

Karakteristik Fisik Dan Uji Mikrobiologi Serta Skrining Fitokimia Loloh Kombinasi Daun Jempiring, Daun Pegagan, Daun Katuk, Dan Air Kelapa

Physical Characteristics, Microbiological Evaluation, and Phytochemical Screening of Loloh Formulated from Jempiring, Pegagan, Katuk Leaves, and Coconut Water

Ni Made Puspawati^{a,1*}, Dwi Arymbhi Sanjaya^{a,2}, Ni Nyoman Yudianti Mendra^{a,3}

^a Fakultas Farmasi Universitas Mahasaraswati Denpasar, Jalan Kamboja No. 11a Denpasar, 80233 Indonesia

¹konickpuspa@gmail.com; ²arymbhi@unmas.ac.id; ³yudiantimendra@unmas.ac.id

* Corresponding author

Abstrak

Loloh adalah minuman herbal tradisional yang diproduksi secara khusus oleh masyarakat Bali untuk mencegah dan menyembuhkan berbagai macam penyakit. Salah satu contoh loloh yang dimanfaatkan untuk menjaga kesehatan dapat dibuat dari campuran daun jempiring (*Gardenia jasminoides*), daun pegagan (*Centella asiatica*), daun katuk (*Breynia androgyna*), dan air kelapa (*Cocos nucifera*). Salah satu tantangan utama dalam produksi loloh adalah risiko kontaminasi oleh mikroorganisme. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji karakteristik fisik, profil kandungan senyawa bioaktif, serta kualitas mikrobiologis dari loloh yang diformulasikan menggunakan campuran daun jempiring (*G.jasminoides*), daun pegagan (*C.asiatica*), daun katuk (*B.androgyna*), dan air kelapa (*C.nucifera*). Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan pendekatan deskriptif. Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah karakteristik fisik meliputi organoleptis (warna, bentuk, aroma) dan pH, uji mikrobiologi meliputi angka lempeng total (ALT) dan angka kapang dan khamir (AKK), serta skrining fitokimia dari sediaan loloh. Sampel pada penelitian ini adalah loloh yang sudah dikemas dalam botol kemasan 250ml. Sebanyak 6 botol loloh berukuran 250 ml digunakan dalam penelitian ini dimana lima botol loloh digunakan untuk uji mikrobiologi dan 1 botol untuk skrining fitokimia. Loloh daun jempiring, daun pegagan, daun katuk, dan air kelapa yang dihasilkan berwarna coklat dan memiliki bau yang khas dengan pH 6. Kelima sampel loloh tersebut memiliki cemaran mikroba yang melampaui batas maksimum yaitu 10^6 koloni/g untuk ALT dan 10^4 koloni/g untuk AKK. Golongan senyawa yang terkandung dalam loloh daun jempiring, daun pegagan, daun katuk, dan air kelapa yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Dapat disimpulkan bahwa loloh kaya akan senyawa bioaktif, namun aspek higienis dan keamanan mikrobiologis perlu diperhatikan terutama dalam proses produksi dan pengemasan.

Kata Kunci: Angka lempeng total (ALT), Angka kapang khamir (AKK), loloh, mutu fisik, skrining fitokimia.

Abstract

Loloh is a traditional herbal beverage specifically produced by the Balinese community to prevent and treat various ailments. One example of loloh used for health maintenance can be formulated from a mixture of jempiring leaves (*Gardenia jasminoides*), pegagan leaves (*Centella asiatica*), katuk leaves (*Breynia androgyna*), and coconut water (*Cocos nucifera*). A major challenge in loloh production is the risk of microbial contamination. This study aims to examine the physical characteristics, bioactive compound profile, and microbiological quality of loloh formulated from a combination of jempiring leaves (*G. jasminoides*), pegagan leaves (*C. asiatica*), katuk leaves (*B. androgyna*), and coconut water (*C. nucifera*). The research employed an experimental design with a descriptive approach. Observed variables included organoleptic characteristics (color, form, odor), pH, microbiological parameters including total plate count (TPC) and yeast and mold count (YMC), and phytochemical screening of the loloh preparation. The samples used in this study were loloh packaged in 250 ml bottles. A total of six bottles were used, with five allocated for microbiological testing and one for phytochemical screening. The resulting loloh exhibited a brown color, a distinctive odor, and a pH of 6. All five microbiological samples showed microbial contamination exceeding the permissible limits, with TPC values surpassing 10^6 CFU/g and YMC values exceeding 10^4 CFU/g. Phytochemical screening revealed the presence of alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, and steroids. It can be concluded that loloh is rich in bioactive compounds; however, hygienic practices and microbiological safety must be carefully considered, particularly during production and packaging processes.

