

**UJI CEMARAN BAKTERI *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Enterobacteriaceae*
SERTA PERUBAHAN WARNA SERBUK SIMPLISIA DAUN ALPUKAT
(*Persea americana*) SELAMA PENYIMPANAN**

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMMAD ADZKIYA RAMADHAN
NIM. 210602110027



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2025**

**UJI CEMARAN BAKTERI *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Enterobacteriaceae*
SERTA PERUBAHAN WARNA SERBUK SIMPLISIA DAUN ALPUKAT
(*Persea americana*) SELAMA PENYIMPANAN**

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMMAD ADZKIYA RAMADHAN
NIM. 210602110027

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik
Ibrahim Malang Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2025

**UJI CEMARAN BAKTERI *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Enterobacteriaceae*
SERTA PERUBAHAN WARNA SERBUK SIMPLISIA DAUN ALPUKAT
(*Persea americana*) SELAMA PENYIMPANAN**

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMMAD ADZKIYA RAMADHAN
NIM. 210602110027

Telah Disetujui Oleh:

Pembimbing I



Ir. Liliek Harianie, M.P
NIP. 196209011998032001

Pembimbing II



Dr. M. Mukhlis Fahrurroddin, M.S.I
NIPPPK. 198211202025211035



**UJI CEMARAN BAKTERI *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Enterobacteriaceae*
SERTA PERUBAHAN WARNA SERBUK SIMPLISIA DAUN ALPUKAT
(*Persea americana*) SELAMA PENYIMPANAN**

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMMAD ADZKIYA RAMADHAN
NIM. 210602110027

telah dipertahankan
di depan Dewan Pengaji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S. Si.)
Tanggal

Ketua Pengaji	: Prof. Dr. Ulfah Utami, M. Si NIP. 196505091999032002	(.....)
Anggota Pengaji 1	: Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc. NIP. 199004282023212037	(.....)
Anggota Pengaji 2	: Ir. Liliek Harianie, M.P NIP. 196209011998032001	(.....)
Anggota Pengaji 3	: Dr. M. Mukhlis Fahruddin, M.S.I NIPPK. 198211202025211035	(.....)



HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah Segala puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan saya kekuatan dan kemudahan dalam menyelesaikan tugas akhir sampai selesai Karya skripsi ini saya persembahan untuk:

1. Muhammad Adzkiya Ramadhan, karena telah menjadi pribadi kuat dalam menghadapi segala permasalahan dunia perkuliahan.
2. Kedua orang tua, Bapak Syaiin Alim, S.Pd dan Hj. Zainab yang telah mendidik dan membesarkan saya dalam memperjuangkan pendidikan saya sampai dapat merasakan bangku perkuliahan dan dapat belajar dengan wawasan yang luas hingga selesai. Saya berhasil mengatasi semua tantangan ini berkat doa – doanya.
3. Kakak Laki – laki, Ahmad Ahlul Hikam yang telah menjadi pengingat untuk belajar yang giat.
4. Saudara kembar, Muhammad Dzikri Ramadhan yang sudah mengingatkan pentingnya manajemen waktu.
5. Adik Perempuan, Dzakira Aftani Alim sebagai bidadari cahaya kehidupan, yang telah menyemangati dari segala tingkah laku nya yang menggembaskan, sehingga adanya gairah dalam belajar.
6. Seluruh Dosen, Tenaga Pendidik Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang yang telah membantu segala ilmu dan waktu selama menjalani perkuliahan
7. Semua saudara dari Ayah dan Ibu, sebagai pengingat untuk segera menyelesaikan kuliah.
8. Ketua Pimpinan Pondok, Dr. K.H. Noor Shodiq Askandar, SE, MM dan segala jajaran keluarga, yang telah menasehati pentingnya ilmu dalam perspektif Islam.
9. Sulpadli, Bagas Prateso, dan Arya Dwi Saputra, Alfis yang telah memberikan masukan dan membantu menyelesaikan penelitian.
10. Yohanna Putri Wahyu Ningrum, yang telah memberikan meminjamkan fasilitas seperti laptop dan mendorong saya untuk menyelesaikan perkuliahan dengan baik.
11. Sahabat dekat, Randi, Yunita, Zaki, Dheny, Avril, Silmi, Salsa, Adib, Ceryl, Marsya, Tania, Wildan, Faiz, Tamim sebagai teman seperjuangan dan merasakan hangatnya kekeluargaan selama menjalani perkuliahan.

Semoga Allah SWT selalu menyampaikan rahmat, keberkahan, dan kesehatan pada mereka semua,

Aamiin....

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Muhammad Adzkiya Ramadhan
NIM : 210602110027
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Cemaran Bakteri *Escherichia Coli*, *Salmonella*, *Enterobacteriaceae* Serta Perubahan Warna Serbuk Simplisia Daun Alpukat (*Persea Americana*) Selama Penyimpanan

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar – benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 24 November 2025

Yang membuat pernyataan



Muhammad Adzkiya Ramadhan
NIM. 210602110027

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skrripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

**UJI CEMARAN BAKTERI *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Enterobacteriaceae*
SERTA PERUBAHAN WARNA SERBUK SIMPLISIA DAUN ALPUKAT
(*Persea americana*) SELAMA PENYIMPANAN**

Muhammad Adzkiya Ramadhan, Liliek Harianie, M. Mukhlis Fahruddin.

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menilai cemaran mikrobiologis dan perubahan fisik pada serbuk simplisia daun alpukat (*Persea americana* Mill.) selama penyimpanan, serta membandingkan hasilnya dengan standar keamanan dan mutu obat tradisional yang ditetapkan oleh *Farmakope Herbal Indonesia* (FHI) Edisi III tahun 2017. Pengujian dilakukan dengan metode tuang (*pour plate method*) menggunakan media selektif, yaitu Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) untuk *Escherichia coli*, Violet Red Bile Glucose Agar (VRBG) untuk *Enterobacteriaceae*, dan *Salmonella-Shigella* Agar (SSA) untuk *Salmonella*. Pengamatan dilakukan pada periode penyimpanan 0, 6, 12, dan 19 bulan pada suhu ruang (25 °C) dan kelembapan relatif di bawah 60% dengan wadah tertutup rapat sesuai ketentuan FHI (2017). Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ditemukan koloni khas *E. coli* maupun *Salmonella* selama penyimpanan 19 bulan, sedangkan terlihat pertumbuhan koloni khas *Enterobacteriaceae* pada penyimpanan 19 bulan berjumlah 364 CFU/g yang masih berada di bawah batas maksimum cemaran mikroba yang diperbolehkan oleh FHI ($\leq 10^3$ koloni/g, sehingga serbuk simplisia daun alpukat tergolong memenuhi persyaratan keamanan mikrobiologis. Selain itu, pengamatan visual menunjukkan adanya perubahan warna dari hijau tua menjadi cokelat tua setelah 19 bulan sebagai tanda penurunan mutu fisik. Berdasarkan hasil tersebut, serbuk simplisia daun alpukat dapat dinyatakan aman dari cemaran fekal spesifik dan layak digunakan sebagai bahan obat tradisional.

Kata Kunci : Serbuk simplisia daun alpukat, Cemaran bakteri, *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella*, Lama penyimpanan, Perubahan warna

**TEST FOR BACTERIAL CONTAMINATION OF *Escherichia coli*,
Salmonella, *Enterobacteriaceae* AND COLOR CHANGES IN AVOCADO
LEAF SIMPLIFIC POWDER (*Persea americana*) DURING STORAGE**

Muhammad Adzkiya Ramadhan, Liliek Harianie, M. Mukhlis Fahruddin

Biology Study Program, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik
Ibrahim State Islamic University of Malang

ABSTRACT

This study aims to assess microbiological contamination and physical changes in avocado leaf (*Persea americana Mill.*) powder during storage, and to compare the results with the safety and quality standards of traditional medicines set by the Indonesian Herbal Pharmacopoeia (FHI) Edition III in 2017. Testing was carried out using the pour plate method using selective media, namely Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) for *Escherichia coli*, Violet Red Bile Glucose Agar (VRBG) for *Enterobacteriaceae*, and *Salmonella-Shigella* Agar (SSA) for *Salmonella*. Observations were made at storage periods of 0, 6, 12, and 19 months at room temperature (25 °C) and relative humidity below 60% with tightly closed containers according to FHI (2017) provisions. The results of the study showed that no typical *E. coli* or *Salmonella* colonies were found during 19 months of storage, while the growth of typical *Enterobacteriaceae* colonies was seen during 19 months of storage amounting to 364 CFU/g which was still below the maximum limit of microbial contamination permitted by FHI ($\leq 10^3$ colonies/g, so that avocado leaf simplicia powder was classified as meeting microbiological safety requirements. In addition, visual observation showed a color change from dark green to dark brown after 19 months as a sign of physical quality decline. Based on these results, avocado leaf simplicia powder can be declared safe from specific fecal contamination and is suitable for use as a traditional medicine ingredient.

Keywords: Avocado leaf powder, Bacterial contamination, *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella*, Storage time, Color change

مختلص البحث

اختبار التلوث البكتيري بالإشريكية القولونية والسلالونيلا والبكتيريا المعوية وتغيرات اللون في مسحوق أوراق الأفوكادو البسيط (بيرسي أمريكيانا) أثناء التخزين

محمد أذكى رمضان، ليليك هارياني، م. مخلص فخر الدين، فريدة رحابي

برنامج دراسة الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية في مالانج

(*Persea americana Mill.*) تهدف هذه الدراسة إلى تقييم التلوث الميكروبيولوجي والتغيرات الفيزيائية في مسحوق أوراق الأفوكادو أثناء التخزين، ومقارنة النتائج بمعايير السلامة والجودة للأدوية التقليدية التي حددهما دستور الأدوية (FHI) الطبعة الثالثة لعام 2017. أجريت الاختبارات باستخدام طريقة صب اللوحة مع وسائل (FHI) العشبية الإندونيسية (Violet Red Bile Eosin Methylene Blue Agar (EMBA)، وهي انتقائية، وهي Glucose Agar (VRBG) للبكتيريا المعوية، و (*Salmonella-Shigella* Agar (SSA) للسلالونيلا. (FHI) نسبية أقل من 60% في حاويات محكمة الإغلاق وفقاً للوائح مستعمرات مميزة من الإشريكية القولونية أو السالالونيلا خلال 19 شهراً من التخزين. بينما لوحظت مستعمرات نموذجية من *Enterobacteriaceae* 364 CFU/g خلال 19 شهراً من التخزين، بلغت ، وهو ما يظل أقل من الحد الأقصى (FHI) المسماوح به للتلوث الميكروي من قبل ، وبالتالي فإن مسحوق أوراق الأفوكادو يفي بمتطلبات ($\leq 10^3$ CFU/g) المسماوح به للتلوث الميكروي من قبل السلامة الميكروبيولوجية. بالإضافة إلى ذلك، كشفت الملاحظة البصرية عن تغير اللون من الأخضر الداكن إلى البني الداكن بعد 19 شهراً، مما يشير إلى انخفاض في الجودة الفيزيائية. بناءً على هذه النتائج، يمكن اعتبار مسحوق أوراق الأفوكادو آمناً من التلوث البرازي المحدد ومناسباً للاستخدام كمكون طبي تقليدي.

الكلمات المفتاحية: مسحوق أوراق الأفوكادو، التلوث البكتيري، الإشريكية القولونية، البكتيريا المعوية، السالالونيلا، مدة التخزين، تغير اللون

KATA PENGANTAR

Assalam 'alaikum Wr. Wb.

Bismillahirrohmaanirohim, segala puji syukur atas kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya. Tak lupa, Shalawat serta salam selalu tercurahkan kepada nabi junjunan kita Nabi Muhammad SAW yang diberikan kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir dengan baik yang berjudul “**Uji Cemaran Bakteri *Escherichia Coli*, *Salmonella*, *Enterobacteriaceae* Serta Penurunan Warna Serbuk Simplicia Daun Alpukat (*Persea americana*) Selama Penyimpanan**”. Penelitian ini merupakan penerapan ilmu sains dan teknologi yang diperoleh dalam perkuliahan.

Pada nantinya semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi penulis pada khususnya dan bagi para pembaca pada umumnya. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan tugas akhir ini, namun semoga menjadi kontribusi positif bagi kita semua. Selanjutnya dengan rendah hati saya meminta kritik dan saran dari pembaca untuk tugas akhir ini supaya selanjutnya dapat direvisi kembali. Karena saya sangat menyadari, bahwa tugas akhir yang telah saya buat ini masih memiliki banyak kekurangan.

Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Hj. Ilfi Nur Diana, M.Si selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. Agus Mulyono, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si selaku Kepala Program Studi Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan kepada penulis dari awal hingga akhir studi.
5. Ir. Liliek Harianie, M.P selaku pembimbing skripsi yang telah memberikan ilmu bermanfaat bagi penulis dan bersedia meluangkan waktunya untuk membimbing penulis dalam menyusun tugas akhir ini.
6. Dr. M. Mukhlis Fahruddin, M.S.I selaku dosen pembimbing agama yang telah memberikan bimbingan terkait integrasi sains dan Islam dan meluangkan waktunya.

Akhir kata penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya atas bantuan dan dukungannya, semoga mendapatkan balasan dari Allah SWT dan dapat memberikan manfaat yang cukup berharga bagi pembacanya.

Malang, 4 November 2025

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ivi
HALAMAN PENGESAHAN.....	ivii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
مختصر البحث.....	ix
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan	7
1.4 Manfaat	7
1.5 Batasan Masalah	8

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Alpukat (<i>Persea americana</i>).....	9
2.1.1 Klasifikasi.....	18
2.1.2 Morfologi.....	18
2.2 Kegunaan Daun Alpukat sebagai Obat	13
2.3 Kandungan Gizi	13
2.4 Simplisia dan Pengolahan Simplisia.....	14
2.5 Cemaran Bakteri	13

2.6 Lama Penyimpanan dan Pengaruhnya Terhadap Cemaran Bakteri..	13
2.7 Bakteri Uji.....	18
2.7.1 <i>Escherichia coli</i>	18
2.7.2 <i>Salmonella</i>	20
2.7.3 <i>Enterobacteriaceae</i>	20
2.7.4 Karakteristik Bakteri Uji	20
2.8 Media Selektif.....	22
2.8.1 Eosin Methylene Blue Agar (EMBA)	22
2.8.2 <i>Salmonella-Shigella</i> Agar (SSA).....	24
2.8.3 Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA)	27
2.9 Perubahan Warna Serbuk Simplicia Selama Penyimpanan	29
2.10 Metode Pengujian	32

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian	34
3.2 Variabel Penelitian	34
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	35
3.4 Alat dan Bahan	35
3.4.1 Alat.....	35
3.4.2 Bahan.....	35
3.5 Prosedur Kerja	36
3.5.1 Sterilisasi Alat	36
3.5.2 Pembuatan Larutan Fisiologis	36
3.5.3 Pengenceran Sampel	36
3.5.4 Pembuatan Media EMBA (Eosin Methylene Blue Agar).....	36
3.5.5 Pembuatan Media SSA (<i>Salmonella-Shigella</i> Agar)	37
3.5.6 Pembuatan Media VRBGA (Violet Red Bile Glucose Agar) ...	37
3.5.7 Perubahan Warna Serbuk Simplicia.....	39
3.6 Analisis data	39

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Pengamatan	41
4.1.1 Uji Cemaran Bakteri <i>Eschericia coli</i>	41

4.1.2 Uji Cemaran Bakteri <i>Salmonella</i>	44
4.1.3 Uji Cemaran Bakteri <i>Enterobacteriaceae</i>	50
4.2 Perubahan Warna Serbuk Simplisia Daun Alpukat Selama Penyimpanan	57
4.3 Perspektif Sains dan Islam terhadap Hasil Penelitian	62
4.1.2 Ayat-Ayat Qauliyah dan Kauliyah Dalam Simplisia	62
4.1.2 Integrasi Sain dan Islam Pada Temuan Penelitian	63
4.1.2 Hikmah dan Kesadaran	64

BAB V. PENUTUP

5.1 Kesimpulan.....	65
5.2 Saran.....	65

DAFTAR PUSTAKA 67

DAFTAR LAMPIRAN 78

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.7.4 Ringkasan Karakteristik Bakteri Uji	22
2.8.1 Komposisi Eosin Methylene Blue Agar (EMBA)	22
2.8.2 Komposisi <i>Salmonella-Shigella</i> Agar (SSA)	24
2.8.3 Komposisi Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA).....	27
4.1.1 Hasil uji cemaran bakteri <i>Eschericia coli</i>	41
4.1.2 Hasil uji cemaran bakteri <i>Salmonella</i>	45
4.1.3 Hasil uji cemaran bakteri <i>Enterobacteriaceae</i>	51
4.2 Perubahan Warna Serbuk Simplisia Daun Alpukat Selama Penyimpanan....	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tanaman Alpukat (<i>Persea americana</i>)	11
2.2 Daun Alpukat	13
2.4 Tanaman Herbal yang dijadikan Simplisia	15
2.6 Kemasan Aluminium	18
2.8.1 Bakteri <i>E. coli</i> menggunakan media EMBA.....	24
2.8.2 Bakteri <i>Salmonella spp.</i> pada Media <i>Salmonella-Shigella</i> Agar (SSA)	26
2.8.3 Bakteri <i>Enterobacteriaceae</i> menggunakan media VRBGA (Violet Red Bile Glucose Agar)	29
4.1.1 Hasil uji cemaran bakteri <i>E. coli</i> pada serbuk simplisia daun alpukat (<i>Persea americana</i>)..	42
4.1.2. Hasil uji cemaran bakteri <i>Salmonella</i> pada serbuk simplisia daun alpukat (<i>Persea americana</i>).....	45
4.1.3 Hasil uji cemaran bakteri <i>Enterobacteriacea</i> pada serbuk simplisia daun alpukat (<i>Persea americana</i>).	51
4.2 Perubahan Warna Serbuk Simplisia Daun Alpukat Selama Penyimpanan.....	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1 Dokumentasi Prosedur Kerja.....	78
Lampiran 2 Dokumentasi Alat dan Bahan.....	80
Lampiran 3 Rumus Perhitungan <i>Enterobacteriaceae</i>	91

DAFTAR SINGKATAN

Simbol	Singkatan
EMBA	Eosin Methylene Blue Agar
VRBGA	Violet Red Bile Glucose Agar
TSCA	Tryptose Sulfite Cycloserine Agar
SSA	<i>Salmonella-Shigella</i> Agar
Fe ³⁺)	ion besi
FeS	Besi sulfida
H ₂ S	Hidrogen sulfida
pH	Potential of hydrogen
UV	Ultraviolet
WHO	World Health Organization
FHI	Farmakope Herbal Indonesia
BPOM	Pengawas Obat dan Makanan
CFU	Colony Forming Unit
NaCl	Natrium Klorida

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman obat, yang juga dikenal sebagai biofarmaka, merujuk pada spesies tumbuhan yang memiliki potensi terapeutik atau kegunaan medis (Sarno, 2019). Meskipun bukan tanaman asli Indonesia, alpukat telah menjadi bagian yang familiar dalam kehidupan masyarakat Indonesia (Sari *et al.*, 2016). Alpukat (*Persea americana*) merupakan salah satu komoditas tanaman yang memiliki nilai ekonomi signifikan dan potensi pengembangan yang luas. Selain buahnya yang umum dikonsumsi, daun alpukat telah lama dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional (Rahmadhita *et al.*, 2024).

Daun alpukat dikenal kaya akan berbagai nutrisi, termasuk protein, serat, mineral, serta antioksidan alami yang bersifat anti-inflamasi. Kandungan serat dalam daun alpukat berkontribusi pada kelancaran proses pencernaan dan pemeliharaan kesehatan metabolisme tubuh (Rahmadhita *et al.*, 2024). Selain itu, daun alpukat menunjukkan aktivitas antimikroba yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan oportunistik (Yuniarti & Harjim, 2017). Daun alpukat juga memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, di mana kandungan total fenolik dan flavonoid berperan krusial dalam menetralkan radikal bebas serta melindungi sel dari kerusakan oksidatif. Aktivitas antioksidan ini mendukung pemeliharaan sistem kekebalan tubuh dan kesehatan jaringan, serta dapat diintegrasikan dalam formulasi suplemen herbal alami (Ulasunkanmi & Ogunyemi, 2023).

Menurut Farmakope Herbal Indonesia (FHI) Edisi III (2017), daun alpukat dapat diolah menjadi sediaan obat herbal berbentuk serbuk simplisia, yang mengandung bioaktif dengan potensi manfaat terapeutik yang setara. Meskipun demikian, serbuk simplisia ini rentan terhadap kontaminasi mikroba selama tahap pengolahan, pengeringan, dan penyimpanan, yang dapat menimbulkan risiko kesehatan bagi manusia (Dabo *et al.*, 2024). Berdasarkan pedoman FHI Edisi III (2017) dan World Health Organization (WHO), masa simpan serbuk daun alpukat berkisar antara 6 hingga 12 bulan. Penyimpanan simplisia tanaman obat, seperti serbuk daun alpukat, harus dilakukan di ruangan yang kering, bersih, memiliki ventilasi yang memadai, serta terlindungi dari kelembapan, cahaya langsung, suhu tinggi, dan kontaminasi bakteri pathogen.

