambatannya diduga melalui perusakan lipid bilayer membran sel akibat gugus hidrofobik yang dimilikinya (Cowan, 1999 dalam Putra, 2014).



Struktur Friedilin

## 3. Alkaloid

Cowan (1999) menyatakan, beberapa senyawa alkaloid memiliki kemampuan menghambat mikroba, dan mekanismenya diduga karena dapat menyebabkan kerusakan DNA (Putra, 2014).

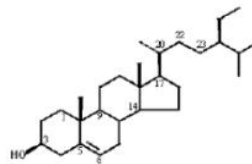
## 4. Polipeptida

Menurut Black (2005), sifat antimikroba polipeptida disebabkan oleh karena kemampuannya merusak membran sel (Putra, 2014). Polipeptida yang mampu

merusak membran sel adalah polipeptida yang memiliki residu asam amino bermuatan positif seperti lisin, histidin dan arginin (Cowan, 1999 dalam Putra, 2014). Sebagai contoh fabatin, polipeptida pada buncis, dilaporkan dapat menghambat *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Enterococcus hirae* (Cowan, 1999 dalam Putra, 2014).

## 5. Steroid

Kerja steroid dalam menghambat mikroba, adalah dengan merusak membran plasma sehingga menyebabkan bocornya sitoplasma ke luar sel yang selanjutnya menyebabkan kematian sel (Smith dan Shay, 1966 dalam Putra, 2014). Subhadhirasakul dan Pechpongs (2005) melaporkan,  $\beta$ -sitosterol yang diisolasi dari ekstrak kloroform *Mammea siamensis* menunjukkan daya penghambatan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* (Putra, 2014).



$\beta$ -Sitosterol

Dewasa ini, penggunaan antimikroba alami seperti ekstrak dari tumbuhan untuk mengawetkan bahan pangan banyak mendapat perhatian para peneliti. Penggunaan campuran ekstrak kayu manis (*Cinnamomum cassia*) dan kucai (*Allium tuberosum*) untuk mengawetkan bahan pangan telah diteliti oleh Mau, et al. (2001). Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mempunyai potensi untuk mengawetkan, sari buah jeruk, daging babi dan susu. Lin, et al. (2004) melaporkan ekstrak larut air dari tumbuhan *oregano* dan *cranberry* mampu menekan perkembangan *Listeria monocytogenes* pada irisan daging sapi dan ikan yang disimpan pada suhu 4 °C. Bahan aktif yang terdapat pada *oregano* dan *cranberry* adalah senyawa-senyawa fenolat. Ekstrak metanol dan etanol kulit kayu *Saccoglottis gabonensis* efektif menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri yang biasanya berkembang pada nira seperti *Leuconostoc mesenteroides* dan *Lactobacillus plantarum*, yang mana ekstrak metanolnya lebih efektif dibandingkan ekstrak etanolnya (Faparusi dan Bassir, 1973). Bawang mempunyai kandungan senyawa antibakteri dan antifungal seperti allisin dan tiosulfonat. Hasil penelitian terhadap ekstrak minyak esensial dari bawang (hijau, kuning, dan merah) serta bawang putih yang dilakukan oleh Benkeblia N., 2004 menunjukkan bahwa ekstrak bawang dah bawang putih tersebut memiliki aktivitas antibakteri terhadap dua bakteri

yaitu, *Staphylococcus aureus*, *Salmomella Enteritidis*, dan tiga fungi yaitu, *Aspergillus niger*, *Penicillium cyclopium* dan *Fusarium oxysporum*. Bawang putih yang paling tinggi daya hambatnya dan bawang hijau yang aktivitas antimikrobanya.

## 2.4 Tanaman Lidah Buaya (*Aloe vera*)

### Klasifikasi

- Divisi : Spermatophyta (Tumbuhan Biji)  
Kelas : Angiospermae (Tumbuhan Berbiji Tertutup)  
Sub kelas : Monocotyledoneae  
Ordo : Liliiflorae (Liliales)  
Famili : Liliaceae  
Genus : Aloe  
Spesies : *Aloe vera*(Sudarto, 1997)



### Nama lokal

- Prancis, Portugis, Jerman : Aloe  
Inggris : Crocodiles tongues  
Malaysia : Jadam  
Spanyol : Salvilla  
Indonesia : Lidah buaya  
Tibet : Jelly Leek  
India : mussabbar

(Sudarto, 1997)

### Deskripsi tanaman

Seperti halnya tanaman berkeping satu lainnya, daun lidah buaya berbentuk tombak dengan helaian memanjang. Daunnya berdaging tebal, tidak bertulang, berwarna hijau keabu-abuan dan mempunyai lapisan lilin dipermukaan, serta bersifat sekulen, yakni

mengandung air, getah, atau lendir yang mendominasi daun. Bagian atas daun rata dan bagian bawahnya membulat (cembung). Daun lidah buaya muda dan *sucker* (anak) terdapat bercak atau totol berwarna hijau pucat sampai putih. Bercak ini akan hilang saat lidah buaya dewasa. Namun, tidak demikian halnya dengan tanaman lidah buaya jenis kecil dan lokal. Hal ini kemungkinan disebabkan faktor genetiknya. Sepanjang tepi daun berjajar gerigi atau duri yang tumpul dan tidak berwarna (Furnawanthi, 2007).

Tanaman lidah buaya berbatang pendek. Batangnya tidak kelihatan karena tertutup oleh daun-daun yang rapat dan sebagian terbenam dalam tanah. Melalui batang ini akan muncul tunas-tunas yang selanjutnya menjadi anakan. Lidah buaya yang bertangkai panjang juga muncul dari batang melalui celah-celah atau ketiak daun. Akar tanaman lidah buaya berupa akar serabut yang pendek dan berada disekitar permukaan tanah. Panjang akar berkisar antara 50-100 cm. Dengan demikian, untuk pertumbuhannya tanaman menghendaki tanah yang subur dan gembur di bagian atasnya. Hal ini dicapai dengan lapisan olah sedalam 30 cm. Bunga lidah buaya berwarna kuning atau kemerahan berupa pipa yang mengumpul, keluar dari ketiak daun. Bunga berukuran kecil, tersusun dalam rangkaian berbentuk tandan, dan panjangnya dapat mencapai 1 meter. Bunga biasanya muncul bila ditanam di pegunungan (Sudarto, 1997).

Lidah buaya (*Aloe vera*) dapat tumbuh mulai dari daerah dataran rendah sampai daerah pegunungan. Daya adaptasi tinggi sehingga tempat tumbuhnya menyebar di seluruh dunia, mulai dari daerah tropika sampai daerah sub tropika. Di dataran tinggi tanaman ini dapat menghasilkan bunga. Tanah yang dikehendaki lidah buaya (*Aloe vera*) adalah tanah subur, kaya bahan organik, dan gembur. Di Kalimantan Barat, tanaman tumbuh baik di daerah bertanah gambut dengan pH yang rendah, sedangkan pH ideal untuk tanaman lidah buaya adalah 5,5-6 (Sudarto, 1997).

Komponen yang terkandung dalam lidah buaya sebagian besar adalah air yang mencapai 99,5% dengan total padatan terlarut hanya 0,49%, lemak 0,067%, karbohidrat 0,043%, protein 0,038%, vitamin A 4,594 IU, dan vitamin C 3,476 mg (Furnawanthi, 2007). Lidah buaya mempunyai kandungan zat gizi yang diperlukan tubuh dengan cukup lengkap, yaitu vitamin A, B1, B2, B3, B12, C, E, kolin, inositol dan asam folat (Astawan, 2006). Zat-zat ini sangat berguna untuk pertumbuhan tulang, pembentukan dan pergantian jaringan, pengaturan metabolisme dalam tubuh manusia, dan pengaturan gerak uratsyaraf (Sudarto, 1997). Kandungan mineralnya antara lain terdiri dari: kalsium (Ca), magnesium (Mg), potasium (K), sodium (Na), besi (Fe), zinc (Zn), dan kromium (Cr). Beberapa unsur vitamin dan mineral tersebut dapat berfungsi sebagai pembentuk antioksidan alami,



seperti vitamin C, vitamin E, vitamin A, magnesium, dan zinc. Antioksidan ini berguna untuk mencegah penuaan dini, serangan jantung, dan berbagai penyakit degeneratif (Astawan, 2006). Lidah buaya (*Aloe vera*) dilaporkan mengandung mono dan polisakarida, tannin, sterol-sterol, asam-asam organik, enzim, saponin, vitamin dan mineral (Newall, et al, 1998). Lidah buaya juga mengandung kompleks antrakuinon antara lain aloemodin, aloin, barbaloin. Zat lain terkandung di dalam lidah buaya yaitu zat saponin yang mempunyai kemampuan membersihkan dan bersifat antiseptik (Furnawanthi, 2007).

