

Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan ringkas mungkin. Dilarang menghapus/memodifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

C. **HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN:** Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian dapat berupa data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

Hasil pelaksanaan penelitian terbagi dalam 3 tahapan :

- A. Produk senyawa hasil ekstraksi senyawa aktif daun kelor
- B. Produk pangan fungsional berbasis daun kelor
- C. Aktivitas ekstrak dan senyawa aktif daun kelor dalam menghambat proliferasi sel kanker.

A. Produk senyawa hasil ekstraksi senyawa aktif daun kelor

1. Ekstraksi sampel daun kelor

Daun kelor ± 3082 g dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di tempat terbuka yang terlindung dari cahaya matahari. Pengeringan tanpa cahaya matahari bertujuan untuk mencegah kerusakan senyawa aktif akibat cahaya matahari. Pengeringan berlangsung selama ± 4 hari sampai daun kelor benar-benar kering. Daun kelor kering 760 g dirajang sampai menjadi serbuk kasar dengan rendemen 21,74%. Artinya kadar air yang hilang pada proses pengeringan daun kelor sebesar 78,26%. Proses penarikan komponen kimia yang terkandung dalam daun kelor dilakukan dengan ekstraksi secara maserasi. Serbuk kasar daun kelor sebanyak 670 g dimaserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Sebelum digunakan pada maserasi, metanol dimurnikan dengan cara diredestilasi. Metanol digunakan untuk menarik senyawa kimia karena memiliki struktur molekul yang kecil yang mampu menembus semua jaringan tumbuhan untuk menarik senyawa aktif keluar. Semakin lama waktu ekstraksi, kesempatan untuk bersentuhan makin besar sehingga hasilnya juga bertambah sampai titik jenuh larutan. Kontak antara sampel dan pelarut dapat ditingkatkan apabila dibantu dengan pengadukan. Proses maserasi dilakukan selama 3x24 jam dan penyaringan dilakukan setiap 1x24 jam. Hasil penyaringan berupa maserat dan residu. Maserat ditampung kedalam wadah yang tertutup/toples dan residu dimaserasi kembali dengan metanol yang baru.

Maserat total yang diperoleh, dievaporasi menggunakan *vacum rotary evaporator* pada suhu 40°C. Evaporasi bertujuan untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak. Proses penguapan pelarut terjadi di bawah suhu titik didih pelarutnya sehingga tidak merusak senyawa aktif pada ekstrak. Hasil evaporasi adalah ekstrak kental metanol sebanyak 111,89 g. Rendemen yang dihasilkan dari ekstrak kental metanol sebesar 16,7 %. Rendemen tersebut merupakan persentase antara bagian yang dapat terekstrak dari keseluruhan daun kelor yang dimaserasi.

2. Fraksinasi ekstrak daun kelor

Fraksinasi dilakukan dengan metode partisi cair-cair menggunakan corong pisah. Ekstrak kental metanol sebanyak 100 g dipartisi menggunakan corong pisah. Partisi bertujuan untuk memisahkan komponen kimia dalam fraksi-fraksi berdasarkan perbedaan tingkat kepolaran di mana komponen kimia yang berbeda kepolarannya akan terdistribusi kedalam pelarut yang sesuai dengan kepolarannya. Ekstrak kental metanol disuspensi dengan metanol dan air dengan menggunakan perbandingan 1:2 dalam (50 mL:100 mL). Kemudian dipartisi secara bertahap menggunakan n-heksan dan etil asetat. Partisi dengan n-heksan bertujuan untuk memisahkan komponen non polar dari suspensi metanol-air yang bersifat polar sedangkan partisi dengan etil asetat untuk memisahkan komponen semi polar.

Suspensi metanol-air dimasukkan kedalam corong pisah dan ditambahkan n-heksan 50 mL. Agar terpisah dengan

baik, corong pisah dikocok sampai terjadi pemisahan antara kedua fraksi yang ditandai dengan terbentuk dua lapisan pada corong pisah. Komponen yang larut dalam n-heksan berada di lapisan atas karena massa jenis n-heksan (0,4 g/mL) lebih kecil dari pada massa jenis air (1 g/mL). Setelah terjadi pemisahan, masing-masing fraksi dipisahkan dan ditampung yaitu fraksi n-heksan dan fraksi metanol-air. Partisi dilakukan sebanyak (6x50 mL) untuk mengoptimalkan pemisahan. Kemudian partisi dilanjutkan dengan etil asetat. Fraksi metanol-air dimasukkan kembali kedalam corong pisah dan dipartisi dengan etil asetat 50 mL. Kemudian corong pisah dikocok sampai terjadi pemisahan yaitu terbentuk dua lapisan. Komponen yang larut dalam fraksi etil asetat berada di lapisan atas karena massa jenis etil asetat (0,66 g/mL) lebih kecil dari pada massa jenis air (1 g/mL). Setelah terjadi pemisahan, masing-masing fraksi dipisahkan dan ditampung yaitu fraksi etil asetat dan fraksi metanol-air. Partisi dengan etil asetat dilakukan sebanyak (6x50 mL) untuk mengoptimalkan pemisahan.

Hasil dari fraksinasi adalah fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat. Kedua fraksi tersebut dievaporasi untuk memisahkan ekstrak dengan pelarutnya. Proses evaporasi menggunakan *vacum rotary evaporator* pada suhu 40°C. Hasil evaporasi adalah ekstrak etil asetat 10,87 g yang berwarna coklat tua dan ekstrak n-heksan 21,15 g yang berwarna hijau kehitaman. Persentase bagian yang dapat difraksinasi dari ekstrak kental metanol dinyatakan dalam bentuk rendemen. Rendemen ekstrak n-heksan lebih besar dibanding rendemen ekstrak etil asetat. Hal ini menunjukkan bahwa dalam ekstrak metanol, komponen nonpolar yang dapat difraksinasi lebih banyak dibandingkan komponen semi polar. Penarikan komponen kimia oleh etil asetat dapat terjadi karena adanya gugus etoksi pada etil asetat menyebabkan etil asetat dapat membentuk ikatan hidrogen dengan senyawa aktif dari ekstrak metanol.

3. Skrining Fitokimia

Ekstrak yang diperoleh pada tahap maserasi dan tahap fraksinasi dilakukan skrining fitokimia. Adapun ekstrak yang diskriminasi fitokimia yaitu ekstrak metanol, etil asetat, dan ekstrak n-heksan. Skrining fitokimia terhadap semua ekstrak bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak hasil maserasi dan ekstrak fraksinasi. Skrining fitokimia yang dilakukan terdiri dari uji flavonoid, alkaloid, steroid, triterpenoid dan saponin.

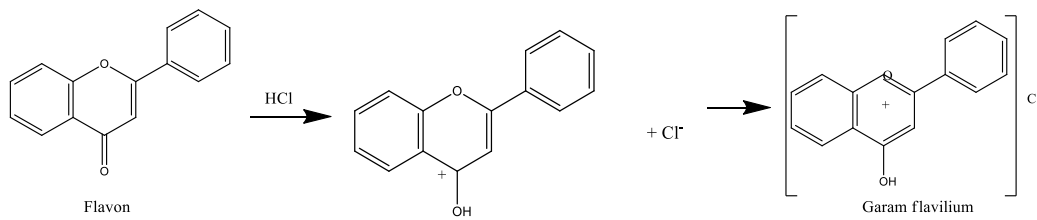
Tabel 1. Hasil skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder

Ekstrak	Skrining fitokimia	Pereaksi	Perubahan dengan pereaksi
Metanol	Flavonoid	HCl _{pekat} + Mg	Hijau tua-hijau kekuningan (+) flavonoid
		H ₂ SO ₄ pekat	Hijau tua-Hijau kekuningan (+) flavonoid
		NaOH	Hijau tua-Hijau kekuningan (+) flavonoid
	Alkaloid	Dragendrof	Hijau tua-Endapan jingga (+) alkaloid
		Wagner	Hijau tua-Tak ada endapan (-) alkaloid
		Mayer	Hijau tua-Tidak ada endapan (-) alkaloid
		Hager	Coklat -Tidak ada endapan (-) alkaloid
	Triterpenoid	Asam asetat + H ₂ SO ₄ pekat	Hijau tua-Coklat kehijauan (+) triterpenoid
			Hijau tua-Coklat kehijauan (+) steroid
			Tidak terbentuk buih (-) saponin
Steroid	Asam asetat + H ₂ SO ₄ pekat	Hijau tua-Coklat kehijauan (+) steroid	
Saponin	H ₂ O + HCl _{pekat}	Tidak terbentuk buih (-) saponin	
Etil asetat	Flavonoid	HCl _{pekat} + Mg	Kuning kecoklatan-Jingga (+) flavonoid

		NaOH	Kuning kecoklatan- jingga	(+) flavonoid
		H ₂ SO ₄ pekat	Kuning kecoklatan-Jingga	(+) flavonoid
Alkaloid	Dragendroff		Kuning kecoklatan -Endapan jingga	(+) alkaloid
	Mayer		Kuning kecoklatan-tidak ada endapan	(-) alkaloid
	Hager		Kuning kecoklatan-tidak ada endapan	(-) alkaloid
	Wagner		Kuning kecoklatan-tidak ada endapan	(-) alkaloid
Triterpenoid	Asam asetat + H ₂ SO ₄ pekat		Kuning kecoklatan-Coklat	(+) triterpenoid
Steroid	Asam asetat + H ₂ SO ₄ pekat		Kuning kecoklatan-Coklat	(-) steroid
n-heksan	Flavonoid	HCl pekat + Mg	Hijau kehitaman-Tidak ada perubahan	(-) flavonoid
		H ₂ SO ₄ pekat	Hijau kehitaman-Tidak ada perubahan	(-) flavonoid
		NaOH	Hijau kehitaman- Tidak ada perubahan	(-) flavonoid
		Dragendrof	Hijau kehitaman-Tidak ada endapan	(-) alkaloid
Alkaloid	Mayer		Hijau kehitaman-Tidak ada endapan	(-) alkaloid
	Hager		Hijau kehitaman-Tidak ada endapan	(-) alkaloid
	Wagner		Hijau kehitaman-Tidak ada endapan	(-) alkaloid
	Triterpenoid	Asam asetat + H ₂ SO ₄ pekat		Hijau kehitaman-Hijau terang
Steroid	Asam asetat + H ₂ SO ₄ pekat		Hijau kehitaman-Hijau terang	(+) steroid

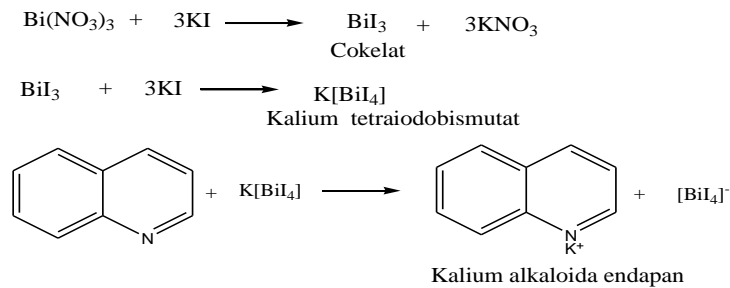
Berdasarkan Tabel 1 hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak hasil maserasi yaitu ekstrak metanol menunjukkan hasil positif (+) terhadap uji flavonoid, alkaloid, steroid, dan triterpenoid. Pada ekstrak hasil fraksinasi yaitu ekstrak n-heksan menunjukkan hasil positif (+) terhadap uji steroid dan pada ekstrak etil asetat menunjukkan hasil positif (+) terhadap uji flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid.

Ekstrak positif terhadap uji flavonoid yang ditandai dengan perubahan warna dari kuning kecoklatan menjadi jingga dengan menggunakan pereaksi HCl ditambah serbuk Mg. Perubahan warna tersebut diduga merupakan reaksi pembentukan garam flavilium. Senyawa flavon dan flavonol dengan asam klorida menghasilkan garam benzopirilium yang berwarna yang disebut garam flavilium. Garam ini bila direaksikan kembali dengan basa menghasilkan kembali senyawa semula (Achmad, 1986). Hal ini diperkuat oleh Prashant, 2011 dalam (Setyowaty, dkk., (2014) di mana asam klorida dan magnesium bereaksi membentuk gelembung-gelembung yang merupakan gas H₂, sedangkan asam klorida dan logam magnesium pada uji ini berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terjadi perubahan warna menjadi merah atau jingga. Adapun perkiraan reaksi yang terjadi antara senyawa flavonoid dengan menggunakan pereaksi HCl ditambah serbuk Mg ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Perkiraan reaksi antara senyawa Flavonoid dengan HCl + serbuk Mg (Achmad, 1986).

Pada uji alkaloid menggunakan pereaksi Dragendroff terhadap ekstrak yang menunjukkan hasil positif (+) mengandung alkaloid yang ditandai dengan terbentuknya endapan jingga. Hal ini diperkuat oleh Svehla 1990 dalam (Setiaji, 2014) senyawa positif mengandung senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Adapun perkiraan reaksi yang terjadi pada senyawa alkaloid dengan menggunakan pereaksi Dragendroff ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Perkiraan reaksi senyawa alkaloid dengan pereaksi Dragendroff

Berdasarkan persamaan reaksi pada Gambar 2. ion logam K^+ membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan senyawa alkaloid sehingga membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap berwarna jingga.

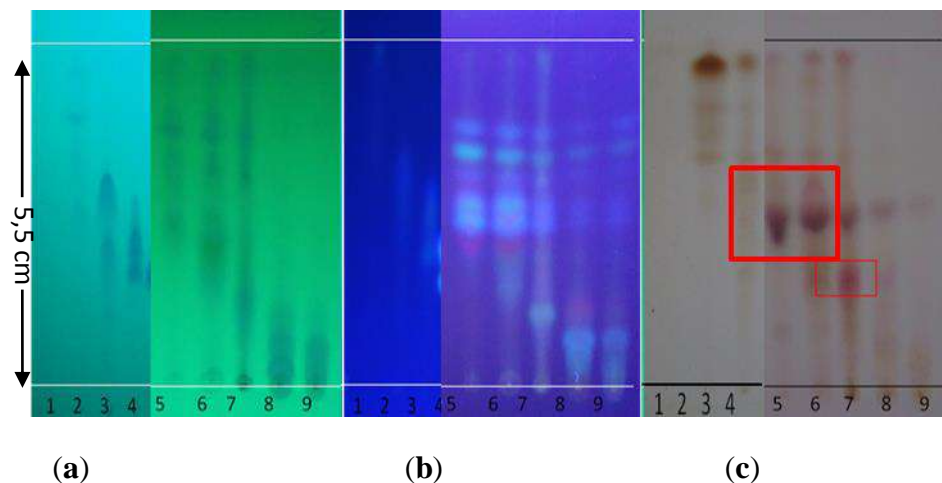
4. Isolasi senyawa dari fraksi n-heksana daun kelor

Kromatografi lapis tipis dilakukan untuk melihat pola kromatogram senyawa pada ekstrak n-heksana. Analisis kromatografi lapis tipis dilakukan menggunakan fase diam plat silika gel 60 GF₂₅₄ dengan fase gerak tertentu. Ekstrak dilarutkan pada pelarut yang cocok dan ditotolkan pada plat KLT yang berukuran 1x6 cm dan dielusi dengan perbandingan eluen. Setelah dielusi, bercak noda diamati dengan menggunakan lampu UV karena dengan lampu UV bercak noda dapat dilihat dengan jelas. Ekstrak pekat n-heksana (7,0 g) dipisahkan komponen senyawa kimia penyusunnya menggunakan metode kromatografi cair kolom terbuka dengan fasa diam silika gel G60 (70-230 mesh), fase geraknya n-heksana dan etil asetat, secara gradien, 10% dan dihasilkan 11 fraksi. Komposisi pelarut yang digunakan terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi pelarut kromatografi kolom ke-1 ekstrak etil asetat (19-01) dengan volume tampungan 500 ml/fraksi.