Isu kontaminasi mikroba pada produk herbal telah menarik perhatian internasional. Said dan Ibtissem (2022) dalam tinjauan sistematis mereka melaporkan bahwa tanaman obat dari berbagai negara sering kali tercemar oleh bakteri patogen dan oportunistik, termasuk *Escherichia coli*, *Salmonella*, serta kelompok *Enterobacteriaceae*. Beberapa penelitian telah mengkaji kontaminasi bakteri pada tanaman obat selama masa simpan. Rajbongshi *et al.*, (2022) menemukan bahwa serbuk simplisia daun *Moringa oleifera* (kelor) yang disimpan dalam kantong plastik menunjukkan adanya *E. coli* setelah penyimpanan selama 2, 3, dan 4 bulan pada suhu 25-30°C, dengan kadar air tertinggi mencapai 7,96%, yang berpotensi menurunkan kualitas produk. Sari *et al.*, (2020) mengungkapkan bahwa *Enterobacteriaceae* berkembang pada sampel simplisia herba ekinase (*Echinacea purpurea*) dan daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) yang telah disimpan selama 2 bulan, dikemas dengan bahan kertas, pada suhu rata-rata 25,61°C

dan kelembapan 90,17%. Penelitian Shi *et al.*, (2022) menunjukkan bahwa populasi *Salmonella* dalam simplisia daun *black tea*, *green tea*, *peppermint tea*, dan *chamomile tea* mencapai tingkat terendah pada hari ke-120, ketika dikemas dalam kantong plastik vakum dan disimpan pada suhu 25°C, dengan kadar air sampel teh kering yang sangat rendah, berkisar antara 2,3% hingga 4,6%.

Kontaminasi bakteri yang dapat menimbulkan penyakit meliputi cemaran mikrobiologis dari bakteri patogen seperti *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae*, dan *Salmonella* (Putri & Kurnia, 2018). Pemilihan ketiga kelompok bakteri ini didasarkan pada parameter keamanan mikrobiologis bahan obat tradisional dan serbuk simplisia yang ditetapkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) (2023). Sesuai dengan Peraturan BPOM Nomor 32 Tahun 2019 tentang Persyaratan Keamanan dan Mutu Obat Tradisional, kontaminasi bakteri harus memenuhi batas maksimum untuk memastikan keamanan konsumsi, yaitu *Escherichia coli* ≤ 10 koloni/g, *Enterobacteriaceae* ≤ 10³ koloni/g, dan *Salmonella* harus negatif per gram. Masing-masing bakteri ini berfungsi sebagai indikator kualitas sanitasi dan potensi risiko patogenik, yang mencerminkan mutu serta keamanan produk herbal.

Menurut Munukuntla *et al.*, (2024) *E. coli* dan *Enterobacteriaceae* diperlakukan sebagai indikator mutu sanitasi sehingga diberi batas maksimum (ambang) untuk menilai kondisi higiene proses, sedangkan *Salmonella* merupakan patogen enterik berisiko tinggi yang dapat menyebabkan penyakit serius bahkan pada dosis rendah, sehingga kehadirannya harus negatif pada produk herbal. Pendekatan ini konsisten dengan pedoman keamanan mikrobiologis internasional dan nasional. Dalam konteks ajaran Islam, kebersihan dan keamanan bahan konsumsi, termasuk obat-obatan herbal,

merupakan aspek penting dari konsep halalan thayyiban, yaitu sesuatu yang halal secara hukum dan bermanfaat bagi tubuh. Hal ini selaras dengan firman Allah SWT dalam Surah Al-Baqarah ayat 168 yang berbunyi:

يَا أَيُّهَا النَّاسُ كُلُّوا مِمَّا فِي الْأَرْضِ حَلَالًا طَيْبًا وَلَا تَتَّبِعُوا حُطُولَتِ الشَّيْطَنِ إِنَّهُ لَكُمْ عَذُولٌ مُّبِينٌ

Artinya: “*Wahai manusia! Makanlah dari (makanan) yang halal lagi baik yang terdapat di bumi, dan janganlah kamu mengikuti langkah-langkah setan. Sungguh, dia adalah musuh yang nyata bagimu.*” (QS. Al-Baqarah: 168).

Menurut tafsir Al-Tabari, ayat ini menegaskan bahwa segala sesuatu yang dikonsumsi manusia harus tidak hanya halal dari segi hukum, tetapi juga *thayyib* (baik dan bersih) dari segala bentuk kotoran atau bahaya bagi tubuh. Sedangkan tafsir Ibn ‘Ashur dan Wahbah az-Zuhaili, menjelaskan bahwa “*thayyib*” mencakup aspek kesehatan, kebersihan, dan keamanan dari penyakit. Dalam konteks penelitian ini, ayat tersebut menjadi landasan penting bahwa bahan obat herbal seperti simplisia daun alpukat harus terbebas dari cemaran mikroba agar aman dikonsumsi dan sesuai dengan prinsip *halalan thayyiban*. Dengan demikian, upaya ilmiah untuk mengidentifikasi dan mengendalikan mikroba patogen pada bahan herbal adalah bentuk nyata dari penerapan nilai Islam dalam menjaga kesehatan dan kebersihan konsumsi manusia.

Escherichia coli merupakan bakteri yang berfungsi sebagai indikator sanitasi sekaligus patogen penyebab berbagai penyakit. Bakteri tersebut umumnya berasal dari kontaminasi fekal akibat sanitasi air yang tidak memadai atau wadah penyimpanan yang tidak higienis (De Sousa Lima *et al.*, 2020). *Escherichia coli* diklasifikasikan sebagai bakteri gram-negatif berbentuk batang, yang bersifat aerobik atau anaerobik

fakultatif (Sari *et al.*, 2016). Infeksi oleh bakteri ini dapat mengakibatkan kondisi serius seperti diare, infeksi saluran kemih, dan penyakit lainnya (Juwita *et al.*, 2014).

Bakteri *Enterobacteriaceae* merupakan kelompok besar bakteri gram-negatif. Kehadiran kelompok bakteri ini dalam simplisia biasanya berasal dari tanah, debu, air pencucian, atau udara laboratorium selama proses pengeringan dan penggilingan (Alharbi *et al.*, 2024). *Salmonella* juga termasuk bakteri target utama yang memerlukan pengujian. *Salmonella* dikenal sebagai salah satu penyebab utama penyakit bawaan makanan secara global. Bakteri ini umumnya berasal dari lingkungan produksi yang terkontaminasi, seperti peralatan yang tidak disterilisasi, permukaan pengolahan, atau bahan baku yang tercemar sejak panen (Shi *et al.*, 2022). Infeksi *Salmonella* dapat menyebabkan gastroenteritis hingga demam tifoid, sehingga keberadaannya menjadi indikator kritis dalam standar keamanan pangan dan obat tradisional (Dabo *et al.*, 2024).

Faktor utama yang memengaruhi kehadiran kontaminasi bakteri pada serbuk simplisia daun alpukat adalah durasi penyimpanan, yang harus diimbangi dengan pengendalian faktor lingkungan seperti suhu dan kelembapan. Berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia Edisi III (2017), penyimpanan serbuk simplisia dilakukan pada suhu ruang (15-30°C) dalam wadah tertutup dan terlindung dari kelembapan tinggi. Pedoman BPOM RI Nomor 34 (2018) tentang cara pembuatan obat yang baik menyatakan bahwa kelembapan yang sesuai untuk produk herbal (seperti serbuk simplisia daun) tidak boleh mencapai 60% atau lebih, dan tidak di bawah 45%. Penyimpanan serbuk simplisia dalam wadah yang tidak higienis, seperti wadah terbuka, tersimpan langsung di lantai, atau tidak tertutup rapat, dapat memfasilitasi

masuknya debu, mikroba, kelembapan, dan serangga sebagai sumber kontaminasi (WHO, *Quality control methods for medicinal plant materials*). Menurut Widiyastuti dalam Kementerian Kesehatan RI (2020) tentang Pengembangan Parameter Standar Tanaman Obat dan Obat Tradisional, jenis wadah dan durasi penyimpanan memengaruhi kualitas simplisia. Simplisia yang disimpan dalam wadah kantong plastik menunjukkan mutu yang lebih stabil dengan masa simpan lebih dari 8 bulan, sedangkan wadah kantong kertas dan karung goni memiliki masa simpan rata-rata di bawah 6 bulan.

Selain risiko kontaminasi mikrobiologis, bahan herbal dalam bentuk serbuk simplisia rentan terhadap perubahan fisik selama penyimpanan, termasuk perubahan warna yang disebabkan oleh oksidasi pigmen dan senyawa fenolik. Perubahan warna ini tidak hanya bersifat estetika, tetapi juga sebagai indikator awal penurunan mutu bahan obat. Hal ini berkaitan dengan penurunan senyawa fenolik dan pigmen, serta peningkatan aktivitas oksidasi yang dapat mengurangi efektivitas bahan herbal dan memfasilitasi kontaminasi mikroba karena struktur bahan yang menjadi lebih rentan. Oleh karena itu, dalam penelitian ini, selain uji kontaminasi mikroba, dilakukan pengamatan visual terhadap warna serbuk simplisia daun alpukat selama penyimpanan (Liaotrakoon *et al.*, 2022).

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini menunjukkan perbedaan dan nilai kebaruan (*research gap*) karena secara spesifik meneliti pengaruh durasi penyimpanan terhadap kehadiran *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae*, dan *Salmonella* pada serbuk simplisia daun alpukat (*Persea americana*). Penelitian ini menggunakan kondisi penyimpanan yang terkontrol, yaitu suhu ruang 25°C dan kelembapan relatif di bawah

60%, sesuai dengan Farmakope Herbal Indonesia Edisi III (2017) dan BPOM RI (2018). Dengan demikian, penelitian ini diharapkan dapat menyediakan data ilmiah baru mengenai pengaruh durasi penyimpanan terhadap kontaminasi mikroba pada simplisia daun alpukat, serta menjadi acuan dalam penjaminan mutu mikrobiologis produk herbal sesuai standar BPOM (2023), serta mengidentifikasi perubahan warna serbuk simplisia selama masa penyimpanan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Apakah simplisia daun alpukat (*Persea americana*) mengandung cemaran bakteri patogen seperti *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae*, dan *Salmonella* selama masa penyimpanan?
2. Bagaimana perubahan warna serbuk simplisia daun alpukat selama masa penyimpanan?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui hasil uji cemaran bakteri *E coli*, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* pada daun alpukat (*Persea americana*) selama masa penyimpanan
2. Mengetahui perubahan warna serbuk simplisia daun alpukat selama penyimpanan sebagai indikator mutu fisik simplisia

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Memastikan keamanan simplisia daun alpukat bagi konsumen, memperkuat standar mutu produk herbal, membantu produsen memperbaiki proses pengolahan
2. Dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh lama penyimpanan terhadap mutu mikrobiologis simplisia daun alpukat
3. Dapat memberikan informasi mengenai perubahan fisik berupa perubahan warna pada serbuk simplisia daun alpukat sebagai parameter pendukung dalam penentuan kualitas penyimpanan bahan herbal.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bahan yang digunakan hanya berupa simplisia serbuk daun alpukat (*Persea americana*) dari UPT Materia Medica, Batu.
2. Penelitian ini difokuskan pada pengamatan cemaran bakteri dan perubahan warna secara visual terhadap serbuk simplisia daun alpukat selama masa penyimpanan.
3. Bakteri yang diuji hanya cemaran bakteri *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* sebagai indikator utama cemaran mikrobiologis dan standar persyaratan mutu dan keamanan obat berdasarkan standar BPOM.
4. Lama penyimpanan yang digunakan yaitu 0,6,12, dan 19 bulan dengan kemasan aluminium foil
5. Kondisi penyimpanan yang terkontrol dilakukan pada suhu ruang 25 dengan kelembapan relatif dibawah 60%
6. Metode yang digunakan adalah metode tuang (*pour plate method*)

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Alpukat (*Persea americana*)

Tanaman alpukat (*Persea americana Mill.*) merupakan anggota famili Lauraceae yang berasal dari Amerika Tengah dan telah menyebar ke wilayah tropis, termasuk Indonesia. Secara morfologis, spesies ini ditandai oleh batang berkayu, daun tunggal berbentuk oval, serta buah berbentuk bulat telur dengan warna hijau hingga ungu kecoklatan. Daunnya dikenal mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan steroid, yang telah terbukti menunjukkan aktivitas farmakologis. Senyawa-senyawa tersebut memberikan efek antihipertensi, antiinflamasi, antioksidan, dan antibakteri. Oleh karena itu, daun alpukat sering dimanfaatkan sebagai simplisia dalam praktik pengobatan tradisional (Sari *et al.*, 2023). Tanaman obat merupakan salah satu anugerah Allah SWT yang memiliki beragam manfaat bagi kesehatan manusia. Hal ini sejalan dengan firman Allah dalam Surah An-Nahl ayat 11:

يُنِيبْ لَكُمْ بِهِ الرَّزْعُ وَالرَّيْتُونَ وَالنَّخِيلُ وَالْأَعْنَابُ وَمِنْ كُلِّ الشَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ

Artinya: “Dengan air itu Dia menumbuhkan untukmu tanaman, zaitun, kurma, anggur, dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang-orang yang berpikir.” (QS. An-Nahl: 11)

Ayat QS. *An-Nahl*: 11 menegaskan bahwa Allah menumbuhkan beragam tanaman dan buah-buahan sebagai nikmat serta amanah bagi manusia. Frasa “tanda-tanda bagi

orang yang berpikir" menjadi kata kunci yang menunjukkan bahwa manusia diperintahkan untuk menggunakan akal dalam meneliti, mengamati, dan memastikan kemanfaatan ciptaan-Nya. Berdasarkan tafsir As-Sa'di, ayat ini menegaskan kekuasaan Allah yang menghadirkan tumbuhan sebagai sarana kesehatan dan keberkahan, sedangkan Tafsir Al-Muyassar menekankan pentingnya pemanfaatan tumbuhan secara bijak, bersih, dan sesuai kaidah yang benar. Oleh karena itu, penelitian mengenai cemaran mikroba pada simplisia daun alpukat merupakan bentuk implementasi prinsip syar'i, yaitu menjaga keselamatan (*hifzh an-nafsi*), menerapkan konsep kebersihan dan mutu (*thaharah* dan *thayyib*), serta memanfaatkan tanaman dengan cara yang aman dan benar. Dengan melakukan pengujian kualitas dan keamanan simplisia, peneliti turut menjaga kesucian, kemanfaatan, dan keberkahan tanaman sebagai bagian dari amanah Allah SWT.

2.1.1 Klasifikasi

Adapun klasifikasi dari tanaman alpukat menurut Pazla *et al.*, (2022) sebagai berikut:

Kingdom: Plantae

Divisi: Spermatophyta

Kelas : Dicotyledoneae

Ordo: Ranales

Famili; Lauraceae

Genus: Persea

Spesies: *Persea americana*

2.1.2 Morfologi

Tanaman alpukat menampilkan batang pohon berwarna coklat yang sangat rimbun, dengan tinggi mencapai 5 meter. Batangnya berkayu, menghasilkan buah hijau lebat dengan kulit bergaris ungu dan daging hijau muda, disertai biji berwarna cokelat kemerahan. Daunnya berbentuk oval, menyerupai telur dengan ujung meruncing, serta menampilkan urat menyirip. Alpukat memiliki akar tunggang tunggal atau akar dikotil, bersama dengan batang kayu bulat berwarna cokelat tua, yang ditandai oleh banyak cabang dan rambut halus. Tanaman ini dapat tumbuh setinggi 5 hingga 10 meter, dengan daun tunggal simetris. Batangnya memiliki ukuran panjang 1-1 cm, sedangkan daunnya panjang 10 hingga 20 cm dan lebar 3 hingga 10 cm. Awalnya, daun baru menunjukkan warna merah, yang kemudian berubah menjadi hijau tua saat matang (Zafira *et al.*, 2022). Contoh tanaman alpukat dapat dilihat pada **Gambar 2.1**



Gambar 2.1 Tanaman Alpukat (*Persea americana*) (Pazla *et al.*, 2022)

2.2 Kegunaan Daun Alpukat sebagai Obat

Tanaman ini berfungsi sebagai sumber senyawa kimia yang beragam, berpotensi sebagai dasar untuk pengembangan obat-obatan. Daun alpukat menawarkan alternatif

yang menjanjikan berkat ketersediaannya yang luas. Tanaman alpukat, yang secara ilmiah dikenal sebagai *Persea americana Mill.*, memiliki manfaat nutrisi dan terapeutik sebagaimana dijelaskan oleh Muqowwiyah & Dewi (2021). Daun alpukat (*Persea americana Mill.*) dimanfaatkan dalam bidang kesehatan karena komposisi fitokimianya. Sebuah penelitian oleh Rustanti *et al.*, (2013) mengungkap melalui skrining fitokimia bahwa daun alpukat kaya akan flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan steroid. Ekstrak daun alpukat mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin berdasarkan analisis fitokimia.

Komponen yang terkandung dalam daun alpukat menunjukkan tiga efek utama: efek antiinflamasi (termasuk antidepresan), efek analgesik, dan efek pengurangan volume urin (juga terkait antidepresan). Tanaman ini bersifat analgesik dan dapat digunakan untuk mengobati serta meredakan nyeri, neuralgia, sakit kepala, dan masalah hipertensi lainnya. Daun alpukat berperan sebagai diuretik dengan meningkatkan produksi urin dan menurunkan volume jaringan darah melalui asupan udara yang rendah (Muqowwiyah & Dewi, 2021). Kulit dan daun alpukat dapat digunakan sebagai obat kumur serta obat anti-rematik. Daun alpukat yang dimasak juga dapat berfungsi sebagai indikator batu saluran kemih. Alpukat memiliki daun berwarna hijau tua dan berpotensi sebagai produk obat serta kosmetik. Daun muda dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional, seperti untuk mengatasi batu ginjal dan rematik (Ardiansyah, 2019).

Contoh daun alpukat dapat dilihat pada **Gambar 2.2**



Gambar 2.2 Daun Alpukat (Anggorowati *et al.*, 2016)

2.3 Kandungan Gizi

Daun alpukat merupakan sumber mineral esensial yang berkontribusi terhadap kesehatan manusia, termasuk natrium, kalium, kalsium, magnesium, fosfor, serta mineral lainnya. Kandungan kalium yang tinggi dalam daun ini memainkan peran krusial dalam menjaga keseimbangan elektrolit dan mengatur tekanan darah, yang mungkin menjadi alasan penggunaannya dalam pengelolaan hipertensi. Selain itu, kalsium, magnesium, dan fosfor memiliki fungsi vital dalam pembentukan tulang dan gigi, serta proses pembekuan darah. Mineral tambahan seperti zinc berperan dalam penyembuhan luka, zat besi mendukung pembentukan heme, sedangkan mangan dan tembaga memfasilitasi penyerapan zat besi dalam tubuh (Asyifyan & Sujianto, 2019). Namun, komposisi nutrisi dan senyawa bioaktif tersebut sangat dipengaruhi oleh metode pengolahan bahan baku. Pengeringan yang tidak tepat, seperti suhu yang terlalu tinggi, dapat merusak senyawa flavonoid dan vitamin, sementara proses yang terlalu lambat meningkatkan risiko pertumbuhan mikroorganisme. Oleh karena itu, diperlukan teknik pengolahan simplisia yang mematuhi standar untuk mempertahankan nilai gizi sekaligus memastikan keamanan dari kontaminasi mikrobiologis (Sinaga *et al.*, 2021).

2.4 Simplisia dan Pengolahan Simplisia

Simplisia merujuk pada bahan obat yang belum mengalami pengolahan apapun, kecuali melalui proses pengeringan. Bahan ini dapat diubah menjadi bentuk serbuk. Pengeringan tidak boleh dilakukan secara langsung di bawah sinar matahari, mengingat risiko kerusakan yang lebih tinggi akibat paparan sinar ultraviolet. Selain itu, pengeringan pada suhu di atas 55°C berpotensi menurunkan kadar minyak atsiri. Setelah proses pengeringan, simplisia kemudian digiling menjadi serbuk. Pengolahan simplisia yang tidak sesuai standar dapat meningkatkan risiko kontaminasi mikroba. Sebagai contoh, pengeringan dengan suhu yang terlalu tinggi dapat merusak senyawa bioaktif, sedangkan pengeringan yang terlalu lambat memfasilitasi pertumbuhan jamur dan bakteri. Oleh karena itu, pengendalian kadar air pada simplisia menjadi krusial untuk menjaga stabilitas bahan dan mencegah kontaminasi (Cahyanto, 2021). Hal ini ditegaskan dalam QS. Al-A'raf ayat 56 yang berbunyi :

وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ بَعْدَ إِصْلَاحِهَا وَادْعُوهُ خَوْفًا وَطَمَعًا إِنَّ رَحْمَةَ اللَّهِ قَرِيبٌ مِّنَ الْمُحْسِنِينَ

Artinya: "Dan janganlah kamu membuat kerusakan di muka bumi setelah (Allah) memperbaikinya; dan berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut dan harap. Sesungguhnya rahmat Allah amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik." (QS. Al-A'raf: 56).

Berdasarkan penafsiran para ulama, kata kunci dari ayat "lā tufsidū fī al-arḍi ba 'da islāhihā" terletak pada larangan untuk tidak membuat kerusakan di muka bumi serta penegasan bahwa Allah telah menjadikan bumi dalam keadaan baik, seimbang, dan bermanfaat. Dua frasa ini menjadi inti pesan ayat yang mengarahkan manusia untuk menjaga apa yang telah Allah perbaiki dan tidak melakukan tindakan yang

menimbulkan kerusakan. Dari ayat ini juga lahir pedoman penting, yaitu kewajiban untuk menjaga kebersihan, kesucian, dan kelestarian lingkungan, bertindak dengan cara yang benar tanpa menimbulkan bahaya atau mudarat, serta memelihara kualitas segala sesuatu yang Allah ciptakan. Dalam konteks penelitian ini, pedoman tersebut menegaskan pentingnya menjaga higienitas, mutu, dan kebersihan simplisia agar tetap aman dan tidak berubah menjadi sumber cemaran mikroba yang dapat membahayakan kesehatan. Contoh dari simplisia tanaman herbal dapat dilihat pada **Gambar 2.4**



Gambar 2.4 Tanaman Herbal yang dijadikan Simplisia (Sapitri *et al.*, 2022)

Proses pengolahan tanaman herbal menjadi serbuk simplisia dimulai dengan pengumpulan tanaman herbal segar sebanyak 8 kg. Selanjutnya, tanaman tersebut dicuci secara menyeluruh menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kontaminan yang menempel pada daun, kemudian ditiriskan. Tahap berikutnya adalah pengeringan daun dengan cara diangin-anginkan, sambil menghindari paparan sinar matahari langsung, dan ditutupi dengan kain hitam atau menggunakan lemari pengering. Pengeringan ini bertujuan untuk menghasilkan simplisia yang tahan lama, mencegah pertumbuhan jamur selama penyimpanan jangka panjang, mengoptimalkan

ruang penyimpanan, serta menghentikan proses enzimatik sehingga metabolisme senyawa dalam tanaman dapat dihentikan. Setelah kering, sampel tanaman dihaluskan menggunakan blender menjadi partikel yang lebih kecil, kemudian dikumpulkan dan disimpan dalam wadah untuk penggunaan selanjutnya. Selain itu, dilakukan pengujian karakteristik simplisia. Akhirnya, serbuk simplisia halus disimpan dalam kemasan plastik (Sapitri *et al.*, 2022).