Sebuah penelitian *invitro* dalam bidang bioterapi molekuler di Amerika Serikat yang dilakukan tahun 1991, menemukan manosa yang terkandung dalam jel lidah buaya, manosa mampu menghambat pertumbuhan virus HIV 1–30% dan meningkatkan viabilitas sel terinfeksi. Menurut *Journal of the Amerika Pediatric Medical Association*, lidah buaya dapat membantu mencegah encok (rematik) dan mengurangi peradangan persendian. Penelitian dr. Bill Wolfe pada tahun 1969 membuktikan bahwa lidah buaya sangat efektif membunuh bakteri penyebab infeksi. *Journal of Alternatif Medicine* mempublikasikan efektifitas lidah buaya untuk mengatasi gangguan pencernaan. Kegunaan lainnya antara lain menurunkan kadar gula darah penderita diabetes, menghambat sel kanker, serta membantu penyembuhan luka,ambeien dan radang tenggorokan (Furnawanthi, 2007). Ekstrak lidah buaya (*Aloe vera*) mempunyai berbagai aktifitas anti bakteri antara lain terhadap *Staphylococcus aureus*, *Klebsilla pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis* (Furnawanthi, 2007).

## 2.5 Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) termasuk dalam family *Basellaceae* merupakan salah satu tanaman obat yang mempunyai potensi ke depan untuk diteliti, karena dari tanaman ini masih banyak yang perlu digali sebagai bahan fitofarmaka. Tanaman ini berasal dari Cina dengan nama asalnya adalah Dheng shan chi, dan menyebar ke Asia Tenggara. Di Vietnam tanaman ini merupakan suatu makanan wajib bagi masyarakat di sana. Di Indonesia tanaman ini dikenal sebagai gendola atau gapura yang melingkar di atas jalan taman. Namun tanaman ini belum banyak dikenal dalam masyarakat Indonesia (Manoi, 2009). Tanaman Binahong mempunyai klasifikasi sebagai berikut.

Divisio : Magnoliophyta  
Classis : Magnoliopsida  
Sub Classis : Caryophyllidae

Ordo : Caryophyllidae  
Familia : Basellaceae  
Genus : Anredera  
Species : *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis



Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) berupa tumbuhan menjalar, berumur panjang, bisa mencapai panjang lebih dari 6 m. Batang lunak, silindris, saling membelit, berwarna merah, bagian dalam solid, permukaan halus, kadang membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun dengan bentuk tak beraturan dan bertekstur kasar. Daun tunggal, bertangkai sangat pendek, tersusun berseling, berwarna hijau, bentuk jantung, panjang 5-10 cm, lebar 3-7 cm, helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal berlekuk, tepi rata, permukaan licin, bisa dimakan (Gambar 2.1). Bunga majemuk berbentuk tandan, bertangkai panjang, muncul di ketiak daun, mahkota berwarna krem keputih-putihan berjumlah lima helai tidak berlekatan, panjang helai mahkota 0,5-1 cm, berbau harum. Akar berbentuk rimpang dan berdaging lunak (Badan POM RI, 2008).

*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis ditemukan oleh Tenore dari materi yang dikumpulkan di Buenos Aires, Argentina dan awalnya diberi nama *Boussingaultia cordifolia* (Xifreda, et al., 2000). Tanaman ini asli tropis dan sub-tropis yang banyak tumbuh di area Amerika Selatan khususnya di Argentina, Bolivia, Brazil, Paraguay dan Uruguay. Dilaporkan bahwa spesies ini asli dari Paraguay, Selatan Brazil dan Utara Argentina, yang berlokasi di garis lintang 20-30°S. Hidup biasanya dengan rata-rata kisaran temperatur antara 20-30°C pada bulan Januari dan 10-30°C pada bulan Juli. Wilayah tempat hidupnya memiliki rata-rata curah hujan 500-2000 mm, terdiri dari beragam jenis vegetasi hutan, padang rumput, lahan pertanian dan semak belukar (Vivian-Smith et al., 2007)

Manfaat tanaman ini sangat besar dalam dunia pengobatan, secara empiris binahong dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Dalam pengobatan, bagian tanaman yang digunakan dapat berasal dari akar, batang, daun, dan bunga, maupun umbi yang menempel pada ketiak daun. Beberapa penyakit yang dapat disembuhkan dengan menggunakan tanaman ini adalah kerusakan ginjal, diabetes, pembengkakan jantung, muntah darah, tifus, stroke, wasir, rheumatik, pemulihan pasca operasi, pemulihan pasca melahirkan, menyembuhkan segala luka-luka dalam dan khitanan, radang usus, melancarkan dan menormalkan peredaran dan tekanan darah, sembelit, sesak napas, sariawan berat, pusing-pusing, sakit perut, menurunkan panas tinggi, menyuburkan kandungan, maag, asam urat, keputihan, pembengkakan hati, meningkatkan 8 vitalitas dan daya tahan tubuh (Manoi, 2009), serta sebagai antioksidan (Selawa et al., 2013), antibiotik, antivirus, dan antiinflamasi (Kurniawan & Aryan, 2015).

*Screening* efek antibakteri pada semua tanaman uji yang dilakukan oleh Garmana et al. (2014), ekstrak yang paling berpotensi adalah binahong yang dapat menghambat banyak bakteri. Binahong mempunyai efek antimikroba yang merupakan spektrum antimikroba yang luas sejak dapat menghambat bakteri Gram positif, Gram negatif, dan juga jamur. Penemuan ini menunjukkan ekstrak daun binahong bertindak sebagai bakteristatik dan hanya menghambat pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan studi akut dan sub kronik yang dilakukan oleh Salasanti et al. (2014), ekstrak etanol daun binahong menunjukkan tidak adanya tanda-tanda toksik (beracun) atau ketidaknormalan sehingga aman untuk digunakan dalam pengobatan.

Hasil uji fitokimia yang dilakukan Khunaifi (2010) ekstrak daun binahong mengandung senyawa polifenol, alkaloid, dan flavonoid. Jenis flavonoid yang diperoleh dari hasil isolasi dan identifikasi serbuk segar dan serbuk kering ekstrak etanol daun binahong adalah flavonol (Selawa, et al., 2013), serta mempunyai kapasitas sebagai antioksidan. Daun binahong mengandung flavonoid, saponin, dan steroid/triterpenoid (Garmana, et al., 2014). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Astuti et al. (2011), tanaman binahong mengandung saponin pada semua bagian tanaman, triterpenoid dan steroid, serta tanin (Andreani, 2011).

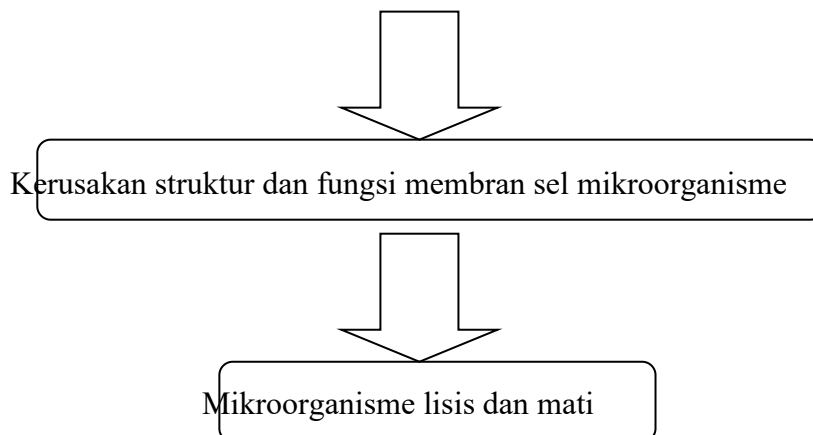
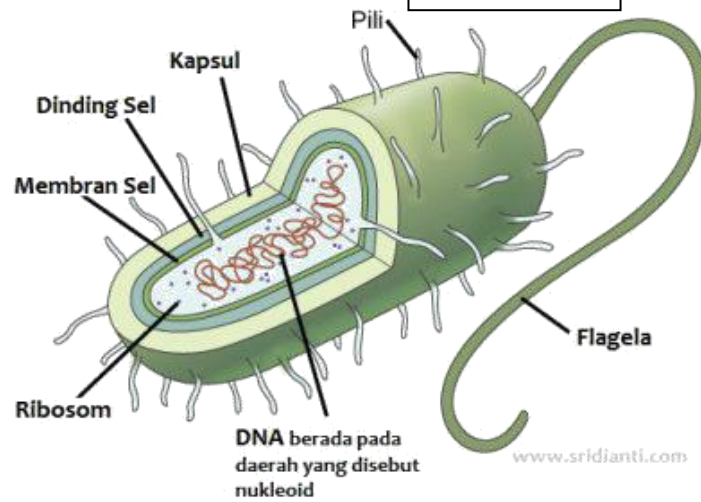
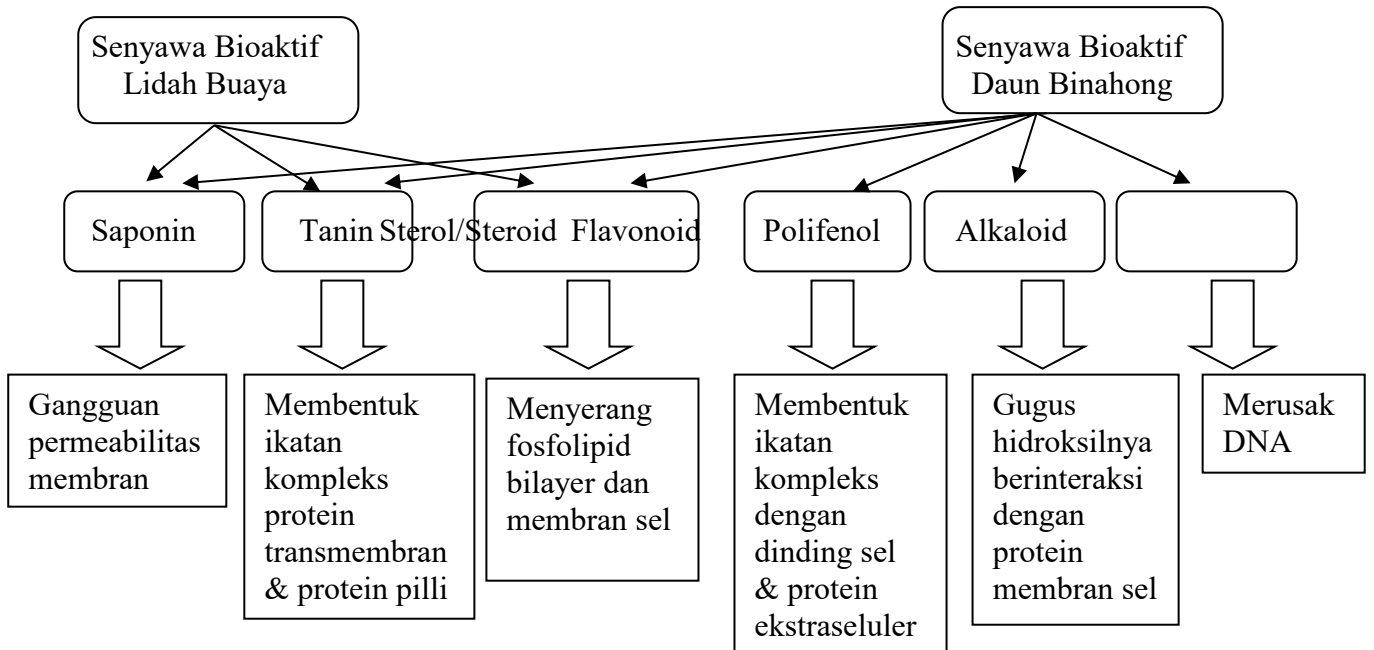
Daun binahong mengandung saponin, flavonoid, quinon, steroid, monoterpenoid dan sesquiterpenoid. Hasil penelitian isolasi triterpenoid saponin dari daun binahong dikenal sebagai *bousingosida A1* (Lemmens & Bunyaphatsara, 2003 dalam Sukandar et al. 2011). Titis et al. (2013) berhasil melakukan isolasi alkaloid daun binahong. Isolat alkaloid yang telah diisolasi dari daun binahong mengandung senyawa betanidin