Keywords: loloh traditional beverage, physical evaluation, phytochemical screening, Total plate count (TPC), Yeast and mold count (YMC)

¹ email korespondensi : konickpuspa@gmail.com

PENDAHULUAN

Pengobatan modern telah berkembang hingga ke daerah terpencil, namun penggunaan tumbuhan sebagai obat masih tetap diminati masyarakat karena tumbuhan obat pada umumnya mudah didapatkan di lingkungan sekitar. Pada daerah yang terisolir, pemanfaatan lingkungan terutama tumbuhan untuk pemenuhan kebutuhan kesehatan seperti untuk obat-obatan tradisional masih sangat tinggi. Salah satu contoh pemanfaatan tanaman obat di daerah Bali, yang sering dikonsumsi adalah minuman loloh.

Loloh adalah minuman herbal tradisional yang diproduksi secara khusus oleh masyarakat Bali untuk mencegah dan menyembuhkan berbagai macam penyakit [1]. Proses pembuatan loloh dilakukan dengan membersihkan semua bahan kemudian dicampurkan air, diblender, dan disaring. Secara umum, loloh mengandung banyak vitamin C, serta kandungan asam, dan gula. Minuman tradisional ini direkomendasikan untuk dikonsumsi karena bermanfaat bagi tubuh dan harganya murah [2].

Salah satu contoh loloh yang dimanfaatkan untuk menjaga kesehatan dapat dibuat dari campuran daun jempiring (*Gardenia jasminoides*), daun pegagan (*Centella asiatica*), daun katuk (*Breynia androgyna*), dan air kelapa (*Cocos nucifera*). Daun jempiring, daun pegagan, dan daun katuk memiliki kandungan flavonoid, polifenol, dan terpenoid, yang berfungsi sebagai antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas [3-6]. Air kelapa mengandung mikronutrien seperti ion anorganik (kalium, natrium, kalsium, magnesium, dan fosfor), vitamin, asam amino, karbohidrat, dan *L-arginine*. Kandungan ion anorganik dan karbohidrat dalam air kelapa dapat digunakan untuk rehidrasi tubuh sebagai pengganti elektrolit tubuh. Vitamin, asam amino, dan *L-arginine* dalam air kelapa berfungsi sebagai antioksidan [7-10].

Masalah utama yang dapat terjadi pada loloh adalah cemaran mikroorganisme yang terjadi selama penyimpanan. Hal ini dapat disebabkan

kandungan sukrosa dari sirup gula yang ditambahkan kedalam loloh. Kandungan sukrosa ini akan menjadi nutrisi bagi mikroorganisme untuk berkembang. Selama tersedianya nutrisi, mikroba akan tumbuh dan berkembang sehingga mengakibatkan kerusakan pada loloh. Pada tahap awal penyimpanan, kandungan gula dari sari buah akan meningkatkan pertumbuhan mikroba karena gula merupakan sumber nutrisi bagi mikroba untuk melakukan metabolisme [11].

Untuk mengidentifikasi mutu dari sediaan loloh dilakukan uji karakteristik fisik dan uji mikrobiologi pada loloh. Uji karakteristik mutu fisik dilakukan secara organoleptik untuk mengetahui rasa, bau, warna, dan tekstur sediaan loloh. Uji mikroba untuk minuman tradisional loloh dapat dilakukan uji angka lempeng total (ALT) serta angka kapang dan khamir. Pemeriksaan ALT merupakan pemeriksaan kuantitatif untuk menentukan jumlah bakteri yang terkandung dalam suatu sampel. Pengujian angka kapang khamir dilakukan untuk menunjukkan adanya cemaran yang disebabkan oleh kapang atau khamir [12,13].

Dalam upaya pengembangan produk loloh yang terbuat dari campuran daun jempiring, daun pegagan, daun katuk, dan air kelapa, perlu dilakukan penelitian mengenai karakteristik fisik dan uji mikrobiologi, serta kandungan senyawa yang terkandung dalam loloh tersebut untuk menunjang aspek mutu dan keamanan. Penelitian ini akan memberikan informasi karakteristik fisik, cemaran mikrobiologi, serta kandungan senyawa yang bermanfaat bagi tubuh yang terkandung dalam loloh tersebut.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan pendekatan deskriptif. Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah karakteristik fisik, mikrobiologi yang meliputi angka lempeng total dan angka kapang dan khamir, serta skrining fitokimia dari sediaan loloh yang dibuat.