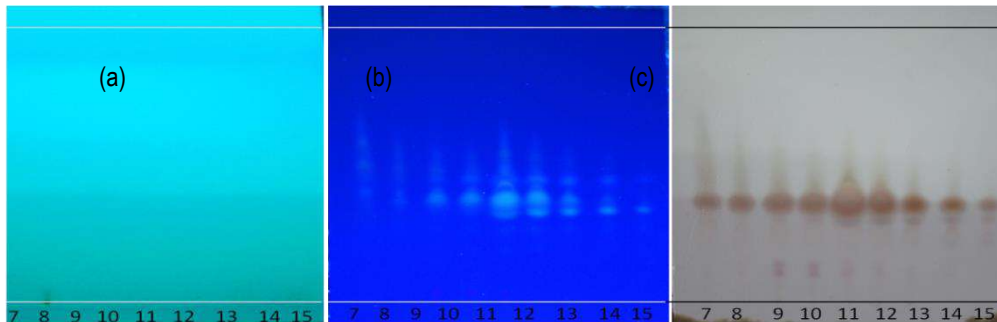
Fraksi	Sistem pelarut (mL)	
	<i>n</i> -heksana	Etil asetat
01	500,0	0
02	450	50
03	400	100
04	350	150
05	300	200
06	250	250
07	200	300
08	150	350
09	100	400
10	50	450
11	0	500

Analisis pemisahan komponen senyawa hasil kolom kromatografi fraksi (1-11) dilakukan dengan menggunakan metoda kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fasa diam silika gel G60 F₂₅₄. Analisis menggunakan metode KLT disebabkan selain mudah, juga bisa dengan cepat mengetahui pemisahan suatu senyawa oleh pelarut.



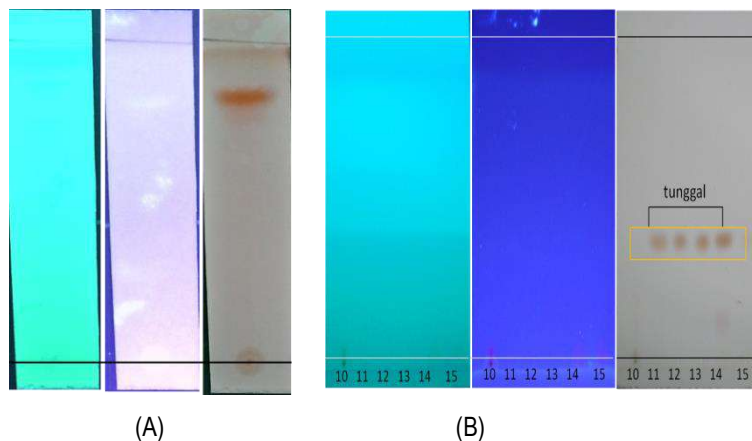
Gambar 3. Kromatogram KLT menggunakan plat silika gel GF₂₅₄ fraksi 01-09 pelarut *n*-heksana-etil asetat (8:2). Gambar (a) kromatografi di bawah lampu UV λ 254; (b) kromatografi dibawah lampu UV λ 365; (c) setelah menggunakan zat penampak noda 10% H₂SO₄ dalam etanol

Uji kemurnian isolat hasil kromatografi kolom dilakukan menggunakan teknik analisis kromatografi lapis tipis (KLT). Pada analisis KLT fraksi yang memiliki warna noda, jumlah noda dan nilai R_f yang sama dianggap satu fraksi. Warna noda diamati lebih teliti dengan menggunakan lampu UV sedangkan nilai R_f dihitung dengan mengukur bercak noda langsung. Selanjutnya fraksi 5 dan 7 digabungkan kemudian dikolom secara isokratik dengan pelarut pelarut *n*-heksana-etil asetat (9,5:0,5). Hasil pemurnian ini diperoleh 20 tampungan. Selanjutnya pada tampungan 7-15 dilakukan analisis komponen senyawanya dengan menggunakan KLT fasa diam silika dan eluen *n*-heksana dan etil asetat (8:2). Hasil analisis terlihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Kromatogram KLT menggunakan plat silika gel GF₂₅₄ fraksi 07 sampai 15 pelarut *n*-heksana-etil asetat (8:2). Gambar (a) kromatografi dibawah lampu UV λ 254; (b) kromatografi dibawah lampu UV λ 365; (c) setelah menggunakan zat penampak noda 10% H₂SO₄ dalam etanol.

Berdasarkan Gambar 4 terlihat bahwa hasil pemisahan fraksi 5 dan 7 belum memiliki satu spot. Selanjutnya fraksi 7 s/d 11 digabungkan. Massa fraksi setelah digabungkan adalah 29,5 mg. Analisis selanjutnya dilakukan dengan menggunakan KLT fasa terbalik dengan fasa diam ODS dan eluen metanol 100%. Hasil analisis KLT fasa terbalik menunjukkan noda yang lebih memisah sehingga pemisahan selanjutnya dilakukan dengan kromatografi kolom fasa terbalik dengan fasa diam ODS, eluen H₂O-MeOH (0,5:9,5) secara isokratik.

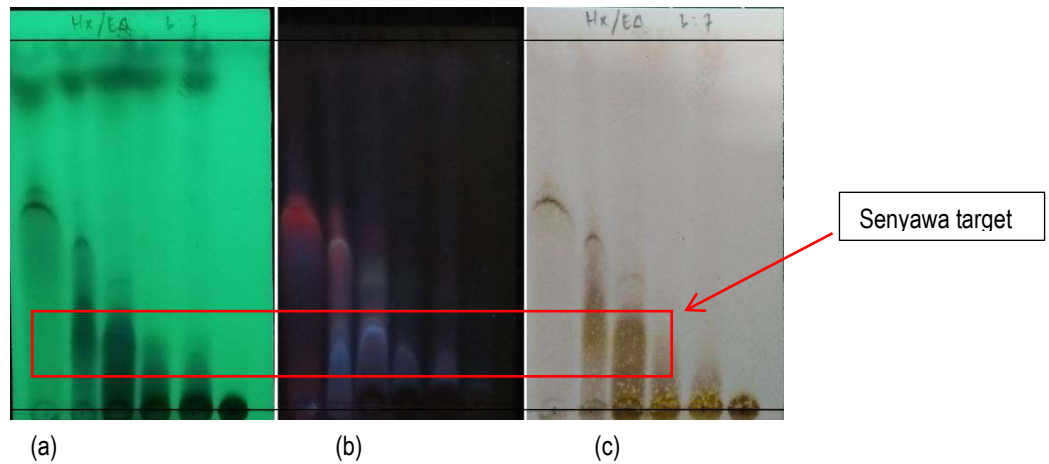


Gambar 5. KLT dengan pelarut *n*-heksana-etil asetat (8:2) (A), KLT dengan fasa terbalik ODS pelarut methanol 100%.

Hasil analisis spot noda menunjukkan senyawa sudah murni. Massa senyawa murni setelah digabungkan (11-14) adalah 5,3 mg.

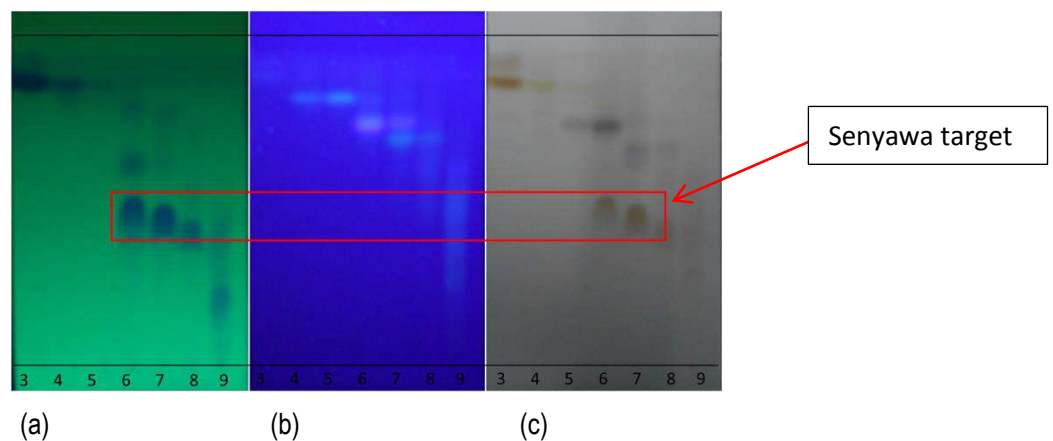
6. Isolasi senyawa dari fraksi etil asetat daun kelor

Sampel sebanyak 30 g dipisahkan melalui kromatografi kolom bergradien 10 % menggunakan pelarut *n*-heksana/etil asetat. Hasil kromatografi kolom dianalisis dengan kromatografi lapis tipis dengan kombinasi pelarut *n*-heksana/etil asetat perbandingan (3:7). Profil KLT fraksi S-2 s/d S-7 ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Kromatogram KLT menggunakan plat silika gel GF₂₅₄. Gambar (a) kromatografi di bawah lampu UV λ 254; (b) kromatografi dibawah lampu UV λ 365; (c) setelah menggunakan zat penampak noda 10% H₂SO₄ dalam etanol

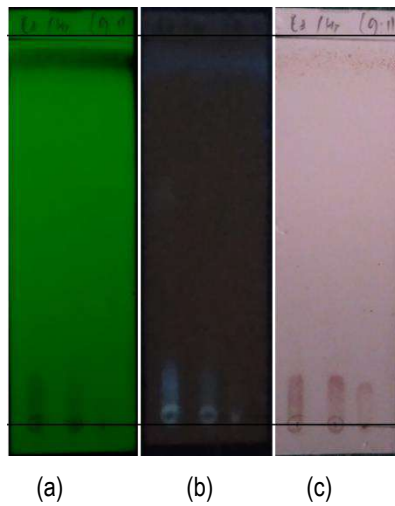
Fraksi S-4 dengan massa 96 mg dimurnikan lebih lanjut dengan pelarut n-heksana/etil asetat secara isokratik dengan perbandingan pelarut (7:3). Profil KLT fraksi S-2-3 s/d S-2-9 ditunjukkan pada Gambar 7.



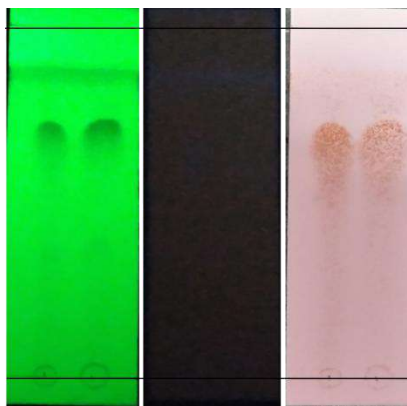
Gambar 7. Kromatogram KLT menggunakan plat silika gel GF₂₅₄. Gambar (a) kromatografi di bawah lampu UV λ 254; (b) kromatografi dibawah lampu UV λ 365; (c) setelah menggunakan zat penampak noda 10% H₂SO₄ dalam etanol

Uji kemurnian isolat hasil kromatografi kolom dilakukan menggunakan teknik analisis kromatografi lapis tipis (KLT). Pada analisis KLT fraksi yang memiliki warna noda, jumlah noda dan nilai Rf yang sama dianggap satu fraksi. Warna noda diamati lebih teliti dengan menggunakan lampu UV sedangkan nilai Rf dihitung dengan mengukur bercak noda langsung.

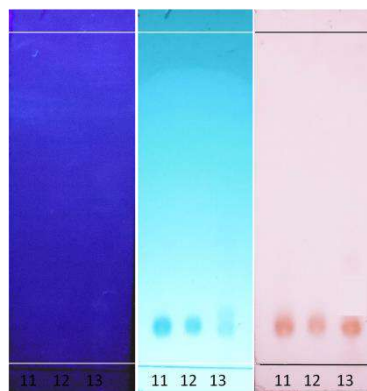
Fraksi S-2-6 dan 7 digabungkan kemudian dimurnikan lebih lanjut dengan fasa terbalik ODS menggunakan pelarut methanol/air (4:1) secara isokratik. Hasil dari kolom ODS diperoleh senyawa murni. Profil senyawa hasil isolasi ditunjukkan pada gambar 8.



Gambar 8. KLT dengan pelarut *n*-heksana-etil asetat (1:9) (a) kromatografi di bawah lampu UV λ 254; (b) kromatografi dibawah lampu UV λ 365; (c) setelah menggunakan zat penampak noda 10% H₂SO₄ dalam etanol



Gambar 9. KLT dengan menggunakan pelarut etil asetat/MTC (9:1) (a) kromatografi di bawah lampu UV λ 254; (b) kromatografi dibawah lampu UV λ 365; (c) setelah menggunakan zat penampak noda 10% H₂SO₄ dalam etanol



Gambar 10. Kromatogram KLT menggunakan plat ODS dengan pelarut methanol/air (9:1). (a) kromatografi di bawah lampu UV λ 254; (b) kromatografi dibawah lampu UV λ 365; (c) setelah menggunakan zat penampak noda 10% H₂SO₄ dalam etanol

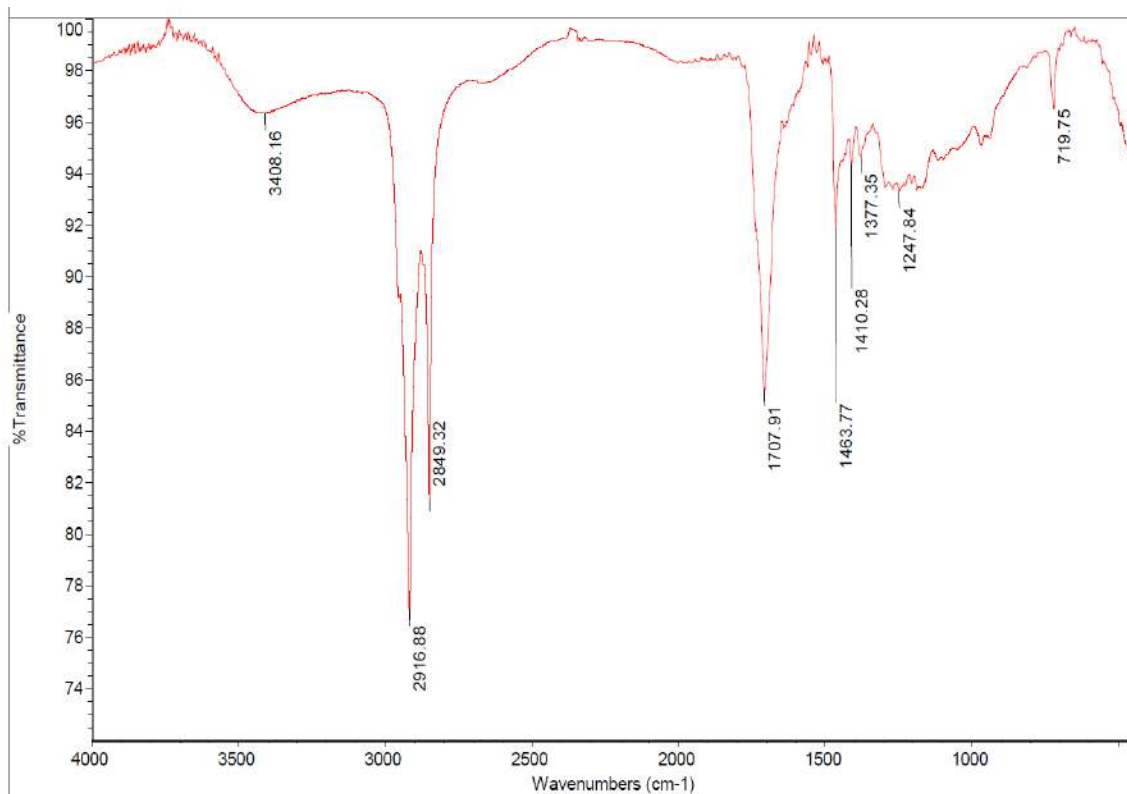
7. Identifikasi senyawa aktif isolat fraksi n-heksan

7.1 Interpretasi UV-Vis



Hasil analisis isolat murni menggunakan spektrofotometer UV-Vis menghasilkan serapan pada panjang gelombang 217 nm. Serapan pada panjang gelombang yang kuat pada 202 nm diduga adanya transisi elektron dari $n - \pi^*$. Gugus karbonil dan hidroksi akan menyebabkan eksitasi $n - \pi^*$ yaitu eksitasi elektron berasal dari elektron sunyi oksigen karbonil inti anti ikatan rangkap gugus karbonil sendiri. Serapan pada panjang gelombang λ 217 nm mengindikasikan pada isolat tidak terdapat ikatan C terkonjugasi sehingga diduga senyawa tersebut adalah flavonoid.