2.5 Cemaran Bakteri

Kontaminasi bakteri dapat dikategorikan sebagai bentuk eksosur biologis yang mengancam kesehatan manusia. Sumber kontaminasi tersebut kemungkinan berasal dari praktik yang tidak higienis selama proses produksi pangan, meliputi penanganan bahan makanan yang tidak adekuat serta peralatan pemrosesan yang tidak memenuhi standar kebersihan (Promono *et al.*, 2020). Beberapa faktor, seperti sanitasi yang kurang memadai, kondisi kebersihan yang buruk, fasilitas pemrosesan yang tidak sesuai standar, peralatan yang tidak berfungsi dengan baik, bahan baku berkualitas rendah, serta metode pemrosesan yang mengabaikan aspek kebersihan, dapat turut berkontribusi terhadap terjadinya kontaminasi bakteri (Listi *et al.*, 2022).

2.6 Lama Penyimpanan dan Pengaruhnya Terhadap Cemaran Bakteri

Durasi penyimpanan merupakan aspek krusial yang mempengaruhi kualitas mikrobiologis serta stabilitas serbuk simplisia herbal. Masa penyimpanan, simplisia dapat terpapar variasi suhu serta kelembapan relatif lingkungan sekitar bahan. Kondisi tersebut menentukan kapasitas mikroorganisme untuk bertahan atau berkembang biak pada bahan kering. Berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia (FHI) dan Materia Medika Indonesia, rentang durasi penyimpanan serbuk daun berkisar antara 6 hingga

12 bulan apabila disimpan dengan optimal. Penyimpanan serbuk simplisia juga dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, seperti suhu dan kelembapan. Armstrong *et al.*, (2014) menyatakan bahwa suhu ruang penyimpanan yang terlalu tinggi serta kelembapan yang tinggi akan mempercepat proses degenerasi enzimatik, yang berujung pada kerusakan senyawa aktif dan bahkan proliferasi mikroba. Suhu yang diterapkan harus dikontrol sesuai standar FHI Edisi III (2017), yaitu pada suhu ruang 15°C–30°C, dan kelembapan sesuai dengan standar Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI, 2018), yaitu di bawah 60%.

Metode pengepakan dan penyimpanan simplisia merupakan langkah lanjutan setelah bahan baku simplisia selesai dipanen dari tanaman budidaya, yang bertujuan agar hasil panen tidak mudah mengalami kerusakan, mempertahankan kualitas yang baik, serta memudahkan penyimpanan untuk proses berikutnya. Selain meningkatkan daya tarik produk, pengemasan dengan aluminium foil juga efektif dalam menjaga cita rasa dan kesegaran produk, karena mampu melindungi dari kelembaban udara, sinar matahari, dan kontaminasi bakteri. Oleh karena itu, aluminium foil merupakan pilihan yang tepat sebagai bahan pengemas produk (Imelda *et al.*, 2022). Contoh dari kemasan aluminium dapat dilihat pada **Gambar 2.6**

Kemasan aluminium foil terbuat dari logam aluminium yang dicampur dengan bahan kimia tertentu, sehingga menghasilkan struktur yang halus dan kedap udara. Hal ini mencegah pertukaran udara antara bahan yang dikemas dengan lingkungan eksternal. Namun, absensi pertukaran udara tersebut dapat meningkatkan kelembapan di dalam aluminium foil, sehingga memicu pertumbuhan mikroorganisme (Syamsi, 2021). Foil yang tipis cenderung mudah meleleh, penyok, atau retak selama

penanganan, yang secara signifikan meningkatkan permeasi uap air dan oksigen, serta memungkinkan penyerapan kelembapan oleh serbuk simplisia di dalamnya. Kemasan foil yang penyok rentan terhadap infiltrasi udara atau kelembapan, yang pada akhirnya meningkatkan risiko kontaminasi mikroba pada serbuk simplisia (Lamberti & Escher, 2007).



Gambar 2.6 Kemasan Aluminium (Imelda *et al.*, 2022).

Apabila tingkat kelembapan meningkat selama proses penyimpanan, spora tersebut dapat mengalami perkecambahan kembali menjadi sel vegetatif yang aktif, sehingga memicu terjadinya kontaminasi. Faktor kelembapan, penurunan aktivitas antimikroba alami dalam simplisia juga berkontribusi terhadap peningkatan cemaran selama penyimpanan. Berdasarkan penelitian Sinaga *et al.*, (2021), senyawa bioaktif seperti flavonoid dan tanin rentan mengalami oksidasi atau degradasi kimia seiring berjalannya waktu, yang mengakibatkan berkurangnya efektivitasnya dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

2.7 Bakteri Uji

2.7.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli diklasifikasikan sebagai bakteri gram negative yang bersifat patogenetik (Kulla & Herrani, 2022). Kelompok flora saluran pencernaan manusia dan

hewan, di mana berperan sebagai simbion yang mendukung proses pencernaan serta sintesis vitamin tertentu (Sarowska *et al.*, 2019). Bakteri *E. coli* termasuk dalam kategori bakteri coliform, sehingga tingkat kontaminasi coliform secara langsung berkorelasi dengan risiko keberadaan patogen lain yang biasanya berasal dari feses manusia. Daerah Indonesia, terdapat peningkatan insiden penyakit yang terkait dengan *E. coli*, khususnya di wilayah pedesaan. Kurangnya kesadaran masyarakat tentang bahaya yang ditimbulkan oleh bakteri ini mengakibatkan defisiensi dalam deteksi dini serta implementasi langkah-langkah pencegahan (Afifah, 2019). Klasifikasi *Escherichia coli* menurut ITIS (2023) sebagai berikut:

Kingdom: Bacteria

Filum: Proteobacteria

Kelas: Gammaproteobacteria

Ordo: Enterobacterales

Family: Enterobacteriaceae

Genus: Eschericia

Spesies: *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* menunjukkan morfologi berbentuk kokobasil. Bakteri ini diklasifikasikan sebagai jenis gram negatif, yang tercermin dalam pewarnaan merah pada uji gram. Fenomena ini disebabkan oleh lapisan peptidoglikan yang lebih tipis pada bakteri gram negatif, sehingga warna ungu awal digantikan oleh warna merah setelah paparan safranin (Listi *et al.*, 2022). Sel-selnya cenderung mengalami agregasi dalam bentuk seperti kokus dan dapat diamati dalam ukuran filamen, tanpa pembentukan spora. Umumnya, sel-sel ini ditemukan secara individual, berpasangan,

atau dalam rantai pendek, serta biasanya tidak memiliki kapsul. Koloni *Escherichia coli* umumnya berbentuk bulat, cembung, dan halus dengan tepi yang bervariasi (Setia & Wijayanti, 2019).

2.7.2 *Salmonella*

Salmonella sp. merupakan bakteri patogen yang berperan sebagai penyebab utama penyakit bawaan pangan (*foodborne disease*) dan hingga kini masih menjadi isu kesehatan yang signifikan. Infeksi bakteri ini pada hewan maupun manusia dapat menimbulkan gangguan pada saluran pencernaan, termasuk gejala gastroenteritis. Secara global, kejadian infeksi yang disebabkan oleh patogen *Salmonella sp.* dilaporkan mencapai jutaan kasus setiap tahunnya pada kedua kelompok tersebut. Estimasi insiden salmonellosis pada manusia di seluruh dunia mencapai sekitar 93,8 juta kasus per tahun. Penularan *Salmonella sp.* sebagian besar terjadi melalui konsumsi makanan terkontaminasi (80,1%), sedangkan transmisi antarmanusia diperkirakan sebesar 6,3% (Candra *et al.*, 2022).

2.7.3 *Enterobacteriaceae*

Bakteri *Enterobacteriaceae* diklasifikasikan sebagai mikroorganisme gram-negatif yang menghasilkan endotoksin dan eksotoksin, yang merupakan karakteristik utama bakteri patogen, serta berperan sebagai patogen oportunistik. Kelompok bakteri ini dapat diisolasi dari manusia, dan kehadirannya berfungsi sebagai indikator kontaminasi polusi pada manusia, yang berpotensi mengakibatkan kerusakan organ, anemia, serta pendarahan pada organ-organ vital, sekaligus berperan sebagai mekanisme masuknya bakteri ke dalam tubuh manusia, sehingga dapat memicu penyakit seperti diare, infeksi nosokomial, dan demam (Mu’arofah *et al.*, 2023).

Kehadiran patogen ini mampu mengganggu keseimbangan mikrobiota dalam saluran pencernaan, yang pada akhirnya dapat berujung pada terjadinya infeksi (Purrwakanthi & Miftahurrahmah, 2021). Lebih lanjut, *Enterobacteriaceae* sering kali membawa gen resistensi terhadap antibiotik di lingkungan yang dipengaruhi aktivitas manusia, sehingga keberadaannya dalam produk herbal menimbulkan risiko infeksi oportunistik pada konsumen yang rentan. Meskipun demikian, kelompok bakteri ini terus dimanfaatkan sebagai indikator kebersihan guna menjaga kualitas dan keamanan produk herbal (Alharbi *et al.*, 2024).

2.7.4 Karakteristik Bakteri Uji

Karakteristik dari bakteri uji yaitu *E coli*, *Enterobacteriaceae*, dan *Salmonella* dapat dilihat pada **Tabel 2.7.4**

Tabel 2.7.4 Ringkasan Karakteristik Bakteri Uji

Bakteri	Gram	Bentuk	Penyakit	Media Selektif
<i>E. coli</i>	Negatif	Batang	Diare, infeksi saluran kemih, keracunan makanan	EMBA (Eosin Methylene Blue Agar)
<i>Enterobacteriaceae</i>	Negatif	Batang	Diare	VRBG (Violet Red Bile Glucose Agar)
<i>Salmonella</i>	Negatif	Batang	Gastroenteritis, tifoid,	SSA (<i>Salmonella-Shigella</i>)

2.8 Media Selektif

2.8.1 Eosin Methylene Blue Agar (EMBA)

Media Eosin Methylen Blue Agar (EMBA) merupakan media diferensial untuk *Escherichia coli*. Media diferensial merupakan media yang dapat menumbuhkan beberapa jenis bakteri dan menyebabkan koloni-koloni suatu bakteri tertentu mendapatkan bentuk yang khas. *Escherichia coli* yang akan tumbuh dengan membentuk koloni berwarna spesifik dengan ciri-ciri bentuk bulat, diameter 2-3. mm, warna hijau dengan kilap logam dan bintik biru kehijauan di tengahnya (Fatiqin *et al.*, 2019). Menurut Kasiyati *et al.*, (2023) Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) mempunyai komposisi yang dapat dilihat pada **Tabel 2.8.1**

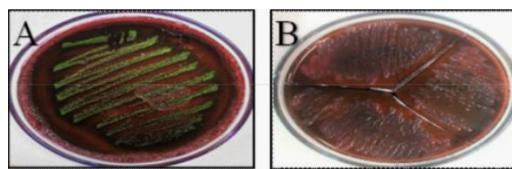
Tabel 2.8.1 Komposisi Eosin Methylene Blue Agar (EMBA)

Komposisi	Satuan
Bacto Peptone	10 g
Dipotassium Fosfat	2 g
Bacto Eosin	0,4 g
Methylen Blue	0,065 g
Bacto Agar	15 g

Pepton merupakan campuran peptida dan asam amino hasil hidrolisis protein (misalnya gelatin). Dalam medium EMBA, komponen ini berfungsi sebagai sumber nitrogen, karbon, vitamin, serta faktor pertumbuhan yang diperlukan untuk mendukung proliferasi bakteri enterik. Kandungan nutrisinya yang mudah dimanfaatkan membuat medium tidak bersifat selektif secara nutrisi, sehingga berbagai bakteri gram-negatif dapat tumbuh dan selanjutnya dapat dibedakan berdasarkan kemampuan metaboliknya, khususnya dalam memfermentasi laktosa (Himedia, 2024). Dipotassium phosphate berfungsi terutama sebagai agen penyangga (buffer) yang mempertahankan kestabilan

pH medium selama fase awal pertumbuhan. Stabilitas pH ini memungkinkan proses metabolismik bakteri terutama fermentasi laktosa yang menghasilkan asam terkendali sehingga perubahan pH yang terjadi dapat terdeteksi oleh indikator, memfasilitasi diferensiasi koloni. Selain itu, senyawa fosfat tersebut juga berperan sebagai sumber fosfor dan membantu mencegah penurunan pH yang terlalu cepat akibat produksi asam berlebih (Neyaz *et al.*, 2024).

Komponen pewarna eosin dan methylene blue berperan sebagai indikator sekaligus agen selektif dalam EMBA. Eosin memiliki efek inhibisi terhadap pertumbuhan bakteri gram-positif, sehingga meningkatkan selektivitas medium terhadap bakteri gram-negatif. Secara fungsional, bakteri yang mampu memfermentasi laktosa akan menghasilkan asam yang menyebabkan peningkatan penyerapan eosin dan perubahan warna koloni menjadi gelap atau ungu; kombinasi eosin dan methylene blue juga menghasilkan kilau hijau metalik yang khas pada koloni *Escherichia coli* sebagai fermenter laktosa kuat (Millipore, 2018). Agar berperan sebagai zat pemedat yang memungkinkan medium berbentuk padat sehingga koloni bakteri dapat tumbuh secara terpisah dan diamati secara individual. Konsentrasi 15 g/L, agar memberikan konsistensi yang optimal untuk teknik penanaman tuang maupun gores, menjaga pemisahan koloni sehingga morfologi dan karakteristik pewarnaannya dapat diidentifikasi dengan jelas (Himedia, 2024). Contoh dari bakteri *E. coli* menggunakan media EMBA dapat dilihat pada **Gambar 2.8.1**



Gambar 2.8.1 Bakteri *E. coli* menggunakan media EMBA. (A) ; Positif karena terlihat koloni berwarna hijau metalik, (B) ; Negatif (Saridewi *et al.*, 2016).

2.8.2 *Salmonella-Shigella* Agar

Menurut Condalab, (2019) Komposisi dari *Salmonella-Shigella* Agar (SSA) terdapat pada **Tabel 2.8.2**

Tabel 2.8.2 Komposisi *Salmonella-Shigella* Agar (SSA)

Komposisi	Satuan
Bacteriological Agar	13.5 g/L
Brilliant Green	0.0003 g/L
Beef Extract	5 g/L
Peptone Mixture	5 g/L
Sodium Thiosulfate	8.5 g/L
Bile Salts	8.5 g/L
Lactose	10 g/L
Neutral Red	0.025 g/L
Sodium Citrate	8.5 g/L
Ferric Citrate	1 g/L

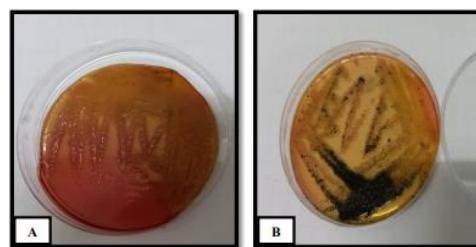
Media SSA merupakan media nutrisi yang umum digunakan untuk mengembangbiakkan *Salmonella* sp., dimana nutrisi pada media ini memiliki zat selektif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri selain *Salmonella*. Agar berfungsi sebagai agen pengental yang memadatkan medium sehingga memungkinkan koloni bakteri tumbuh secara terpisah dan dapat diamati dengan jelas. Komponen ini tidak menyediakan nutrisi bagi mikroorganisme, tetapi berperan sebagai matriks fisik untuk proses inokulasi dan pengamatan koloni. Konsentrasi sekitar 13–15 g/L

umumnya digunakan untuk memperoleh konsistensi medium yang optimal serta menjaga kestabilannya selama masa inkubasi. Sementara itu, beef extract dan peptone (campuran peptone/proteose) berperan sebagai sumber nitrogen, asam amino, vitamin, dan faktor pertumbuhan lain yang diperlukan untuk pemulihan serta proliferasi sel bakteri. Kedua bahan tersebut menyediakan nutrien yang mudah diakses sehingga mendukung pertumbuhan bakteri enterik, termasuk *Salmonella*, meskipun medium mengandung komponen selektif. Sodium thiosulfate berperan sebagai substrat sulfur yang dapat direduksi oleh bakteri penghasil hidrogen sulfida (H_2S). Ketika dikombinasikan dengan sumber ion besi seperti ferric citrate, produk reduksi tersebut akan bereaksi membentuk endapan hitam (FeS) yang mengindikasikan koloni H_2S -positif, sebagaimana dijumpai pada banyak spesies *Salmonella* (Himedia, 2024).

Garam empedu (bile salts/ox bile) bertindak sebagai agen selektif yang menghambat pertumbuhan bakteri gram-positif serta sejumlah mikroorganisme non-enterik. Bakteri enterik memiliki toleransi terhadap garam empedu, penambahan komponen ini meningkatkan selektivitas medium terhadap flora enterik, termasuk *Salmonella*. Laktosa berfungsi sebagai substrat diferensial; bakteri yang mampu memfermentasi laktosa akan menghasilkan asam yang menurunkan pH di sekitar koloni. Dengan adanya indikator pH seperti neutral red, koloni fermenter laktosa akan tampak merah atau merah muda, sedangkan bakteri non-fermenter termasuk *Salmonella* membentuk koloni yang transparan atau pucat. Dengan demikian, laktosa memungkinkan pembedaan awal antara bakteri koliform (fermenter laktosa) dan patogen non-fermenter. Neutral red sendiri merupakan indikator pH yang berubah warna ketika terjadi fermentasi laktosa akibat produksi asam, sehingga berperan

penting dalam sifat diferensial SS Agar untuk identifikasi cepat koloni (Himedia, 2024).

Sodium citrate memiliki fungsi ganda, yaitu sebagai agen selektif yang menghambat pertumbuhan beberapa bakteri non-target (misalnya beberapa spesies *Proteus* dan bakteri gram-positif) serta membantu menstabilkan kondisi ionik medium. Dalam beberapa formulasi, konsentrasi citrate yang cukup tinggi meningkatkan tingkat selektivitas medium terhadap patogen enterik (Thermo, 2023). Adapun ferric citrate (atau ammonium ferric citrate) menyediakan ion besi (Fe^{3+}) yang bereaksi dengan sulfida produk reduksi thiosulfate oleh bakteri H_2S -positif, sehingga menghasilkan endapan hitam (FeS) pada pusat koloni. Kombinasi antara ferric salt dan sodium thiosulfate merupakan mekanisme klasik untuk mendeteksi produksi H_2S dan membedakan *Salmonella* yang bersifat H_2S -positif dari bakteri yang tidak memproduksinya (Himedia, 2024). Contoh dari bakteri *Salmonella* menggunakan media SSA dapat dilihat pada **Gambar 2.8.2**



Gambar 2.8.2 Bakteri *Salmonella spp.* pada Media *Salmonella-Shigella* Agar (SSA) (Putra et al., 2022)

2.8.3 Violet Red Bile Glucose Agar (VRBG)

Media Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) yang merupakan indikator positif dari koloni *Enterobacteriaceae*. Warna tersebut muncul akibat fermentasi glukosa pada media oleh bakteri kelompok ini yang menghasilkan asam dan mengubah warna indikator pada media VRBGA. Metode Violet Red Bile Glucose (VRBG) telah lama diterapkan sebagai uji angka *Enterobacteriaceae* (Hamidin *et al.*, 2023). Komposisi Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) menurut Monza, (2020) dapat dilihat pada **Tabel 2.8.3**

Tabel 2.8.3 Komposisi Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA)

Komposisi	Satuan
Peptone	7.0 g
Yeast Extract	3.0 g
Sodium Chloride	5.0 g
Bile Salts No.3	1.5 g
Glucose	10.0 g
Neutral red	30.0 mg
Crystal Violet	2.0 mg
Agar	15.0 mg

Peptone merupakan campuran peptida dan asam amino yang terbentuk melalui proses pencernaan enzimatis terhadap protein seperti gelatin atau kasein. Komponen ini berperan sebagai sumber nitrogen, asam amino esensial, vitamin, serta faktor pertumbuhan yang diperlukan untuk mendukung pemulihan dan proliferasi bakteri, terutama sel yang mengalami stres akibat proses pengeringan maupun pengolahan. Dalam medium selektif seperti VRBG, peptone berfungsi menyediakan nutrisi yang memadai bagi bakteri *Enterobacteriaceae* yang bersifat relatif fastidious, sehingga meningkatkan peluang keberhasilan deteksi mikroorganisme tersebut (Millipore,

2018). Sementara itu, yeast extract menyediakan vitamin B kompleks, nukleotida, serta faktor pertumbuhan mikro lainnya yang mudah diakses oleh sel. Penambahan ekstrak ragi memperkuat kemampuan medium dalam menunjang pertumbuhan bakteri yang sensitif dan mempercepat fase adaptasi, sehingga meningkatkan tingkat pemulihan bakteri yang terpapar tekanan lingkungan pada sampel. Dalam VRBG, keberadaan yeast extract berfungsi melengkapi peptone untuk mempertahankan kecukupan nutrisi meskipun medium memiliki sifat selektif (Millipore, 2018).