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Karakterisasi Kebun Raya “Eka Jaya” Bali-BRIN. Pengujian terhadap karakteristik fisik dan mikrobiologi dilakukan di Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BBPOM) Denpasar. Skrining fitokimia dilakukan di Laboratorium Farmasi Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Mahasarakswati Denpasar, Jl. Kamboja No. 11A Denpasar, Bali.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jempiring, daun katuk, daun pegagan, dan air kelapa. Bahan yang diperlukan untuk skrining fitokimia yaitu pereaksi dragendorff, pereaksi mayer, serbuk magnesium (Mg), alkohol klorhidrat, amil alkohol, HCl 2N, HCl 1N, larutan FeCl₃ 1%, n-heksana, pereaksi Liebermann-Burchard, *peptone salt solution* (PSS), *plate count agar*, larutan *triphenyltetrazolium chloride* (TTC), *dichloran glycerol* (DG18)-agar, dan kloramfenikol (C₁₁H₁₂C₁₂N₂O₅).

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan, mangkok besar, *blender*, *beaker glass*, sendok, gelas ukur, saringan, batang pengaduk, dan botol kemasan. Alat yang digunakan untuk melakukan uji karakteristik fisik dan mikrobiologi, serta skrining fitokimia adalah tabung reaksi, batang pengaduk, *beaker glass*, gelas ukur, pipet ukur, indikator universal, cawan petri, *autoclave*, inkubator, *colony counter*, dan lemari pendingin.

Pengumpulan sampel

Bagian tanaman yang dikumpulkan untuk penelitian ini adalah daun jempiring, daun katuk, daun pegagan, dan air kelapa. Tanaman yang diambil adalah tanaman segar, utuh, dan tidak busuk. Determinasi tanaman dilakukan dengan cara membandingkan sampel daun jempiring, daun katuk dan daun pegagan yang akan digunakan dengan data pustaka acuan. Determinasi tanaman dilakukan di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Eka Karya Bali-BRIN.

Pembuatan loloh

Disiapkan bahan dan wadah untuk membersihkan bahan. Proses pembuatan loloh mengikuti prosedur tradisional yang digunakan oleh masyarakat untuk memproduksi loloh.

Seluruh bahan dibersihkan dari pengotor dan dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya ditimbang daun jempiring, daun katuk, dan daun pegagan masing-masing sebanyak 60 gram lalu ditambahkan dengan air kelapa sebanyak 1,5 L. Seluruh bahan dicampurkan, dihaluskan dengan menggunakan blender dan disaring. Loloh merupakan cairan yang diperoleh dari hasil penyaringan. Loloh kemudian dikemas dalam botol sebanyak 250 ml sehingga diperoleh sebanyak 6 botol.

Uji Organoleptis dan pH

Uji organoleptis dilakukan melalui pengamatan dengan panca indra warna, bentuk, dan aroma. Selanjutnya dilakukan pengujian pH dengan menggunakan indikator universal.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan pada senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, terpenoid serta steroid, dengan prosedur sebagai berikut :

1. Uji alkaloid

Sebanyak 2mL sampel loloh dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan HCl 2N dan 2 tetes pereaksi Dragendorf. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna jingga yang menunjukkan keberadaan senyawa alkaloid.

Selanjutnya sebanyak 2mL sampel loloh dimasukkan dalam tabung reaksi yang berbeda, lalu ditambahkan HCl 2N dan 2 tetes pereaksi Mayer. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna putih atau kuning yang menunjukkan keberadaan senyawa alkaloid.

2. Uji flavonoid

Sebanyak 2 mL sampel loloh ditambahkan 0,3 g serbuk Mg kemudian ditambahkan 1 mL alkohol klorhidrat

(campuran HCl 37% dan etanol 95% dengan volume yang sama), selanjutnya ditambahkan 2 mL amil alkohol kemudian dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna dalam amil alkohol (merah, jingga atau kuning) yang menunjukkan keberadaan senyawa flavonoid.

3. Uji saponin

Sebanyak 2 mL sampel loloh ditambahkan dengan 10 mL air, kemudian dikocok selama 1 menit, lalu ditambahkan 2 tetes HCl 1 N. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang tetap stabil selama kurang lebih 7 menit, yang menunjukkan keberadaan senyawa saponin.