7.2 Interpretasi IR



Berdasarkan Spektrum IR (KBr) menunjukkan serapan gugus O-H lemah ($3408,1 \text{ cm}^{-1}$) diikuti dengan serapan pada bilangan gelombang $1274,8 \text{ cm}^{-1}$ yang merupakan regangan ulur dari gugus C-OH. Pada bilangan gelombang $1707,9 \text{ cm}^{-1}$ terdapat regang C=O (karbonil). Pada bilangan gelombang $2916,8$ dan $2849,3 \text{ cm}^{-1}$ terdapat serangan yang sangat kuat dari regangan ulur gugus C-H alifatik diikuti dengan serapan pada $1463,7 \text{ cm}^{-1}$ yang merupakan tekukan C-H dan pada $1377,5 \text{ cm}^{-1}$. Kuatnya serapan lentur C=O ($1707,91 \text{ cm}^{-1}$) disebabkan pendelokalisasi elektron gugus C=O yang mengurangi sifat C=C sp^2 ke atom O, konjugasi lebih lanjut akan menurunkan serapan atau panjang gelombang yang lebih panjang (Uddin *et al.*, 2011; Vazquez *et al.*, 2012).

7.3 Interpretasi NMR

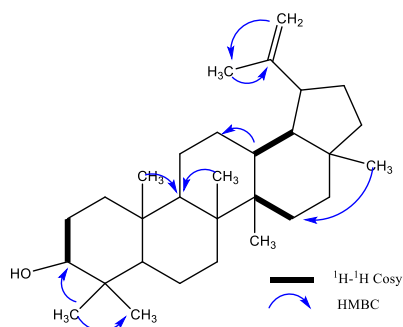
Isolat murni yang diperoleh dari hasil fraksi heksana berupa kristal putih yang larut sempurna dalam etil asetat dan kloroform. Hasil pengukuran dengan spektroskopi UV isolat tidak berpendar pada UV λ 254 dan 365 nm. Hal ini menunjukkan bahwa isolat tidak memiliki karbon terkonjugasi yang merupakan salah satu ciri khas senyawa triterpenoid (Abdullah *et al.*, 2013). Selanjutnya dilakukan pengukuran spektrum inframerah untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam isolat. Spektrum IR (KBr) isolat menunjukkan serapan gugus O-H (3378 cm^{-1}) diikuti dengan serapan pada bilangan gelombang $1046,70 \text{ cm}^{-1}$ yang merupakan regangan ulur dari gugus C-OH. Pada bilangan gelombang $2977,17 \text{ cm}^{-1}$ terdapat regangan ulur gugus C-H alifatik diikuti dengan serapan pada $1458,70 \text{ cm}^{-1}$ yang merupakan tekukan C-H pada $1370,33 \text{ cm}^{-1}$ yang merupakan regang gem dimetil (Martins *et al.*, 2013; Situmeang *et al.*, 2018).

Spektrum ¹H-NMR menunjukkan resonansi untuk proton olefinik pada pergeseran δ 4,68 dan 4,56 ppm (2H). Proton hidroksil pada δ 3,19 ppm (1H; dd, J = 11,0; 3,9 Hz) menunjukkan posisi aksial dan orientasi α . Terdapat tujuh metil singlet pada δ 0,76; 0,79; 0,83; 0,94; 0,98; 1,02 dan 1,38 (3H) ppm menunjukkan bahwa isolat merupakan golongan senyawa triterpenoid pentasiklik (Prakash & Prakash, 2012; Situmeang *et al.*, 2018). Tumpukan sinyal pada rentang δ : 0,96-2,40 ppm diduga merupakan pergeseran kimia untuk proton yang terikat pada rantai karbon triterpenoid (Prakash & Prakash, 2012).

Spektrum ^{13}C -NMR isolat memperlihatkan adanya tiga puluh sinyal karbon yang terdiri dari 28 atom karbon sp^3 , dua atom karbon olifenik $\text{C}=\text{C}$ sp^2 . Pada pergeseran 79,2 ppm merupakan pergeseran yang khas terhadap karbon yang teroksidasi pada senyawa triterpenoid. Pergeseran kimia di bawah δ 79,2 ppm menunjukkan atom karbon sp^3 alifatik yang dapat berupa rantai lurus ataupun siklik yang diduga berasal dari rantai alifatik golongan triterpenoid pentasiklik (Prakash & Prakash, 2012).

Hasil pengukuran spektrum HSQC menunjukkan bahwa isolat memiliki tiga puluh sinyal karbon yang terdiri dari tujuh atom karbon metil pada δ 14,7; 15,5; 16,2; 18,2; 18,5, 21,1 dan 29,8 ppm. Enam sinyal metin yang terdiri dari metin sp^3 pada δ 41,0; 48,7; 48,1; 50,4; 55,5 dan 79,2 ppm. Sebelas atom karbon metilen pada δ 19,5; 26,9; 28,2; 28,8; 30,0; 35,7; 38,9; 40,1; 42,9; 43,2 dan 109,5 ppm. Jumlah atom karbon kuartener sebanyak enam, lima diantaranya merupakan karbon kuartener sp^3 pada pergeseran δ 40,9; 43,1; 38,2; 39,0; dan 48,4 ppm dan satu diantaranya karbon kuartener sp^2 pada δ 151,1 ppm. Adanya sinyal karbon metilen dan karbon kuartener sp^2 pada pergeseran δ 109,5 dan 151,1 ppm menunjukkan bahwa isolat memiliki satu ikatan rangkap dan juga merupakan ciri khas ikatan rangkap yang terdapat pada senyawa triterpenoid lupenol pada nomor 20 dan 29. Adanya sinyal metilen sp^2 pada pergeseran δ 109,5 ppm menunjukkan bahwa ikatan rangkap merupakan terminal double bond bukan internal double bond. Ikatan rangkap ini memberikan sumbangan satu derajat ketidakjenuhan. Hasil pengukuran HSQC menunjukkan dugaan rumus molekul isolate adalah $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$. Dari dugaan rumus molekul tersebut, diperoleh nilai double bond equivalen (DBE) sebesar 6. Dugaan isolat merupakan triterpenoid pentasiklik memberikan sumbangan derajat ketidakjenuhan sebesar lima. Sumbangan dari terminal double bond sebesar satu.

Hasil pengukuran spectrum HMBC menunjukkan bahwa proton H-13 (δ H 0,75 ppm) berkorelasi dengan C-12 (δ C 28,1 ppm), H-26 (δ H 0,75 ppm) memiliki korelasi dengan C-10 (δ C 38,9 ppm), H-23 (δ H 0,95 ppm) memiliki korelasi dengan C-24 (δ C 16,2 ppm), dan H-28 (δ H 1,0 ppm) memiliki korelasi dengan C-15 (δ C 30,9 ppm). Posisi gugus fungsi alkohol dapat ditentukan melalui korelasi HMBC antara karbon dan proton yaitu H-23 (δ H 0,95 ppm) dengan C-3 (δ C 79,1 ppm). Selanjutnya posisi gugus fungsi $\text{C}=\text{C}$ sp^2 dapat ditentukan melalui korelasi yaitu H-30 (δ H 1,69 ppm) berkorelasi dengan C-20 (δ C 151,1 ppm). Adanya korelasi (3J) dari proton milik karbon C-23 (δ 15,5 ppm) dengan karbon C-24 (δ 27,9 ppm) dan sebaliknya menyarankan posisi gem dimetil (Silva et al., 2012; Babalola & Shode, 2013; Chudzik et al., 2015). Spektrum H-H COSY digunakan untuk mengetahui proton-proton yang berkorelasi dengan jarak tiga ikatan. Pada spektrum ^1H - ^1H COSY dapat diamati bahwa H-13 (δ H 0,75 ppm) berkorelasi dengan H-18 (δ H 0,96 ppm), H-15 (δ H 1,2 ppm) berkorelasi dengan H-27 (δ H 1,0 ppm), dan H-2 (δ H 1,65 ppm) berkorelasi dengan H-3 (3,19 ppm). Setelah dilakukan analisis terhadap spektrum ^1H NMR, karbon ^{13}C NMR, HSQC, ^1H - ^1H COSY, dan HMBC serta perbandingan dengan berbagai senyawa referensi, maka isolate diduga merupakan senyawa triterpenoid pentasiklik yaitu 3-hydroxy, 20 (29) -en, lupenol (gambar 4).

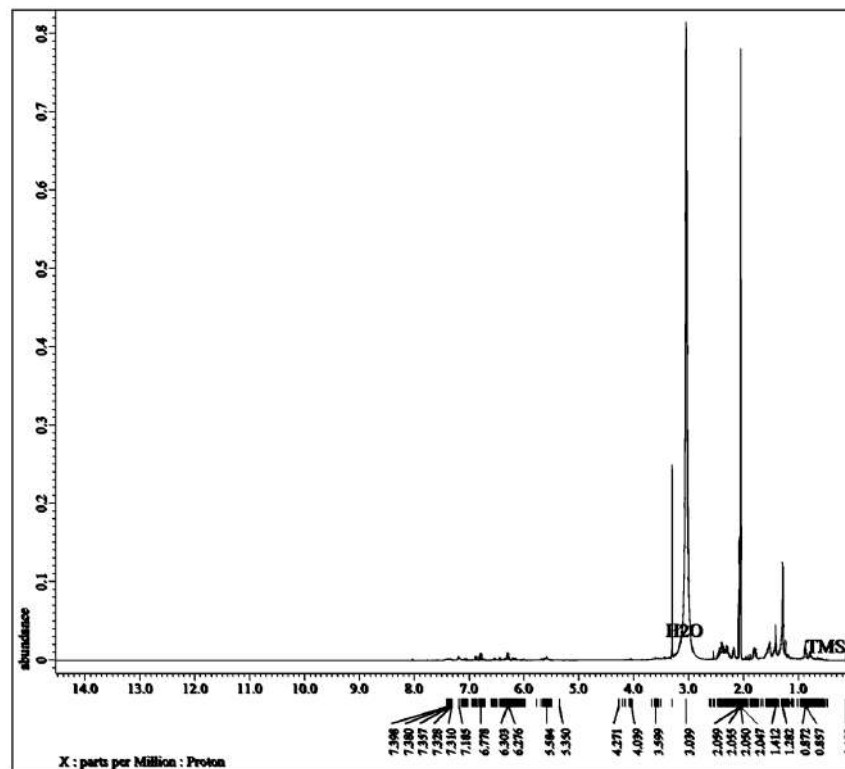


Gambar 4. Senyawa 3-hidroksi, 20 (29) -en, lupenol

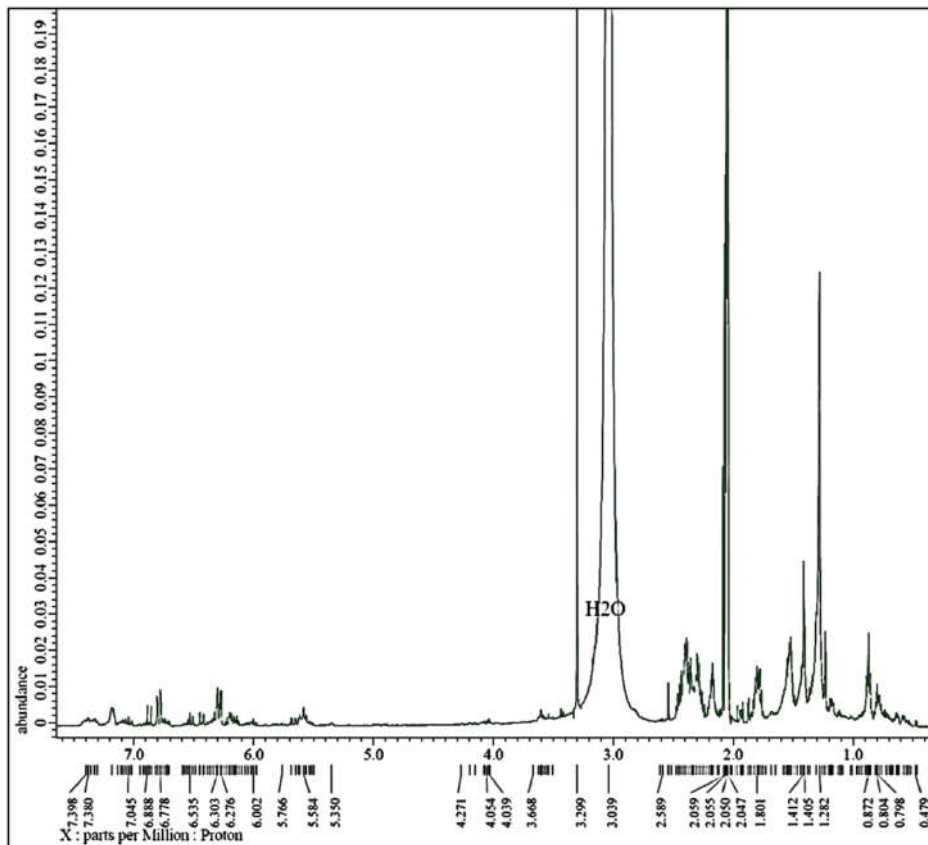
Karakteristik yang khas dari senyawa ini yaitu adanya gem dimetil dan satu ikatan rangkap pada karbon nomor 20 (29). Gugus gem dimetil tersebut terletak pada karbon nomor 23 dan 24 dan adanya terminal double bond pada karbon nomor 20 dan metilen sp^2 pada karbon nomor 29. Senyawa ini mempunyai rumus molekul $C_{30}H_{50}O$ dengan jumlah derajat ketidakejenuhan sebanyak enam. Nama IUPAC dari senyawa ini adalah 3-hidroksi, 20(29)-en lupenol (Ayotollahi et al., 2011; Babalola & Shode, 2013; Chudzik et al., 2015).

Berdasarkan penelusuran pustaka, senyawa 3-hidroksi, 20(29)-en lupenol sudah banyak diisolasi dari tumbuhan dan berasal dari jalur biosintesis asam mevalonat. Senyawa lupenol terbukti sebagai antiulseratif sebagaimana yang telah dilaporkan Abdullah et al., (2013) dan Li et al, (2018) sebagai agen kemopreventif, memiliki aktivitas antibakteri dan antiinflamasi. Senyawa triterpenoid 3-hidroksi, 20(29)-en lupenol merupakan pertama kali diisolasi dari daun kelor.