(C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) yang bersifat tidak sitotoksik. Golongan senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa bioaktif dalam tanaman, sehingga diduga juga berpotensi sebagai antibakteri.

## 2.6 Analisis Mikrobiologi Di Laboratorium

Fardiaz (2004), analisis kuantitatif mikrobiologi pada bahan pangan sangat penting dilakukan untuk mengetahui mutu bahan pangan tersebut. Salah satu cara untuk mendeteksi atau menganalisis jumlah mikroba yang ada didalam makanan yaitu dengan cara uji *Total Plate Count* (TPC) di laboratorium. Pengujian *Total Plate Count* dimaksudkan untuk menunjukkan jumlah mikroba yang terdapat dalam suatu produk dengan cara menghitung koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media agar. Produk makanan dapat dikategorikan aman jika total koloni bakteri (*Total Plate Count*/TPC) tidak melebihi 1x10<sup>8</sup> *coloni formingunit* / per mL (CFU/ml) (SNI,2008). Beberapa cara dapat digunakan untuk menghitung atau mengukur jumlah mikroorganisme didalam suatu suspensi atau bahan, salah satunya yaitu perhitungan jumlah sel dengan metode hitung cawan. Prinsip dari metode ini adalah jika sel mikroba masih hidup dan tumbuh pada medium agar maka sel tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung tanpa menggunakan mikroskop. Cara pemupukan kultur dalam hitungan cawan yaitu dengan metode tuang (*pour plate*). Jika sudah didapatkan hasil jumlah koloninya, kemudian disesuaikan berdasarkan *Standard Plate Count* (SPC). Keberadaan *Escherichia coli* dalam pangan juga perlu diuji dengan metode Angka Paling Mungkin/ *Most Probable Number* (MPN), karena bakteri *E.coli* adalah bakteri yang mudah tumbuh dan merupakan petanda tolok ukur higienitas suatu makanan.

## 2.7 Kerangka Konsep Penelitian



**Keterangan:**

Senyawa bioaktif dalam lidah buaya dan daun binahong adalah saponin, tannin, sterol/steroid, flavonoid, polifenol dan alkaloid yang dapat kematian mikroorganisme melalui kerusakan struktur dan fungsi membran sel mikroorganisme. Mekanisme kerja senyawa bioaktif pada proses pengawetan makanan/minuman adalah sbb:

1. Menyebabkan gangguan permeabilitas membran
2. Membentuk ikatan kompleks protein transmembran dan protein pili
3. Menyerang fosfolipid bilayer dan membrane sel
4. Membentuk ikatan kompleks dengan dinding sel dan protein ekstraseluler
5. Terjadi interaksi gugus hidroksil polifenol dengan protein membrane sel
6. Terjadi kerusakan DNA

Jika mekanisme diatas terjadi pada mikroorganisme yang terdapat dalam makanan/minuman, akan berakibat lisisnya mikroorganisme sehingga makanan/minuman memiliki daya simpan yang lebih tinggi/lebih awet dan tidak mudah mengalami kerusakan.

## BAB 3

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini mempunyai rancangan eksperimental studi, dengan desain penelitian : studi komparasi

#### 3.2. Sampel Penelitian

Sampel : adalah makanan dan minuman yang dibuat dengan tambahan serbuk daun binahong dan gel lidah buaya dengan proporsi tertentu.

#### 3.3. Variabel Penelitian

**Variabel Bebas** : penambahan serbuk daun binahong dan gel lidah buaya dalam makanan dan minuman dengan komposisi tertentu sebagai pengawet

**Variabel Terikat** : total koloni bakteri (*Total Plate Count/TPC*)/Angka Lempeng Total (ALT) produk makanan dan minuman serta nilai MPN pada dan minuman

#### 3.4. Definisi operasional variabel

No	Nama Variabel	Definisi Operasional Variabel	Cara dan Hasil Pengukuran
1.	Penambahan serbuk daun binahong dan gel lidah buaya dalam makanan dan minuman dengan komposisi tertentu sebagai pengawet	Campuran serbuk daun binahong dan gel lidah buaya yang dihaluskan menggunakan blender dengan komposisi tertentu, yang	Komposisi serbuk daun binahong dan gel lidah buaya : a. 1:2 b. 2:1 c. 2:2

		ditambahkan pada proses pembuatan makanan dan minuman. Produk makanan dan minuman ini dengan waktu penyimpanan 1, 3, 5 hari pada suhu 18°C.	
2	Total koloni bakteri ( <i>Total Plate Count</i> /TPC)/Angka Lempeng Total (ALT) pada produk makanan dan minuman	Jumlah koloni yang tumbuh pada media padat ( <i>plate</i> ) yang berasal dari makanan dan minuman dengan waktu penyimpanan 1, 3, 5 hari pada suhu 18°C.	<i>ALT</i>
3	<i>Most Probable Number</i> (MPN) pada produk makanan dan minuman	Hasil pertumbuhan mikroorganisme terdapat dalam minuman dengan waktu penyimpanan 1, 3, 5 hari pada suhu 18°C, pada medium cair spesifik dalam seri tabung yang ditanam dari sampel padat atau cair sehingga dihasilkan kisaran jumlah mikroorganisme dalam jumlah perkiraan	APM/100 mL atau MPN/100 mL