4. Uji tanin

Sebanyak 2 mL sampel loloh ditambahkan dengan 2 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif menunjukkan terbentuk warna hijau violet/hijau kecoklatan (tanin terkondensasi) atau biru kehitaman (tanin terhidrolisis) menandakan adanya senyawa tanin.

5. Uji terpenoid dan steroid

Sebanyak 2 mL sampel loloh ditambahkan dengan 2 mL n-heksana lalu ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard. Apabila terjadi perubahan warna menjadi biru kehijauan menunjukkan keberadaan senyawa steroid sedangkan perubahan warna menjadi merah keunguan menunjukkan keberadaan senyawa terpenoid.

Uji cemaran mikrobiologi

Pengujian cemaran biologis dilakukan pada lima botol loloh sebagai sampel. Pengujian dilakukan di Balai Besar POM Denpasar. Uji ALT dilakukan dengan metode tuang serta uji angka kapang dan khamir dilakukan dengan metode sebar.

1. Pengujian Angka Lempeng Total (ALT)

Prinsip pengujian dilakukan dengan menumbuhkan dan menghitung koloni mikroba setelah cuplikan diinokulasikan pada

media lempeng agar dengan metode tuang dan diinkubasi pada suhu yang sesuai.

Pengujian menggunakan media *Pepton Salt Solution* (PPS) dan *Plate Count Agar* (PCA). Pereaksi yang digunakan adalah *triphenylterazolium chloride* (TTC) 0,5% b/v.

Sampel loloh diencerkan dengan menggunakan PPS sehingga diperoleh suspensi dengan pengenceran 10^{-1} hingga 10^{-5} . Sebanyak 1 mL sampel dari setiap pengenceran dipipet dan dituang ke dalam cawan Petri dan dibuat duplo. Dalam tiap cawan petri dituangkan 15-20 mL media PCA dan 1% TTC bersuhu $44-47^\circ\text{C}$, kemudian dengan segera cawan petri digoyang dan diputar agar media merata.

Sebagai kontrol digunakan media dan pengencer untuk mengetahui sterilitas media dengan cara menuangkan 1 mL pengencer dan media agar pada cawan yang diisi media PCA dan 1% TTC. Seluruh cawan dibiarkan hingga memadat tidak lebih dari 10 menit. Setelah memadat, cawan diinkubasi pada suhu $30 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 72 ± 3 jam dengan posisi dibalik. Jumlah koloni yang terbentuk diamati dan dihitung dengan menggunakan *colony counter*.

Dipilih cawan petri dari dua pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni 10-300 per cawan. Hasil dinyatakan sebagai Angka Lempeng Total dalam tiap mL sampel. Perhitungan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$N = \frac{\sum C}{(V(n_1 + 0,1 n_2) \times d)}$$

Keterangan :

- N : Angka mikroba dalam sampel
 $\sum C$: Jumlah koloni pada cawan Petri dari pengenceran yang memenuhi rentang perhitungan
V : Volume inokulum yang dimasukkan ke dalam masing-masing Petri ($V = 1\text{mL}$)

- n_1 : Jumlah cawan Petri yang digunakan pada pengenceran pertama yang dihitung
- n_2 : Jumlah cawan Petri yang digunakan pada pengenceran kedua yang dihitung
- d : Pengenceran yang berhubungan dengan pengenceran pertama yang dihitung

2. Pengujian Angka Kapang dan Khamir

Prinsip pengujian dilakukan dengan menumbuhkan dan menghitung koloni kapang dan khamir setelah cuplikan diinokulasikan pada media lempeng agar dengan cara sebar dan diinkubasi pada suhu yang sesuai. Pengujian dilakukan pada media *Peptone Salt Solution* (PSS), *Potato Dextrose Agar* (PDA). Pereaksi yang digunakan adalah kloramfenikol.

Sampel loloh diencerkan dengan menggunakan PPS sehingga diperoleh suspensi dengan pengenceran 10^{-1} hingga 10^{-5} . Sebanyak 1 mL dari masing-masing pengenceran sampel dituang ke permukaan media PDA + kloramfenikol 0,3 mL, disebar ratakan menggunakan batang bengkok dan dibuat duplo (6 Lempeng untuk setiap pengenceran).