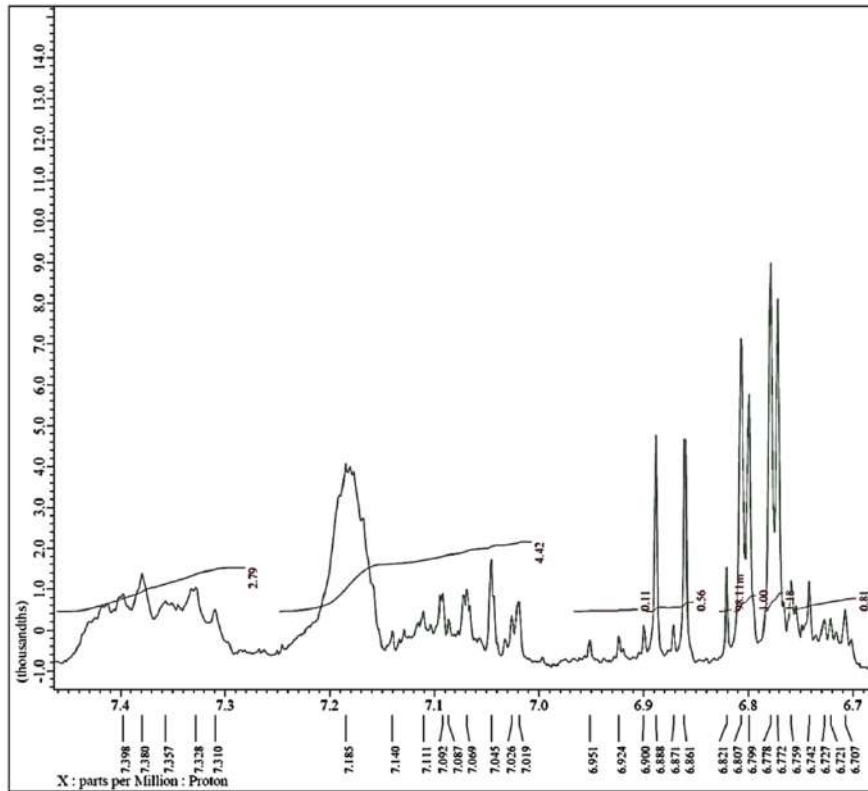
8. Identifikasi senyawa aktif isolat fraksi etil asetat



Hasil pengukuran spectrum H-NMR isolat menunjukkan spektrum proton terdapat pada H sp^3 , H teroksigenasi sp^2 dan karbonil. Pergeseran pada δH 1,2 – 2,0 ppm menunjukkan proton yang terikat pada karbon sp^3 alifatik atau siklik. Pergeseran pada δH 3,299 ppm menunjukkan adanya proton yang terikat pada karbon sp^3 teroksigenasi (CH-OH). Pergeseran pada δH 6,00-7,00 ppm menunjukkan proton yang terikat pada karbon C- sp^2 (CH=CH).



Spectrum H-NMR isolat etil asetat menunjukkan adanya enam buah sinyal metil. Ada dua sinyal proton metin sp^2 teroksigenasi yang mengindikasikan senyawa golongan steroid atau triterpenoid. Adanya dua sinyal proton sp^2 mengindikasikan karakteristik adanya olefinik. Hasil analisis H-NMR menunjukkan ciri khas adanya monosubstitusi benzene dengan lima buah proton sp^2 pada pergeseran 6,00-7,00 ppm.

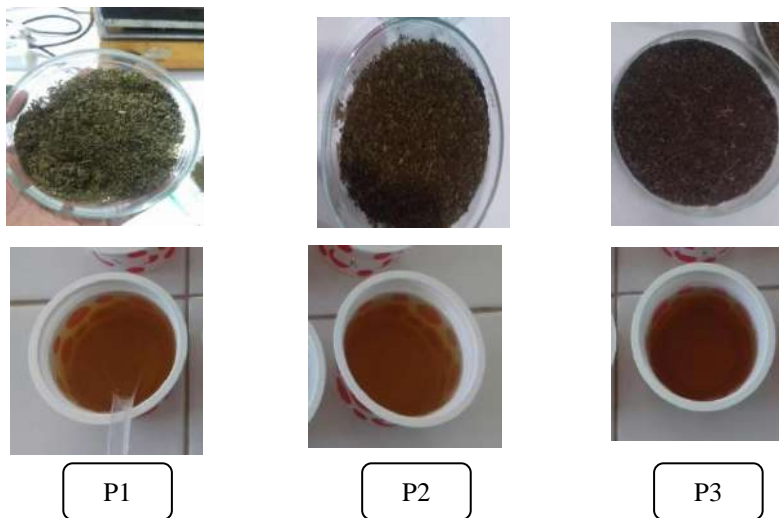


B. Produk pangan fungsional berbasis daun kelor

1. Teh kelor

Analisis organoleptik teh daun kelor dilakukan pada 30 responden untuk memberikan penilaian terhadap sampel teh daun kelor yang disajikan. Analisis organoleptik dilakukan dengan menggunakan uji hedonik skala 1-7 untuk parameter warna, rasa dan aroma teh daun kelor yang diuji.

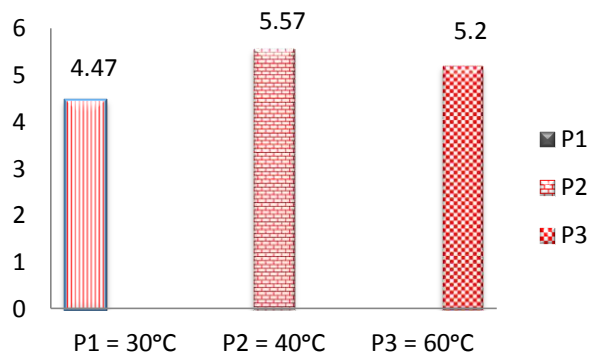
Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa teh daun kelor dengan perlakuan 1 suhu pengeringan 30°C, perlakuan 2 suhu pengeringan 40°C, dan perlakuan 3 suhu pengeringan 60°C, memberikan pengaruh nyata terhadap hasil penilaian responden dari segi warna, rasa dan aroma teh daun kelor.



Gambar 5. Teh Daun Kelor Sebelum dan Sesudah penyeduhan Dengan Variasi Suhu Pengeringan

Keterangan : P1 = suhu 30°C, P2= suhu 40°C, P3= suhu 60°C.

Warna merupakan salah satu faktor yang menentukan mutu dan secara visual warna tampil lebih dahulu dan kadang-kadang sangat menentukan, sehingga warna dijadikan atribut organoleptik yang penting dalam satu bahan pangan (Winarno, 2008).



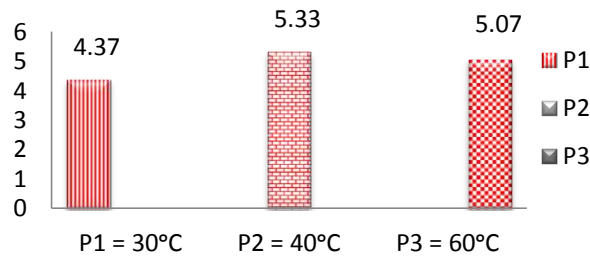
Gambar 6. Hasil penilaian warna oleh 30 responden terhadap teh daun kelor.

Gambar 6 menunjukkan bahwa penilaian responden terhadap warna teh daun kelor dengan variasi suhu pengeringan memperoleh hasil yang berbeda dimana suhu 30°C memperoleh nilai 4.47, suhu 40°C memperoleh nilai 5.57 sedangkan suhu 60°C memperoleh nilai 5.20. Skala hedonik menunjukkan bahwa responden lebih menyukai warna teh daun kelor dengan suhu 40°C dan 60°C yang menunjukkan nilai agak suka pada skala hedonik, namun suhu 40°C memperoleh nilai yang lebih tinggi dari penilaian responden dibandingkan suhu 60°C. Nilai terendah pada suhu 30°C yang dalam skala hedonik menunjukkan nilai netral. Perbedaan hasil penilaian responden ini diduga dipengaruhi oleh suhu pengeringan yang digunakan dimana makin tinggi suhu pengeringan yang digunakan warna teh yang dihasilkan juga semakin gelap sehingga mempengaruhi penilaian responden. Warna teh semakin terlihat cokelat tua dikarenakan pada daun kelor mengandung senyawa polifenol. Polifenol apabila bertemu dengan oksigen akan teroksidasi sehingga warna produk menjadi cokelat. Hal ini sama halnya pada peristiwa browning pada buah apel setelah dikupas atau setelah dibelah, browning ini terjadi adanya peristiwa polifenol oksidase. (Rejeki, 2012).

Menurut Mardiah (2009) perlakuan pemanasan akan menimbulkan perubahan terhadap tekstur (kekentalan), warna, cita rasa, dan nilai gizi. Pelunakan tekstur dan kehilangan jaringan/sel dapat terjadi sebagai akibat perusakan oleh pemanasan sehingga zat-zat kimia bahan akan bereaksi dan menimbulkan perubahan warna, flavor dan nilai gizi.

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan variasi suhu pengeringan teh daun kelor memberikan pengaruh nyata pada taraf signifikan ($\alpha=0.05$) terhadap warna teh kelor yang dihasilkan. Hal ini menunjukkan makin tinggi suhu yang digunakan makin tinggi penilaian responden terhadap teh daun kelor. Hal ini dikarenakan warna teh yang dihasilkan pada suhu 30°C cenderung berwarna yang kurang khas dari warna teh pada umumnya. Namun apabila suhu yang digunakan terlalu tinggi akan menurunkan penilaian responden karena warna teh yang dihasilkan cenderung berwarna gelap. Suhu efektif menurut hasil penelitian untuk memperoleh warna teh daun kelor yang disukai oleh responden yaitu pada suhu 40°C. Menurut Winarno (2008), bahwa uji warna lebih banyak melibatkan indra penglihatan dan merupakan salah satu indikator juga untuk menentukan apakah suatu bahan pangan diterima atau tidak oleh masyarakat konsumen, karena makanan yang berkualitas (rasanya enak, bergizi dan bertekstur baik) belum tentu akan disukai oleh konsumen apabila bahan pangan tersebut memiliki warna yang tidak sedap dipandang atau menyimpang dari warna aslinya

Rasa merupakan tanggapan atas adanya rangsangan kimiawi yang sampai di indera pengecap lidah (Meilgaard, 2000). Hasil penilaian responden terhadap rasa teh daun kelor dengan variasi suhu pengeringan terlihat pada gambar 7.

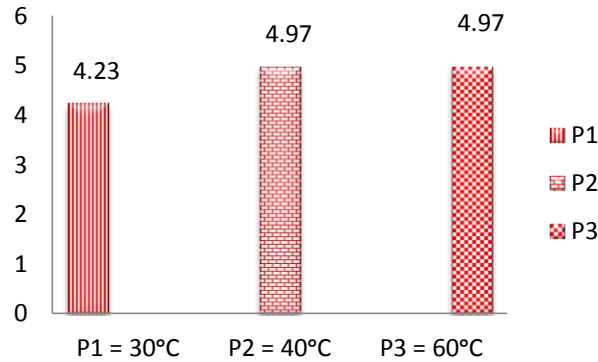


Gambar 7 . Hasil penilaian Rasa oleh 30 responden terhadap teh daun kelor.

Gambar 7 menunjukkan bahwa penilaian responden terhadap rasa teh daun kelor dengan variasi suhu pengeringan memperoleh hasil yang berbeda dimana suhu 30°C memperoleh nilai 4.37, suhu 40°C memperoleh nilai 5.33 sedangkan suhu 60°C memperoleh nilai 5.07. Skala hedonik menunjukkan bahwa responden lebih menyukai rasa teh daun kelor dengan dengan suhu 40°C dan 60°C yang menunjukkan nilai agak suka pada pada skala hedonik, namun suhu 40°C memperoleh nilai yang lebih tinggi dari penilaian responden dibandingkan suhu 60°C. Nilai terendah pada suhu 30°C yang dalam skala hedonik menunjukkan nilai netral. Hasil penelitian ini menunjukkan terjadi perbedaan penilaian responden terhadap rasa teh kelor yang di uji, diduga dipengaruhi oleh suhu pengeringan daun kelor. Sesuai dengan pendapat Mardiah (2009) yang menyatakan perlakuan pemanasan akan menimbulkan perubahan terhadap tekstur (kekentalan), warna, cita rasa, dan nilai gizi. Pelunakan tekstur dan kehilangan jaringan/sel dapat terjadi sebagai akibat perusakan oleh pemanasan sehingga zat-zat kimia bahan akan bereaksi dan menimbulkan perubahan warna, flavor dan nilai gizi. Kandungan yang terdapat pada daun kelor yaitu kadungan fenol. Fenol banyak terdapat dalam tanaman dan biasanya pada saat diekstraksi dapat bersifat larut dalam alkohol. Kandungan fenol dalam daun kelor segar sebesar 3,4% (Foild et al. 2007).

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan variasi suhu pengeringan teh daun kelor memberikan pengaruh nyata pada taraf signifikan ($\alpha=0.05$) terhadap warna teh kelor yang dihasilkan. Penelitian makin tinggi suhu yang digunakan makin tinggi penilaian responden terhadap teh daun kelor. Hal ini dikarenakan rasa teh kelor yang dihasilkan pada suhu 30°C menghasilkan rasa yang sepat yang kurang disukai responden. Rasa sepat berasal dari senyawa saponin dan tanin pada daun kelor. senyawa saponin mempunyai rasa pahit dan berbusa apabila dilarutkan dalam air, sedangkan senyawa tanin menyebabkan rasa sepat ketika dikonsumsi karena terbentuknya ikatan silang antara tannin dan protein dirongga mulut. Menurut Folid *et all* (2007) daun kelor segar mengandung 5% saponin dan kandungan tanin sebanyak 1,4%. Responden lebih menyukai teh kelor dengan suhu 40°C dan penilaian responden menurun pada suhu 60°C. Winarno (2008) bahwa rasa dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu senyawa kimia, suhu, konsentrasi dan interaksi dengan komponen rasa lain yaitu komponen rasa primer.

Aroma merupakan faktor yang sangat penting untuk menentukan tingkat penerimaan konsumen terhadap suatu produk, sebab sebelum dimakan biasanya konsumen terlebih dahulu mencium aroma dari produk tersebut untuk menilai layak tidaknya produk tersebut dimakan. Aroma yang enak dapat menarik perhatian, konsumen lebih cenderung menyukai makanan dari aroma (Winarno, 2008). Hasil penilaian responden terhadap aroma teh daun kelor dengan variasi suhu pengeringan terlihat pada gambar 8.



Gambar 8 . Hasil penilaian aroma oleh 30 responden terhadap teh daun kelor

Gambar 8 menunjukkan bahwa penilaian responden terhadap aroma teh daun kelor dengan variasi suhu pengeringan memperoleh hasil yang berbeda dimana suhu 30°C memperoleh nilai 4.23, sedangkan suhu 40°C dan 60°C memperoleh nilai 4.97. Skala hedonik menunjukkan bahwa responden agak suka jika mengacu pada mutu skala hedonik, respon panelis terhadap aroma teh kelor pada suhu 40°C dan 60°C memberikan penilaian yang sama, sedangkan nilai terendah pada suhu 30°C yang dalam skala hedonik menunjukkan nilai netral. Perbedaan hasil penilaian responden ini dipengaruhi oleh suhu pengeringan yang digunakan dimana makin tinggi suhu pengeringan yang digunakan aroma teh kelor yang dihasilkan juga semakin baik hal ini di duga proses pengeringan mempengaruhi aroma teh yang dihasilkan. Sesuai dengan pendapat Ciptadi dan Nasution, (1979), menyatakan bahwa senyawa pembentuk aroma teh terutama terdiri dari minyak atsiri yang bersifat mudah menguap dan bersifat mudah direduksi sehingga dapat menghasilkan aroma harum pada teh. Buckle dkk., (1987) dalam Lubis (2009), menyatakan bahwa pengeringan mempunyai beberapa kelemahan seperti terjadinya perubahan warna, rasa dan aroma.