Natrium klorida (NaCl) berfungsi mempertahankan tekanan osmotik medium mendekati kondisi fisiologis, sehingga mencegah terjadinya lisis atau stres osmotik pada sel bakteri selama proses pemulihan dan pertumbuhan. Konsentrasi garam yang sesuai turut berperan dalam menjaga stabilitas membran sel dan aktivitas enzimatik, sehingga kondisi medium tetap optimal untuk pertumbuhan bakteri target tanpa menghasilkan artefak pertumbuhan (Millipore, 2018). Garam empedu (bile salts) berperan sebagai agen selektif utama dalam VRBG dengan cara menghambat bakteri gram-positif serta sebagian gram-negatif non-intestinal melalui mekanisme kerusakan membran dan denaturasi protein. Dengan demikian, hanya bakteri *Enterobacteriaceae* yang memiliki toleransi terhadap empedu yang dapat tumbuh dominan, sehingga medium menghasilkan perhitungan presuntif yang selektif terhadap kelompok bakteri tersebut (Kasiyati *et al.*, 2023).

Glukosa (dextrose) berfungsi sebagai sumber karbon yang mudah difermentasi. Medium VRBG, proses fermentasi glukosa oleh *Enterobacteriaceae* menghasilkan asam yang menurunkan pH lokal di sekitar koloni. Penurunan pH tersebut memicu perubahan warna indikator netral red, sehingga koloni penghasil asam tampak merah

atau ungu. Penggunaan glukosa meningkatkan cakupan deteksi karena sebagian besar *Enterobacteriaceae* merupakan pemfermentasi glukosa. Crystal violet, sebagai zat pewarna sekaligus agen selektif, bekerja pada konsentrasi rendah untuk menekan pertumbuhan bakteri gram-positif dan berinteraksi sinergis dengan garam empedu dalam meningkatkan selektivitas medium terhadap bakteri gram-negatif. Agar bertindak sebagai agen pematat yang memungkinkan medium berbentuk padat, sehingga koloni dapat tumbuh secara terpisah dan mudah diamati. Konsentrasi standar 15 g/L digunakan untuk menghasilkan kekuatan gel yang memadai bagi pemisahan dan enumerasi koloni (Millipore, 2018). Contoh dari bakteri *Enterobacteriaceae* menggunakan media VRBGA dapat dilihat pada **Gambar 2.8.3**



Gambar 2.8.3 Bakteri *Enterobacteriaceae* menggunakan media VRBGA (Violet Red Bile Glucose Agar) (Hamidi et al., 2023).

2.9 Perubahan Warna Serbuk Simplisia Selama Penyimpanan

Serbuk simplisia merupakan bentuk sediaan kering dari bahan tanaman obat yang diperoleh melalui tahapan pengeringan dan penghalusan hingga menghasilkan partikel berukuran halus. Selama proses penyimpanan, simplisia berpotensi mengalami perubahan karakteristik fisik akibat pengaruh faktor lingkungan, antara lain suhu, kelembapan, dan intensitas cahaya. Salah satu perubahan yang umum diamati adalah perubahan warna, yang cenderung terjadi secara progresif seiring bertambahnya durasi

penyimpanan. Fenomena perubahan warna tersebut umumnya berkaitan dengan proses oksidasi pigmen alami, seperti klorofil, karotenoid, serta senyawa fenolik dan flavonoid yang terdapat dalam jaringan tanaman. Kondisi penyimpanan yang lembap atau memiliki paparan udara tinggi dapat mempercepat reaksi oksidatif ini, sehingga menyebabkan pergeseran warna simplisia dari hijau kecokelatan menjadi cokelat tua (Liaotrakoon *et al.*, 2022).

Perubahan warna pada serbuk simplisia tidak hanya berdampak pada aspek estetika, tetapi juga dapat berfungsi sebagai indikator awal penurunan mutu bahan, karena sering terkait dengan degradasi senyawa bioaktif. dan reduksi aktivitas antioksidan. Selama proses pengolahan dan penyimpanan simplisia daun, senyawa bioaktif pada daun alpukat dapat mengalami kerusakan yang mengakibatkan perubahan struktur kimia dan penurunan aktivitasnya. Kerusakan senyawa bioaktif pada daun alpukat dapat berlangsung melalui berbagai mekanisme degradasi kimia, seperti oksidasi, hidrolisis, demetilasi, maupun polimerisasi, yang dipicu oleh kondisi lingkungan tidak ideal, termasuk paparan suhu tinggi, oksigen, cahaya, dan kelembapan. Proses tersebut menyebabkan flavonoid dan polifenol yang semula memiliki struktur hidroksil aktif dan cincin aromatik yang stabil berubah menjadi senyawa turunan seperti quinon atau polimer berwarna gelap dengan aktivitas biologis yang lebih rendah. Transformasi ini umumnya disertai dengan perubahan warna simplisia menjadi lebih gelap, sebagai indikator terjadinya penurunan pigmen alami maupun pembentukan produk degradasi berwarna kecokelatan. (Diniyah *et al.*, 2024).

Daun alpukat (*Persea americana*) diketahui mengandung senyawa saponin yang berperan dalam aktivitas antimikroba serta modulasi sistem imun. Saponin merupakan

glikosida triterpenoid atau steroid yang tersusun atas unit aglikon (non-gula) dan satu maupun lebih gugus gula pada struktur molekulnya. Proses pengeringan maupun penyimpanan dengan kondisi yang tidak terkontrol, seperti paparan suhu yang tinggi atau perubahan kelembapan yang fluktuatif, ikatan glikosidik pada saponin berpotensi mengalami hidrolisis, sehingga senyawa saponin aktif terurai menjadi bentuk aglikon yang sifat biologisnya lebih rendah dan kurang stabil (Sebayang *et al.*, 2025). Selain itu, daun alpukat juga mengandung terpenoid dan minyak atsiri yang diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi dan antibakteri. Senyawa terpenoid bersifat lipofilik dan mudah mengalami kerusakan melalui proses oksidasi lipid maupun penguapan selama terpapar panas, cahaya, atau oksigen, sehingga konsentrasi senyawa aktif menurun dan efektivitas biologisnya turut berkurang.

Lebih lanjut, daun alpukat mengandung pigmen klorofil dan karotenoid yang selain memberikan warna hijau pada daun segar juga berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan. selama tahap pengeringan maupun penyimpanan, klorofil dapat mengalami proses degradasi menjadi turunan seperti pheophytin yang ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning hingga kecokelatan akibat hilangnya atom magnesium dari struktur pusatnya. Di sisi lain, karotenoid berpotensi mengalami oksidasi sehingga terbentuk senyawa turunan, misalnya aldehid atau epoksida, yang menunjukkan warna lebih pucat atau kecokelatan. Transformasi tersebut mengindikasikan adanya kerusakan pada struktur pigmen, sehingga aktivitas antioksidan menurun dan berdampak pada berkurangnya kestabilan warna serta mutu bioaktif daun alpukat selama periode penyimpanan. (Nascimento *et al.*, 2025).

Oleh sebab itu, penyimpanan simplisia perlu dilakukan menggunakan wadah tertutup rapat pada suhu ruang yang stabil (15–30 °C) serta kelembapan relatif yang tidak melebihi 60 %, sesuai ketentuan Farmakope Herbal Indonesia Edisi III (2017). Parameter warna menjadi salah satu komponen penting dalam penilaian mutu simplisia, sebab perubahan visual tersebut dapat merefleksikan terjadinya proses kimiawi yang berpotensi mempengaruhi efektivitas terapeutiknya (Liaotrakoon *et al.*, 2022).

2.10 Metode Pengujian

Pengujian mikrobiologis pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode tuang. Teknik tersebut, sebagaimana dijelaskan oleh Zelpina *et al.*, (2020), dipilih karena mampu mendeteksi keberadaan mikroorganisme secara efektif. Metode tuang juga berfungsi sebagai alternatif teknik isolasi yang memungkinkan diperolehnya koloni mikroba murni. Meskipun memiliki keterbatasan berupa kebutuhan waktu dan sumber daya yang lebih besar, metode ini tidak memerlukan tingkat keahlian yang tinggi untuk pelaksanaannya. Menurut Fatiqin *et al.*, (2019), teknik penuangan lazim digunakan untuk mengestimasi jumlah bakteri hidup dalam sampel berbasis cairan. Selain itu, metode ini memungkinkan penyebaran sel bakteri tidak hanya pada permukaan agar, tetapi juga di dalam matriks media, sehingga mendukung pertumbuhan mikroba pada kondisi aerob maupun anaerob.

Bakteri seperti *Escherichia coli*, *Salmonella*, serta sebagian besar anggota *Enterobacteriaceae* bersifat fakultatif anaerob, sehingga dapat berkembang baik pada permukaan maupun di dalam medium padat. Kondisi tersebut semakin terfasilitasi melalui metode tuang, karena sebagian inokulum akan terperangkap di dalam lapisan

agar yang memiliki kadar oksigen rendah, sehingga memungkinkan pertumbuhan bakteri anaerob (Fernandez *et al.*, 2023). Dibandingkan metode sebar atau streaking yang hanya mendukung proliferasi bakteri aerob pada permukaan media, metode tuang dinilai lebih akurat dalam memperkirakan jumlah maupun keberadaan mikroba fakultatif dan anaerob (Clough *et al.*, 2022).

Selain analisis mikrobiologi, pengamatan fisik terhadap perubahan warna serbuk simplisia daun alpukat juga dilakukan selama masa penyimpanan. Evaluasi warna dilakukan secara visual di bawah kondisi pencahayaan yang seragam dan dicatat pada setiap interval pengujian. Perubahan warna tersebut diinterpretasikan sebagai indikator awal terjadinya penurunan mutu bahan, yang umumnya disebabkan oleh proses oksidasi pigmen dan senyawa fenolik (Liaotrakoon *et al.*, 2022).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan pendekatan deskriptif kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui cemaran bakteri pada serbuk simplisia daun alpukat (*Persea americana*) selama masa penyimpanan dan perubahan fisik (warna). Parameter utama yang diamati meliputi jumlah cemaran *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae*, dan *Salmonella spp.*, sedangkan parameter pendukung berupa perubahan warna simplisia diamati secara visual pada setiap periode penyimpanan. Pengamatan dilakukan pada bulan ke 0,6,12 dan 19 untuk menilai kestabilan mutu fisik bahan. Penyimpanan dilakukan pada kondisi suhu ruang berkisar antara 25°C dengan kelembapan relatif di bawah 60% (rata-rata 55%), yang mencerminkan kondisi penyimpanan bahan kering herbal pada umumnya. Pengujian cemaran mikroba dilakukan terhadap tiga jenis bakteri indikator keamanan mikrobiologis dan syarat mutu keamanan serbuk simplisia menurut BPOM (2023), yaitu *Escherichia coli* (EMBA), *Enterobacteriaceae* (VRBG), dan *Salmonella spp.* (SSA) dengan menggunakan metode tuang (*pour plate method*). Data berupa bentuk tabel dan gambar dengan melihat adanya pertumbuhan koloni pada masing-masing media, sesuai karakteristik morfologi khas tiap bakteri uji dan perubahan warna serbuk simplisia daun alpukat selama masa penyimpanan.

3.2 Variabel Penelitian

Penelitian ini terdiri atas dua variabel utama, yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah lama penyimpanan serbuk simplisia

daun alpukat yang terdiri dari empat taraf, yaitu penyimpanan selama 0, 6, 12, dan 19 bulan. Variabel terikatnya adalah hasil uji cemaran bakteri, yang meliputi keberadaan koloni *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae*, dan *Salmonella spp.* pada masing-masing media selektif dan perubahan warna serbuk simplisia daun alpukat. Selain itu, terdapat beberapa variabel kontrol yang dijaga untuk memastikan keakuratan hasil penelitian, antara lain suhu ruang penyimpanan yang dijaga pada kisaran 25°C, kelembapan relatif di bawah 60% (sekitar 55%),

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada tanggal 2 Oktober – 1 November 2025. Sampel yang digunakan adalah serbuk simplisia daun alpukat yang diperoleh dari UPT Materia Medica, Batu dan dilakukan pengujian cemaran bakteri di Laboratorium Mikrobiologi UPT Materia Medica, Batu.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, labu erlemenyer, timbangan analitik, autoklaf, blue tip, white tip, tabung reaksi, kertas perkamen, lakban kertas, batang pengaduk, kertas saring, gelas selai, inkubator, gunting, thermo scientific, aluminium foil, bulpoin, mikropipet, kertas label, safe glove, laminar air flow, plastik

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel serbuk Daun Alpukat, Media EMBA (Eosin Methylene Blue Agar), VRBG (Violet Red Bile Glucose Agar),

TSCA (Tryptose Sulfite Cycloserine Agar), SSA (*Salmonella-Shigella* Agar), Aquades, Larutan Fisiologis, NaCl.

3.5 Prosedur Kerja

3.5.1 Sterilisasi Alat

Peralatan yang akan digunakan pada penelitian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Seluruh alat di laboratorium seperti *laminar air flow*, inkubator, dan *autoclave* disterilisasi dengan disemprot alkohol pada dinding bagian dalam dan dilap menggunakan tisu kering sebelum dan setelah digunakan.

3.5.2 Pembuatan Larutan Fisiologis

Dilarutkan sebanyak 0,9 gram NaCl ke dalam 100 mL aquadest. Kemudian dimasukan ke dalam autoklaf untuk disterilisasi pada suhu 121° C selama 15 menit. Larutan ini digunakan sebagai pelarut dan pengencer pada tahap inokulasi sampel (Prastiwi *et al.*, 2024).

3.5.3 Pengenceran Sampel

Ditimbang serbuk simplisia daun alpukat sebanyak 10 gram. Masukkan 10 gram atau 10 ml sampel ke dalam botol selai secara aseptis, tambah 90 ml larutan fisiologis, homogenkan. Ini dianggap tabung pengenceran pertama. Ambil 1 ml dari tabung 10^{-1} kemudian pindahkan ke tabung 10^{-2} secara aseptis kemudian homogenkan.

3.5.4 Pembuatan Media EMBA (Eosin Methylene Blue Agar)

Dilarutkan 3,7 gram media EMBA ke dalam aquades yang berisi 100 ml, selanjutnya media dipanaskan diatas hotplate dengan suhu $\pm 150^{\circ}\text{C}$ selama ± 20 menit sambil diaduk sampai larut dan homogen. Media yang telah homogen tersebut disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Handayani & Rusmita,

2017). Diambil 1 ml dari tabung reaksi pengenceran 10^{-1} , kemudian dipindahkan ke dalam cawan petri 10^{-1} dan dilakukan penanaman *pour plate* dibuat duplo. Tuangkan sekitar 15 ml media EMBA ke dalam cawan petri yang sudah berisi sampel. Campurkan sampel dan media dengan cara menggoyangkan cawan peti secara perlahan membentuk pola angka delapan atau huruf “S”. ini memastikan bakteri tersebar merata diseluruh media. Setelah rata, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Media ini digunakan untuk menumbuhkan dan menghitung koloni *Escherichia coli* setelah melalui proses sterilisasi dan pendinginan. Koloni *Escherichia coli* ditandai dengan warna hijau metalik pada permukaan media.

3.5.5 Pembuatan Media SSA (*Salmonella-Shigella* Agar)

Ditimbang sebanyak 6,9 gram medium SSA dilarutkan ke dalam 100 ml aquadest. Kemudian dipanaskan sampai larut dengan baik, Disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah disterilisasi dan didinginkan hingga $\pm 45^{\circ}\text{C}$. Diambil 1 ml dari tabung reaksi pengenceran 10^{-1} , kemudian dipindahkan ke dalam cawan petri 10^{-1} dan dilakukan penanaman *pour plate* dibuat duplo. Dituangkan masing-masing 15 ml media SSA ke dalam cawan petri yang diberi label C 10^{-1} dan 10^{-2} . Cawan petri segera digoyang dan diputar sedemikian rupa hingga tersebar merata. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. SSA digunakan untuk menumbuhkan dan mendeteksi keberadaan *Salmonella* berdasarkan morfologi koloninya. Bakteri *Salmonella* yang tumbuh dalam media SSA berupa koloni transparan, biasanya terdapat bitnik hitam di tengah koloni tersebut.

3.5.6 Pembuatan Media VRBGA (Violet Red Bile Glucose Agar)

Media VRBGA ditimbang 3,9 g menggunakan kertas perkamen, dimasukkan ke dalam labu erlemenyer yang telah berisi 100 ml aquadest, diaduk hingga larut dan homogen. Media dipanaskan dan diaduk menggunakan hotplate hingga mendidih dan terlarut dengan sempurna. Khusus untuk media Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) tidak dilakukan proses sterilisasi (Aviyani & Afandi, 2025). Diambil 1 ml dari tabung reaksi pengenceran 10^{-1} , kemudian dipindahkan ke dalam cawan petri 10^{-1} , begitupun sama halnya dengan pengenceran 10^{-2} dan dilakukan penanaman *pour plate* dibuat duplo Dituangkan masing-masing 15 ml media VRBG bersuhu 44-47°C ke dalam cawan petri yang diberi label AE 10^{-1} dan 10^{-2} . Cawan petri segera digoyang dan diputar sedemikian rupa hingga tersebar merata. Diamkan semua cawan sampai memadat. Media ini digunakan sebagai media selektif untuk pertumbuhan bakteri *Enterobacteriaceae*. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung. Koloni terduga pada VRBG berwarna merah muda atau merah keunguan disekeliling koloni (Refianto & Irdawati, 2020). Hasil dinyatakan sebagai *Enterobacteriaceae* dalam tiap gram sampel dengan menggunakan rumus (Refianto & Irdawati, 2020):

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

N: *Enterobacteriaceae* dalam sampel

ΣC : Jumlah koloni pada cawan petri dari pengenceran

V: Volume inokulum yang dimasukkan ke dalam masing-masing cawan petri (V = 1 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

3.5.7 Perubahan Warna Serbuk Simplisia

Pengamatan perubahan warna dilakukan secara visual pada serbuk simplisia daun alpukat selama penyimpanan. Sampel simplisia ditempatkan dalam wadah kertas tertutup rapat pada suhu ruang (25°C) dan kelembapan relatif $< 60\%$. Setiap periode pengamatan (bulan ke-0, 6, 12, dan 19), sejumlah sampel serbuk simplisia daun alpukat diambil dan diamati secara visual dalam kondisi pencahayaan konstan. Warna diamati menggunakan latar putih untuk membedakan warna dan dicatat menggunakan deskripsi umum (Liaotrakoon *et al.*, 2022).

3.6 Analisis data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis secara deskriptif kualitatif dan kuantitatif untuk menilai pengaruh lama penyimpanan terhadap mutu mikrobiologis dan fisik serbuk simplisia daun alpukat (*Persea americana* Mill.). Analisis mikrobiologis dilakukan dengan mencatat adanya atau tidaknya pertumbuhan koloni *Escherichia coli* (EMBA), *Enterobacteriaceae* (VRBG), dan *Salmonella spp* (SSA). Hasil positif ditandai dengan terbentuknya koloni dengan ciri khas morfologi tertentu, sedangkan hasil negatif menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni. Data disajikan dalam bentuk tabel dan dijelaskan secara deskriptif untuk menggambarkan kecenderungan perubahan selama masa penyimpanan 0, 6, 12, dan 19 bulan.

Selain itu, dilakukan analisis terhadap perubahan warna serbuk simplisia daun alpukat selama penyimpanan sebagai parameter fisik pendukung untuk menilai

stabilitas mutu bahan. Perubahan warna dinilai secara deskriptif berdasarkan perbedaan warna dari hijau kecokelatan pada awal penyimpanan menjadi cokelat tua pada penyimpanan jangka panjang. Data pengamatan warna disajikan dalam bentuk tabel deskriptif dan dokumentasi foto untuk memperlihatkan kecenderungan penurunan intensitas warna seiring waktu penyimpanan (0,6,12 dan 19 bulan)

Seluruh hasil analisis, baik mikrobiologis maupun fisik, kemudian dibandingkan dengan standar keamanan dan mutu obat tradisional yang ditetapkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) melalui Farmakope Herbal Indonesia Edisi III (2017), serta dikaitkan dengan kondisi lingkungan penyimpanan untuk menilai tingkat kestabilan serbuk simplisia daun alpukat selama masa simpan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

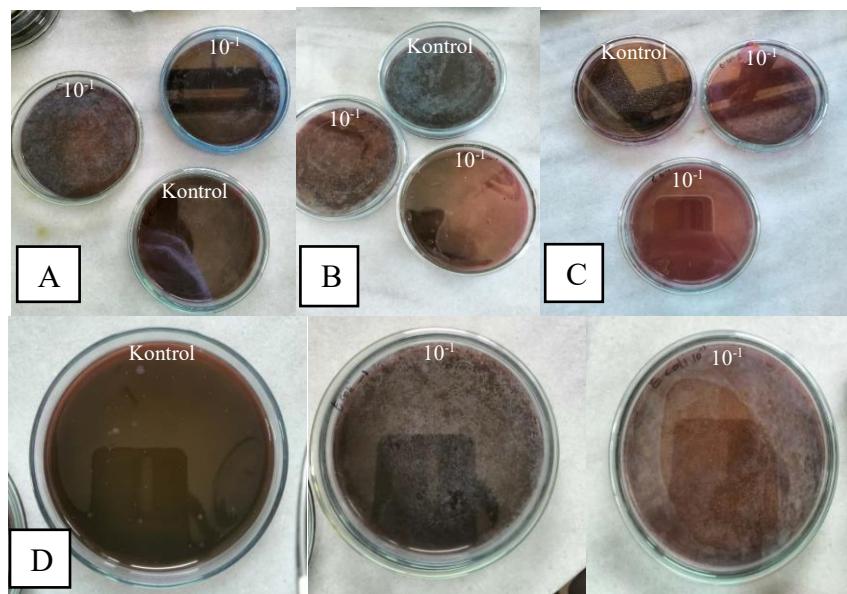
4.1 Hasil Pengamatan

4.1.1 Uji Cemaran Bakteri *Eschericia coli*

Hasil pengamatan dapat dilihat pada **Tabel 4.1** dan **Gambar 4.1**

Tabel 4.1 Hasil uji cemaran bakteri *Eschericia coli*

Lama Penyimpanan	Kode Sampel	Hasil Deteksi	Ciri Koloni
0	E	E^- : Negatif $E^{10^{-1}}$ (duplo) : Negatif	Tidak ditemukan koloni hijau metalik
6 bulan	E	E^- : Negatif $E^{10^{-1}}$ (duplo) : Negatif	Tidak ditemukan koloni hijau metalik
12 bulan	E	E^- : Negatif $E^{10^{-1}}$ (duplo) : Negatif	Tidak ditemukan koloni hijau metalik
19 bulan	E	E^- : Negatif $E^{10^{-1}}$ (duplo) : Negatif	Tidak ditemukan koloni hijau metalik



Gambar 4.1.1 Hasil uji cemaran bakteri *E. coli* pada serbuk simplisia daun alpukat (*Persea americana*). (A) ; 0 bulan, (B) ; 6 bulan, (C) ; 12 bulan, (D) ; 19 bulan. Secara keseluruhan bulan dinyatakan negatif. Kontrol dan Perlakuan media EMBA dan sampel daun alpukat, pengenceran secara duplo 10^{-1} .