Sebagai kontrol digunakan media dan pengencer untuk mengetahui sterilitas media dengan cara menuangkan 1 ml pengencer dan disebar pada 3 cawan petri berisi media agar menggunakan batang bengkok, pada cawan lain hanya diisi media agar. Selanjutnya seluruh cawan diinkubasi selama 5 hari pada suhu $25 \pm 1^\circ\text{C}$ dalam posisi tidak dibalik. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung pada hari ke-2 dan 5.

Dipilih cawan petri dari dua pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni 10-150 per cawan. Hasil dinyatakan sebagai Angka Kapang Khamir dalam tiap mL sampel. Perhitungan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$N = \frac{\Sigma C}{(V(n_1 + 0,1 n_2) \times d)}$$

Keterangan :

- N : Angka kapang khamir dalam sampel
- ΣC : Jumlah koloni pada cawan Petri dari pengenceran yang memenuhi rentang perhitungan (10-150 koloni)
- V : Volume inokulum yang dimasukkan ke dalam masing-masing Petri ($V = 1\text{mL}$)
- n_1 : Jumlah cawan Petri yang digunakan pada pengenceran pertama yang dihitung
- n_2 : Jumlah cawan Petri yang digunakan pada pengenceran kedua yang dihitung
- d : Pengenceran yang berhubungan dengan pengenceran pertama yang dihitung

Pengolahan dan analisis data

Pengolahan dan analisis data pada penelitian ini dilakukan secara deskriptif dengan cara mendeskripsikan atau menggambarkan data yang telah terkumpul sebagaimana adanya tanpa bermaksud membuat kesimpulan yang berlaku untuk umum atau generalisasi. Data yang akan dideskripsikan dalam penelitian ini adalah data determinasi, data skrining fitokimia, data karakteristik fisik, dan data pengujian mikrobiologi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi sampel tanaman loloh dilakukan di Laboratorium Karakterisasi Kebun Raya “Eka Jaya” Bali-BRIN (ID ELSA 97654 (*Gardenia jasminoides*), 97655 (*Breynia androgyna*), 97652 (*Centella asiatica*), dan 97656 (*Cocos mucifera*). Determinasi dilakukan untuk memastikan kebenaran bahan yang digunakan untuk membuat loloh. Hasil determinasi tanaman yang dilakukan di Laboratorium Karakterisasi Kebun Raya “Eka Jaya” Bali-BRIN dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Determinasi Tanaman

No	Sampel Tanaman	Jenis	Suku
1	Tanaman jempiring	<i>Gardenia jasminoides</i> J.Ellis <i>Breynia</i>	<i>Rubiaceae</i> Juss.
2	Tanaman katuk	<i>androgyna</i> (L.) Chakrab. & N.P.Balakr.	<i>Phyllanthaceae</i> <i>Martinov</i>
3	Tanaman Pegagan	<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.	<i>Apiaceae</i> Lindl.
4	Tanaman Kelapa	<i>Cocos nucifera</i> L.	<i>Arecaceae</i> <i>Bercht. & J.Presl</i>

Daun jempiring, daun katuk, dan daun pegagan yang digunakan untuk membuat loloh merupakan tanaman hasil budidaya yang dilakukan secara mandiri oleh peneliti. Bagian daun jempiring dan daun katuk yang digunakan adalah daun keempat hingga keenam dari pucuk, sedangkan daun pegagan yang digunakan adalah daun yang siap panen. Semua daun yang digunakan merupakan daun segar. Air kelapa yang digunakan berasal dari kelapa muda yang berusia tujuh bulan dan dibudidayakan di wilayah Negara, Jembran, Bali. Kelapa yang dihasilkan di wilayah tersebut

berukuran lebih besar dan airnya lebih manis dibandingkan kelapa lainnya.

Tabel 2. Hasil Uji Karakteristik Fisik Sediaan Loloh

Karakteristik Fisik	Hasil Uji
Warna	Hijau kecoklatan
Bau	Khas
Bentuk	Cairan
pH	6

Berdasarkan hasil uji karakteristik loloh yang terlampir di tabel 2, diketahui loloh yang dihasilkan berwarna coklat dan memiliki bau yang khas dengan pH 6. pH dari sediaan loloh bergantung pada jenis bahan yang digunakan dalam pembuatan loloh. Sebuah penelitian menyatakan bahwa loloh yang terbuat dari daun jempiring memiliki pH 6,92, loloh cecem memiliki pH 3,04 dan loloh tibah memiliki pH 3,56 [11].