### 3.5 Bahan dan Alat

#### 3.5.1 Bahan Kimia

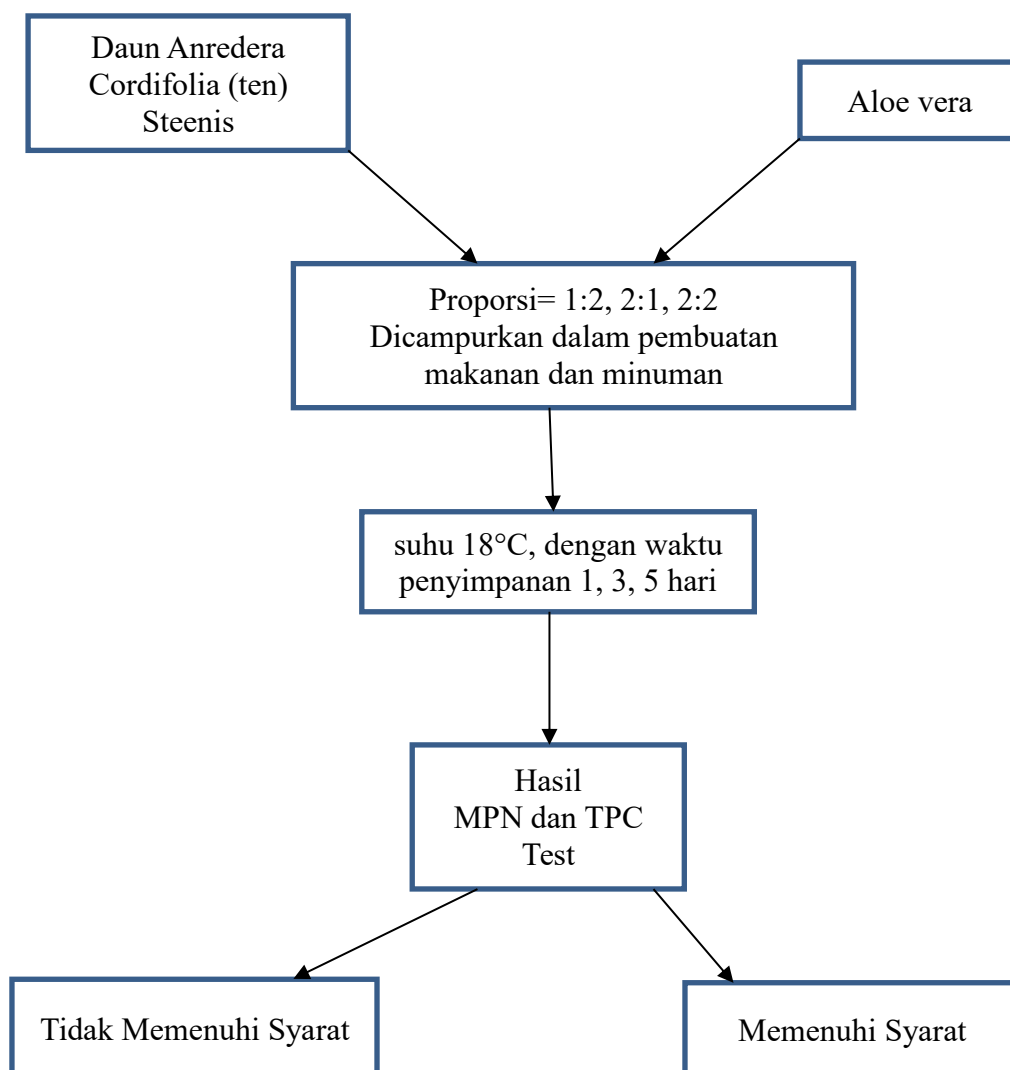


Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian : daun binahong, lidah buaya, blender, bahan –bahan untuk membuat makanan dan minuman, media *Lactose broth*, media *Brilian Green Lactose Broth*, *maximum recovery diluents*, media *Plate Count Agardan aquadest*.

### 3.5.2. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: *autoclave*, neraca, inkubator, cawan petri terbuat dari gelas atau plastic dengan diameter 90 mm, pipet dengan kapasitas 1 ml, water bath yang dapat beroperasi pada suhu 44°C-47°C, sendok steril, tabung atau botol dengan kapasitas maksimal 500 ml, stomacher, spiritus, *colony counter*, dan alat-alat gelas laboratorium,

### 3.6 Kerangka Operasional Penelitian



### 3.7. Prosedur pengambilan dan pengumpulan data

#### 3.7.1 Prosedur kerja pembuatan serbuk daun binahong

Alat dan bahan :

1. Penumbuk
2. Blender
3. Mangkuk
4. Daun binahong

Cara kerja :

1. Daun binahong dicuci dengan air lalu ditiriskan
2. Kemudian dimasukkan ke dalam oven, dan ditunggu sampai mengering
3. Daun binahong yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan penumbuk dan diletakkan pada 3 gelas ukur masing-masing dengan konsentrasi tertentu

### **3.7.2 Prosedur kerja pembuatan gel lidah buaya**

Alat dan bahan :

1. Blender
2. Pisau
3. Mangkuk
4. Saringan
5. Sendok
6. Lidah buaya
7. Garam
8. Air

Cara kerja :

1. Lidah buaya dikupas dan diambil gelnya saja
2. Gel lidah buaya direndam dalam air garam secukupnya dan ditunggu dengan estimasi waktu  $\pm 15$  menit
3. Gel lidah buaya yang telah direndam dengan air garam kemudian dicuci sampai bersih lalu dihaluskan dengan blender sampai menjadi cairan/gel, kemudian letakkan pada 3 gelas ukur masing-masing dengan konsentrasi tertentu

### **3.7.3 Prosedur kerja pembuatan formulasi serbuk binahong dan gel lidah buaya**

Alat dan bahan

1. Baskom kecil
2. Sendok
3. Serbuk daun Binahong

#### 4. Gel lidah buaya

##### Cara Kerja

1. Serbuk daun binahong dan gel lidah buaya yang telah dihaluskan diformulasi menjadi satu dengan komposisi 1:2; 2:1; 2:2
2. Formulasi tersebut dimasukkan ke dalam botol

### 3.7.4 Pembuatan Makanan Dan Minuman

Makanan yang akan dibuat berupa donat yang pada proses pembuatannya ditambahkan campuran serbuk daun binahong dan gel lidah buaya dengan komposisi 1:2; 2:1; 2:2 serta donat dengan resep asli tanpa tambahan campuran serbuk daun binahong dan gel lidah buaya. Donat akan disimpan dalam waktu dalam waktu 1, 3, 5 hari pada suhu 18°C, dengan pengamatan setiap hari.

Minuman berupa jus buah yang pada proses pembuatannya ditambahkan campuran serbuk daun binahong dan gel lidah buaya dengan komposisi 1:2; 2:1; 2:2 serta jus buah asli tanpa tambahan campuran serbuk daun binahong dan gel lidah buaya yang selanjutnya akan disimpan dalam waktu 1, 3, 5 hari pada suhu 18°C, dengan pengamatan setiap hari.

### 3.7.5 Analisis MPN

Metode MPN biasanya biasanya dilakukan untuk menghitung jumlah mikroba di dalam contoh yang berbentuk cair, meskipun dapat pula digunakan untuk contoh berbentuk padat. Pada analisis MPN dengan sampel bahan makanan/ minuman, dilakukan pengenceran secara desimal ( $10^{-1}$ ), kemudian masing-masing tabung dengan seri 3-3-3 dimasukkan 10 ml, 1 ml dan 0,1 ml ke dalam tabung yang berisi *Lactosa Broth* dan tabung Durham. Untuk setiap pengenceran digunakan 3 seri tabung. Setelah diinkubasi selama 2 x 24 jam dengan suhu 37°C, maka akan dapat dilihat tabung yang positif yaitu tabung yang ditumbuhi mikroba yang dapat ditandai dengan terbentuknya gas di dalam tabung Durham. Lalu diamati tabung yang terdapat gas/ gelembung dan berwarna keruh sehingga kombinasi tabung yang positif dari uji duga dan uji penegasan dapat dicocokkan dengan tabel MPN-seri 9 tabung (Sutedjo,1991).

Prosedur pengujian MPN Coliform sesuai Metode Analisis Mikrobiologi (MA PPOM 69/MIK/06) yaitu dengan cara menyiapkan dua tabung reaksi masing-masing berisi 9 ml PDF. Dari hasil homogenisasi pada penyiapan sampel dipipet 1 ml pengenceran  $10^{-1}$  ke dalam

tabung PDF pertama hingga diperoleh suspensi dengan pengenceran  $10^{-2}$  lalu dikocok sampai homogeny dan selanjutnya dibuat pengenceran  $10^{-3}$ . Ada dua tahap pengujian MPN *Coliform* yaitu : (BPOM RI, 2006)

### 1. Uji Praduga (*Presumptif Test*)

Untuk mendapatkan pengenceran disiapkan 3 tabung reaksi berisi 9 ml MCB yang dilengkapi tabung durham. Kedalam tiap tabung dari masing masing seri dimasukkan 1 ml suspensi pengenceran. Diiinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24-48 jam. Setelah 24 jam dicatat dan diamati adanya gas yang terbentuk dalam tiap tabung, kemudian inkubasi dilanjutkan hingga 48 jam dan dicatat tabung-tabung yang menunjukkan uji positif.

### 2. Uji Penegasan

Biakan dari tabung yang menunjukkan uji praduga positif dipindahkan 1 sengkeli ke dalam tabung reaksi berisi 10 ml BGLB yang telah dibungkus tabung durham. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24- 48jam. Dilakukan pengamatan adanya pembentukan gas. Hasil dari uji MPN *coliform* ini yaitu jumlah tabung yang positif gas dicatat dan dirujuk ke tabel MPN. Angka yang diperoleh pada table MPN menyatakan jumlah bakteri coliform dalam tiap gram/tiap ml sampel yang diuji (BPOM RI, 2006).

### 3.7.6 Metode Analisis TPC

1. 180 ml *diluents* dicampurkan dengan 20 gram sampel yang akan diuji ke dalam plastik steril, lakukan homogenisasi dengan stomacher selama minimal 30 detik (pengenceran  $10^{-1}$ ). 1 ml suspensi dari pengenceran sebelumnya, dimasukkan ke dalam tabung, lalu dicampurkan ke dalamnya *diluents* sebanyak 9 ml, lalu dikocok hingga merata (pengenceran  $10^{-2}$ ).
2. Dua cawan petri steril disiapkan dan diisi dengan sampel 1 ml (pengenceran  $10^{-1}$ ) dipindahkan dengan pipet steril ke dalam cawan. Pada cawan petri steril lainnya, dipindahkan 1 ml pengenceran  $10^{-2}$  dengan pipet steril lainnya.
3. Media *Plate Count Agar* dituangkan sebanyak 12 ml sampai 15 ml ( $44^{\circ}\text{C}$ - $47^{\circ}\text{C}$ ) ke dalam setiap cawan petri. Lama waktu antara akhir pembuatan suspensi awal (atau pengenceran  $10^{-1}$  jika produk cair) dan saat ketika media dituangkan ke cawan petri tidak akan boleh melebihi 45 menit. Campurkan inokulum dengan media dengan memutar cawan petri secara hati-hati dan biarkan campuran memadat dengan meninggalkan cawan Petri berdiri pada permukaan horizontal dingin.