Dapat dilihat pada **Tabel 4.1.1** dan **Gambar 4.1.1** bahwa koloni bakteri *Eschericia coli* tidak tumbuh pada media EMBA selama masa penyimpanan 19 bulan karena tidak terlihat koloni berwarna hijau metalik atau hijau kehitaman dengan kilau metalik pada warna media pada sampel serbuk simplisia daun alpukat. Hasil pengujian menunjukkan bahwa serbuk daun alpukat yang dinyatakan negatif mengindikasikan ketiadaan bakteri patogen *Escherichia coli*, sehingga sampel tersebut memenuhi persyaratan keamanan dan mutu obat tradisional. Tidak ditemukan nya koloni *E. coli* pada bulan ke-0 menandakan bahwa seluruh rangkaian pascapanen dan proses pengolahan simplisia meliputi pencucian, pengeringan, pengemasan, serta penyimpanan awal telah dilakukan sesuai standar. Fase awal ini, simplisia baru selesai

dikeringkan dan memiliki kadar air yang sangat rendah (<10%), menggunakan suhu 25°C dan kelembapan 55%. Rana *et al.*, (2021) melaporkan bahwa pengeringan yang menghasilkan aktivitas air rendah ($a_v < 0,6$) secara signifikan menurunkan viabilitas *E. coli* sehingga bakteri tidak mampu berkembang. Selain itu, keberadaan senyawa bioaktif daun alpukat seperti flavonoid, saponin, dan tanin berkontribusi terhadap aktivitas antimikroba terhadap bakteri gram-negatif, termasuk *E. coli*, sehingga menghambat pertumbuhan mikroba sejak awal penyimpanan (Indriani *et al.*, 2022). Alnour *et al.*, (2022) juga menegaskan bahwa flavonoid dapat menembus lapisan lipopolisakarida (LPS) bakteri gram-negatif, menyebabkan kebocoran ion intraseluler, dan memicu lisis sel sehingga efektif menekan pertumbuhan *E. coli*.

Bulan ke-6 dan ke-12, hasil analisis yang kembali menunjukkan ketiadaan koloni *E. coli* mengindikasikan bahwa kondisi penyimpanan masih stabil dan mampu menjaga viabilitas bakteri tetap berada di bawah batas deteksi atau telah mengalami kematian. Temuan Rana *et al.*, (2021) menunjukkan bahwa pada penyimpanan jangka menengah, kadar air dan aktivitas air yang tetap rendah serta penggunaan kemasan kedap udara akan memicu kerusakan struktur sel bakteri yang terdehidrasi, sehingga tidak dapat lagi membentuk koloni. Berbeda dengan penelitian Rajbongshi *et al.*, (2022) pada serbuk simplisia *Moringa oleifera* yang masih mendeteksi keberadaan *E. coli* pada bulan ke-2, ke-3, dan ke-4, hasil penelitian ini tidak menunjukkan perubahan dari bulan ke-0 hingga ke-12. Hal tersebut menandakan bahwa parameter penyimpanan tetap terkontrol dan tidak terjadi rehidrasi yang memungkinkan bakteri kembali aktif.

Setelah 19 bulan penyimpanan, serbuk simplisia daun alpukat tetap menunjukkan hasil negatif terhadap *E. coli*. Secara mikrobiologis, kondisi ini menegaskan bahwa

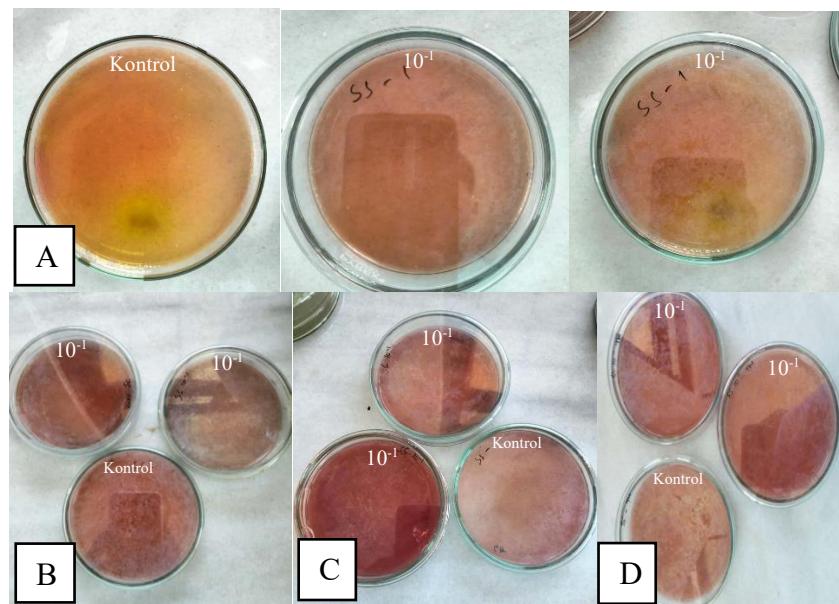
tidak terjadi kontaminasi ulang maupun pertumbuhan mikroba selama hampir dua tahun masa simpan. Faktor penyimpanan seperti suhu ruang yang stabil ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) dan kelembapan relatif rendah (<60%) sesuai rekomendasi Farmakope Herbal Indonesia edisi III (2017) berperan penting dalam mencegah pertumbuhan mikroorganisme. Konsistensi hasil negatif pada media EMBA, ditandai dengan tidak ditemukannya koloni berwarna hijau-metalik dari bulan ke-0 hingga ke-19, sejalan dengan ketentuan BPOM Nomor 32 Tahun 2019, yang mewajibkan cemaran *E. coli* dalam obat tradisional dan serbuk simplisia harus negatif per gram atau berada di bawah batas maksimum ≤ 10 koloni/g. Dengan demikian, ketiadaan *E. coli* pada seluruh periode pengamatan mengindikasikan bahwa serbuk simplisia daun alpukat memiliki stabilitas mikrobiologis yang baik dan aman dikonsumsi sepanjang masa penyimpanannya.

4.1.2 Uji Cemaran Bakteri *Salmonella*

Hasil pengujian *Salmonella* menggunakan *Salmonella-Shigella* Agar (TSCA) menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni hitam akibat tidak adanya pembentukan gas H₂S dari reduksi thiosulfate pada daun alpukat yang disimpan selama 19 bulan bulan. Hal ini menunjukkan bahwa simplisia daun alpukat negatif mengandung *Salmonella*. Hasil pengamatan dari uji cemaran bakteri *Salmonella* pada serbuk daun alpukat (*Persea americana*) dapat dilihat pada **Tabel 4.1.2** dan **Gambar 4.1.2**.

Tabel 4.1.2 Hasil uji cemaran bakteri *Salmonella*

Lama Penyimpanan	Kode Sampel	Hasil Deteksi	Ciri Koloni
0	SS	SS ⁻ : Negatif SS ^{10⁻¹} (duplo) : Negatif	<i>Salmonella</i> (negatif) Tidak ditemukan bakteri dengan koloni pusat hitam dan .
6 bulan	SS	SS ⁻ : Negatif SS ^{10⁻¹} (duplo) : Negatif	<i>Salmonella</i> (negatif) Tidak ditemukan bakteri dengan koloni pusat hitam
12 bulan	SS	SS ⁻ : Negatif SS ^{10⁻¹} (duplo) : Negatif	<i>Salmonella</i> (negatif) Tidak ditemukan bakteri dengan koloni pusat hitam
19 bulan	SS	SS ⁻ : Negatif SS ^{10⁻¹} (duplo) : Negatif pada <i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i> (negatif) Tidak ditemukan bakteri dengan koloni pusat hitam



Gambar 4.1.2 Hasil uji cemaran bakteri *Salmonella* pada serbuk simplisia daun alpukat (*Persea americana*). (A) ; 0 (negatif), (B) ; 6 bulan (negatif), (C) ; 12 bulan (negatif), (D) ; 19 bulan (negatif). Kontrol dan Perlakuan media SSA dan sampel daun alpukat, Pengenceran hingga 10⁻¹ secara duplo.

Hasil pengujian cemaran *Salmonella* spp. menggunakan media selektif *Salmonella-Shigella* Agar (SSA) menunjukkan bahwa serbuk simplisia daun alpukat tetap negatif terhadap pertumbuhan *Salmonella* selama masa penyimpanan hingga 19 bulan dengan menggunakan suhu 25°C dan kelembapan 55%. Tidak ditemukan nya koloni khas *Salmonella*, yaitu koloni pucat dengan pusat berwarna hitam, mengindikasikan bahwa bakteri tersebut tidak terdeteksi pada sampel (H₂S negatif). Temuan ini sejalan dengan hasil penelitian Shi *et al.*, (2022), yang melaporkan bahwa populasi *Salmonella* pada simplisia daun *black tea*, *green tea*, *peppermint tea*, dan *chamomile tea* berada pada tingkat terendah setelah 120 hari penyimpanan pada suhu 25°C. Kondisi penyimpanan yang stabil yakni suhu ruang 25°C dan kelembapan relatif di bawah 60% sejalan dengan standar Farmakope Herbal Indonesia Edisi III (2017) serta pedoman BPOM RI (2018), dan diketahui efektif dalam menekan viabilitas *Salmonella*, sehingga mengurangi kemampuannya membentuk koloni (Shi *et al.*, 2022).

Gambar A, tampilan media SSA yang masih berwarna kuning mengindikasikan bahwa proses fermentasi laktosa oleh mikroorganisme belum terjadi secara signifikan. Kondisi ini menunjukkan bahwa pH media tetap berada pada kisaran netral hingga sedikit basa, sehingga indikator pH berupa *neutral red* belum mengalami perubahan warna menjadi merah atau merah muda. Sebagaimana karakteristik SSA, perubahan warna baru akan tampak apabila bakteri laktosa-positif menghasilkan asam melalui fermentasi laktosa yang kemudian menurunkan pH media. Oleh karena itu, ketiadaan perubahan warna pada fase awal penyimpanan mencerminkan belum terjadinya aktivitas biokimia yang berarti (Himedia, 2024).

Selanjutnya, pada Gambar B, C, D (6, 12, dan 19 bulan), media menunjukkan warna yang semakin kemerahan yang menandakan adanya produksi asam akibat fermentasi laktosa oleh mikroorganisme non-target. Meskipun demikian, tidak ditemukan koloni dengan karakteristik khas *Salmonella*, sehingga seluruh sampel tetap dinyatakan negatif. Fenomena ini menegaskan bahwa perubahan warna media SSA tidak dapat dijadikan indikator spesifik keberadaan *Salmonella*, melainkan lebih menggambarkan respons media terhadap keberadaan mikroba non-patogen atau senyawa metabolit dari sampel simplisia. Perubahan pewarnaan juga berpotensi dipengaruhi oleh pelarutan pigmen tanaman, seperti polifenol teroksidasi, yang dapat memberikan kontribusi pada modifikasi warna media tanpa adanya pertumbuhan bakteri patogen. Dengan demikian, variasi warna yang teramat pada SSA tidak dapat diinterpretasikan sebagai konfirmasi kontaminasi *Salmonella* (Said & Ibtissem, 2022).

Faktor lingkungan penyimpanan seperti suhu, ketersediaan oksigen, jenis kemasan, dan potensi kontaminasi silang juga berperan penting terhadap keberadaan mikroorganisme. Onodugo *et al.*, (2022) menyatakan bahwa proses pengeringan, pemilihan kemasan, stabilitas suhu dan kelembapan, serta praktik sanitasi merupakan aspek fundamental yang menentukan tingkat kontaminasi mikroba pada produk herbal. Kementerian Kesehatan RI (2020) menegaskan bahwa jenis wadah dan lamanya penyimpanan memengaruhi mutu simplisia, simplisia yang disimpan dalam kemasan plastik menunjukkan stabilitas mutu lebih dari 8 bulan, sedangkan kemasan berbahan kertas dan karung goni memiliki daya simpan kurang dari 6 bulan. Pengeringan hingga kadar air rendah, penggunaan wadah kedap udara, serta penyimpanan pada suhu ruang yang konstan berkontribusi dalam menghambat pertumbuhan mikroba patogen seperti

Salmonella, sehingga bakteri tersebut tetap tidak tumbuh pada media kultur setelah 19 bulan penyimpanan.

Sensitivitas *Salmonella* terhadap senyawa antibakteri alami yang bersifat polar, seperti flavonoid dan saponin, turut memperkuat hasil tersebut. Struktur lapisan lipopolisakarida (LPS) pada membran luar *Salmonella* yang relatif lebih tipis memungkinkan penetrasi senyawa bioaktif dari daun alpukat dengan lebih mudah. Kandungan fenolik yang tinggi pada daun alpukat berperan dalam merusak integritas membran luar bakteri gram-negatif. Flavonoid, khususnya yang memiliki gugus hidroksil ganda dan cincin aromatik, mampu menonaktifkan protein membran, menghambat transport nutrien, dan selanjutnya menekan pertumbuhan serta kolonisasi *Salmonella* secara efektif (Medina *et al.*, 2020).

Hasil negatif terhadap pertumbuhan koloni *Salmonella* pada media SSA setelah 19 bulan masa simpan menunjukkan bahwa serbuk simplisia daun alpukat memenuhi persyaratan mutu dan keamanan obat tradisional yang ditetapkan BPOM RI. Berdasarkan Peraturan BPOM Nomor 32 Tahun 2019 tentang Persyaratan Keamanan dan Mutu Obat Tradisional, batas maksimum cemaran *Salmonella* adalah negatif per gram sampel. Dengan tidak ditemukannya koloni hitam khas *Salmonella* pada media SSA, simplisia daun alpukat dinyatakan memenuhi standar keamanan mikrobiologis dan layak digunakan sebagai bahan baku obat tradisional. Ketiadaan pertumbuhan koloni juga mengindikasikan bahwa proses pengolahan, pengeringan, dan penyimpanan dilakukan secara higienis (bersih) dan sesuai prosedur, sehingga mampu mempertahankan stabilitas mutu produk selama periode simpan yang panjang. Secara keseluruhan, temuan ini menegaskan bahwa simplisia daun alpukat yang diuji

memenuhi standar nasional terkait keamanan konsumsi bahan obat herbal oleh masyarakat (BPOM, 2019). Sebagaimana dalam firman Allah SWT dalam surah Al-Baqarah ayat 151 yang berbunyi:

كَمَا أَرْسَلْنَا فِيهِنَّ رَسُولًا مِّنْكُمْ يَنْذِلُوا عَلَيْهِنَّ مِنْ كُلِّ مَا لَمْ
وَيُرِكِّبُوكُمْ وَيُعَلِّمُكُمُ الْكِتَابَ وَالْحِكْمَةَ وَيُعَلِّمُكُمْ مَا لَمْ
تَكُونُوا تَعْلَمُونَ ﴿١٥١﴾

Artinya: “Sebagaimana (Kami telah menyempurnakan nikmat kepadamu), Kami pun mengutus kepadamu seorang Rasul (Nabi Muhammad) dari (kalangan) kamu yang membacakan kepadamu ayat-ayat Kami, menyucikan kamu, dan mengajarkan kepadamu Kitab (Al-Qur'an) dan hikmah (sunah), serta mengajarkan apa yang belum kamu ketahui.” (QS. Al-Baqarah: 151)

Dalam tafsir Ibnu Katsir dan Al-Tabari, kata “yuzakkīkum” (menyucikan) menjadi kunci penting karena menunjukkan bahwa misi Rasul bukan hanya menyucikan akidah, tetapi juga menjaga kebersihan diri, lingkungan, dan segala sesuatu yang digunakan manusia agar tidak membawa mudarat. Wahbah az-Zuhaili dan Quraish Shihab, frasa ini dipahami sebagai petunjuk tentang pentingnya standar kebersihan, keamanan, dan etika dalam kegiatan manusia, termasuk dalam pengelolaan makanan, obat, dan bahan alami.

Frasa pertama “yatlu ‘alaykum āyātinā” menekankan bahwa wahyu memberi manusia ilmu, pengetahuan, dan pedoman hidup, termasuk dalam aspek menjaga kesehatan dan menggunakan bahan obat secara bertanggung jawab. Frasa kedua (*yuzakkīkum*) menjadi pedoman bahwa setiap aktivitas manusia termasuk pembuatan dan penggunaan obat herbal harus dilakukan secara bersih, higienis, terstandar, serta tidak boleh meninggalkan unsur yang dapat memudharatkan tubuh seperti kontaminasi

mikrobiologis. Maka, prinsip tazkiyah dalam ayat ini melahirkan pedoman bahwa mutu bahan obat harus dipertahankan, proses produksi harus dilakukan secara aman, dan penyimpanan harus menjauhkan simplisia dari cemaran yang merusak (Alfath, 2023).

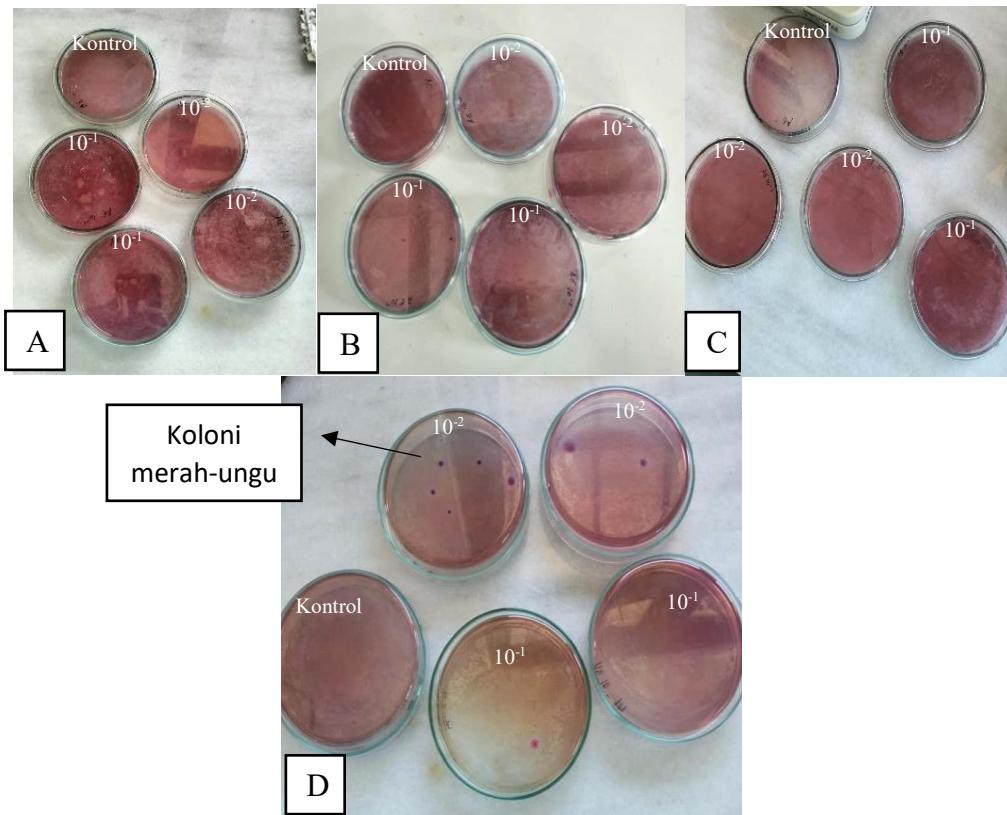
Dalam konteks penelitian ini, prinsip tazkiyah pada Surah Al-Baqarah ayat 151 tercermin dalam temuan bahwa simplisia daun alpukat memenuhi standar keamanan mikrobiologis, bebas dari pertumbuhan koloni bakteri, dan layak digunakan sebagai bahan baku obat herbal. Menurut Juliana & Kurniawan, (2023) bahwa proses pengeringan, pemotongan, penanganan, dan penyimpanan dilakukan secara higienis dan sesuai prosedur, sehingga menjaga kemurnian dan kualitas simplisia. Dengan demikian, ayat ini mengajarkan bahwa menjaga kualitas tumbuhan obat bukan hanya sebuah prosedur ilmiah, tetapi juga tanggung jawab spiritual, yaitu menjaga sesuatu tetap “bersih dan suci” agar dapat menjadi sarana penyembuhan yang sah menurut syariat. Penelitian kontemporer tentang herbal juga menegaskan bahwa obat tradisional hanya aman digunakan apabila kontrol mutu, kebersihan, dan stabilitas mikrobiologis terjamin.