Skrining fitokimia yang dilakukan pada produk loloh yang telah dibuat menunjukkan keberadaan beberapa senyawa fitokimia, seperti ditunjukkan pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Sediaan Loloh

Senyawa Metabolit Sekunder	Pereaksi Uji	Hasil Pengujian	Keterangan
Alkaloid	HCl 2N + Dragendorff	Terbentuk warna jingga dan terbentuk endapan jingga kecoklatan	+
	HCl 2N + Mayer	Terbentuk warna kuning pucat dan tidak terbentuk endapan putih atau kuning	-
Flavonoid	Serbuk Mg + Alkohol klorhidrat + Amil alkohol	Terbentuk warna jingga kekuningan	+
Saponin	Aquadest + HCl 1N	Terbentuk busa yang stabil selama $\pm$ 7 menit	+
Tannin	Larutan FeCl ₃ 1%	Terbentuk warna hijau kecoklatan (positif tanin terkondensasi)	+
Steroid	Kloroform + Asam asetat anhidrat + Larutan H ₂ SO ₄	Terbentuk warna hijau kehitaman, dan terbentuk cincin biru kehijauan	+
Steroid	Kloroform + Asam asetat anhidrat + Larutan H ₂ SO ₄	Terbentuk warna hijau kehitaman, dan terbentuk cincin biru kehijauan	-

Keterangan: + (positif/terdeteksi mengandung senyawa) , - (negatif/tidak terdeteksi senyawa)

Berdasarkan hasil pengamatan yang terlampir pada tabel 3, diketahui sediaan loloh mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan di Srirangam, India yang menyatakan serbuk jempiring mengandung senyawa saponin, tanin, flavonoid, dan fenol. Pada

ekstrak etanol jempiring mengandung saponin, tanin, flavonoid, alkaloid, glikosida, dan fenol. Pada ekstrak air jempiring menunjukkan adanya kandungan senyawa saponin, tanin, flavonoid, glikosida, dan fenol [14]. Penelitian lain yang dilakukan di Nigeria juga menunjukkan bahwa serbuk daun pegagan mengandung flavonoid,

fenol, alkaloid, tanin, steroid, dan berbagai asam amino [15].

Untuk mengetahui cemaran mikrobiologi pada sediaan loloh daun jempiring, daun katuk, daun pegagan, dan air kelapa dilakukan uji cemarain mikrobiologi meliputi uji angka lempeng total (ALT) dan angka kapang khamir (AKK). Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Mikrobiologi Sediaan Loloh

Sampel	Angka Lempeng Total (koloni/g)	Angka Kapang dan Khamir (koloni/g)
Sampel 1	$2,3 \times 10^6$	$1,4 \times 10^4$
Sampel 2	$2,2 \times 10^6$	$1,4 \times 10^4$
Sampel 3	$2,6 \times 10^6$	$1,4 \times 10^4$
Sampel 4	$2,3 \times 10^6$	$1,2 \times 10^4$
Sampel 5	$2,2 \times 10^6$	$1,2 \times 10^4$

Hasil uji cemaran mikroba pada loloh daun jempiring, daun katuk, daun pegagan, dan air kelapa yang tersaji dalam tabel 4, menunjukkan bahwa kelima sampel yang diujikan tidak memenuhi syarat. Angka lempeng total (ALT) serta angka kapang dan khamir kelima sampel yang diujikan melebihi batas maksimum. Berdasarkan Peraturan BPOM Nomor 13 Tahun 2019 tentang Batas Maksimal Cemaran Mikroba dalam Pangan Olahan, bahwa persyaratan ALT yaitu, tidak boleh lebih dari dua sampel dari lima sampel yang berasal dari satu satu Lot/Batch dengan batas yang dapat diterima yaitu adalah 10^5 koloni/g, serta dari lima sampel yang berasal dari satu satu Lot/Batch tidak boleh melebihi batas maksimal yaitu 10^6 koloni/g. Persyaratan angka kapang dan khamir yaitu, tidak boleh lebih dari dua sampel dari lima sampel yang berasal dari satu satu Lot/Batch dengan batas yang dapat diterima (m) yaitu 10^2 koloni/g, serta dari lima sampel yang berasal dari satu satu Lot/Batch tidak boleh melebihi batas maksimal (M) yaitu 10^4 koloni/g [16].