Kemungkinan lainnya juga disebabkan karena aroma sangat sukar untuk diukur sehingga menimbulkan pendapat yang bertentangan dalam menilai kualitas. Perbedaan pendapat yaitu perbedaan sensitifitas dalam merasa dan mencium. Meskipun dapat mendeteksi, tiap orang mempunyai kesukaan yang bertentangan (Sukarni dan Kusno, 1980 dalam Wijaya 2002).

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan variasi suhu pengeringan teh daun kelor memberikan pengaruh nyata pada taraf signifikan ($\alpha=0.05$) terhadap aroma teh kelor yang dihasilkan. Hal ini menunjukkan makin tinggi suhu yang digunakan makin tinggi penilaian responden terhadap teh daun kelor. Hal ini dikarenakan warna teh yang dihasilkan pada suhu 30°C cenderung memberikan aroma khas kelor sehingga kurang disukai responden. Hasil penelitian juga menunjukkan tidak terjadi peningkatan nilai seiring dengan meningkatnya suhu pengeringan. Menurut Winarno (2008) aroma didefinisikan sebagai suatu yang dapat diamati dengan indera pembau. Penilaian terhadap aroma dipengaruhi oleh faktor psikis dan fisiologis yang menimbulkan pendapat yang bertentangan

Aroma adalah salah satu parameter yang menentukan tingkat penerimaan konsumen. Dalam industri pangan, pengujian aroma dianggap penting karena dengan cepat dapat dianggap memberikan penilaian terhadap suatu produk, apakah produk disukai atau tidak disukai konsumen (Soekarto, 1990).

Dari rata-rata ketiga perlakuan tersebut diatas hasil organoleptik yang disukai panelis adalah perlakuan 2 yaitu pengeringan pada oven suhu 40°C.

1.1 Penentuan Umur Simpan

Pada penelitian ini produk teh daun kelor dilakukan 3 kali perlakuan dengan 3 kali ulangan dengan suhu 30°C dikeringkan disuhu ruang dalam waktu 72 jam, suhu 40 °C dikeringkan dengan oven selama 1 jam, dan suhu 60 °C

dikeringkan dengan oven selama 1 jam. Selanjutnya dilakukan analisis organoleptik dengan uji hedonik skala 1-7 untuk parameter warna, rasa dan aroma teh daun kelor. Hasil pengamatan analisis organoleptik dapat dilihat pada grafik rasa, warna dan aroma teh daun kelor. Teh daun kelor ini selanjutnya akan dianalisis umur simpannya dengan beberapa parameter pengukuran umur simpan antara lain kadar air awal, kadar air kritis, kadar air kesetimbangan, kurva sorpsi isotherm, permeabilitas kemasan dan umur simpan.



Gambar 9. Toples penyimpanan Tujuh Larutan Garam Kimia

Umur simpan adalah waktu yang diperlukan oleh produk pangan, dalam suatu kondisi penyimpanan untuk sampai pada suatu level atau tingkatan degradasi mutu tertentu. Produk pangan disebut rusak bila produk tersebut mulai memperlihatkan tanda-tanda penyimpangan sifat yang tidak diinginkan. Hubungan antara umur simpan dan kadar air kritis adalah untuk mengetahui berapa lama waktu yang dibutuhkan untuk mencapai kadar air kritis. Kenaikan RH akan diikuti oleh peningkatan kadar air yang mempengaruhi mutu produk dan terjadinya perubahan fisik pada produk seperti perubahan bau, warna, dan tumbuhnya jamur. Perubahan fisik produk diakibatkan oleh jamur, perubahan tersebut dapat dilihat pada gambar 9 berikut:



Gambar 10. Tumbuhnya jamur/mo pada larutan garam

Kondisi lingkungan menunjukkan banyaknya kandungan uap air di udara. Kondisi lingkungan dengan kelembaban relatif yang tinggi mengandung lebih banyak uap air sehingga akan terjadi penyerapan uap air ke dalam bahan pangan yang lebih banyak dibandingkan kondisi dengan kelembaban relatif yang rendah. Tingginya kandungan uap air tersebut pada produk teh dapat meningkatkan kadar air produk, menurunkan *flowability*, dan meningkatkan kohesivitas granular, sehingga mempercepat pencapaian titik kritis penolakan atau penggumpalan. Bagi konsumen adanya penggumpalan pada produk jenis teh adalah tanda kualitas dan keamanan produk yang rendah (Chung *et al.*2000). Selain itu, suhu yang tinggi

juga mempengaruhi nilai tekanan uap air dan kelembaban, maka dengan meningkatnya suhu, akan mempercepat pencapaian titik kritis.

Berdasarkan perhitungan umur simpan teh daun kelor pada penelitian ini, produk yang dikemas memiliki umur simpan mulai dari 71 – 88 (3 bulan). Berdasarkan ketiga perlakuan tersebut didapati perlakuan ketiga (P3) memiliki umur simpan paling lama yaitu 3 bulan atau sekitar 88 hari, artinya pada ketiga perlakuan tersebut perlakuan pada suhu 60°C memiliki umur simpan paling lama dibandingkan dengan perlakuan pada suhu 30°C dan 40°C. Faktor permeabilitas kemasan mempengaruhi umur simpan produk, semakin besar nilai permeabilitas kemasan, semakin besar pori-pori kemasan dan membantu mempercepat proses produk mencapai titik kritis. Produk teh daun kelor ini lebih baik disimpan dan digunakan hanya dalam jangka waktu dua bulan lebih agar mutu produk masih tetap terjaga. Umur simpan teh daun kelor terlihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Umur simpan teh daun kelor

Perlakuan	Waktu (hari)
Suhu 30°C	78 hari
Suhu 40°C	71 hari
Suhu 60 °C	88 hari

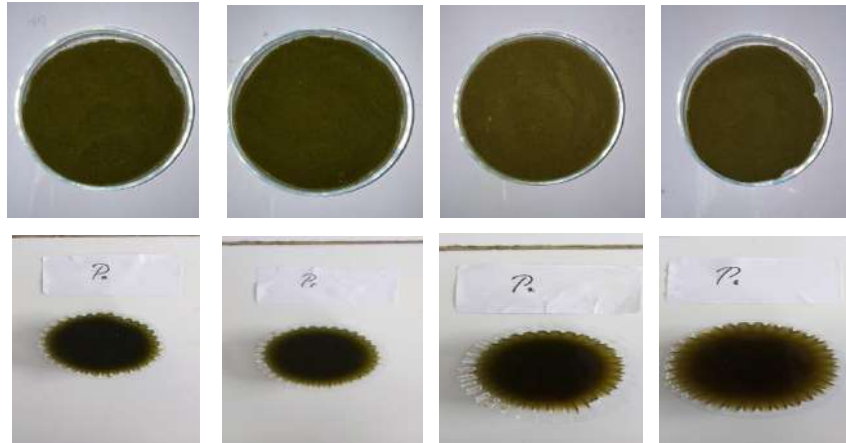
Pada tabel diatas didapati bahwa P1 lebih lama penyimpanannya dibandingkan dengan P2 karena penentuan umur simpannya tidak hanya dari kadar air awalnya saja tetapi dari kadar air kritis kadar air kesetimbangan dan parameter pendukung lainnya.

Penelitian umur simpan ini berbeda dengan waktu kadaluarsanya karena jika produk disimpan pada suhu ruang yang tidak tepat maka waktu kadaluarsanya akan lebih cepat dari perkiraan umur simpannya.

Perhitungan umur simpan untuk produk teh daun kelor yang dikemas (permeabilitas kemasan 0,5749 g/m²hr.mmHg) pada penyimpanan suhu 27°C RH 80% mempunyai perbedaan, Perbedaan nilai umur simpan yang diperoleh pada beberapa jenis sampel ini dapat disebabkan oleh karakteristik alami bahan pangan, model yang digunakan, nilai suhu, RH, serta nilai permeabilitas kemasan selama penyimpanan.

2. Kopi Kejaknis (Kelor, jahe dan kayumanis)

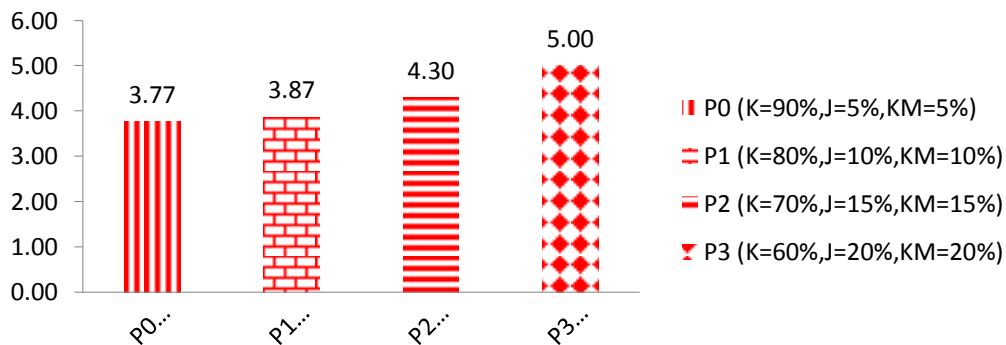
Untuk mengetahui tingkat penerimaan panelis dilakukan uji organoleptik secara hedonik dengan menggunakan panelis sebanyak 30 orang. Uji organoleptik terhadap bumbu formulasi serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis) meliputi rasa, aroma,Warna Dan Overall. Uji yang dilakukan dalam uji organoleptik formulasi serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis) adalah uji hedonik dimana panelis memberikan tanggapan pribadi atas produk.Tujuan uji organoleptik ini adalah untuk mendapatkan formulasi minuman serbuk terbaik dari 4 formulasi minuman serbuk.Adapun formulasi Minuman serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis) terlihat pada gambar 5.



Gambar 5. Minuman serbuk kejaknis Sebelum dan Sesudah penyeduhan dengan formulasi yang Berbeda

4.2.1 Warna

Warna merupakan salah satu penyebab konsumen tertarik pada sebuah produk pangan. Hardjanti (2008) mengatakan bahwa warna merupakan atribut mutu pangan yang sangat penting karena warna adalah yang dilihat pertama kali oleh konsumen serta sangat menentukan tingkat penerimaan terhadap suatu produk. Warna pangan ditentukan oleh beberapa pigmen alami yaitu seperti klorofil pada tumbuhan hijau. Grafik nilai hedonik warna minuman serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis) terlihat pada gambar 6.



Gambar 6. Uji organoleptik warna seduhan minuman serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis)

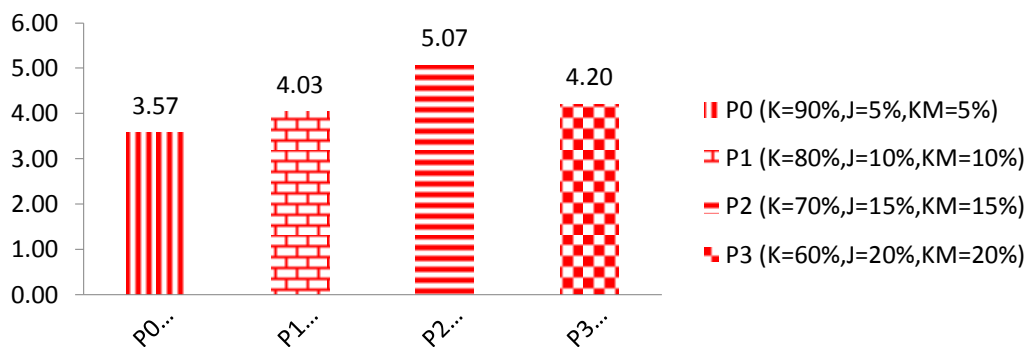
Berdasarkan hasil uji organoleptik yang digambarkan pada grafik diatas terhadap parameter warna pada seduhan minuman serbuk herbal kejaknis menunjukkan bahwa tingkat penerimaan responden terhadap seduhan minuman serbuk herbal kejaknis terlihat pada perlakuan P0 dan P1 memiliki nilai berturut-turut yaitu 3.77 dan 3.87 sedangkan perlakuan P2 memiliki nilai 4.30 dan pada perlakuan P3 Mendapatkan nilai 5.00. Nilai parameter yang tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan P3 dan yang terendah terdapat pada perlakuan P0. Menurut Mardiah (2009) Perlakuan pemanasan akan menimbulkan perubahan terhadap tekstur, warna, cita rasa, dan nilai gizi. pelunakan tekstur dan kehilangan jaringan/sel dapat terjadi sebagai akibat perusakan oleh pemanasan sehingga zat-zat kimia bahan akan bereaksi dan menimbulkan perubahan warna, flavor dan nilai gizi.

Analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan formulasi minuman serbuk herbal kejaknis memberikan pengaruh nyata pada taraf 5% terhadap tingkat kesukaan warna pada seduhan minuman serbuk herbal kejaknis dengan Empat formulasi yang berbeda, seperti terlihat pada Lampiran 1. Hal ini dipengaruhi oleh penambahan kayu manis dan jahe yang terlalu banyak yaitu 20% pada minuman serbuk herbal kejaknis sehingga menghasilkan warna yang paling mendominasi adalah warna coklat. Warna coklat disebabkan oleh pengeringan pada daun kelor dan penambahan kayu

manis dan jahe. Kayu manis mengandung senyawa kimia tanin, zat penyamak, gula dan kumarin sehingga mampu menghasilkan warna coklat sedangkan jahe mengandung seskuiterpen, zingiberen, zingeron, oleoresin, kamfena, limonen, borneol, sineol, sitral, zingil ,dan Felandren. Hal ini dibuktikan dalam penelitian Ulin (2018), perlakuan dengan penambahan kayu manis pada minuman serbuk herbal kejaknis dengan perbandingan K80%:KM20% menghasilkan warna yang paling mendominasi adalah warna coklat. Dan menurut penelitian Jayanata (2013), penambahan kayu manis pada minuman beras organik membuat minuman menjadi warna coklat sehingga baik untuk pewarna alami karena mengandung pewarna alami 5%.

4.2.2 Aroma

Aroma suatu makanan menentukan kelezatan makanan tersebut. Suatu produk pangan akan lebih mudah diterima oleh konsumen jika memiliki aroma yang khas dan menarik (Winarno, 2006).. Grafik nilai hedonik aroma minuman serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis) terlihat pada gambar 7.