4. Setelah pemadatan berakhir, apabila dicurigai bahwa produk yang diperiksa mengandung mikroorganisme dengan koloni yang akan banyak tumbuh di permukaan medium, tuangkan 4 ml medium (44°C-47°C) ke atas permukaan media yang telah diinokulasi dan media dibiarkan memadat.
5. Cawan petri dibalik dan tempatkan dalam inkubator pada  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  selama 72 jam  $\pm$  3 jam. Jangan menumpuk cawan petri lebih dari enam cawan. Tumpukan cawan petri harus dipisahkan dari satu sama lain dan dari dinding dan atas inkubator.
6. Setelah masa inkubasi yang ditentukan, banyaknya koloni dihitung pada cawan petri menggunakan peralatan *colony counting*, jika diperlukan. Periksa cawan petri di bawah cahaya terang. *Pinpoint* koloni harus dimasukkan dalam hitungan. Dalam proses perhitungan, analis harus menghindari kekeliruan menghitung partikel materi tidak larut atau mengendap di cawan petri sebagai koloni pinpoint. Periksa benda meragukan dengan hati-hati, dengan menggunakan perbesaran yang lebih tinggi untuk membedakan koloni dari benda asing.
7. Perhitungan koloni yang menyebar dianggap sebagai koloni tunggal. Jika kurang dari seperempat dari cawan petri ditumbuhi oleh koloni yang menyebar, hitung koloni pada bagian yang tidak terpengaruh dari cawan petri dan hitung jumlah yang sesuai dari seluruh cawan petri. Jika lebih dari seperempat yang ditumbuhi oleh koloni menyebar, tidak perlu dihitung. Jumlah maksimum total koloni untuk dihitung sebanyak 300 koloni per cawan petri.

Data hasil perhitungan dimasukkan ke dalam rumus  $N = \Sigma C / (V \times 1,1 \times d)$

$\Sigma C$  = jumlah koloni yang dihitung pada 2 cawan petri, dengan jumlah minimum per cawan 10 koloni

V = volume inokulum yang dimasukan ke dalam setiap cawan petri

D = pengenceran pertama yang dilakukan

### **3.8. Lokasi Penelitian**

Lokasi penelitian Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya dan Laboratorium Dinas Kesehatan Kota Surabaya. Waktu pelaksanaan penelitian : Mei s/d Oktober 2018.

### **3.9. Analisis Data**

Analisis data dilakukan secara deskriptif dan komparatif

### **3.10. Luaran**

Jika penelitian ini sudah selesai maka luaran yang direncanakan adalah

1. HKI
2. Publikasi internasional.

## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil pemeriksaan *Most Probable Number* (MPN) dari produk pangan yang disimpan selama 1, 3, 5 hari pada suhu 18°C

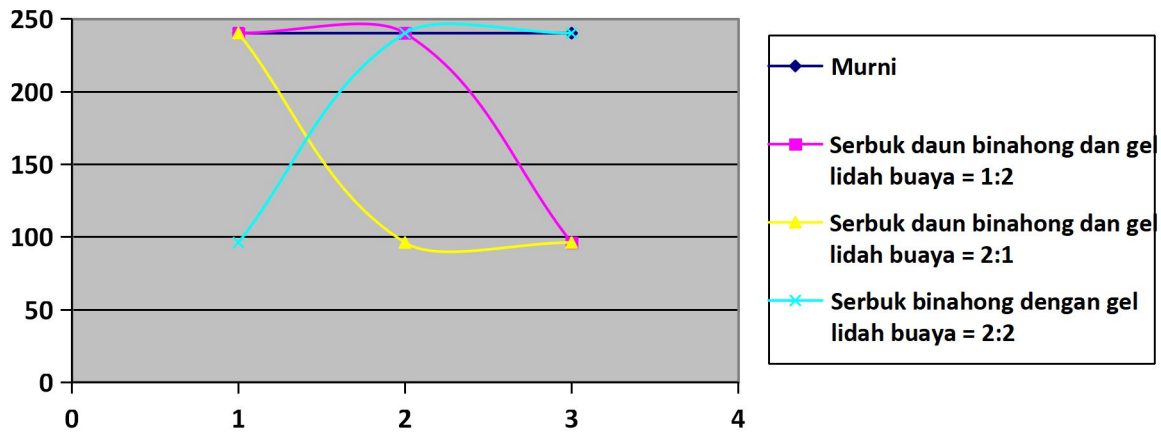
<b>Na ma Produk Pangan</b>	<b>Komposisi</b>	<b>Waktu penyimpanan</b>	<b>Hasil MPN</b>
Jus Buah Naga	Murni	1 hari	240
		3 hari	240
		5 hari	240
	Serbuk daun binahong dan gel lidah buaya = 1:2	1 hari	240
		3 hari	240
		5 hari	96
	Serbuk daun binahong dan gel lidah buaya = 2:1	1 hari	240
		3 hari	96
		5 hari	96
	Serbuk daun binahong dan gel lidah buaya = 2:2	1 hari	96
		3 hari	240
		5 hari	240

4.2 Hasil pemeriksaan *Total Plate Count* (TPC)/Angka Lempeng Total (ALT) dari produk pangan yang disimpan selama 1, 3, 5 hari pada suhu 18°C

<b>Nam a Produk Pangan</b>	<b>Komposisi</b>	<b>Waktu penyimpanan</b>	<b>Hasil MPN</b>
Donat	Murni	1 hari	6.760

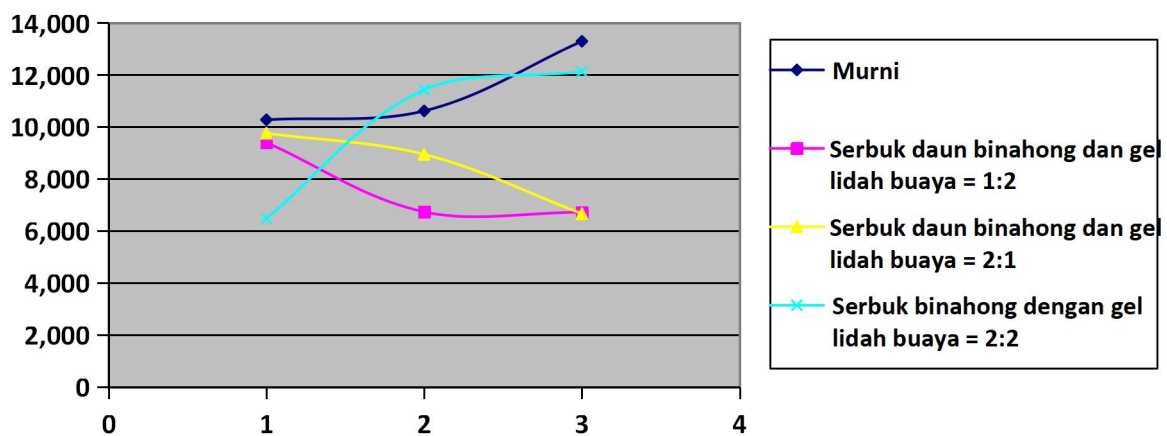
		3 hari	6.770
		5 hari	7.963
	Serbuk daun binahong dan gel lidah buaya = 1:2	1 hari	14.806
		3 hari	6.133
		5 hari	4.576
	Serbuk daun binahong dan gel lidah buaya = 2:1	1 hari	19.240
		3 hari	16.583
		5 hari	6.750
	Serbuk daun binahong dan gel lidah buaya = 2:2	1 hari	7.126
		3 hari	7.316
		5 hari	4.416
	Jus Buah Naga	Murni	1 hari
3 hari			10.613
5 hari			13.290
Serbuk daun binahong dan gel lidah buaya = 1:2		1 hari	9.396
		3 hari	6.733
		5 hari	6.716
Serbuk daun binahong dan gel lidah buaya = 2:1		1 hari	9.756
		3 hari	8.943
		5 hari	6.663
Serbuk daun binahong dan gel lidah buaya = 2:2		1 hari	6.483
		3 hari	11.426
		5 hari	12.126

Untuk menganalisis efektivitas penggunaan serbuk daun binahong dan gel lidah buaya sebagai pengawet herbal pada produk makanan, dapat dilihat tren jumlah bakteri terhadap waktu.