Loloh yang dibuat dari daun jempiring, daun katuk, daun pegagan, dan air kelapa dalam penelitian ini dibuat dengan bersih dan higienis. Namun, adanya kontaminasi mikroba seperti

bakteri, kapang, dan khamir dapat disebabkan oleh beberapa faktor terkait higienitas personal, sanitasi peralatan dan bahan yang digunakan, sanitasi area produksi, dan pengemasan loloh [17].

Pembuatan loloh yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan bahan-bahan segar dan tanpa proses pemanasan. Semua daun segar yang telah dicuci dengan air mineral, kemudian diblender lalu disaring dan ditambahkan air kelapa. Peralatan yang digunakan dibersihkan dan disanitasi dengan cara direndam dalam air mendidih. Bahan segar dapat tercemar mikroba sebelum proses pembuatan loloh yang disebut pencemaran primer. Pencemaran dapat disebabkan dari lingkungan tempat tumbuh tanaman dan air yang digunakan untuk membilas. Tanah sebagai media tumbuh tanaman juga merupakan media tumbuh untuk kapang tanah, sehingga apabila tidak dilakukan pembilasan bahan baku dengan baik maka sediaan dapat terkontaminasi [18].

Sebuah penelitian yang dilakukan di Desa Penglipuran-Bali yang mengamati keamanan pada air yang digunakan untuk memproduksi loloh cemcem menyatakan bahwa seluruh sampel sumber air rumah tangga yang digunakan tidak aman dan empat sampel sumber air dari depot air, hanya satu yang tidak aman [19]. Selain itu, tidak adanya proses pemanasan dalam pembuatan loloh menyebabkan kontaminasi mikroba semakin tinggi. Adanya pemanasan mampu menurunkan jumlah mikroba pada sediaan [11,19].

Sanitasi area produksi merupakan salah satu faktor yang sangat penting untuk mencegah kontaminasi mikroba pada loloh. Ruang produksi yang bersih, ruang penyimpanan produk dengan bahan baku yang terpisah, dan ventilasi yang dilengkapi dengan jaring serangga mampu mencegah kontaminasi pada produk loloh [17,19]. Pada penelitian ini, proses pembuatan loloh dilakukan di dapur rumahan yang belum memenuhi standar sanitasi area produksi, sehingga dapat menyebabkan kontaminasi pada loloh.

Dalam proses pengemasan loloh dalam penelitian ini, digunakan botol plastik *Polyethylene Terephthalate* (PET). Setelah loloh dikemas di dalam botol, loloh di simpan pada suhu 12,3°C dan tidak dilakukan pasteurisasi. Pengiriman loloh ke tempat pengujian dengan menggunakan *ice box* yang memungkinkan tidak terjadinya perubahan suhu sehingga dapat menyebabkan mikroba tidak dapat bertumbuh. Sebuah penelitian menyatakan bahwa pada suhu 25–30°C atau suhu kamar merupakan suhu optimum bagi pertumbuhan kapang dan suhu 25–45°C merupakan suhu optimum bagi pertumbuhan bakteri mesofilik [19]. Selain itu, tanpa proses pasteurisasi dapat menyebabkan kontaminasi dalam sediaan loloh. Sebuah penelitian yang mengamati cemaran mikroba pada loloh bluntas yang diproduksi di daerah Denpasar-Badung menyatakan bahwa pasteurisasi dapat mencegah kontaminasi selama proses pengemasan loloh [20].