4.1.3 Uji Cemaran Bakteri *Enterobacteriaceae*

Hasil pengamatan dari uji cemaran bakteri *Enterobacteriaceae* pada serbuk daun alpukat (*Persea americana*) dapat dilihat pada **Tabel 4.1.3** dan **Gambar 4.1.3**

Tabel 4.1.3 Hasil uji cemaran bakteri *Enterobacteriaceae*

Lama Penyimpanan	Kode Sampel	Hasil Deteksi	Ciri Koloni
0 bulan	AE	AE ⁻ : Negatif AE ¹⁰⁻¹ (duplo) : Negatif AE ¹⁰⁻² (duplo) : Negatif	Tidak ditemukan koloni merah keunguan
6 bulan	AE	AE ⁻ : Negatif AE ¹⁰⁻¹ (duplo) : Negatif AE ¹⁰⁻² (duplo) : Negatif	Tidak ditemukan koloni merah keunguan
12 bulan	AE	AE ⁻ : Negatif AE ¹⁰⁻¹ (duplo) : Negatif AE ¹⁰⁻² (duplo) : Negatif	Tidak ditemukan koloni merah keunguan
19 bulan	AE	AE ⁻ : Negatif AE ¹⁰⁻¹ (duplo) : Positif AE ¹⁰⁻² (duplo) : Positif	Koloni merah-ungu dengan zona merah (positif fermentasi glukosa)



Gambar 4.1.3 Hasil uji cemaran bakteri *Enterobacteriaceae* pada serbuk simplisia daun alpukat (*Persea americana*). (A) ; 0 (negatif), (B) ; 6 bulan (negatif), (C) ; 12 bulan (negatif), (D) ; 19 bulan (positif). Kontrol dan Perlakuan media VRBG dan sampel daun alpukat, Pengenceran hingga 10⁻² secara duplo

Hasil pengamatan pada masa penyimpanan 0, 6, dan 12 bulan menunjukkan tidak adanya pembentukan koloni merah keunguan pada media VRBG. Kondisi tersebut berkaitan dengan aktivitas air serbuk simplisia daun alpukat yang masih rendah ($<0,7$) dengan menggunakan suhu 25°C dan kelembapan 55%. Kadar air yang terjaga di bawah batas kritis, serta keberadaan senyawa fenolik dan flavonoid yang memiliki sifat antibakteri. Kedua kelompok senyawa tersebut diketahui mampu menghambat enzim dehidrogenase pada membran sel bakteri gram-negatif, termasuk *Enterobacteriaceae*, sehingga mengganggu proses respirasi sel dan menghambat pembelahan (De Sousa Lima *et al.*, 2020). Selain itu, hasil negatif pada periode awal penyimpanan mengindikasikan bahwa proses pengeringan maupun penyimpanan simplisia dilakukan secara higienis, dengan penggunaan wadah tertutup serta lingkungan penyimpanan dengan kelembapan di bawah 60%, yang efektif menekan proliferasi mikroorganisme (Putri *et al.*, 2024). Hal ini sejalan dengan laporan PHO (Public Health Ontario) (2016) yang menyatakan bahwa pengendalian kelembapan merupakan faktor kunci dalam pencegahan pertumbuhan *Enterobacteriaceae* karena kelompok bakteri ini bersifat non-spora dan membutuhkan kondisi lembap untuk beraktivitas secara metabolik.

Sebaliknya, pada bulan ke-19 mulai terdeteksi koloni merah keunguan pada media VRBG dengan jumlah 364 CFU/g (perhitungan terlampir pada Lampiran 3). Nilai tersebut masih berada di bawah ambang batas kontaminasi yang diperkenankan, yaitu $\leq 10^3$ koloni/g menurut BPOM (2023), sehingga simplisia daun alpukat tetap memenuhi persyaratan keamanan untuk penggunaan sebagai obat tradisional. Cawan kontrol tetap menunjukkan hasil negatif terhadap pertumbuhan *Enterobacteriaceae*, sedangkan pada cawan perlakuan ditemukan pertumbuhan sebesar 364 CFU/g

(perhitungan terlampir pada Lampiran 3). Menurut Ahiabor *et al.*, (2024) menegaskan bahwa kontrol yang konsisten negatif menegaskan bahwa metode uji memiliki reliabilitas yang baik dan tidak terjadi kontaminasi silang dari lingkungan pengujian. Dengan demikian, kemunculan *Enterobacteriaceae* pada perlakuan lebih disebabkan oleh perubahan kondisi intrinsik dari simplisia yang disimpan dalam jangka Panjang

Studi Sari *et al.*, (2020) juga melaporkan pertumbuhan *Enterobacteriaceae* pada simplisia herba ekinase (*Echinacea purpurea*) dan daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) setelah masa simpan 2 bulan. Fenomena ini umumnya disebabkan oleh terjadinya kontaminasi ulang dari lingkungan atau aktivasi kembali bakteri yang sebelumnya tidak tumbuh akibat paparan udara dan peningkatan kelembapan selama penyimpanan jangka panjang (Walusansa *et al.*, 2022). Selain itu, perubahan mikroskopis pada permukaan wadah serta penurunan efektivitas senyawa fenolik sebagai antimikroba seiring waktu dapat mengurangi stabilitas mikrobiologis simplisia. Kondisi tersebut berpotensi menyebabkan wadah tidak lagi sepenuhnya kedap terhadap udara atau kelembapan, sehingga memungkinkan difusi uap air dari lingkungan luar ke dalam wadah (Alharbi *et al.*, 2024).

Lamberti & Escher (2007) menegaskan bahwa kualitas kemasan memiliki peran penting dalam mempertahankan keamanan produk herbal. Kemasan aluminium foil yang tipis cenderung mengalami deformasi atau kerusakan selama proses penanganan, sehingga meningkatkan permeasi uap air dan oksigen dan memungkinkan serbuk simplisia menyerap kelembapan. Kerusakan berupa penyok atau retakan kecil pada kemasan foil dapat memperbesar peluang masuknya udara dan uap air. Kenaikan kadar air inilah yang dapat menciptakan lingkungan lebih lembap di sekitar serbuk, sehingga

mendukung kelangsungan hidup atau pertumbuhan bakteri seperti *Enterobacteriaceae*. Dengan demikian, meskipun jumlah koloni yang terdeteksi pada bulan ke-19 masih berada jauh di bawah batas yang diizinkan, keberadaan koloni merah keunguan tersebut mengindikasikan perlunya tindakan pencegahan tambahan, seperti pengemasan ulang atau penyimpanan pada ruang bersuhu stabil dengan kelembapan terkontrol, guna mempertahankan mutu mikrobiologis simplisia dalam jangka panjang. Prinsip penjagaan mutu simplisia juga dapat dikaitkan dengan Surah Al-Mulk ayat 15 yang berbunyi:

هُوَ الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ ذُلُولًا فَامْشُوا فِيٍّ مَّا نَأَكِبُهَا وَكُلُوا مِنْ رِزْقِهِ ۝ وَإِلَيْهِ النُّشُورُ ۝ ۱۵

Artinya: “Dialah yang menjadikan bumi untuk kamu dalam keadaan mudah dimanfaatkan. Maka, jelajahilah segala penjurunya dan makanlah sebagian dari rezeki-Nya. Hanya kepada-Nya kamu (kembali setelah) dibangkitkan..” (QS. Al- Mulk: 15)

Menurut penafsiran Ibnu Katsir, kata “*dzalūlan*” bermakna bahwa bumi telah Allah tundukkan dan permudah sehingga manusia dapat mengambil manfaat darinya melalui pertanian, pengobatan, dan pengelolaan bahan alam. Al-Tabari menafsirkan ayat ini dengan menekankan bahwa kemudahan tersebut adalah amanah; manusia tidak boleh mengelola bumi dengan cara yang menimbulkan kerusakan atau mengurangi manfaat nya. Kata kunci ayat berada pada frasa “*dzalūlan*” (diper mudah/ ditundukkan), yang menunjukkan bahwa sumber daya alam termasuk tumbuhan obat telah Allah sediakan untuk dikelola secara baik, bukan disia-siakan. Pedoman nilai dari ayat ini adalah amanah (tanggung jawab) dalam mengelola sumber daya alam secara beretika, sesuai fungsi manusia sebagai khalifah. Dalam penelitian simplisia, ayat ini

mengajarkan bahwa daun alpukat sebagai bahan alami tidak boleh dibiarkan rusak atau tercemar akibat kelalaian manusia, sebab hal itu berarti menyia-nyiakan karunia Allah. Literasi sains Islam menegaskan bahwa pengelolaan bahan alam, termasuk menjaga kualitas dan kebersihan herbal, merupakan bagian dari etika ekologis Islam (Ibadulloh & Mutaqin, 2022).

Struktur dinding sel *Enterobacteriaceae* yang tersusun atas lapisan lipopolisakarida (LPS), fosfolipid, serta berbagai protein membran luar memberikan resistensi tinggi terhadap paparan senyawa antibakteri alami. Ketahanan tersebut semakin diperkuat oleh produksi enzim β -laktamase, kemampuan membentuk biofilm yang secara efektif menghambat difusi senyawa aktif, termasuk flavonoid dan tanin. Biofilm bertindak sebagai penghalang difusi, sehingga konsentrasi flavonoid dan tanin yang mencapai sel bakteri menjadi sangat berkurang (Pasala *et al.*, 2021). Bila flavonoid masuk ke dalam sel bakteri, aktivitas vital bakteri dapat terhambat bahkan terhenti. Tanin dapat mengikat protein membran dan enzim bakteri, menyebabkan kerusakan struktural serta gangguan metabolisme. Dalam kondisi kering dan minim nutrisi pada simplisia daun alpukat, Biofilm membantu *Enterobacteriaceae* tetap dormant namun hidup, tahan antimikroba alami, sulit diberantas sepenuhnya (Bustos *et al.*, 2022). Efektivitasnya terhadap spesies *Enterobacteriaceae* relatif lebih rendah karena kelompok bakteri ini memiliki mekanisme adaptasi yang lebih kuat terhadap tekanan antibakteri (Mancuso *et al.*, 2021). Dengan demikian, meskipun komponen bioaktif dalam simplisia daun alpukat seperti flavonoid dan saponin mampu menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Escherichia coli* dan *Salmonella*

Zhou *et al.*, (2023) melaporkan bahwa flavonoid dan saponin dari tanaman berdaun hijau dapat menurunkan viabilitas *E. coli* dan *Salmonella* lebih dari 80% dalam waktu 24 jam inkubasi, sementara pengaruhnya terhadap *Enterobacter* hanya berkisar 45–50%. *Enterobacteriaceae*, pada umumnya memiliki gen AmpC β-laktamase dan beberapa gen resistensi lain yang sudah ada secara alami dalam kromosomnya. Keberadaan enzim tersebut dapat menonaktifkan berbagai senyawa antibakteri dan menunjukkan bahwa bakteri ini memiliki kemampuan dasar untuk bertahan terhadap tekanan antimikroba, termasuk senyawa fitokimia yang bekerja merusak dinding sel atau enzim penting di dalam sel. Kondisi tersebut menyebabkan efektivitas antibakteri menjadi lebih rendah, sehingga penurunan viabilitas *Enterobacter* tidak sebesar bakteri yang tidak memiliki mekanisme pertahanan enzimatis serupa (Gauba & Rahman, 2023). Oleh karena itu, meskipun cemaran *Enterobacteriaceae* berpotensi muncul selama penyimpanan simplisia, kandungan senyawa aktif daun alpukat cenderung memberikan perlindungan yang lebih efektif terhadap *E. coli* dan *Salmonella* dibandingkan terhadap spesies *Enterobacteriaceae* yang memiliki sistem pertahanan fisiologis lebih kuat.

Selain itu, *Enterobacteriaceae* sebagai kelompok bakteri yang lebih umum (termasuk bakteri indikator sanitas). Kelompok bakteri ini memiliki kemampuan adaptasi yang relatif tinggi terhadap kondisi penyimpanan yang kurang ideal, seperti kadar air rendah dan fluktuasi suhu, jika dibandingkan dengan bakteri patogen spesifik. Keberadaan *Enterobacteriaceae* pada permukaan simplisia dapat dijelaskan oleh sifatnya sebagai mikroorganisme alami lingkungan tanaman yang mampu bertahan selama penyimpanan. Kondisi lingkungan tertentu yang mendukung, beberapa spesies

di dalam kelompok ini berpotensi mengalami peningkatan jumlah sehingga tetap dapat terdeteksi pada analisis mikrobiologis (Doula *et al.*, 2021).

Faktor lain yang berpengaruh adalah metode seleksi dan identifikasi bakteri yang digunakan. prosedur analisis difokuskan untuk mendeteksi patogen tertentu, seperti *Salmonella spp.*, maka hasil negatif tidak menutup kemungkinan terdeteksinya *Enterobacteriaceae* dalam jumlah rendah sebagai bakteri indikator. Lebih jauh, keterbatasan nutrisi dan air selama penyimpanan serta sisa senyawa bioaktif dari tanaman dapat menghambat kelangsungan hidup bakteri patogen, namun *Enterobacteriaceae* yang memiliki kemampuan adaptasi lebih baik masih dapat bertahan meskipun tidak berkembang secara optimal. Hal ini memperkuat mengapa hasil menunjukkan keberadaan *Enterobacteriaceae* tetapi tidak ditemukan *E. coli* maupun *Salmonella* (Szetela *et al.*, 2020).

4.2 Perubahan Warna Serbuk Simplesia Daun Alpukat Selama Penyimpanan

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada awal penyimpanan (bulan ke-0), serbuk simplesia daun alpukat memiliki warna hijau kecokelatan. Setelah penyimpanan selama 19 bulan, warna serbuk berubah menjadi cokelat keabu-abuan. Perubahan tersebut mengindikasikan terjadinya oksidasi senyawa fenolik dan flavonoid, yang merupakan komponen bioaktif utama daun alpukat. Hasil pengamatan pada perubahan warna serbuk simplesia daun alpukat selama penyimpanan dapat dilihat pada **Tabel 4.2** dan **Gambar 4.2**

Tabel 4.2 Perubahan Warna Serbuk Simplisia Daun Alpukat Selama Penyimpanan

Lama Simpan (bulan)	Warna Serbuk Simplisia	Keterangan
0	Hijau tua	Warna khas daun segar
6	Hijau kecokelatan	Penurunan kecerahan
12	Cokelat	Awal oksidasi
19	Cokelat tua	Penggelapan signifikan



Gambar 4.2 Perubahan warna serbuk simplisia daun alpukat selama penyimpanan. (A) ; 0 bulan (hijau tua), (B) ; 6 bulan (hijau kecokelatan), (C) ; 12 bulan (cokelat), (D) ; 19 bulan (cokelat tua).

Berdasarkan **Tabel 4.2** dan **Gambar 4.2** yang menunjukkan bahwa serbuk simplisia daun alpukat mengalami perubahan warna dari hijau tua pada bulan ke-0, menjadi hijau kecokelatan pada bulan ke-6, cokelat muda pada bulan ke-12, dan cokelat tua pada bulan ke-19, dapat disimpulkan bahwa penyimpanan jangka panjang memicu degradasi pigmen dan komponen kimia penyusun daun. Warna hijau pada awal penyimpanan mencerminkan keberadaan klorofil serta senyawa fenolik yang masih stabil, sedangkan pergeseran warna menuju cokelat mengindikasikan terjadinya oksidasi, deklorofilasi, maupun reaksi non-enzimatik akibat paparan faktor lingkungan seperti udara, cahaya, dan kelembapan. Mustarichie *et al.*, (2021) melaporkan bahwa daun alpukat mengandung flavonoid dan senyawa fenolik beraktivitas antioksidan,

penurunan aktivitas antioksidan serta oksidasi senyawa tersebut selama penyimpanan berkontribusi terhadap deklorofilasi dan pembentukan produk reaksi berwarna kecokelatan. Temuan ini konsisten dengan Jayani *et al.*, (2022) yang mengobservasi perubahan fisik dan penurunan stabilitas senyawa bioaktif pada bubuk teh herbal *Moringa oleifera* setelah disimpan selama enam bulan pada suhu ruang (28°C) dan kelembapan relatif 50%, ditandai dengan munculnya warna hijau kecokelatan.

Secara umum, semakin lama durasi penyimpanan, warna simplisia cenderung semakin gelap. Fenomena ini menunjukkan berlangsungnya reaksi oksidasi non-enzimatik yang memengaruhi klorofil dan senyawa polifenol. Kadar air merupakan faktor penting yang menentukan laju berbagai reaksi non-enzimatik pada bahan kering. Rentang aktivitas air rendah hingga menengah, reaksi seperti browning non-enzimatik, reaksi Maillard, polimerisasi polifenol, dan oksidasi lipid dapat meningkat karena keberadaan sejumlah kecil air mempercepat mobilitas molekul dan pembentukan radikal bebas. Namun, pada aktivitas air yang sangat rendah, mobilitas molekul terhambat sehingga beberapa reaksi berjalan lebih lambat. Selain itu, kelembapan lingkungan dan permeasi uap air melalui kemasan berpotensi mengubah kadar air simplisia, sehingga meningkatkan peluang terjadinya oksidasi polifenol dan degradasi pigmen selama penyimpanan. Dengan demikian, pengendalian kadar air atau aktivitas air serta pemilihan kemasan yang sesuai merupakan strategi utama dalam mempertahankan warna dan stabilitas senyawa bioaktif simplisia (Östbring *et al.*, 2020).

Farmakope Herbal Indonesia Edisi III (2017) menyatakan bahwa penyimpanan simplisia dalam jangka panjang atau pada kelembapan tinggi dapat menyebabkan

penurunan mutu fisik yang ditandai dengan penggelapan warna. Penelitian Tristantini *et al.*, (2019) menunjukkan bahwa serbuk simplisia segar umumnya berwarna hijau tua, sedangkan simplisia kedaluwarsa berwarna cokelat. Gebczynski *et al.*, (2024) menambahkan bahwa penggelapan warna pada simplisia hijau selama penyimpanan terutama disebabkan oleh degradasi klorofil dan oksidasi polifenol melalui jalur non-enzimatik. Klorofil rentan mengalami demetilasi, pelepasan atom Mg, atau konversi menjadi pheophytin dan pheophorbide yang mengakibatkan pergeseran warna menjadi cokelat kehijauan. Proses tersebut dapat dipercepat oleh oksidasi lipid serta interaksi dengan polifenol teroksidasi yang menghasilkan kompleks berwarna gelap. Senyawa polifenol sendiri dapat mengalami oksidasi non-enzimatik yang menghasilkan quinon dan produk polimer berwarna cokelat hingga hitam. Dengan demikian, meskipun enzim penyebab pencokelatan (seperti polifenol oksidase) telah terinaktivasi selama proses pengeringan, reaksi kimia non-enzimatik tetap berlangsung dan dapat mengubah profil pigmen serta menurunkan intensitas warna hijau simplisia selama penyimpanan. Berdasarkan temuan tersebut, perubahan warna pada serbuk simplisia daun alpukat dapat digunakan sebagai indikator awal terjadinya penurunan mutu selama penyimpanan jangka panjang.

Perubahan warna yang terjadi pada simplisia daun alpukat selama penyimpanan merefleksikan adanya proses degradasi pigmen, khususnya klorofil dan senyawa polifenol, yang dipengaruhi oleh paparan oksigen serta kondisi penyimpanan. Kerusakan senyawa bioaktif tersebut tidak hanya berdampak pada aspek fisik seperti penurunan kualitas visual, tetapi juga dapat mengurangi kemampuan antimikroba alami yang dimiliki bahan herbal. Selain itu, Proses pengeringan dengan penerapan suhu

tinggi atau durasi pemanasan yang berkepanjangan dapat mempercepat terjadinya degradasi termal serta oksidasi pada senyawa bioaktif. Paparan panas berlebih mampu menyebabkan kerusakan struktur kimia, termasuk melalui reaksi oksidatif dan demetilasi, serta memicu peningkatan intensitas reaksi Maillard dan oksidasi lipid yang pada akhirnya berkontribusi terhadap penurunan kadar polifenol dan perubahan warna menjadi lebih gelap (Stepheus *et al.*, 2023).

Konsisten dengan temuan tersebut, Liaotrakoon *et al.*, (2022) menjelaskan bahwa serbuk herbal dengan tingkat perubahan warna yang tinggi cenderung mengalami perubahan pada aktivitas mikrobiologis dibandingkan bahan yang mempertahankan stabilitas warna, sebagai akibat dari menurunnya kandungan senyawa antimikroorganisme. Kondisi ini menunjukkan bahwa peningkatan perubahan warna berkorelasi dengan meningkatnya dinamika mikroba, baik berupa pertumbuhan jumlah mikroorganisme maupun perubahan struktur komunitas mikroba yang bertahan selama penyimpanan. Penjelasan ini diperkuat oleh Said & Ibtissem (2022) yang menyatakan bahwa perubahan organoleptik, terutama warna, dapat berfungsi sebagai indikator awal terjadinya kontaminasi mikrobiologis pada simplisia yang disimpan pada suhu ruang. Dengan demikian, hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa pergeseran warna simplisia daun alpukat dari hijau tua menjadi cokelat mencerminkan awal terjadinya penurunan mutu fisik dan potensi penurunan kualitas mikrobiologis, walaupun tingkat cemaran yang ditemukan masih berada dalam ambang batas keamanan sesuai regulasi BPOM.

4.3 Perspektif Sains dan Islam terhadap Hasil Penelitian

4.3.1 Ayat-Ayat Qauliyah dan Kauniyah Dalam Simplisia

Ayat-ayat qauliyah memberikan dasar normatif terhadap pentingnya menjaga kualitas bahan alam dan mengolahnya dengan cara yang benar. QS. An-Nahl ayat 11 yang menyebutkan bahwa Allah menumbuhkan berbagai tanaman sebagai rezeki dan manfaat bagi manusia menunjukkan bahwa setiap tumbuhan memiliki potensi terapeutik yang harus dimanfaatkan secara bertanggung jawab. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa simplisia daun alpukat mengalami perubahan mutu selama penyimpanan dan memiliki potensi tercemar bakteri jika kondisi penyimpanannya tidak sesuai. Hal ini sejalan dengan QS. Al-A'raf ayat 56 yang menegaskan larangan melakukan kerusakan setelah Allah memperbaiki bumi. Ayat tersebut menuntut manusia untuk menjaga higienitas, kebersihan, dan kualitas bahan yang digunakan untuk pengobatan agar tidak menjadi sumber kemudaratan (Zulkifli *et al.*, 2023). Dengan demikian, wahyu mendorong pentingnya standar mutu dan keamanan simplisia sebagaimana ditunjukkan dalam penelitian ini, menguatkan bahwa menjaga kualitas bahan herbal merupakan bentuk ketaatan terhadap perintah Allah dalam memelihara kemaslahatan (maslahah mursalah).