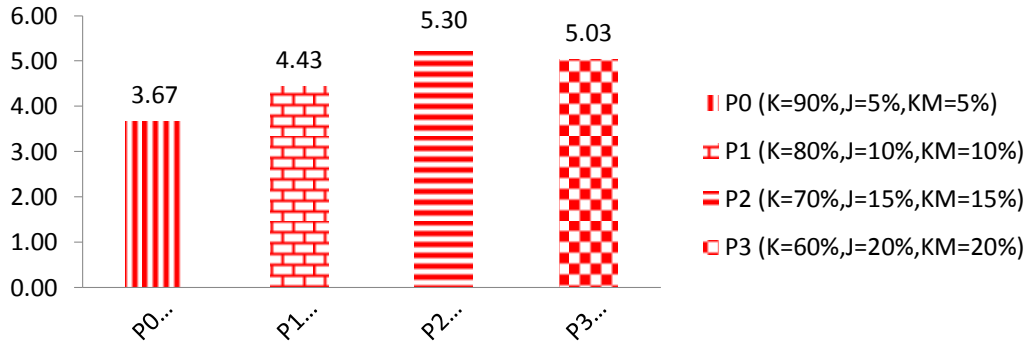
Gambar 7. Uji organoleptik aroma seduhan minuman serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis)

Berdasarkan hasil uji organoleptik yang digambarkan pada grafik diatas terhadap parameter Aroma pada seduhan minuman serbuk herbal kejaknis menunjukkan bahwa tingkat penerimaan responden terhadap seduhan minuman serbuk herbal kejaknis terlihat pada perlakuan P0 dan P1 memiliki nilai berturut-turut yaitu 3.57 dan 4.03 sedangkan perlakuan P2 memiliki nilai 5.07 dan pada perlakuan P3 Mendapatkan nilai 4.20. Nilai parameter yang tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan P2 dan yang terendah terdapat pada perlakuan P0.

Analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan formulasi minuman serbuk herbal kejaknis memberikan pengaruh nyata pada taraf 5% terhadap tingkat kesukaan Aroma pada seduhan minuman serbuk herbal kejaknis dengan Empat formulasi yang berbeda, seperti terlihat pada Lampiran 2. Aroma merupakan zat volatil yang dilepaskan dari produk yang ada di dalam mulut atau aroma seringkali disebut sebagai bau dari bahan pangan. Aroma suatu produk pangan dapat dinilai dengan cara mencium bau yang dihasilkan dari produk tersebut. Aroma makanan ditentukan oleh baunya. Industri pangan menganggap aroma sangat penting di uji karena dapat memberikan penilaian terhadap hasil produksinya menambahkan peranan aroma dalam produk pangan sama pentingnya dengan warna karena akan menentukan daya terima konsumen. (Winarno, 2002).

4.2.3 Rasa

Rasa merupakan tanggapan biologis atas adanya sensasi yang dihasilkan oleh materi yang masuk kemulut. Grafik nilai hedonik rasa minuman serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis) terlihat pada Gambar 8.



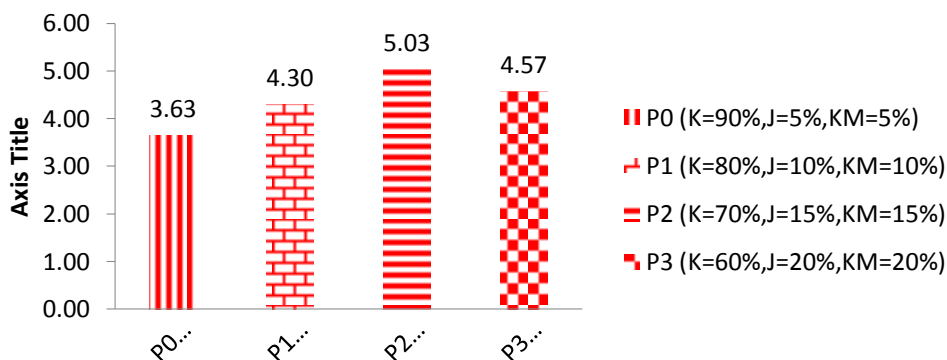
Gambar 8. Uji organoleptik rasa seduhan minuman serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis)

Berdasarkan hasil uji organoleptik yang digambarkan pada grafik diatas terhadap parameter Rasa pada seduhan minuman serbuk herbal kejaknis menunjukkan bahwa tingkat penerimaan responden terhadap seduhan minuman serbuk herbal kejaknis terlihat pada perlakuan P0 dan P1 memiliki nilai berturut-turut yaitu 3.67 dan 4.43 sedangkan perlakuan P2 memiliki nilai 5.30 dan pada perlakuan P3 Mendapatkan nilai 5.03. Nilai parameter yang tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan P2 dan yang terendah terdapat pada perlakuan P0.

Analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan formulasi minuman serbuk herbal kejaknis memberikan pengaruh nyata pada taraf 5% terhadap tingkat kesukaan Aroma pada seduhan minuman serbuk herbal kejaknis dengan Empat formulasi yang berbeda, seperti terlihat pada Lampiran 3. Hal ini dipengaruhi oleh Rasa sangat berhubungan dengan aroma, dimana keduanya merupakan komponen cita rasa. Jika aroma disukai biasanya rasa juga akan disukai. Terlihat pada persentase produk yang paling disukai oleh panelis sejalan antara aroma dan rasa. Senyawa cita-rasa pada produk dapat memberikan rangsangan pada indera penerima. Rasa dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu senyawa kimia, suhu, konsentrasi dan interaksi dengan komponen rasa yang lain (Dwisetyaningsih dan Apriyantono 2010).

4.2.3 Overall

Penilaian Overall adalah salah satu parameter penilaian hedonik yang telah mencakup semua parameter organoleptik baik Rasa, aroma, warna Dan tekstur. Pengujian ini dilakukan untuk melihat tingkat kesukaan panelis terhadap produk berdasarkan persepsi individu. Grafik nilai hedonik aroma minuman serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis) terlihat pada gamabar 9.



Gambar 9. Uji organoleptik Overall seduhan minuman serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis)

Berdasarkan hasil uji organoleptik yang digambarkan pada grafik diatas terhadap parameter Overall pada seduhan minuman serbuk herbal kejaknis menunjukkan bahwa tingkat penerimaan responden terhadap seduhan minuman serbuk herbal kejaknis terlihat pada perlakuan P0 dan P1 memiliki nilai berturut-turut yaitu 3.63 dan 4.30 sedangkan perlakuan P2 memiliki nilai 5.03 dan pada perlakuan P3 Mendapatkan nilai 4.57. Nilai parameter yang tertinggi ditunjukkan

oleh perlakuan P2 dan yang terendah terdapat pada perlakuan P0. Ini disebabkan penilaian overall dipengaruhi Oleh warna, Rasa dan Aroma secara keseluruhan.

Analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan formulasi minuman serbuk herbal kejaknis memberikan pengaruh nyata pada taraf 5% terhadap tingkat kesukaan Aroma pada seduhan minuman serbuk herbal kejaknis dengan Empat formulasi yang berbeda, seperti terlihat pada Lampiran 4. Hal tersebut dikarenakan bahwa penerimaan keseluruhan dipengaruhi oleh kenampakan warna, Aroma, dan rasa serta melibatkan seluruh indrawi dari panelis. Hasil analisis penerimaan panelis dari aspek penerimaan secara keseluruhan.

Berdasarkan hasil nilai rata-rata uji organoleptik menunjukkan bahwa formulasi minuman serbuk herbal kejaknis yang paling disukai bila dilihat dari nilai rata-rata baik terhadap rasa, aroma, warna, dan Overall adalah formulasi P2 (Kelor = 70%, Jahe = 15%, dan Kayu Manis = 15%). Perlakuan formulasi P2 ini yang digunakan untuk penelitian tahap kedua dan ketiga.

4.3 Penentuan Umur Simpan

Umur simpan produk Minuman serbuk herbak Kejaknis (Kelor, Jahe dan kayu Manis) ditentukan dengan menggunakan metode akselerasi dengan pendekatan kadar air kritis. Umur simpan produk ini dihitung melalui persamaan Labuza (1982) adalah umur simpan pada penyimpanan RH 78%. Nilai RH dipilih untuk mewakili kondisi penyimpanan produk oleh konsumen. Melalui persamaan yang diturunkan oleh Labuza (1982) tentang umur simpan terdapat beberapa faktor dalam pendekatan kadar air kritis untuk menentukan umur simpan. Faktor-faktor tersebut adalah kadar air awal produk (M_i), kadar air kritis (M_c), kadar air kesetimbangan (M_e), konstanta permeabilitas uap air kemasan (k/x), rasio luas kemasan dengan berat kering produk (A/Ws), tekanan uap air jenuh pada kondisi penyimpanan (P_o) dan kemiringan kurva sorpsi isothermis (b).

4.3.1 Kadar air awal (M_i) dan kadar air kritis (M_c)

Kadar air awal merupakan kadar air yang dimiliki suatu produk sesaat setelah diproduksi dan siap untuk dipasarkan. Kadar air awal ini ditentukan berdasarkan AOAC, 2005 dengan menggunakan metode oven melalui perhitungan basis kering dengan suhu 105°C. Hasil pengukuran kadar air awal produk Minuman serbuk herbak Kejaknis (Kelor, Jahe dan kayu Manis) adalah 10,12 (% bk). Dan Kadar air kritis merupakan kadar air dimana produk pangan mencapai kondisi mulai tidak diterima lagi secara sensoris. Kondisi Kritis pada sampel ditentukan berdasarkan pengamatan secara visual selama penyimpanan yang ditandai dengan produk sudah menggumpal/melempem, setelah itu diukur kadar air kritisnya. Hasil pengukuran kadar air kritis yaitu 11,05 (% bk).

4.3.2 Kadar air Kesetimbangan (M_e)

Kadar air kesetimbangan suatu bahan pangan kadar air bahan pangan ketika uap air bahan tersebut dalam kondisi setimbang dengan lingkungannya dimana produk sudah tidak mengalami penambahan atau pengurangan bobot produk (Fellows, 1990). Kadar air kesetimbangan yang diperlukan untuk membuat kurva sorpsi isothermis produk diperoleh dengan mengkondisikan sampel produk minuman serbuk Kejaknis dalam beberapa jenis larutan garam jenuh dengan kelembaban relatif yang berbeda-beda.

Selama penyimpanan dalam berbagai kondisi RH diatas akan terjadi interaksi antara produk dengan lingkungannya. Uap air akan berpindah dari lingkungan ke produk atau sebaliknya sampai tercapai kondisi kesetimbangan. Perpindahan uap air ini terjadi sebagai akibat perbedaan RH lingkungan dan produk, dimana uap air akan berpindah dari RH tinggi ke RH rendah. Tercapainya kondisi kesetimbangan antara sampel dan lingkungan ditandai oleh bobot sampel yang konstan. Bobot yang konstan ditandai oleh selisih penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 2 mg/g untuk sampel

yang disimpan pada RH di bawah 90% dan tidak lebih dari 10 mg/g untuk sampel yang disimpan pada RH di atas 90% (Adawiyah, 2006).

Tabel 5. Kadar air Kesetimbangan untuk berbagai Jenis larutan Garam Jenuh .

Larutan Garam	RH (%)	Kadar Air Kesetimbangan
NaOH	7%	8,73
MgCL ₂	32%	11,31
K ₂ CO ₃	43%	11,69
KI	69%	11,09
NaCL	76%	11,05
KCL	84%	11,59
BaCL ₂	90%	15,97

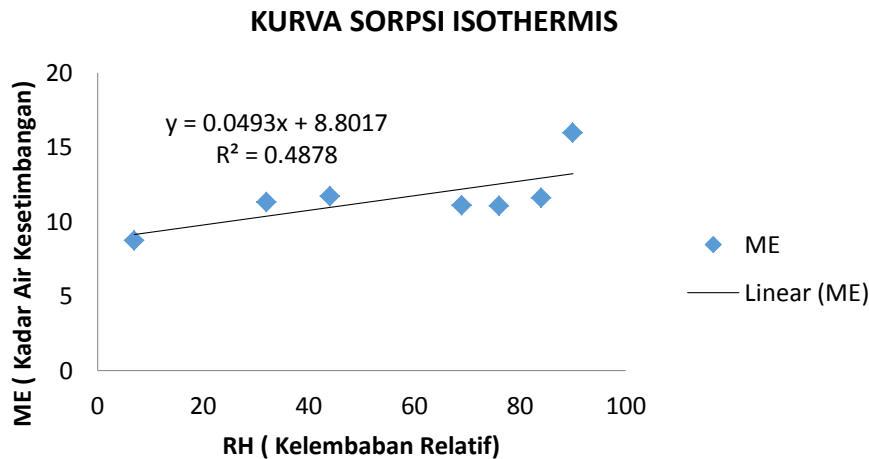
Kadar air kesetimbangan yang diperoleh dari masing-masing sampel tercapai pada selang penyimpanan 3 - 12 hari tergantung dari kelembaban relatif penyimpanan. Semakin tinggi nilai kelembaban relative penyimpanan, maka semakin lama waktu yang dibutuhkan untuk mencapai kondisi setimbang dengan lingkungannya.

Kadar air kesetimbangan sampel produk minuman serbuk Kejaknis yang didapatkan menunjukkan kecenderungan penambahan berat kecuali sampel yang disimpan pada RH 7%. Pada sampel produk minuman serbuk Kejaknis yang disimpan pada kondisi kelembaban relatif 7% proses yang terjadi adalah pelepasan uap air dari bahan ke lingkungan. Hal ini terjadi karena snack pada kondisi ini memiliki aktivitas air yang lebih tinggi dari kelembaban relative lingkungannya sehingga untuk mencapai keseimbangan dengan lingkungannya snack akan melepaskan uap air. Sedangkan snack yang disimpan pada kelembaban relatif 32%, 43%, 69%, 76%, 84% dan 90% mengalami proses adsorpsi karena aktivitas air bahan yang lebih rendah dari kelembaban relative lingkungannya. Hal ini sesuai dengan pernyataan deMan (1979), penambahan atau penurunan bobot sampel selama penyimpanan menunjukkan fenomena hidratisasi serta pernyataan Brooker *et al.*, (1982), proses adsorpsi yang terjadi jika kelembaban relative udara lebih tinggi daripada Aw bahan sehingga bahan akan menyerap uap air dari lingkungan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai RH penyimpanan maka waktu yang diperlukan oleh sampel produk minuman serbuk Kejaknis untuk mencapai titik kesetimbangannya pun semakin lama. Selain itu, semakin kecil selisih nilai aw produk dengan RH lingkungannya maka waktu yang diperlukan oleh sampel produk minuman serbuk Kejaknis untuk mencapai titik kesetimbangannya pun semakin cepat. Hal ini terjadi karena proses difusi uap air untuk mencapai kadar air kesetimbangannya berlangsung cepat.

4.3.3 Kurva Sorpsi Isotermis

Kurva sorpsi isotermis merupakan kurva yang menggambarkan hubungan antara aktivitas air (aw) atau kelembaban relative kesetimbangan pada ruang penyimpanan (ERH) dengan kandungan air per gram suatu bahan pangan (Winarno, 2004). Kurva sorpsi isothermis sampel produk minuman serbuk Kejaknis disajikan pada gambar 10.



Gambar 10 . Kurva sorpsi isothermis hasil percobaan

Kurva ini diperoleh dengan memplotkan kadar air kesetimbangan yang dihasilkan dengan nilai aktivitas air atau RH lingkungannya masing-masing akan membentuk suatu kurva yang disebut kurva sorpsi isothermis. Berdasarkan Kurva tersebut, ditentukan nilai slope atau kemiringan kurva untuk perhitungan umur simpan. Nilai Slope (b) Kurva sorpsi isothermis ditentukan pada daerah linear. daerah linear tersebut diambil antara daerah kadar awal dan kadar air kritis. titik titik antara aktivitas air dan kadar air kesetimbangan memiliki persamaan linear $y = a + bx$. Nilai b persamaan tersebut merupakan slope kurva sorpsi isothermis. Dari hasil penelitian didapatkan Kurva ini membentuk sigmoid menyerupai huruf S walau tidak sempurna. Menurut Fennema (1996), bentuk kurva sangat beragam tergantung pada beberapa faktor seperti sifat alami bahan pangan, perubahan fisik yang terjadi selama perpindahan air, suhu, kecepatan desorpsi atau adsorpsi dan tingkatan air yang dipindahkan selama desorpsi atau adsorpsi. Dari Kurva sorpsi isothermis yang terbentuk didapatkan persamaan garis linear adalah $y = 0,049x + 8,801$

4.3.4 Parameter Pendukung

Parameter pendukung umur simpan yang sangat penting untuk ditentukan selain parameter-parameter yang telah disebutkan sebelumnya seperti permeabilitas kemasan wafer (k/x), luas kemasan(A), berat solid wafer per kemasan (W_s), dan tekanan uap air murni pada suhu $27,37^{\circ}\text{C}(P_o)$.