SIMPULAN

Dari penelitian yang sudah dilakukan dapat disimpulkan bahwa loloh daun jempiring, daun pegagan, daun katuk, dan air kelapa yang dihasilkan berwarna coklat dan memiliki bau yang khas dengan pH 6. Namun, loloh tersebut memiliki cemaran mikroba yang melampaui batas maksimal yang dipersyaratkan. Golongan senyawa yang terkandung dalam loloh daun jempiring, daun pegagan, daun katuk, dan air kelapa yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Dapat disimpulkan bahwa loloh kaya akan senyawa bioaktif, namun aspek higienis dan keamanan mikrobiologis perlu diperhatikan terutama dalam proses produksi dan pengemasan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah memberikan masukan dan saran sehingga mendukung penyelesaian penelitian dan artikel penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Pebiana NPN, Puspasari YD, Dewi RM, Arnyana IBP. Kajian Etnobotani Loloh dan Teh Herbal Lokal sebagai Penunjang Ekonomi Kreatif Masyarakat Desa Tradisional Penglipuran Kabupaten Bangli-Bali. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi* 2021; 23(2): 91–99.
- [2] Indri H, Pratiwi K, Wiadnyani S, Widarta R. Kajian Nilai Gizi Minuman Tradisional Bali. *Jurnal Agrotekno* 2015;17(2)
- [3] Biswas D, Mandal S, Chatterjee Saha S, Tudu CK, Nandy S, Batiha GE, Shekhawat MS, Pandey DK, Dey A. Ethnobotany, phytochemistry, pharmacology, and toxicity of *Centella asiatica* (L.) Urban: A comprehensive review. *Phytotherapy Research* 2021; 35(12): 6624–6654.
- [4] Phatak RS. Phytochemistry, pharmacological activities and intellectual property landscape of *Gardenia jasminoides* Ellis: a review. *Pharmacognosy Journal* 2015; 7(5).
- [5] Rahayu NKT, Permana I, Puspawati G. Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban). *Jurnal Itepa* 2020; 9(4): 482–489.
- [6] Zhang B, Cheng J, Zhang C, Bai Y, Liu W, Li W, Koike K, Akihisa T, Feng F, Zhang J. *Sauropus androgynus* L. Merr.-A phytochemical, pharmacological and toxicological review. *Journal of Ethnopharmacology* 2020; 257.
- [7] Lima EBC, Sousa CNS, Meneses LN, Ximenes NC, Júnior S, Vasconcelos GS, Lima NBC, Patrocínio MCA, Macedo D, Vasconcelos SMM. *Cocos nucifera* (L.)(Arecaceae): A phytochemical and pharmacological review. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2015; 48: 953–964.
- [8] Nadila E, Azzahro F, Hasanah FY, Proverawati A. Composition And Potency Of Young Coconut Water For Health (*Cocos nucifera* L.): A Systematic Review. *International Journal of Biomedical Nursing Review* 2022; 1(1): 10–18.

- [9] Rashid MMO, Islam MS, Haque MA, Rahman MA, Hossain MT, Hamid MA. Antibacterial activity of polyaniline coated silver nanoparticles synthesized from Piper betle leaves extract. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 2016; 15(2): 591–597.
- [10] Venugopal A, Joseph D. Cocos nucifera: It's pharmacological activities. *World Journal of Pharmaceutical Sciences* 2017; 195–200.
- [11] Pratiwi IDPK, Suter IK, Widpradnyadewi PAS, Wiadnyani AAIS. Pengaruh Penyimpanan pada Suhu Kamar Terhadap Sifat Mikrobiologis Loloh Bluntas yang Diproduksi di Daerah Denpasar-Badung. *Media Ilmiah Teknologi Pangan* 2016; 3(2): 135–140.
- [12] Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. Pedoman Kriteria Cemaran pada Pangan Siap Saji dan Pangan Industri Rumah Tangga. 2012.
- [13] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Indonesia Edisi VI. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2020.
- [14] Kesavan K, Gnanasekaran J, Gurunagarajan S, Nayagam AAJ. Microscopic, physicochemical and phytochemical analysis of *Gardenia jasminoides* (Ellis). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2018; 97–102.
- [15] Ogunka-Nnoka CU, Igwe FU, Agwu J, Peter OJ, Wolugbom PH. Nutrient and phytochemical composition of *Centella asiatica* leaves. *Med Aromat Plants (Los Angeles)* 2020; 9(2): 412–2167.
- [16] Badan Pengawas Obat dan Makanan, R. I. Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 13 Tahun 2019 Tentang Batas Maksimal Cemaran Mikroba Dalam Pangan Olahan. 2019.
- [17] Sugianti GR, Wirawan IMA, Utami NWA. Microbiological quality, hygiene, and sanitation of the production processes of a traditional beverage at tourism areas in Bali. *Journal of UOEH* 2019; 41(4): 353–362.
- [18] Dion R, Purwantisari S. Analisis Cemaran Kapang dan Khamir pada Jamu Serbuk Instan Jahe Merah dan Temulawak. *Berkala Bioteknologi* 2020; 3(2)
- [19] Pratiwi IDPK, Suter IK, Widpradnyadewi PAS, Wiadnyani AAIS. Perubahan fisiko-kimiawi dan mikrobiologis minuman tradisional bali (loloh) selama penyimpanan. *Agritech* 2019, 39(1): 70–77.
- [20] Wipradnyadewi PAS, Yusasrini NLA. Cemaran Mikrobiologis Pada Beberapa Loloh Bali Di Kota Denpasar. *Media Ilmiah Teknologi Pangan* 2017; 4(1): 43–51.