Gambar 4.1 Hasil pemeriksaan *Most Probable Number* (MPN) dari Jus buah naga yang disimpan selama 1, 3, 5 hari pada suhu 18°C

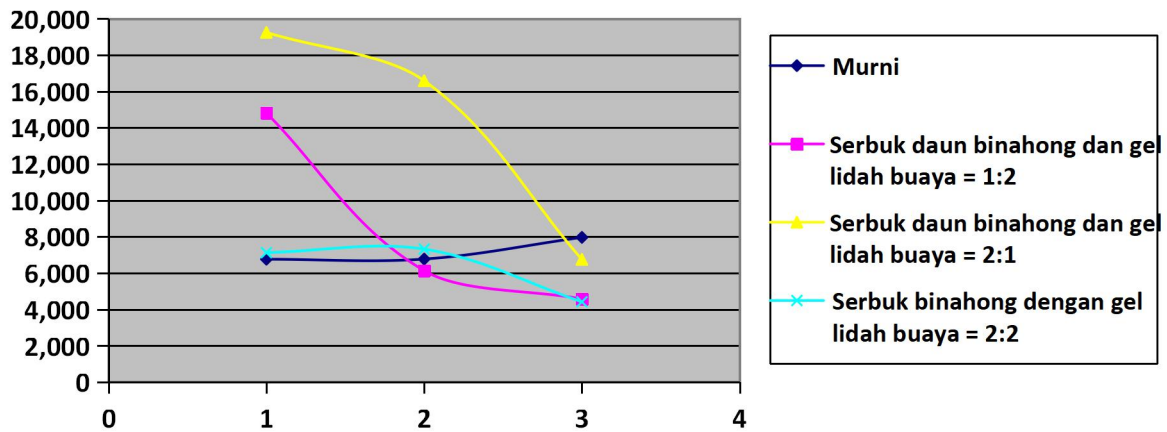
Pada gambar diatas terlihat hasil pemeriksaan pada kelompok Jus buah naga murni memiliki hasil MPN yang tidak memenuhi syarat, tetapi pada kelompok Jus buah naga yang mendapat tambahan serbuk daun binahong dan gel lidah buaya dengan komposisi 1:2 dan 2:1, efektif dalam menurunkan jumlah bakteri dalam produk makanan.



Gambar 4.2 Hasil pemeriksaan TPC/ALT dari Jus buah naga yang disimpan selama 1, 3, 5 hari pada suhu 18°C

Pada gambar diatas terlihat hasil pemeriksaan pada kelompok Jus buah naga murni memiliki hasil TPC/ALT yang tidak memenuhi syarat, tetapi pada kelompok Jus buah naga yang mendapat tambahan serbuk daun binahong dan gel lidah buaya dengan komposisi 1:2 dan 2:1, efektif dalam menurunkan jumlah bakteri dalam produk makanan.





Gambar 4.3 Hasil pemeriksaan TPC atau ALT dari donat yang disimpan selama 1, 3, 5 hari pada suhu 18°C

Pada gambar diatas terlihat hasil pemeriksaan pada kelompok donat murni memiliki hasil TPC/ALT yang memenuhi syarat, tetapi pada kelompok donat yang mendapat tambahan serbuk daun binahong dan gel lidah buaya dengan komposisi 1:2 dan 2:1, efektif dalam menurunkan jumlah bakteri dalam produk makanan, meski pada keadaan awal menunjukkan bahwa donat sudah dalam keadaan tidak higienis..

## 4.4. Pembahasan

### 4.4.1. Kerusakan dan Pengawetan Makanan

Suatu bahan rusak bila menunjukkan adanya penyimpangan yang melewati batas yang dapat diterima secara normal oleh panca indera atau parameter lain yang biasa digunakan. Sebagian besar bakteri mempunyai pertumbuhan antara 45–55°C dan disebut golongan bakteri thermofilik. Beberapa bakteri mempunyai suhu pertumbuhannya antara 20–45°C disebut golongan bakteri mesofilik, dan lainnya mempunyai suhu pertumbuhan dibawah 20°C disebut bakteri psikrofilik (Muchtadi, 1989).

Ada juga kerusakan pangan secara biologis yaitu kerusakan yang disebabkan karena kerusakan fisiologis, serangga dan binatang pengerat (rodentia). Kerusakan fisiologis meliputi kerusakan yang disebabkan oleh reaksi-reaksi metabolisme dalam bahan atau oleh enzim-enzim yang terdapat didalam bahan itu sendiri secara alami sehingga terjadi autolisis dan berakhir dengan kerusakan serta pembusukan. Contohnya daging akan membusuk oleh

proses autolisis, karena itu daging mudah rusak dan busuk bila disimpan pada suhu kamar. Keadaan serupa juga dialami pada beberapa buah-buahan.

Menurut Suter (2000), Hampir semua bahan pangan telah tercemar oleh mikroorganisme baik sedikit ataupun banyak. Mikroba biasanya berasal dari lingkungan sekitar yang kebanyakan merupakan mikroba pembusuk, selain itu, mikroba dapat berasal dari hasil olahan suatu bahan pangan serta pada kondisi tertentu saat penyimpanan. Penyebab terjadinya kerusakan pada makanan kadaluarsa akibat pelepasan pada makanan dan tidak berfungsinya lagi bahan pengawet pada makanan, serta dapat terjadi karena reaksi-reaksi zat kimia beracun yang terkandung pada makanan dalam jenjang waktu tertentu (Rustini, 2010).

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 033 Tahun 2012 tentang Bahan Tambahan Pangan, bahan pengawet pangan merupakan bahan tambahan pangan untuk mencegah atau menghambat fermentasi, pengasaman, penguraian, dan penguraian lainnya terhadap pangan yang disebabkan oleh mikroorganisme. Bahan pengawet dan antioksidan alami, hampir terdapat pada semua tumbuh-tumbuhan dan buah-buahan tersebar di seluruh tanah air (Barus, 2009). Secara tradisional masyarakat telah menggunakan bahan-bahan tumbuhan untuk mengawetkan bahan pangan.

Banyak pengawet makanan alami yang sudah digunakan untuk mengawetkan makanan seperti : nira kelapa, aren maupun lontar, mereka biasanya menggunakan bahan-bahan tumbuhan seperti: daun manggis, kulit buah manggis, daun manggis hutan, daun jambu biji, daun jambu mete dan kayu nangka. Bahan-bahan tumbuhan ini ternyata dapat menghambat proses kerusakan nira selama proses penyadapan, sehingga diperoleh nira yang lebih baik. Bumbu makanan seperti kunyit, bawang putih, lengkuas, sereh dan lain-lain digunakan oleh masyarakat untuk mengawetkan makanan seperti dendeng. Bahan-bahan tersebut setelah diteliti ternyata mengandung berbagai senyawa bioaktif yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba. Kunir digunakan untuk menghambat ketengikan minyak kelapa. Pada kunyit telah ditemukan senyawa yang mempunyai sifat sebagai antioksidan yaitu kurkuminoid (Putra, 2014). Sampai saat ini penggunaannya sebagai pengawet pangan masih belum dieksploitasi secara optimal sebagai zat antimikroba alternatif. Tumbuhan dapat mensintesa berbagai jenis senyawa bioaktif yang dapat berperan sebagai anti mikroba, seperti senyawa fenol dan turunannya, terpena dan terpenoid, alkaloid, polipeptida dan steroid (Putra, 2014).

Bawang mempunyai kandungan senyawa antibakteri dan antifungal seperti allisin dan tiosulfonat. Hasil penelitian terhadap ekstrak minyak esensial dari bawang (hijau, kuning, dan merah) serta bawang putih yang dilakukan oleh Benkeblia N., 2004

menunjukkan bahwa ekstrak bawang dah bawang putih tersebut memiliki aktivitas antibakteri terhadap dua bakteri yaitu, *Staphylococcus aureus*, *Salmomella Enteritidis*, dan tiga fungi yaitu, *Aspergillus niger*, *Penicillium cyclopium* dan *Fusarium oxysporum*. Bawang putih yang paling tinggi daya hambatnya dan bawang hijau yang aktivitas antimikrobanya.

Komponen yang terkandung dalam lidah buaya sebagian besar adalah air yang mencapai 99,5% dengan total padatan terlarut hanya 0,49%, lemak 0,067%, karbohidrat 0,043%, protein 0,038%, vitamin A4,594 IU, dan vitamin C 3,476 mg (Furnawanthi, 2007). Lidah buaya mempunyai kandungan zat gizi yang diperlukan tubuh dengan cukup lengkap, yaitu vitamin A, B1, B2, B3, B12, C, E, kolin, inositol dan asam folat (Astawan, 2006). Zat-zat ini sangat berguna untuk pertumbuhan tulang, pembentukan dan pergantian jaringan, pengaturan metabolisme dalam tubuh manusia, dan pengaturan gerak urat syaraf (Sudarto, 1997). Kandungan mineralnya antara lain terdiri dari: kalsium (Ca), magnesium (Mg), potasium (K), sodium (Na), besi (Fe), zinc (Zn), dan kromium (Cr). Beberapa unsur vitamin dan mineral tersebut dapat berfungsi sebagai pembentuk antioksidan alami, seperti vitamin C, vitamin E, vitamin A, magnesium, dan zinc. Antioksidan ini berguna untuk mencegah penuaan dini, serangan jantung, dan berbagai penyakit degeneratif (Astawan, 2006). Lidah buaya (*Aloe vera*) dilaporkan mengandung mono dan polisakarida, tannin, sterol-sterol, asam-asam organik, enzim, saponin, vitamin dan mineral (Newall, et al., 1998). Lidah buaya juga mengandung kompleks antrakuinon antara lain aloe emodin, aloin, barbaloin. Zat lain terkandung di dalam lidah buaya yaitu zat saponin yang mempunyai kemampuan membersihkan dan bersifat antiseptik (Furnawanthi, 2007).