Permeabilitas uap air kemasan (k/x) adalah kecepatan atau laju transmisi adanya perbedaan unit tekanan uap air antara permukaan produk dengan lingkungannya pada suhu dan kelembaban tertentu (Robertson 1993). Laju transport uap air dan oksigen dari udara adalah factor utama dalam melakukan kontrol umur simpan dari makanan kering dan produk-produk lain yang mengandung lipid atau komponen-komponen yang sensitive terhadap oksigen. Semakin tingginya suhu, maka pori-pori plastik akan semakin membesar sehingga permeabilitas plastik meningkat. Oleh karena itu penentuan permeabilitas uap air kemasan harus dilakukan dengan suhu yang konstan untuk menghindari peningkatan ukuran pori-pori plastik.

Permeabilitas kemasan merupakan kemampuan dari kemasan untuk melewatkan uap air dari lingkungan ke produk ataupun dari produk ke lingkungan. Permeabilitas kemasan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu jenis kemasan aluminium foil Dan HDPE yang diambil dari data sekunder. Permeabilitas kemasan dari kemasan aluminium foil adalah $0,02 \text{ g h}_2\text{O/m}^2.\text{hari.mmHg}$ Dan $0,10 \text{ g h}_2\text{O/m}^2.\text{hari.mmHg}$.

4.3.6 Umur Simpan

Umur simpan ditetapkan berdasarkan beberapa faktor dalam penedekatan kadar air kritis. Adapun faktor-faktor tersebut adalah kadar air awal produk (M_i), kadar air kritis (M_c), kadar air kesetimbangan (M_e), konstanta permeabilitas uap

air kemasan (k/x), rasio luas kemasan dengan berat kering produk (A/Ws), tekanan uap air jenuh pada kondisi penyimpanan (Po) dan kemiringan kurva sorpsi isothermis (b).

Umur simpan ditetapkan berdasarkan waktu pada saat kadar air produk sama dengan kadar air kritis. Umur simpan merupakan selang waktu antara bahan pangan mulai diproduksi hingga tidak dapat lagi diterima oleh konsumen akibat adanya penyimpangan mutu. Umur simpan produk pangan ini merupakan parameter ketahanan produk selama penyimpanan terutama jika kondisinya beragam. Adanya perubahan kadar air selama penyimpanan akan mempengaruhi mutu produk. Oleh karena itu dengan mengetahui pola penyerapan air dan menetapkan nilai kadar air kritis, maka umur simpan dapat ditentukan. Dari semua data yang ada, maka umur simpan dapat ditentukan. Umur simpan produk akan dihitung pada kondisi penyimpanan di RH 80%.

Produk pangan disebut rusak bila produk tersebut mulai memeerlihatkan tanda penyimpanagan sifat yang tidak diinginkan. Umur simpan berhubungan dengan kadar air kritis yaitu kadar air dimana secara organoleptik sudah tidak dapat diterima oleh konsumen. Hubungan umur simpan dengan kadar air kritis adalah untuk dapat mengetahui berapa lama waktu yang dibutuhkan untuk mencapai kadar air kritis. Kenaikan Rh akan diikuti oleh peningkatan kadar air sehingga mempengaruhi mutu produk dfan akan terjadi perubhan fisik pada produk seperti bau, warna dan tumbuhnya jamur. Selain itu, suhu yang tinggi juga memepenfgruhi nilai tekana uap dan kelembaban sehingga akan mempercepat pencapaian titik kritis.

Tabel 6. Umur simpan Produk minuman kejaknis pada RH 80%

Parameter	Satuan	RH 80%	RH 80%
		Kemasan	Kemasan
		Alufo	Alufo
Me	% bk	12,72	12,72
Mi	%bk	10,12	10,12
Mc	%bk	11,05	11,05
k/x	$gr/m^2.hr.mmHg$	0,02	0,10
Ws	gr	359,52	359,52
A	m^2	0,0384	0,0384
Po	MmHG	27,37	27,37
b	Gr H2O/ gr bk	0,0490	0,0490
ts	Hari	479,421 = 479	95,884 = 95

Berdasarkan perhitungan umur simpan produk minuman serbuk kejaknis pada poenelitian ini adalah 479 hari dengan permeabilitas kemasan 0,02 $gr/m^2.hr.mmHg$ dan 95 hari dengan permeabilitas kemasan 0,10 $gr/m^2.hr.mmHg$ pada penyimpanan suhu 27,37°C Dan RH 80%.

3. Mie kelor

Karakteristik Organoleptik Mie Kelor Warna, Rasa, Dan Aroma

Organoleptik hedonik atau uji kesukaan merupakan faktor terpenting untuk mengetahui penerimaan panelis terhadap suatu produk baik makanan maupun minuman. Penilaian organoleptik hedonik terhadap produk mie daun kelor meliputi warna, rasa, dan aroma. Adapun formulasi pembuatan mie daun kelor terlihat pada gambar 4.7.

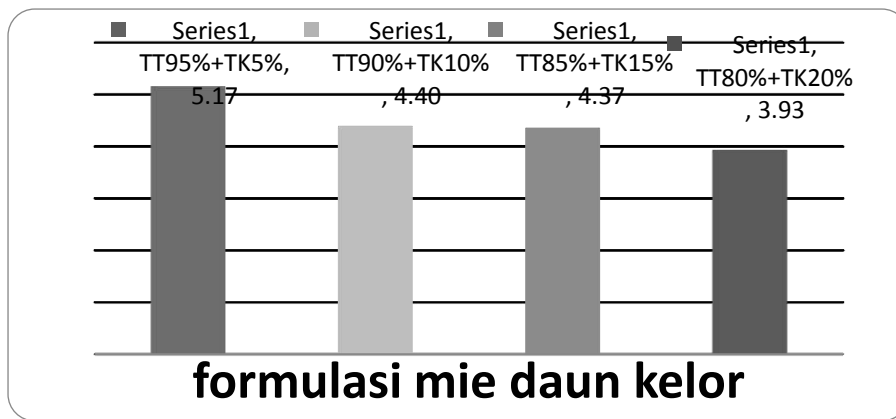


TK95%:TT5% TK90%:TT10% TK85%:TT20% TK80%:TT20%

Gambar 4.7: Formulasi pembuatan mie daun kelor

4.2.1 Warna

Warna merupakan bagian dari produk yang pertama diperhatikan ketika memilih produk. Warna sangat mempengaruhi seseorang untuk membeli atau mengonsumsi makanan dan minuman. Hal ini sesuai dengan pernyataan (Bambang, 1998) warna merupakan indikator yang pertama kali dilihat dan diamati oleh konsumen karena warna merupakan faktor kenampakan yang langsung dapat dilihat oleh konsumen. Grafik nilai hedonik warna pada mie daun kelor terlihat pada gambar 4.7.



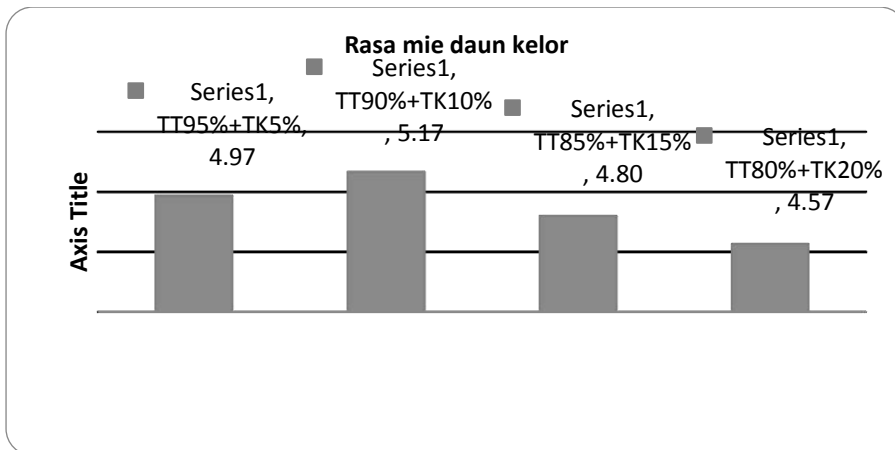
Gambar 4.8: Uji organoleptik warna pada mie daun kelor (tepung kelor, tepung terigu)

Berdasarkan hasil nilai hedonik terhadap warna menunjukkan bahwa mie daun kelor dengan tepung daun kelor, nilai kesukaan panelis terhadap warna terendah yaitu pada perlakuan TT80% : TK20% (3,93), sedangkan nilai kesukaan tertinggi diperoleh pada perlakuan TT95% : T5.17% (4.5), berdasarkan hasil rata-rata dari keempat perlakuan nilai hedonik terhadap warna pada grafik diatas adalah (3.9) jadi penilaian panelis terhadap warna pada mie basah substitusi tepung daun kelor berdasarkan skala hedonik yaitu netral. Berdasarkan analisis sidik ragam menunjukkan bahwa F-hitung (3.9) lebih besar dari F-tabel (2,83) pada taraf 5%. Hal ini berarti bahwa perbedaan perlakuan pada mie basah substitusi tepung daun kelor memberikan pengaruh nyata pada tingkat kesukaan warna dengan empat formula yang berbeda.

Uji lanjut duncan menunjukkan bahwa kesukaan pada mie basa daun kelor perlakuan TT95%:TK5% berbeda nyata dengan perlakuan TT80%:TK20% pada taraf 0.05 . Hal ini dipengaruhi perlakuan dengan penambahan tepung daun kelor dengan perbandingan TT95%:TT5% menghasilkan warna yang paling mendominasi adalah warna hijau muda. Warna hijau muda disebabkan oleh penambahan tepung daun kelor yang hanya sedikit. Sedangkan perlakuan TT80%:TK20% menghasilkan warna hijau tua yang kurang menarik menurut penilaian panelis, ini disebabkan oleh perlakuan TT80%:TK20% masih mengandung klorofil yang agak banyak sehingga panelis kurang suka.

4.2.2 Rasa

Rasa merupakan faktor penting untuk menentukan diterima atau tidaknya suatu produk pangan dalam penelitian. Grafik nilai hedonik rasa minuman serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis) terlihat pada Gambar 4.8.



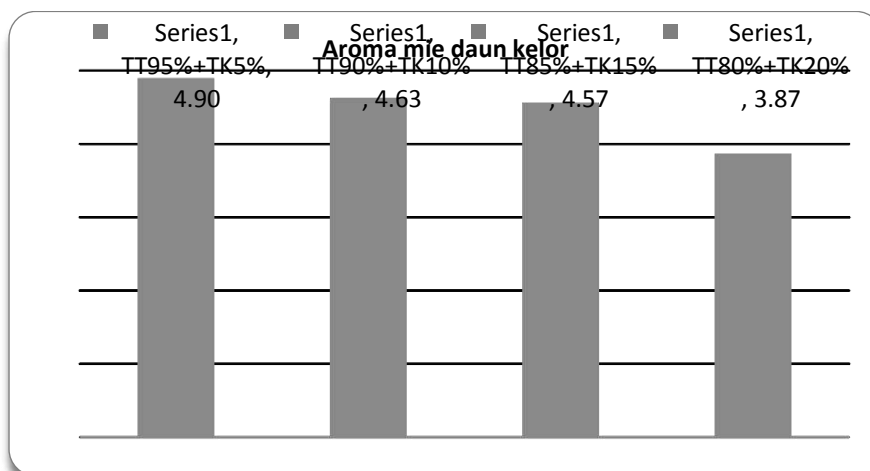
Gambar 4.9: Uji organoleptik rasa mie daun kelor

Berdasarkan hasil nilai hedonik terhadap rasa menunjukkan bahwa seduhan mie basah dengan penambahan tepung daun kelor, nilai kesukaan panelis terhadap rasa terendah yaitu pada perlakuan TT80%:20% (4.57), sedangkan nilai kesukaan tertinggi diperoleh pada perlakuan TT90%:15% (5.17), berdasarkan hasil rata-rata dari keempat perlakuan nilai hedonik terhadap rasa pada grafik diatas adalah (4.8) jadi penilaian panelis terhadap rasa pada mie daun kelor berdasarkan skala hedonik yaitu netral. Analisis sidik ragam menunjukkan bahwa F-hitung (14.5) lebih besar dari F-tabel (2,52) pada taraf 5%. Hal ini berarti perbedaan perlakuan pada mie basah dengan penambahan tepung daun kelor memberikan pengaruh nyata pada tingkat kesukaan rasa pada mie daun kelor dengan empat formula yang berbeda.

Uji lanjut duncan menunjukkan bahwa kesukaan mie basah dengan penambahan tepung daun kelor perlakuan TT95%:TK5% berbeda nyata dengan perlakuan TT90%:TK10%, TT85%:TK10% dan TT80%:TK20% pada taraf 0.05 Hal ini dipengaruhi perlakuan dengan penambahan tepung daun kelor dengan perbandingan TT80%:TK20% menghasilkan rasa sedikit pahit memiliki senyawa polifenol yang menyebabkan rasa pahit, sedangkan perlakuan TT95%:TK5% menghasilkan rasa yang tidak pahit tetapi tidak memberikan rasa yang enak karena perlakuan TT95%:TK5% terlalu berasa tepung terigu sehingga panelis tidak suka. Menurut Fellows (2000), rasa pada makanan dan minuman sangat dipengaruhi oleh formula suatu produk, sehingga penggunaan formula yang berbeda berpengaruh terhadap rasa produk yang dihasilkan.

4.2.3 Aroma

Aroma adalah bau yang ditimbulkan oleh rangsangan kimia yang tercium oleh syaraf-syaraf olfaktori yang berada dalam rongga hidung ketika makanana masuk kedalam mulut (Winarno, 2004). Dalam hal bau lebih banyak sangkut pautnya dengan alat panca indera penciuman (Rampengan *dkk.*,1985). Grafik nilai hedonik aroma minuman serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis) terlihat pada gamabar 4.9.



Gambar 4.10. Uji organoleptik aroma mie daun kelor

Berdasarkan hasil nilai hedonik terhadap aroma menunjukkan bahwa mie basah dengan penambahan tepung daun kelor, nilai kesukaan panelis terhadap aroma terendah yaitu pada perlakuan TT80%:TK20% (3.87), sedangkan nilai kesukaan tertinggi diperoleh pada perlakuan TT95%:TK5% (4.90), berdasarkan hasil rata-rata dari keempat perlakuan nilai hedonik terhadap warna pada grafik diatas adalah (4.4) jadi penilaian panelis terhadap warna mie basah dengan penambahan tepung daun kelor berdasarkan skala hedonik yaitu netral. Analisis sidik ragam menunjukkan bahwa F-hitung (22.) lebih besar dari F-tabel (2.83) pada taraf 5%. Hal ini berarti perbedaan perlakuan mie basah dengan penambahan tepung daun kelor memberikan pengaruh nyata pada tingkat kesukaan aroma pada mie daun kelor dengan empat formula yang berbeda.