Fenomena alam yang diamati dalam penelitian seperti perubahan warna simplisia, oksidasi pigmen, dan pertumbuhan mikroba adalah wujud dari ayat-ayat kauniyah, yaitu tanda-tanda keteraturan ciptaan Allah SWT. Menurut Hidayatullah *et al.*, (2021) Proses-proses kimiawi seperti degradasi klorofil, oksidasi polifenol, dan reaksi enzimatik selama penyimpanan simplisia merupakan bukti bahwa alam bekerja berdasarkan hukum yang teratur. Selain itu, kestabilan senyawa aktif dalam herbal

sangat dipengaruhi oleh kondisi penyimpanan, sebuah studi menemukan bahwa senyawa seperti luteolin, quercetin, apigenin, dan sinensetin adalah tidak stabil setelah beberapa jam penyimpanan. Fenomena ini menegaskan bahwa penelitian ilmiah terhadap simplisia tidak lepas dari pemahaman bahwa alam adalah ayat kauniyah yang harus dikelola dengan bijaksana.

4.3.2 Integrasi Sains dan Islam pada Temuan Penelitian

Dalam penelitian ini, sains dan Islam terintegrasi secara nyata melalui penerapan prinsip *halalan thayyiban* dan upaya menjaga keamanan bahan herbal. Misalnya, analisis kualitas simplisia dan pengujian stabilitas senyawa aktif menunjukkan bahwa penyimpanan yang tidak tepat bisa mengurangi efektivitas dan menimbulkan risiko kontaminasi. Karena itu, metode ilmiah seperti pengujian cemaran mikroba dan kontrol kondisi penyimpanan bukan hanya prosedur teknis, tetapi wujud tanggung jawab moral (amanah) yang sejalan dengan prinsip syariah untuk menjaga jiwa (*hifzh an-nafs*) dan menjamin kemaslahatan umat. Nilai-nilai ini diperkuat oleh studi ilmiah sebelumnya yang menyatakan bahwa kontrol kualitas tradisional herbal sangat penting agar produk herbal aman dan efektif (Ainiyah *et al.*, 2020). Dengan demikian, penelitian ini menjadi jembatan antara nilai-nilai religius dan praktik ilmiah modern. Statement sains dalam penelitian ini menyajikan fakta empiris hasil pengujian simplisia, sedangkan statement Islam memberikan landasan nilai melalui ayat-ayat Al-Qur'an. Pendekatan Islam hadir sebagai integrasi yang menyatukan pemahaman ilmiah dan spiritual sehingga penelitian tidak hanya menghasilkan temuan teknis, namun juga menguatkan akhlak dalam menjaga alam yang merupakan amanah Allah

4.3.3 Hikmah Penelitian dan Kesadaran

Hikmah yang muncul dari penelitian ini adalah kesadaran bahwa alam semesta berfungsi sebagai sistem yang sangat teratur, dan manusia diberikan amanah untuk menjaga keteraturan ini. Penelitian menemukan bahwa simplisia yang disimpan dalam kondisi buruk dapat mengalami degradasi kimia dan risiko kontaminasi, yang mengingatkan bahwa manusia tidak boleh hanya mengeksplorasi alam secara sembarangan. Kesadaran ini mencerminkan konsep semesta berakhlak, di mana manusia harus menggunakan akalnya untuk memahami hukum alam dan akhlaknya untuk menjaga amanah ciptaan Allah SWT (Ainiyah *et al.*, 2020). Selain itu, prinsip *halalan thayyiban* yang diterapkan dalam penelitian menunjukkan bahwa kualitas moral dan ilmiah saling terkait: menjaga kualitas bahan herbal adalah bagian dari ibadah dan tanggung jawab ekologis. Penelitian ini, dengan demikian, bukan hanya kontribusi ilmiah, tetapi juga kontribusi etis dan spiritual untuk membangun kesadaran bahwa memelihara alam adalah bagian dari akhlak Islam.

BAB V **PENUTUP**

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. Serbuk simplisia daun alpukat (*Persea americana* Mill.) tidak mengandung bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella* spp. selama masa penyimpanan hingga 19 bulan, sedangkan bakteri *Enterobactericeae* ditemukan pada penyimpanan 19 bulan, namun dalam jumlah kecil sejumlah 364 CFU/g yang masih dibawah batas maksimum cemaran bakteri *Enterobacteriaceae* pada serbuk simplisia yang diperbolehkan oleh FHI (Farmakope Herbal Indonesia) sekitar ($\leq 10^3$ koloni/g), sehingga serbuk simpisia daun alpukat masih aman untuk digunakan sebagai obat tradisional.
2. Selama masa penyimpanan hingga 19 bulan, serbuk simplisia daun alpukat mengalami perubahan warna dari hijau tua menjadi cokelat tua, Perubahan ini mengindikasikan terjadinya oksidasi pigmen alami dan degradasi senyawa fenolik yang dapat dijadikan indikator awal penurunan mutu fisik simplisia.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, disarankan agar pengawasan mutu perlu dilakukan secara berkala, baik terhadap kelompok *Enterobacteriaceae* sebagai indikator kebersihan lingkungan maupun terhadap perubahan warna simplisia sebagai parameter pendukung stabilitas fisik. Penelitian lanjutan disarankan untuk menganalisis kadar senyawa bioaktif serbuk simplisia daun alpukat pada tiap periode

penyimpanan guna mengetahui hubungan antara penurunan kadar senyawa aktif dengan perubahan warna dan kemampuan simplisia sebagai tanaman herbal. Selain itu, metode sterilisasi tambahan seperti penyinaran ultraviolet atau penyimpanan dalam kondisi vakum dapat dipertimbangkan untuk menjaga kestabilan mikrobiologis serta memperpanjang masa simpan simplisia tanpa mengurangi kandungan senyawa aktifnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, F. (2019). *Uji bakteriologis coliform dan Escherichia coli pada air tanah bebas.*
- Alfath, T. (2023). Standar Halal Dalam Industri Obat-Obatan Dan Herbal. *Jurnal Ekonomi Industri Halal*. 3(1): 30-44.
- Alharbi, S. F., Altbah, A. I., Mohammed, A. H., Alrasheed, M. A., Ismail, M., Allemailem, K. S., Alnuqaydan, A. M., Baabdullah, A. M., & Alkhalfah, A. (2024). Microbial and Heavy Metal Contamination In Herbal Medicine: A Prospective Study In The Central Region of Saudi Arabia. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 24(1).
- Alnour, T. M. S., Ahmed-Abakur, E. H., Elssaig, E. H., Abduhier, F. M., & Ullah, M. F. (2022). Antimicrobial synergistic effects of dietary flavonoids rutin and quercetin in combination with antibiotics gentamicin and ceftriaxone against *E. coli* (MDR) and *P. mirabilis* (XDR) strains isolated from human infections: Implications for food–medicine interactions. *Italian Journal of Food Science*, 34(2), 34–42.
- Anggorowati, A., Priandini, Minuman, S., Herbal, T., Kaya Antioksidan, Y., Dwi, G., Thufail, Prodi, & Kimia, T. (2016). *Potensi Daun Alpukat sebagai Minuman Herbal Dwi .Gita. Thufail Potensi Daun Alpukat (Persea americana Miller)*.
- Ahiabor K, W., Darkwah, S., & Donkor, E., S. 2024. Microbial Contamination of Herbal Medicines in Africa, 2000-2024: A Systematic Review. *Environmental Health Insights*. 18(1):1-18.
- Ainiyah, Q., E., Anggia, V., Supandi (2020). Review of Adulterated Herbal Products and Supplements and Methods of Analysis. *Pharmaceutical and Biomedical Sciences Journal*. 2(2):53-64.
- Ardiansyah R. 2019. *Alpukat*. Surabaya : JP Books.
- Armstrong, B., Brockbank, K., & Clayton, J. (2014). *Understand the Effects of Moisture on Powder Behavior.*
- Asyifyan, M. A., & Sujianto, A. E. (2019). Pelatihan Generasi Millennials Melalui Transformasi Daun Alpukat Menjadi Minuman Menyehatkan dan Menyegarkan. *Jurnal Abdi Masyarakat*, 2(2).

- Aviyani, R., & Afandi, A. (2025). Perbandingan Kualitas Mikrobiologi Sebelum dan Sesudah Pasteurisasi Pada Susu Segar di PT X. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Seri IV Fakultas Sains Dan Teknologi*, 2(2).
- Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia.* (2018). Pedoman Cara Pembuatan Obat Yang Baik.
- Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia.* (2019). Jilid 1. Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan
- Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia.* (2023). Persyaratan Keamanan Obat Bahan Alam.
- Barden, L., & Decker, E. A. (2013). Lipid Oxidation In Low-Moisture Food: A Review. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 56, Issue 15, pp. 2467–2482).
- Bustos, G., V., Cabañero-Navalón, M. D., & Lletí, M. S. (2022). Resistance to Beta-lactams in Gram-negative bacilli: Relevance and Potential Therapeutic Alternatives. *Revista Espanola de Quimioterapia*, 35, 1–15.
- Candra Y, R, A., Mohammad E, W., Sheila M., Y, Arief M., Freshinta J., W. (2022). Uji Kualitas (Organoleptis, Eber) dan Identifikasi Cemaran *Salmonella Sp.* Pada Daging Ayam Dari Pasar Tradisional di Surabaya Barat. *Jurnal Ilmu Peternakan dan Veteriner Tropis (Journal of Tropical Animal and Veterinary Science)*, 12(1).
- Clough, S. E., Jousset, A., Elphinstone, J. G., & Friman, V. P. (2022). Combining In Vitro and In Vivo Screening to Identify Efficient *Pseudomonas* Biocontrol Strains Against The Phytopathogenic Bacterium *Ralstonia Solanacearum*. *MicrobiologyOpen*, 11(2).
- Condalab. Salmonella Shigella Agar (SS Agar) Selective medium for the isolation of Salmonella and Shigella Practical information Applications Categories Selective isolation Salmonella Selective isolation Shigella Industry: Clinical Principles and uses.* (2019).
- Dabo, Kwasen Isaac Zechariah, Goewam Pauline, Musa Nanre Naomi, Solomon Panshak Dawal, & Anna Sylvanus Vwamkat. (2023). Assessment of Microbial Contamination of Solid Herbal Medicine sold in Makurdi Metropolis. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 21(2), 496–505.

- De Sousa Lima, C. M., Fujishima, M. A. T., de Paula Lima, B., Mastroianni, P. C., de Sousa, F. F. O., & da Silva, J. O. (2020). Microbial Contamination In Herbal Medicines: A Serious Health Hazard to Elderly Consumers. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20(1).
- Diniyah, N., Kostrada, Y., A., Marchianti N., C., A. (2024). Antioxidant activity, Total Phenolics, Flavonoids, Tannin Content of Cassava Leaf (*Manihot esculenta Crantz*) With Different Cooking and Drying Methods. *AIP Conference Proceedings*.
- Doula, R. S. M., Afrin, N., & Shilpi, R. Y. (2021). Occurrence of *Enterobacteriaceae* in medicinal plants sold in local markets of Savar, Dhaka. In *Jahangirnagar University J. Biol. Sci* (Vol. 10, Issue 2).
- Farmakope Herbal Indonesia Edisi III 2017 Kementerian Kesehatan Republik Indonesia 615.1 Ind f.* Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Fatiqin, A., Novita, R., & Apriani, I. (2019). Pengujian *Salmonella* dengan menggunakan media SSA dan *E. coli* menggunakan media EMBA pada bahan pangan. Indobiosains.
- Guba, A., & Rahman, K. M. (2023). Evaluation of Antibiotic Resistance Mechanisms in Gram-Negative Bacteria. In *Antibiotics* (Vol. 12, Issue 11). *Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*.
- Gębczyński, P., Tabaszewska, M., Kur, K., Zbylut-Górska, M., & Śląski, J. (2024). Effect of the Drying Method and Storage Conditions on the Quality and Content of Selected Bioactive Compounds of Green Legume Vegetables. *Molecules*, 29(8).
- Hamidi R., F., Octavianingtyas I., D., Nadawati I., Ekawati, R., E.. (2023). Verifikasi Metode Uji Angka *Enterobacteriaceae* Pada Produk Susu dan Analognya Sesuai SNI ISO 21528-2:2017. *Jurnal SainHealth*. 7(1):1-8.
- Handayani, R. & Rusmita, H. (2017). Uji Daya Hambat Ekstrak Akar Kelakai (*Stenochlaena palustris*) (Burm.f.) Bedd.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Surya Media*. 2(2). 13-26.
- Hidayatullah, M., Yuwono, M., & Primaharinastiti, R. (2022). Optimization Method and Stability Test to Determine Luteolin, Quercetin, Apigenin, and Sinensetin Levels in Herbal Medicines Using TLC-Densitometry. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 9(3), 235–241.
- HiMedia Laboratories Technical Data.* 2024. SS Agar (*Salmonella Shigella* Agar).

- Ibadulloh, I., & Mutaqin, R. S. (2023). Islamic Eco-Theological as Local Wisdom for The Preservation of Natural Environment. *Islam Transformatif: Journal of Islamic Studies*, 6(2), 145.
- Imelda, L. L., D., Firdaus, F. E., Agusta, H., Visca, R., & Anisah, A. (2022). Teknologi Pengemasan Produk Simplisia dan Minuman Herbal Bagi Pelaku UMKM di Lingkungan Pondok Pesantren Riyadhus Shalihin di Desa Babakan Ciangsana Gunung Putri Bogor. *Dedikasi: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 3(1), 77–85.
- Indriani, A, R., Z., Indah Lestari, K., Wahyuni Gayatri, S., & Faisal Syamsu, R. (2022). Fakumi Medical Journal Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana mill*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Mahasiswa Kedokteran*. 2(2):86-92.
- [ITIS] Interagency Taxonomic Information System. 2023. *Escherichia coli*
- Jayani, N. I. E., Hean, M. R., Krisnayanthi, N. L. A., Islamie, R., Rani, K. C., & Parfati, N. (2022). Evaluation of Stability and Quality Characteristics of *moringa* (*Moringa oleifera*) Herbal Tea During Storage. *Food Research*, 6(4), 399–406.
- Juliana, J., & Kurniawan, I. G. A. (2023). Penerapan Kebijakan Pengawasan Obat Tradisional dalam Perspektif Kesehatan Masyarakat. *AL-MANHAJ: Jurnal Hukum Dan Pranata Sosial Islam*, 5(2), 1949–1966.
- Juwita, U., Haryani, Y., & Jose, C. (2014). Jumlah bakteri Coliform dan deteksi *Escherichia coli* pada daging ayam di Pekanbaru (Doctoral dissertation, Riau University).
- Kasiyati, M., St, S., Imun, M., Raudah, S., Si, S., Si, M., Maulani, Y., Tr, S., Kes, M., Kes, E., Ismawatие, S., St, M., Kes, E. R., Khristiani, S. S., Supriyanta, B., Fusvita, A., Martsiningsih, M. A., Yashir, M., Km, M., & Mulyanto, A. (2023). *Pengetahuan Media Untuk Mahasiswa Teknologi Laboratorium Medis Penerbit Cv.Eureka Media Aksara*.
- Kulla, P. D. K., & Herrani, R. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Bawang Lanang (*Allium sativum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal Of Healthcare Technology And Medicine*, 8(2), 1408-1420.
- Lamberti, M., & Escher, F. (2007). Aluminium foil as a Food Packaging Material In Comparison With Other Materials. *Food Reviews International*, 23(4), 407–433.

- Liaotrakona, W., Liaotrakona, V., & Wongsaengthama, W. (2022). Impact of Different Drying Methods on Nutritional, Colour Change, Solubility and Microbial Count of Selected Herbal Plant Powders. *International Journal of Food Studies*, 11(2), 275–286.
- Listi, R., Kasasiah, A., & Saula, L. S. (2022). Identifikasi Cemaran Bakteri Coliform dan *Escherichia coli* Pada Jamu Gendong Dengan Metode Most Probable Number (MPN) di Karawang Timur. *Indobiosains*, 54-60.
- Mancuso, G., Midiri, A., Gerace, E., & Biondo, C. (2021). Bacterial antibiotic resistance: the most critical pathogens. In *Pathogens* (Vol. 10, Issue 10). MDPI.
- Milipore Violet Red Bile Glucose Agar (VRBG Agar; VRBD Agar; Violet Red Bile Dextrose Agar)*. (2018).
- Milipore. EMB Agar (Eosin Methylene Blue Agar)*. (2018).
- Monza. Instructions for use VIOLET RED BILE GLUCOSE (VRBG) AGAR Dehydrated and ready-to-use culture media*. (2022).
- Mu'arofah B., Kusuma Wardani, S., Wahyuni, S., Alfaredho. (2023). Tingkat Kebersihan Telapak Tangan Tenaga Pendidik Laboratorium Klinik Dengan Adanya Bakteri *Enterobacteriaceae*. *Jurnal Riset Pengembangan dan Pelayanan Kesehatan*. (Vol. 2, Issue 2).
- Munukuntla, R., Tiwari, A., Yadav, R. S., Jayanth, A., Verma, S. C., & Singh, R. M. (2024). Microbiological acceptance criteria, specifications of herbal drugs and herbal drug preparations in various pharmacopoeias: a global scenario. *DARU, Journal of Pharmaceutical Sciences*, 32(1), 461–468.
- Muqowwiyah, L. Z., & Dewi, R. K. (2021). Potensi ekstrak daun alpukat sebagai anti kolesterol. *Jurnal Tadris IPA Indonesia*, 1(3), 403-412.
- Mustarichie, R., & Runadi, D. (2021). Isolation and identification of flavonoids from avocado leaves (*Persea americana Mill*). *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 9(6), 34–40.
- Nascimento, A. P. S., Duarte, M. E. M., Rocha, A. P. T., & Barros, A. N. (2025). Bioactive Compounds, Technological Advances, and Sustainable Applications of Avocado (*Persea americana Mill*): A Critical Review. In *Foods* (Vol. 14, Issue 15). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).

- Neyaz, L. A., Alghamdi, H. S., Alghashmari, R. M., Alswat, S. S., Almaghrabi, R. O., Bazaid, F. S., Albarakaty, F. M., Elbanna, K., & Abulreesh, H. H. (2024). A comprehensive review on the current status of culture media for routine standardized isolation of *Salmonella* and *Shigella spp.* from contaminated food. In *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences*.
- Olasunkanmi, A. M., & Ogunyemi, O. (2023). Phytochemical Constituents And Antioxidant Activity Of *Persea americana* Leave. *International Journal of Chemistry Research*, 1–4.
- Onodugo Chinweoma Dympla, Smart Obumneme Obiekezie, & Jubril Egwu Owuna. (2023). Evaluation of Microbiological Criteria and Quality of Packaged Herbal Medicinal Products. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 17(2), 522–537.
- Östbring, K., Sjöholm, I., Rayner, M., & Erlanson-Albertsson, C. (2020). Effects Of Storage Conditions on Degradation of Chlorophyll and Emulsifying Capacity of Thylakoid Powders Produced By Different Drying Methods. *Food (MDPI)*. 9:1-15.
- Pazla R., Jamarun N., Yanti, G., Sari I. N. D., Saputra, I., Susanti, S. (2022). *Potensi Kombinasi Tithonia Diversifolia Dengan Daun Alpukat (Persea americana miller): Sebagai Pakan Alternatif Ternak Kambing*. Indramayu : CV. Adanu Abimata.
- Pasala, C., Katari, S. K., Nalamolu, R. M., Alexander, S. P., Vankadoth, U. N., Pakala, S. R., & Umamaheswari, A. (2021). Lipopolysaccharide. *Journal of Clinical and Scientific Research*, 10(4), 233–239.
- Public Health Ontario. 2016. Employee and organization directory
- Pramono, J. S., Mustaming, M., & Putri, D. S. (2020). Cemaran Bakteri pada Makanan Pempek Produksi Rumah Tangga dan Pabrik Pengolah Makanan. *Health Information: Jurnal Penelitian*, 12(2), 193-200.
- Prastiwi, A., Mudaliana, S., & Juwita, R. (2024). Uji Cemaran Mikroba Simplisia Daun Jati Belanda sebagai Bahan Baku Obat Tradisional. *Proceedings of Life and Applied Sciences Seminar Bioteknologi Nasional (SimBioN)*. 95-101.
- Putra, L. V. D. (2022). Deteksi Cemaran Bakteri *Salmonella spp.* pada Ikan Bandeng Segar (*Chanos chanos*) di Tempat Pelelangan Ikan Gadukan Lumpur Kabupaten Gresik. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, 10(2), 881.