Selain Lidah Buaya ada tanaman lain bermanfaat dalam dunia medis yaitu Binahong. Manfaat tanaman ini sangat besar dalam dunia pengobatan, secara empiris binahong dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Dalam pengobatan, bagian tanaman yang digunakan dapat berasal dari akar, batang, daun, dan bunga, maupun umbi yang menempel pada ketiak daun. Beberapa penyakit yang dapat disembuhkan dengan menggunakan tanaman ini adalah kerusakan ginjal, diabetes, pembengkakan jantung, muntah darah, tifus, stroke, wasir, reumatik, pemulihan pasca operasi, pemulihan pasca melahirkan, menyembuhkan segala luka-luka dalam dan khitanan, radang usus, melancarkan dan menormalkan peredaran dan tekanan darah, sembelit, sesak napas, sariawan berat, pusing-pusing, sakit perut, menurunkan panas tinggi, menyuburkan kandungan, maag, asam urat, keputihan, pembengkakan hati, meningkatkan vitalitas dan daya tahan tubuh (Manoi, 2009), serta sebagai antioksidan (Selawa et al., 2013), antibiotik, antivirus, dan antiinflamasi (Kurniawan & Aryan, 2015).

Daun binahong mengandung saponin, flavonoid, quinon, steroid, monoterpenoid dan sesquiterpenoid. Hasil penelitian isolasi triterpenoid saponin dari daun binahong dikenal sebagai *bousingosida* A1 (Lemmens & Bunyapraphatsara, 2003 dalam Sukandar et al. 2011). Titis et al. (2013) berhasil melakukan isolasi alkaloid daun binahong. Isolat alkaloid yang telah diisolasi dari daun binahong mengandung senyawa betanidin ( $C_{18}H_{16}N_2O_8$ ) yang bersifat tidak sitotoksik. Golongan senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa bioaktif dalam tanaman, sehingga diduga juga berpotensi sebagai antibakteri.

#### 4.4.2. Analisis Mikrobiologi Di Laboratorium

Fardiaz (2004), analisis kuantitatif mikrobiologi pada bahan pangan sangat penting dilakukan untuk mengetahui mutu bahan pangan tersebut. Salah satu cara untuk mendeteksi atau menganalisis jumlah mikroba yang ada didalam makanan yaitu dengan cara uji *Total Plate Count* (TPC) di laboratorium. Pengujian *Total Plate Count* dimaksudkan untuk menunjukkan jumlah mikroba yang terdapat dalam suatu produk dengan cara menghitung koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media agar. Produk makanan dapat dikategorikan aman jika total koloni bakteri (*Total Plate Count*/TPC) tidak melebihi  $1 \times 10^8$  *coloni forming unit* / per mL (CFU/ml) (SNI, 2008). Keberadaan *Escherichia coli* dalam pangan juga perlu diuji dengan metode Angka Paling Mungkin/ *Most Probable Number* (MPN), karena bakteri *E. coli* adalah bakteri yang mudah tumbuh dan merupakan petanda tolok ukur higienitas suatu makanan.

Metode MPN dan TPC peneliti gunakan sebagai metode dalam penelitian potensi formula binahong dan aloe vera dalam pangan sebagai penghambat pertumbuhan mikroorganisme.

#### 4.4.3. Hasil Analisis Uji Statistik

Berikut ini adalah hasil Uji Statistik dari data yang diperoleh dari pemeriksaan laboratorium :

#### 4.4.4. Hasil Uji Oneway Anova Hasil MPN Pada Jus Buah Naga

##### ANOVA

Hasil.MPN.Jus.Buah.Naga

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13824,000	3	4608,000	,889	.487
Within Groups	41472,000	8	5184,000		
Total	55296,000	11			

Berdasarkan hasil pengujian anova pada tabel diatas dapat diketahui bahwa nilai signifikansi atau p-value pada tabel diatas adalah  $0,487 > 0,05$  sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara kelompok treatment.

**Descriptives**

**Hasil.MPN.Jus.Buah.Naga**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Murni	3	240,0000	,00000	240,00	240,00
1:2	3	192,0000	83,13844	96,00	240,00
2:1	3	144,0000	83,13844	96,00	240,00
2:2	3	192,0000	83,13844	96,00	240,00
Total	12	192,0000	70,90070	96,00	240,00

Namun meski menurut pengujian statistik tidak signifikan tetapi apabila dilihat pada rata-ratanya ada perbedaan antara treatment satu dengan lainnya, dimana nilai rata-rata tertinggi adalah pada kelompok murni dan nilai rata-rata terendah adalah pada kelompok konsentrasi 2 :1.

**4.4.5. Hasil Uji Oneway Anova Hasil TPC Pada Donat**

**ANOVA**

**Hasil.TPC.Donat**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	113764862,250	3	37921620,750	1,975	,196
Within Groups	153568824,667	8	19196103,083		
Total	267333686,917	11			

Berdasarkan hasil pengujian anova pada tabel diatas dapat diketahui bahwa nilai signifikansi atau p-value pada tabel diatas adalah  $0,196 > 0,05$  sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara kelompok treatment.

**Descriptives**

**Hasil.TPC.Donat**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Murni	3	7164,3333	691,68369	6760,00	7963,00
1:2	3	8505,0000	5512,07883	4576,00	14806,00
2:1	3	14191,0000	6579,61040	6750,00	19240,00
2:2	3	6286,0000	1622,25152	4416,00	7316,00
Total	12	9036,5833		4416,00	19240,00

Namun meski menurut pengujian statistic tidak signifikan tetapi apabila dilihat pada rata-ratanya ada perbedaan antara treatment satu dengan lainnya, dimana nilai rata-rata tertinggi adalah pada kelompok konsentrasi 2:1 dan nilai rata-rata terendah adalah pada kelompok.konsentrasi 2 :2

**4.4.6.Hasil Uji Oneway Anova Hasil TPC Pada Jus Buah Naga**

**ANOVA**

**Hasil.TPC.Jus.Buah.Naga**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups					
Within Groups					
Total					

## BAB 5

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. Kesimpulan

1. Hasil laboratorium pemeriksaan *Most Probable Number* (MPN) Jus Buah Naga dari produk pangan yang disimpan selama 1, 3, 5 hari pada suhu 18°C dengan tambahan serbuk daun binahong dan gel lidah buaya dengan komposisi 1:2 dan 2:1 efektif dapat menurunkan jumlah bakteri dalam produk makanan. Meskipun menurut hasil pengujian statistik anova tidak signifikan atau  $p\text{-value } 0,478 > 0,05$ . Tapi kalau dilihat pada rata-ratanya ada perbedaan antara treatment satu dengan lainnya, dimana nilai rata-rata tertinggi adalah pada kelompok murni dan nilai rata-rata terendah adalah pada kelompok konsentrasi 2 :1.
2. Hasil laboratorium pemeriksaan *Total Plate Count ALT* (TPC ALT) Jus Buah Naga dari produk pangan yang disimpan selama 1, 3,5 hari pada suhu 18°C dengan tambahan serbuk daun binahong dan gel lidah buaya dengan komposisi 1:2 dan 2:1 efektif dalam menurunkan jumlah bakteri pada produk makanan. Meskipun menurut hasil pengujian statistik anova tidak signifikan atau  $p\text{-value } 0,478 > 0,05$ . Tetapi apabila dilihat pada rata-ratanya ada perbedaan antara treatment satu dengan lainnya, dimana nilai rata-rata tertinggi adalah pada kelompok konsentrasi 2 :1 dan nilai rata-rata terendah adalah pada kelompok.konsentrasi 2 :2
3. Hasil laboratorium pemeriksaan *Total Plate Count ALT* (TPC ALT) dari Donat pada produk pangan yang disimpan selama 1, 3, 5 hari pada suhu 18°C dengan tambahan serbuk daun binahong dan gel lidah buaya dengan komposisi 1:2 dan 2:1 efektif dalam menurunkan jumlah bakteri dalam produk makanan, meski pada keadaan awal menunjukkan bahwa donat sudah dalam keadaan tidak higienis. Meskipun menurut hasil pengujian statistik anova tidak signifikan atau  $p\text{-value } 0,478 > 0,05$ . Tetapi apabila dilihat pada rata-ratanya ada perbedaan antara treatment satu dengan lainnya, dimana nilai rata-rata tertinggi adalah pada kelompok murni dan nilai rata-rata terendah adalah pada kelompok.konsentrasi 1 :2

#### 5.2. Saran

1. Membuat produk olahan yang menggunakan pengawet yang terbuat dari serbuk daun binahong dan gel lidah buaya dengan komposisi 1:2 dan 2:1 dengan lebih higienes untuk mendapatkan hasil yang lebih memenuhi syarat
2. Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk pengabdian masyarakat dalam rangka Tri Darma Perguruan Tinggi

## DAFTAR PUSTAKA

- Afrianti, L.H. 2010. *Pengawet Makanan Alami dan Sintetis*. Alfabeta, Bandung
- Andreani dan Rizky D . 2011. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 70% Daun Binahong. (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) Terhadap Bakteri *Shigella flexneri*. Dan Skrining Fitokimianya . *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Ahmad. Dahlan. Yogyakarta
- Astuti S.M., Mimi S .A.M., Retno A.B.M., dan Awalludin R, 2011, Determination of Saponin Compound from *Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis Plant. (Binahong) to Potential Treatment for Several Diseases, *Journal of Agricultural Science*, 3(4) : 228
- Black, J.G. 2005. *Microbiology Principles and Explorations*. John Wiley and Sons, Inc., Arlington
- Cahyadi, Wisnu. 2006. Analisis & Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. Bumi Aksara, Jakarta
- Cowan, M.M. 1999. Plant product as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.*, 12 (4): 564-582.
- Faparusi, S.I. and O. Bassir. 1972. Effect of extracts of the bark of *Saccoglottis gabonensis* on the microflora of palm wine. *Appl. Microbiol.* 24 (6) : 853-856.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Furnawanthi, I., 2007, *Khasiat dan Manfaat Lidah Buaya Si Tanaman Ajaib*, Ed.8,. Jakarta Selatan: PT. AgroMedia Pustaka, Hal. 1-29
- Garmana, A.N., E.Y. Sukandar & I. Fidrianny. 2014. Activity of Several Plant Extract against Drug Sensitive and Drug-Resistant Microbes. International Seminar on Natural Product Medicines, *Procedia Chemistry*, (13): 164-169
- Hill, R.A. 1993. *Terpenoids*, p. 106-139. In R.H. Thompson (ed.), *The Chemistry of Natural Products*. Blackie Academic and Professional, London.
- Jayani, S.N dan W.J. Pudjihardjo. 2013. Faktor Penyebab Stagnant dan Stockout Bahan Makanan Kering di Instalasi Gizi RSUD Bhakti Dharma Husada Surabaya. *Jurnal Administrasi Kesehatan Indonesia* (1): 280-290
- Khunaifi, M. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas*

aeruginosa. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

- Kurniawan, B. & W.F. Aryana. 2015. Binahong (*Cassia alata* L) as Inhibitor *Escherichia coli* Growth, *J Majority*, 4(4): 100-104
- Lin, Y.T., R.G. Labbe, and K. Shetty. 2004. Inhibition of *Listeria monocytogenes* in Fish and Meat Systems by Use of Oregano and Cranberry Phytochemical Synergies. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70 (9): 5672-5678.
- Manoi, F. 2009. Binahong (*Anredera cordifolia*) Sebagai Obat. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*, 15(1): 3-5
- Mau, J.L., C.P. Chen and P.C. Hsieh. 2001. Antimicrobial effect of extracts from Chinese chive, cinnamon, and corni fructus. *J. Agric. Food Chem.*, 49: 183-188.
- Rima AT , Ekawati Purwijantiningsih , Sinung Pranata, 2017, Kemampuan Dekok Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Untuk Memperpanjang Masa Simpan Tahu Putih, *skripsi*, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta
- Rustini, N.L. 2010. Aktivitas Jamur Penyebab Busuk. Jakarta: Erlangga
- Salasanti, C. D., E. Y. Sukandar, I. Fidrianny. 2014. Acute and Sub Chronic Toxicity Study of Ethanol Extract of *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis Leaves. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(5) : 348 – 352
- Sastaviyana, Mela S. 2013. Analisis Boraks Dalam Bakso Daging Sapi A dan B Di Daerah Tenggilis Mejoyo Surabaya Menggunakan Spektrofotometri. Surabaya : *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*
- Muchtadi., Tien R., (1989), *Teknologi Proses Pengolahan Pangan*, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor
- Selawa Widya, Max Revolta John Runtuwene, Gayatri Citraningtyas, 2013, Kandungan Flavonoid Dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong [*Anredera cordifolia*(Ten.)Steenis.], *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi* 2(1): 18-22
- Smith J., B. dan Mangkoewidjojo, S, 1988, *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Universitas Indonesia, Jakarta



- Subhadhirasakul, S. and Pechpongs, P. 2005. A terpenoid and two steroids from the flowers of *Mammea siamensis*. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 27 (2): 555-561
- Suhariyadi, Setianingrum, R., Prastyo, F.A., Christyaningsih, J. , 2015, Survey on the use of borax, magenta and metanyl yellow in food samples procured from State Elementary Schools of Surabaya City, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 6 (1):1587-1592
- Sukandar, E. Y., I. Fidrianny, & I. F. Adiwibowo. 2011. Efficacy of Ethanol Extract of *Anredera cordifolia* (Ten) Steenis Leaves on Improving Kidney Failure in Rats. *International Journal of Pharmacology*, 7(8) : 850 – 855
- Sultan, Pramutia dkk. 2013. *Analisis Kandungan Zat Pengawet Boraks Pada Jajanan Bakso di Sekolah Dasar Negeri Kompleks Mangkura Kota Makassar*. Makassar: Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Hasanuddin Makassar
- Suter, I.K. 2000. *Kajian Aplikasi Teknologi Pangan dalam Upaya Menghasilkan Produk Bermutu*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press
- Tajkarimi, M.M., S.A. Ibrahim & D.O. Cliver. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food - review. *Food Cont.* 21: 1199-1218.
- Titis, Muhammad, Enny Fachriyah, dan Dewi Kusriani. 2013. “ Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Chem Info* 1(1):200
- Triastuti, Endang dkk.2013. *Analisis Boraks Pada Tahu yang Diproduksi di Kota Manado*. Manado : Fakultas MIPA Universitas Samratulangi Manado
- Tumbel, Maria. 2010. Analisis Kandungan Boraks Dalam Mie Basah yang Beredar di Kota Makassar. Makassar : *Jurnal Chemical* Vol. 11
- Vivian-Smith, G., B.E. Lawson, I. Turnbull, & P. O. Downey. 2007. The Biology of Australian Weeds 46. *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. Article in *Plant Protection Quarterly*, 22(1).
- Wariyah C, Sri Hartati Candra Dewi, 2013, Penggunaan Pengawet Dan Pemanis Buatan Pada Pangan Jajanan Anak Sekolah (PJAS) Di Wilayah Kabupaten Kulon Progo-DIY , *skripsi*, Universitas Mercu Buana Yogyakarta

Xifreda, C. C., S. Argimon, & A. F. Wulff. 2000. Intraspecific Characterization and Chromosome numbers in *Anredera cordifolia* (Basellaceae). *Thaiszia Journal of Botany*, 9 : 99 – 108

.

#### **.Lampiran 1.**

### **SARANA DAN PRASARANA PENELITIAN**

Sarana dan prasarana utama yang diperlukan dalam penelitian ini adalah :

1. Pembuatan produk pangan dengan di Jurusan Gizi Poltekkes Kemenkes Surabaya.
2. Analisis MPN dan TPC dilakukan di Laboratorium Dinas Kesehatan Kota Surabaya

**Lampiran 2.**

**SUSUNAN ORGANISASI TIM PENELITI**

<b>No</b>	<b>Nama Lengkap &amp; Gelar/NIP</b>	<b>Instansi Asal</b>	<b>Bidang Ilmu</b>	<b>Alokasi waktu (Jam/minggu)</b>
1	Mujayanto, SKM., MPH 197201142000031004	Poltekkes Kemenkes Surabaya	Gizi	8 jam/minggu
2	Dr. Juliana Christyaningsih, Ir., M.Kes 196807011988032001	Poltekkes Kemenkes Surabaya	Biokimia	8 jam/minggu

<b>No</b>	<b>Nama Mahasiswa</b>	<b>NIM</b>	<b>Institusi Asal</b>
1	Rizka Ayu Bella Septiana	P27835117059	Jurusan Gizi
2	Sitta Elen Nuraningtyas	P27835117073	Jurusan Gizi
3	Rahmi Riskiyanti P	P27835117054	Jurusan Gizi
4	Wanidya Dwi Nur Utami	P27835116027	Jurusan Gizi
5	Inka Febriana	P27835116038	Jurusan Gizi

### Lampiran 3.

## SURAT PERNYATAAN KETUA PENELITI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mujayanto, S.KM, M.PH  
NIP / NIDN : 19720114 200003 1 004  
Pangkat / Golongan : Penata Tingkat 1 / III D  
Jabatan Fungsional : Instruktur / Dosen

Dengan ini menyatakan bahwa proposal penelitian saya dengan judul “Potensi Formula *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis dan *Aloe vera* dalam Pangan Sebagai Penghambat Pertumbuhan Mikroorganisme dengan *Metode MPN* dan *TPC Test*” yang diusulkan dalam penelitian **Mandiri** untuk tahun anggaran 2018 **merupakan hasil karya sendiri dan benar keasliannya**. Apabila ternyata dikemudian hari, penelitian ini merupakan hasil plagiat atau penjiplakan atas karya orang lain, maka saya bersedia bertanggung jawab sekaligus menerima sanksi.

Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tidak dipaksakan.

Surabaya, 4 Agustus 2018

Mengetahui,  
Ketua Unit Penelitian Poltekkes

Yang menyatakan,

Setiawan, S.KM., M.Psi  
NIP 196304211985031005

Mujayanto, SKM, MPH  
NIP 197201142000031004

Mengesahkan  
Direktur Poltekkes Kemenkes Surabaya

Drg. Bambang Hadi Sugito, M.Kes  
NIP 196204291993031002