- Putri, A. M., & Kurnia, P. (2018). Identifikasi Keberadaan Bakteri Coliform Dan Total Mikroba Dalam Es Dung-Dung di Sekitar Kampus Universitas Muhammadiyah Surakarta. *Media Gizi Indonesia*, 13(1), 41.
- Putri, V. M., Prayitno, S. A., & Putri, S. N. A. (2024). Analisis Mikrobiologi Pada Produk Garam yang Diproduksi oleh PT.UNIChem Candi Indonesia Berdasarkan Regulasi di Indonesia SNI dan BPOM. *Journal of Food Safety and Processing Technology (JFSPT)*, 1(2), 64.
- Quality control methods for medicinal plant materials.* (1998). World Health Organization.
- Rahmadhita, E., & Iqbal, M. (2024). Zulpakor Oktoba, Nurmasuri, Ramadhan Triyandi| Pharmacological Activity of Avocado Leaf. *Persea americana Mill.) Medula* |, 14, 1249.
- Rajbongshi N., Khalek, A., Rafia, R., Miah., S., Amin, A., Ahmed, S., Islam, MS., Hosen, A. (2022). Comparative Study of Nutritional Compounds and Microbial Analysis of *Moringa Oleifera* (Sajna Leaf) Powder in Different Drying Method during Storage Periods. *SunText Review of Medical & Clinical Research*, 03(02).
- Rana, Y. S., Eberly, P. M., Suehr, Q. J., Hildebrandt, I. M., Marks, B. P., & Snyder, A. B. (2021). Survival of *Escherichia coli* o157:H7 During Moderate Temperature Dehydration of Plant-Based Foods. *Foods*, 10(9).
- Refianto, B., & Irdawati, I. (2020). Enumertion of *Enterobacteriaceae* in Ice-Based School Children Food in Koto Tangah District, Padang West Sumatera. *Bioscience*, 4(1), 39.
- Rustanti, E., Puspita, E., Puspita, S., & Rohmani, S. (2021). Pemanfaatan Tanaman Herbal Daun Alpukat dan Pemeriksaan Kolesterol Darah Pada Lansia. *Jurnal Bhakti Civitas Akademika*, 4(1), 6-6.
- Said D. & Ibtissem O., E. (2022). Microbial Contamination of Medicinal Plants. *Journal of Molecular and Pharmaceutical Sciences*. 2(1):34-44.
- Sanders, E. R. (2012). Aseptic laboratory techniques: Plating methods. *Journal of Visualized Experiments*, 63, 1–18.
- Sapitri, A., Asfianti, V., Diansari Marbun, E., Farmasi dan Ilmu Kesehatan, F., & Sari Mutiara Indonesia, U. (2022). Nomor: 1, Februari 2022 Jurnal Pengabdian Masyarakat Universitas Sari Mutiara Indonesia. In *Jurnal Abdimas Mutiara* (Vol. 3).

- Sari, A. N., Oktaviani, I., Fitriana, F., & Subositi, D. (2020). Identifikasi Mikroba Simplisia Herba Ekinase (*Echinacea purpurea*) dan Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*) Pada Empat Variasi Kemasan dengan Rapid tm One System. *Buletin Penelitian Kesehatan*, 48(1).
- Sari, A. U., Annisa, N., Ibrahim, A., & Rijai, L. (2016, November). Uji aktivitas antibakteri fraksi daun alpukat (*Persea americana* Mill) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* (Vol. 4, pp. 28-34).
- Sari, F. A. F., Wulanningrum, R., & Wahyuniar, L. S. (2023, July). Penggunaan Metode CNN (*Convolutional Neural Network*) untuk Klasifikasi Jenis Tanaman Alpukat Berdasarkan Pola Daun. In *Prosiding SEMNAS INOTEK (Seminar Nasional Inovasi Teknologi)* (Vol. 7, No. 3, pp. 1275-1284).
- Saridewi, I., Pambudi, A., Yulia Fitria Ningrum, dan, studi Biologi, P., Sains dan Teknologi Universitas Al Azhar Indonesia, F. (2016). Analisis Bakteri *Escherichia coli* Pada Makanan Siap Saji di Kantin Rumah Sakit X Dan Kantin Rumah Sakit Y. *Bioma*. 12(2):21-34.
- Sarno, S. (2019). Pemanfaatan Tanaman Obat (Biofarmaka) Sebagai Produk Unggulan Masyarakat Desa Depok Banjarnegara. *Abdimas Unwahas*, 4(2).
- Sarowska, J., Futoma-Koloch, B., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Ksiazczyk, M., Bugla-Ploskonska, G., & Choroszy-Krol, I. (2019). Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. *Gut pathogens*, 11, 1-16.
- Sebayang, S., Rayendra, R., & Wientarsih, I. (2025). Antioxidant Activity and Tyrosinase Inhibition of Avocado (*Persea americana* Mill.) Leaves and Seeds Extracts. *Pharmacognosy Journal*, 17(4), 420–424.
- Setia, R., & Wijayanti, E. D. (2019). Aktivitas Antibakteri Yoghurt Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Dan Lidah Buaya (*Aloe vera*) Terhadap *Escherichia coli*. *Doctoral dissertation, Akademi Farmasi Putera Indonesia Malang*.
- Shi, A., Li, S., Ma, H., Du, X. J., Wang, S., & Lu, X. (2022). Survival of *Salmonella* in Tea Under Different Storage Conditions and Brewing Methods. *Frontiers in Microbiology*, 13.

- Sinaga, B. (2021). Pengaruh metode pengeringan terhadap kualitas simplisia daun jambu biji merah (*Psidium guajava L.*). *Jurnal Jamu Kusuma*, 1(2), 67-75.
- Stephenus, F. N., Benjamin, M. A. Z., Anuar, A., & Awang, M. A. (2023). Effect of Temperatures on Drying Kinetics, Extraction Yield, Phenolics, Flavonoids, and Antioxidant Activity of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. (Mahkota Dewa) Fruits. *Foods*, 12(15).
- Szetela, M., A., Rejda, P., & Wińska, K. (2020). A review of hygienization methods of herbal raw materials. In *Applied Sciences (Switzerland)* (Vol. 10, Issue 22, pp. 1–13). MDPI AG.
- Syamsi, E. M. (2021). Identifikasi Jenis-Jenis Cendawan Kontaminan Pada Beberapa Produk Jamu Serbuk Dengan Kemasan Kertas, Plastik dan Aluminium Foil di Pasar Kebayoran Lama. *Jurnal Pendidikan dan Pembelajaran*. 1(1) : 55-60.
- Thermo. SS Agar (Modified) CM0533B & CM0533K*. (2023). www.thermofisher.com
- Tm 615-Tryptose Sulphite Cycloserine Agar Base Intended Use*. (2019).
- Tristantini, D., Ramadhan, M. R., & Hanifah, A. (2019). Shelf Life Estimation Of Anti-Atherosclerosis Herbs Using ASLT: Critical Water Content and Sorption Isotherms Model. *AIP Conference Proceedings*, 2193.
- Ulasunkanmi, M., A., & Ogunyemi, O. (2023). Phytochemical Constituents And Antioxidant Activity Of *Persea americana* Leave. *International Journal of Chemistry Research*. 7(3) : 1-4.
- Walusansa, A., Nakavuma, J. L., Asiimwe, S., Ssenku, J. E., Aruhomukama, D., Sekulima, T., Kafeero, H. M., Anywar, G., Katuura, E., Nabatanzi, A., Musisi, N. L., Tugume, A. K., & Kakudidi, E. K. (2022). Medically Important Bacteria Isolated From Commercial Herbal Medicines In Kampala City Indicate the Need to Enhance Safety Frameworks. *Scientific Reports*, 12(1).
- Widiyastuti Y. (2020). Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Pengembangan Parameter Standar Simplisia Untuk Menjamin Mutu dan Keamanan Obat Tradisional. *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementrian Kesehatan RI*.
- Yuniarty, T., Hasjim, L., Analis Kesehatan, J., & Kemenkes Kendari, P. (2017). *Uji Daya Hambat Sari Daun Alpukat (Persea americana mill) terhadap Pertumbuhan Escherichia coli*. *HIJP : Health Information Jurnal Penelitian*. 9(2):58-64.

- Zelpina, E., Purnawarman, T., & Lukman, D. W. (2020). Keberadaan Koliform Pada Daging Ayam Suwir Bubur Ayam yang Dijual di Dramaga Bogor. *Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi (Journal of Food Technology and Nutrition)*, 19(1), 1-6.
- Zhou, H., Chen, L., Ouyang, K., Zhang, Q., & Wang, W. (2023). Antibacterial activity and mechanism of flavonoids from *Chimonanthus salicifolius* S. Y. Hu. and its transcriptome analysis against *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Microbiology*, 13:1-15.
- Zulkifli, Nuryaman, & Hafidhoh. (2023). Islamic Approaches To The Environmental Preservation: A Systematic Literature Review. *Al-A'raf Jurnal Pemikiran Islam Dan Filsafat*, 20(2), 176–209.

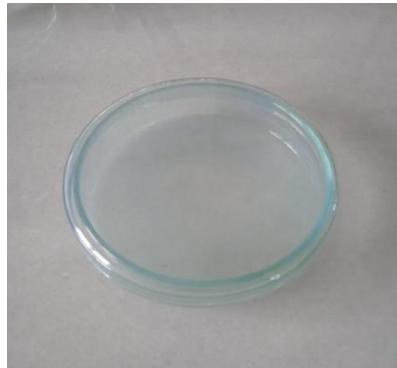
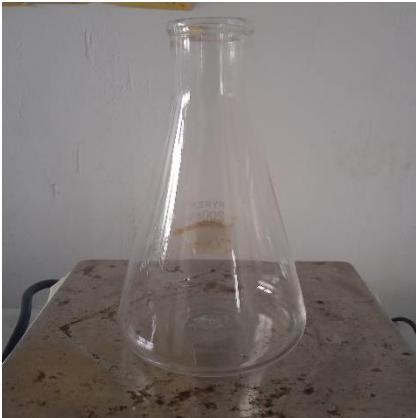
DAFTAR LAMPIRAN

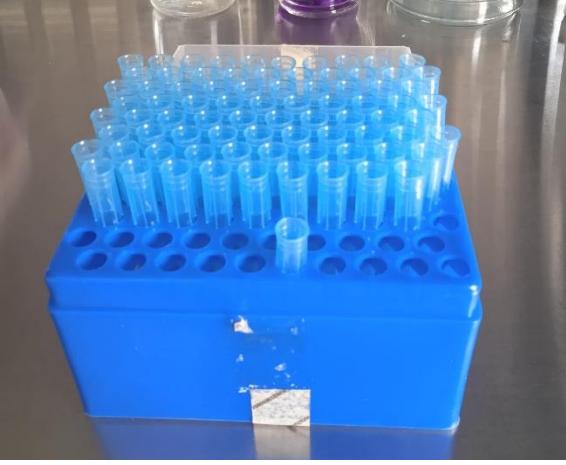
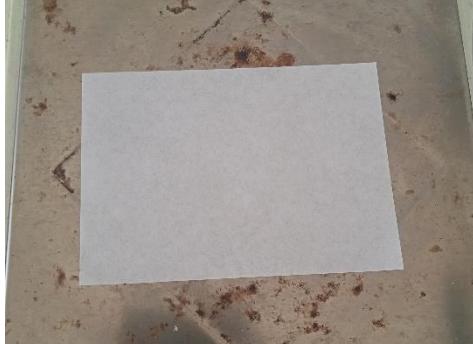
Lampiran 1 Dokumentasi Prosedur Kerja

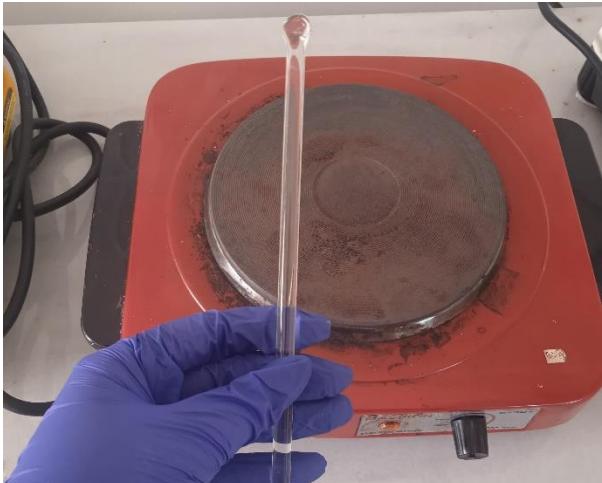
No.	Foto	Keterangan
1.	 	Preparasi alat dan media :
2.		Tahap Sterilisasi

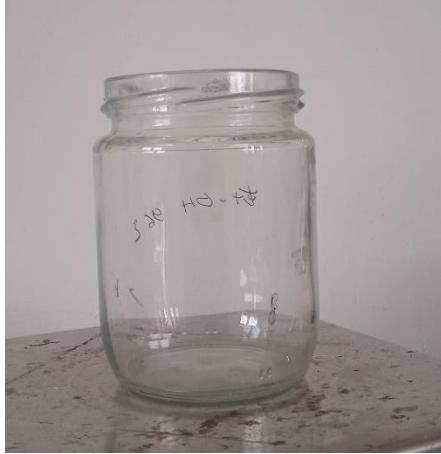
3.		Tahap Pengenceran Sampel
4.		Tahap inokulasi / Penanaman

Lampiran 2 Dokumentasi Alat dan Bahan

No.	Foto	Keterangan
1.	 A clear glass Petri dish with a blue rim, resting on a light-colored surface.	Cawan Petri
2.	 A clear glass Erlenmeyer flask containing some brownish liquid, sitting on a laboratory bench.	Labu Erlemenyer
3.	 A digital analytical balance with a stainless steel weighing pan, connected to a power source.	Timbangan analitik

4.		Autoclave
5.		Blue tip
6.		Kertas perkamen

7.		Lakban kertas
8.		Batang pengaduk
9.		Thermo scientific

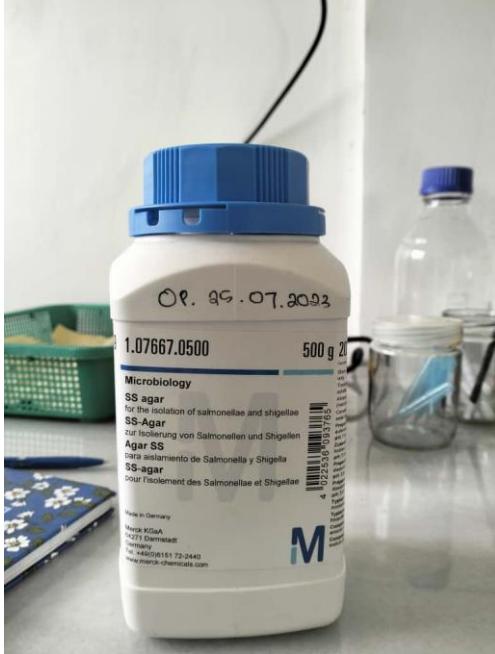
10.		Gunting
11.		Gelas selai
12.		Aluminium foil

13.	 A white cardboard box for 'V60 COFFEE PAPER FILTER' by 'one two cups'. The box is labeled '100 FILTERS' and 'WHITE'. It features a large image of a V60 filter and the text 'Perfect for brewing fresh coffee' and 'No toxic adhesive'. The box is standing upright on a light-colored surface.	Kertas Saring
14.	 A black pen lying horizontally on a dark, textured surface. The pen has several small, white, embossed or printed symbols along its barrel, including what looks like a recycling symbol, a leaf, and some geometric shapes.	Pulpen

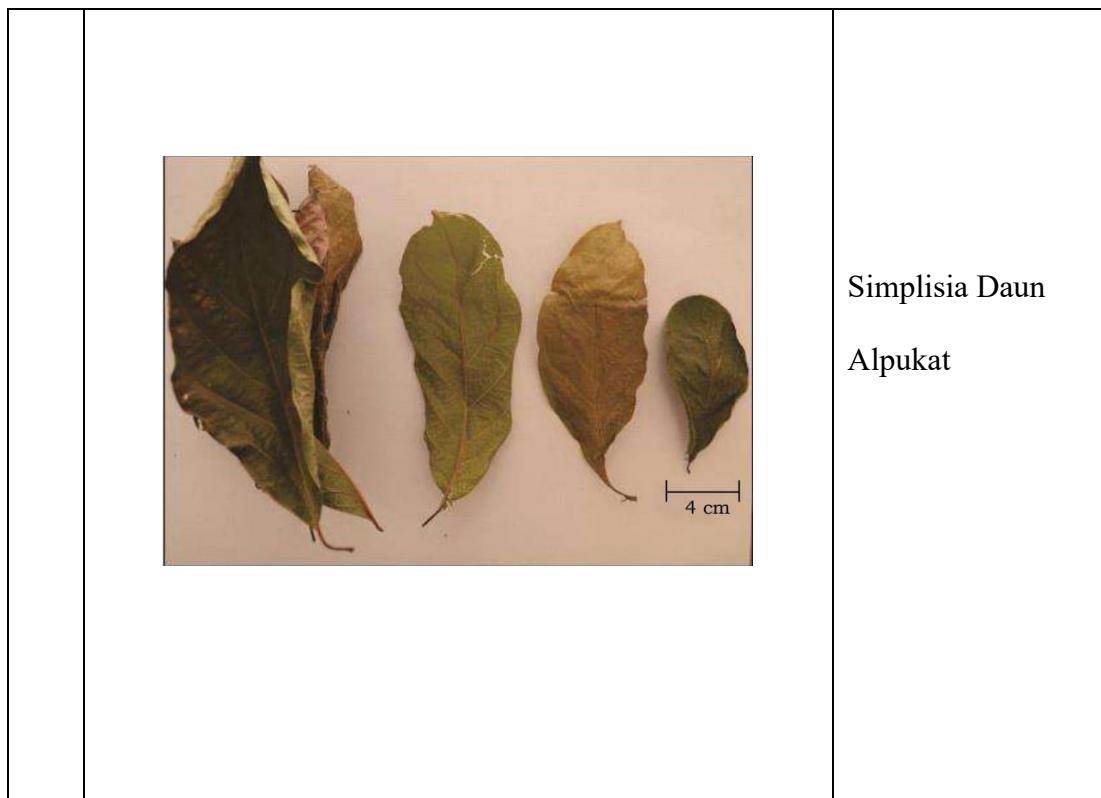
		Glove
16.		Mikropipet

17.		Inkubator
18.		Autoklaf

17.		Larutan Fisiologis
18.		Media EMBA

19.	 A white plastic bottle with a red cap, labeled "OXOID CM0107 VIOLET RED BILE AGAR". The label includes instructions for laboratory use only, a yield of 12.9 litres from 500g, and a pH range of 7.4 to 7.6 at 25°C. It also features a barcode and a "500 Grams" label. <p>OXOID CM0107 VIOLET RED BILE AGAR For laboratory use only 500g makes 12.9 litres Optimal pH range 7.4 to 7.6. Preparation pH 7.0. Sodium chloride 0.5%, Gelatin 0.02%, Agar 12.0%, Yeast extract 0.02%, Bile salt 0.05%. Keep tightly closed, away from bright light. 3684645 202000F 500 Grams</p>	Media VRBGA
20.	 A white plastic bottle with a blue cap, labeled "1.07667.0500 Microbiology SS agar". The label includes instructions for the isolation of salmonellas and shigellae, and a yield of 500g. It is manufactured by Merck KGaA, Darmstadt, Germany. <p>1.07667.0500 500 g Microbiology SS agar for the isolation of salmonellas and shigellae SS-Agar zur Isolation von Salmonellen und Shigellen Agar SS para aislamiento de Salmonella y Shigella SS-agar pour l'isolement des Salmonelles et Shigelles Made in Germany Merck KGaA Darmstadt Germany Tel. +49(0)6151 72-2440 www.merck-chemicals.com</p>	Media SSA

21		<p>Serbuk Simplisia Daun Alpukat (Penyimpanan 12 bulan)</p>
22.		<p>Serbuk Simplisia Daun Alpukat : A (Penyimpanan 19 bulan), B (Penyimpanan 6 bulan).</p>



Simplisia Daun
Alpukat

Lampiran 3. Rumus perhitungan *Enterobacteriaceae*

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

$$n_1 + 0,1 n_2 = 2 + 0,1 \times 2 = 2 + 0,2 = 2,2$$

Masukkan angka :

$$N = \frac{8}{1 \times (2,2 \times 0,1)} = \frac{8}{0,22} = 36,36$$

Jadi N = 36,36 CFU per ml

Konversi ke CFU pergram

$$\text{CFU/g} = \frac{36,36 \text{ CFU/ml}}{0,1 \text{ g/ml}} = 363,6 \text{ CFU/g}$$

Pembulatan : 364 CFU/g

Batas BPOM ($\leq 10^3$ CFU/g = 1000 CFU/g) terpenuhi, karena $364 < 1000$.



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon (0341)551354, Fax. (0341) 572533
Website: http://www.uin-malang.ac.id Email: info@uin-malang.ac.id

JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

IDENTITAS MAHASISWA

NIM	:	210602110027
Nama	:	MUHAMMAD ADZKIYA' RAMADHAN
Fakultas	:	SAINS DAN TEKNOLOGI
Jurusan	:	BIOLOGI
Dosen Pembimbing 1	:	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R.,M.P.
Dosen Pembimbing 2	:	Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN,M.S.I
Judul Skripsi/Tesis/Disertasi	:	Uji Cemaran Bakteri Escherichia coli, Enterobacteriace, Clostridia, Salmonella dan Shigella Pada Serbuk Simplicia Daun Alpukat (Persea americana)

IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	02 September 2025	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R.,M.P.	Konsultasi ganti judul	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
2	08 September 2025	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R.,M.P.	Judul baru bimbingan bab 1-3	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
3	01 Oktober 2025	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R.,M.P.	Ganti judul dan bimbingan bab 1-3	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
4	09 Oktober 2025	Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN,M.S.I	Konsultasi integrasi bab 1-2	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
5	17 Oktober 2025	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R.,M.P.	Revisi bab 1-3	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
6	23 Oktober 2025	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R.,M.P.	Bimbingan bab 4	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
7	31 Oktober 2025	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R.,M.P.	Bimbingan bab 4 dan ACC naskah	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
8	04 November 2025	Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN,M.S.I	Bimbingan integrasi bab 4	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
9	24 November 2025	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R.,M.P.	Revisi naskah	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
10	26 November 2025	Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN,M.S.I	Revisi integrasi	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi

Telah disetujui
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Desertasi

Dosen Pembimbing 2

Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN, M.S.I.

Malang, _____
Dosen Pembimbing 1

Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R.,M.P.





KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
 Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama : Muhammad Adzkiya Ramadhan

NIM : 210602110027

Judul : Uji Cemaran Bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella*, dan *Enterobacteriaceae*
 Serta Perubahan Warna Serbuk Simplicia Daun Alpukat Selama Penyimpanan

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc	13%	