Uji lanjut duncan menunjukkan bahwa kesukaan mie basah dengan penambahan tepung daun kelor perlakuan TT95%:TK5% berbeda nyata dengan perlakuan TT90%:TK10%, TT85%:TK10% dan TT80%:TK20% pada taraf 0.05. Hal ini dipengaruhi perlakuan dengan penambahan tepung daun kelor perbandingan TT95%:TK5% menghasilkan aroma yang mendominasi pada tepung terigu sehingga masih disukai panelis. Sedangkan perlakuan TT80%:TK20% menghasilkan aroma yang kurang harum karena perlakuan TT80%:TK20% masih mendominasi aroma khas daun kelor sehingga panelis tidak suka. Winamo (2008), menyatakan bahwa aroma menentukan tingkat penerimaan panelis dari suatu produk. Aroma yang khas akan meningkatkan selera konsumen.

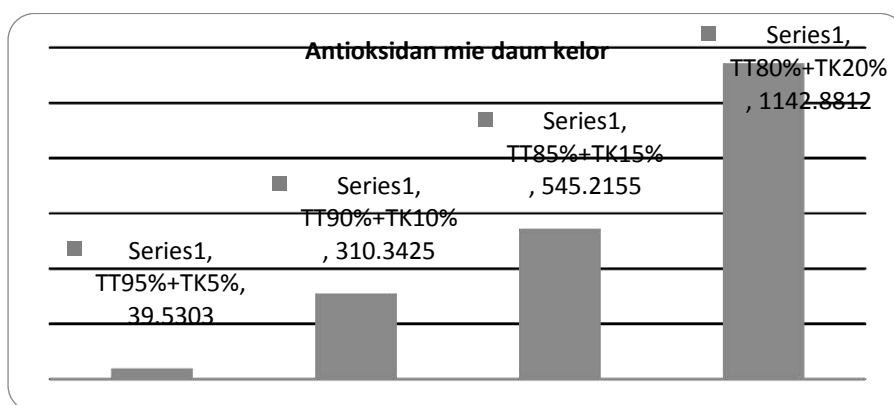
4.3 Karakteristik Kimia Mie basah Substitusi Tepung Daun Kelor

4.3.1 Aktivitas Antioksidan

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah metode serapan radikal DPPH. Metode ini sederhana, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah sedikit dengan waktu yang singkat (Hanani *et al*, 2005).

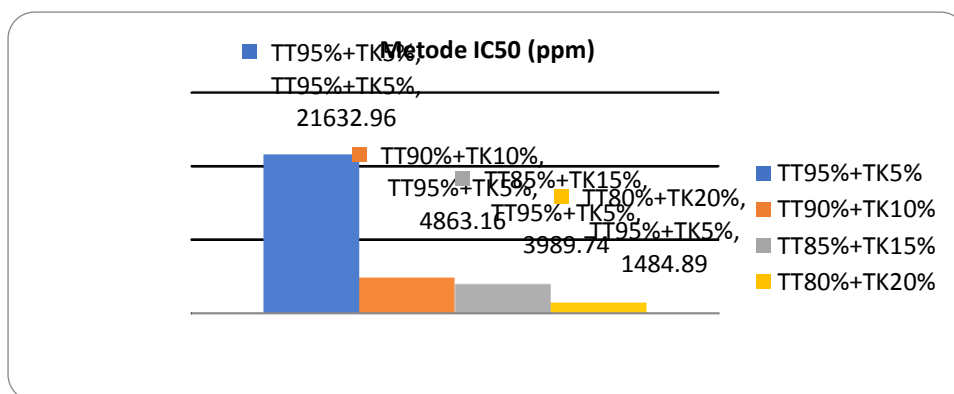
Penelitian ini menggunakan asam askorbat (vitamin C) sebagai antioksidan standar untuk pembuatan kurva standar sehingga satuan pengukuran dinyatakan sebagai AEAC (*Ascorbic Acid Equivalent Antioxidant Capacity*). Adapun alasan pemilihan vitamin C sebagai standar karena vitamin C merupakan antioksidan alami yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi sehingga absorbansinya mudah teramati selain itu vitamin C juga memiliki gugus fenol sehingga dapat dijadikan pembanding dari antioksidan alami yang juga mengandung gugus fenol seperti flavonoid.

Mula-mula dibuat kurva standar asam askorbat untuk mendapatkan persamaan regresi linier yang akan digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan (mg AEAC/g sampel). Selanjutnya dihitung aktivitas antioksidan pada serbuk herbal kejaknis (kelor, jahe, kayu manis) yang dinyatakan dalam AEAC. Kurva standar asam askorbat dan perhitungan antioksidan dalam AEAC dapat dilihat pada lampiran 4.



Gambar 4.11: Uji antioksidan Mie daun Kelor

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan mie daun kelor dengan perbandingan perlakuan didapatkan hasil yakni TT95%:TK5% (39.5303 mg AEAC/g serbuk daun kelor dan tepung terigu) artinya dalam setiap gram mie daun kelor dengan (39.5303 mg vitamin C, TT90%:TK10% (310.3425 mg AEAC/g serbuk daun kelor dan tepung terigu) artinya dalam setiap gram mie daun kelor setara dengan (310.3425 mg vitamin C), TT85%:TK15% (545.2155 mg AEAC/g serbuk daun kelor dan tepung terigu) artinya dalam setiap gram mie daun kelor setara dengan (545.2155 mg vitamin C). dan TT80%:TK20% (1142.8812 mg AEAC/g serbuk daun kelor dan tepung terigu) artinya dalam setiap gram mie daun kelor setara dengan (1142.8812 mg vitamin C). Dari hasil analisis antioksidan pada perlakuan dengan penambahan serbuk daun kelor memiliki nilai tertinggi sebesar 1142.8812 mg AEAC/g pada perlakuan keempat yakni dengan perbandingan TT80%+TK20%, dibandingkan dengan perlakuan pertama dengan penambahan serbuk kelor (TT95%+TK5%) memiliki nilai terendah sebesar 39.5303 mg AEAC/g. Ini disebabkan semakin banyak tepung daun kelor yang diberikan maka akan semakin tinggi kandungan antioksidan pada produk.



Gambar 4.12: Hasil analisis DPPH metode IC₅₀ mie daun kelor

Berdasarkan hasil grafik IC₅₀ di masing-masing sampel menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi berbanding dengan terbalik % peredaman. Hal ini dapat dilihat pada tabel hasil analisis DPPH metode IC₅₀ memiliki penurunan tiap konsentrasinya. Setelah dimasukkan dalam persamaan linear diperoleh nilai rata-rata IC₅₀ sebesar 7992.68 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa mie daun kelor mempunyai aktivitas antioksidan meskipun sangat lemah.

Faktor yang menyebabkan sangat lemahnya aktivitas antioksidan mie basah substitusi tepung daun kelor adalah senyawa flavonoid yang terdapat dalam mie daun kelor diduga kemungkinan masih berikatan dengan gugus glikosida, karena gugus glikosida yang berikatan dengan flavonoid dapat menurunkan aktivitas antioksidan.

Menurut Fukumoto dan Mazza (2000) aktivitas antioksidan akan meningkat dengan bertambahnya gugus hidroksil dan akan menurun dengan adanya gugus glikosida. Senyawa flavonoid di alam umumnya sangat jarang ditemukan dalam bentuk aglikon flavonoid. Menurut Harborne (1987) bahwa flavonoid dalam tumbuhan sering terdapat sebagai glikosida (flavonoid glikosida) dan jarang sekali ditemukan dalam bentuk tunggal aglikon flavonoid.

Secara spesifik suatu senyawa antioksidan dikatakan sangat kuat apabila nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm, antioksidan kuat jika IC₅₀ 50 – 100 ppm, antioksidan sedang jika IC₅₀ 100 – 150 ppm, antioksidan lemah jika nilai IC₅₀ lebih dari 150 – 200 ppm dan antioksidan sangat lemah jika IC₅₀ lebih dari 200 ppm. Apabila suatu zat memiliki IC₅₀ lebih dari 200 ppm, maka zat tersebut kurang aktif namun masih berpotensi sebagai zat antioksidan (Molyneux, 2004).

4. Suplemen ekstrak daun kelor

4.1. Pembuatan Serbuk Ekstrak Daun Kelor

Tabel 7. Hasil Pembuatan Serbuk Ekstrak Dengan Vivapur 101

1. Ekstrak Kental Metanol

Formula	Sebelum dioven	Setelah dioven
Ekstrak kental metanol : Vivapur 101 0,15 + 0,35 gram	27,55 gram	27,49 gram
Ekstrak kental metanol: Vivapur 101 0,25 + 0,25 gram	27,42 gram	27,34 gram
Ekstrak kental metanol : Vivapur 101 0,35 + 0,15 gram	31,16 gram	31,07 gram

2. Ekstrak Kental N-Heksan

Formula	Sebelum dioven	Setelah dioven
Ekstrak kental N-Heksan: Vivapur 101 0,15 + 0,35 gram	24,32 gram	24,28 gram
Ekstrak kental N-Heksan: Vivapur 101 0,25 + 0,25 gram	23,74 gram	23,68 gram
Ekstrak kental N-Heksan: Vivapur 101 0,35 + 0,15 gram	21,57 gram	21,55 gram

3. Ekstrak Kental Etil Asetat

Formula	Sebelum dioven	Setelah dioven
Ekstrak kental Etil Asetat: Vivapur 101 0,15 + 0,35 gram	24,78 gram	24,75 gram
Ekstrak kental Etil Asetat: Vivapur 101 0,25 + 0,25 gram	25,85 gram	25,80 gram
Ekstrak kental Etil Asetat: Vivapur 101 0,35 + 0,15 gram	22,70 gram	22,64 gram

Berdasarkan Tabel 7 Hasil pembuatan serbuk ekstrak dengan vivapur 101 diperoleh hasil optimasi pengeringan serbuk ekstrak yang paling baik digunakan adalah dengan perbandingan ekstrak kental metanol :Vivapur 101 (0,15 + 0,35) gram untuk serbuk ekstrak daun kelor.

4.2 Uji Evaluasi Massa Serbuk Kapsul Daun Kelor**Tabel 8 Hasil Uji Sifat Alir Yang Diperoleh**

Formula	Rata-rata laju alir (gram/detik)
Ekstrak kental metanol : Vivapur 101 (0,15 + 0,35 gram)	2,567 ±0,20

Berdasarkan Tabel 8 Hasil Uji Laju Alir yang diperoleh cukup baik. Hal ini menunjukkan formula tersebut memenuhi uji laju alir. Syarat waktu alir yaitu di bawah 10 detik (Voight, 1994). Perbedaan waktu alir dipengaruhi oleh konsentrasi pengikat (vivapur 101) yang digunakan. Semakin tinggi konsentrasi pengikat maka semakin besar massa serbuk yang terikat sehingga mudah untuk mengalir.

Tabel 9 Hasil Uji Sudut Istirahat (α) Yang Diperoleh

Formula	α ($^{\circ}$)
Ekstrak kental metanol : Vivapur 101 (0,15 + 0,35 gram)	23,96

Berdasarkan Tabel 9 Hasil Uji Sudut Istirahat (α) Semakin kecil sudut yang terbentuk antara bidang alas dengan puncak kerucut menunjukkan bahwa massa serbuk tersebut semakin mudah mengalir. Besar kecilnya sudut diam dipengaruhi oleh kelembaban granul (Wadke and Jacobson, 1980). Semakin kecil sudut diam maka semakin baik sifat aliran granul. Menurut Voight (1994), sudut diam 25-30 $^{\circ}$ masuk dalam kategori sifat aliran yang baik sedangkan untuk sudut diam <25 $^{\circ}$ masuk dalam kategori sifat aliran sangat baik.

Tabel 10 Hasil Uji Densitas Yang Diperoleh

Densitas	Formula
<i>Bulk density</i> (g/mL)	0,256 g/ml
<i>Tap density</i> (g/mL)	0.32 g/ml

Berdasarkan Tabel 10 Hasil uji densitas diperoleh hasil dari bulk density sebanyak 0,256 g/ml dan tap density sebanyak 0,32 g/ml.

Tabel 11 Hasil Nilai Indeks Kompresibilitas Yang Diperoleh

Formula	Indeks Kompresibilitas (%)
Ekstrak kental metanol : Vivapur 101 (0,15 + 0,35 gram)	25 %

Berdasarkan Tabel 11 Hasil Nilai Indeks Kompresibilitas menunjukkan sifat alir massa serbuk dengan membandingkan densitas serbuk sebelum dan sesudah *tapping*. Indeks kompresibilitas dinyatakan dalam bentuk persen. Indeks kompresibilitas untuk formula Ekstrak kental metanol : Vivapur 101 (0,15 + 0,35 gram) adalah 25% yang menunjukkan bahwa formula ini termasuk dalam kategori agak baik.

Tabel 12 Hasil Uji Higroskopisitas Minggu Pertama Sampai Keempat

Formula	1	2	3	4
Ekstrak kental metanol : Vivapur 101 (0,15 + 0,35 gram)	0,2082	0,2082	0,2082	0,2083

Uji Sifat Alir

Berdasarkan hasil uji laju alir serbuk pada formula 1 (Ekstrak kental metanol : Vivapur 101) memiliki kecepatan alir yang baik. Hal ini sesuai dengan pernyataan Lukman dkk. (2013) yang menjelaskan bahwa semakin besar kecepatan alir maka sudut diamnya akan semakin kecil. Kecepatan alir yang besar dapat membuat granul mengalir bebas (*free flowing*) dan membentuk sudut diam yang kecil. Semakin besar kecepatan alir granul maka akan membentuk kerucut yang semakin datar. Semakin datar kerucut yang terbentuk maka sudut diam yang terbentuk semakin kecil. Granul dikatakan mengalir dengan baik (*free flowing*) jika kecepatan alir granul lebih besar dari 10 g/detik (Rori dkk., 2016)

2. Uji Sudut Diam

Berdasarkan hasil uji sudut diam serbuk, diketahui bahwa formula 1 (Ekstrak kental metanol : Vivapur 101)

memiliki nilai sudut diam yang baik dimana syarat untuk nilai sudut diam yaitu $25^\circ > \alpha < 40^\circ$ (Rori dkk., 2016).

Pada formula 1 Ekstrak kental metanol : Vivapur 101 (0,15 + 0,35 gram) memiliki sudut diam yang paling kecil, dimana dalam hal ini semakin kecil sudut diam maka sifat aliran granul akan semakin baik. Sudut diam merupakan sudut maksimum yang mungkin terjadi antara permukaan gundukan serbuk dan bidang horizontal, untuk mengukur gaya gesekan pada serbuk tabur (Sinko, 2011).

3. Uji Densitas

Hasil pengukuran densitas meliputi *bulk density* berpengaruh terhadap laju alir serbuk, dimana semakin besar *bulk density* maka laju alir akan semakin baik (Rowe dkk., 2009).

Nilai densitas berbanding lurus dengan massa partikel, semakin besar ukuran partikel maka akan meningkatkan massa sehingga nilai *bulk density* menjadi lebih besar. Ketika ukuran partikel semakin besar maka laju alir akan meningkat dikarenakan berkurangnya gaya kohesi antar partikel. Sedangkan pengukuran densitas meliputi *tapped density* berpengaruh terhadap nilai kompresibilitas.

Berdasarkan hasil uji densitas pada formula 1 (Ekstrak kental metanol : Vivapur 101) memiliki nilai *bulk density* terbesar yaitu 0,256 g/mL sedangkan untuk nilai *tap density* terbesar yaitu pada formula 1 (Ekstrak kental metanol : Vivapur 101) dengan nilai *tap density* 0,32 g/mL. Dalam hal ini, formula 3 (F3) memiliki ukuran partikel yang lebih besar dibandingkan dengan F1, F2 dan F4. Ukuran partikel yang besar akan meningkatkan laju alir dikarenakan gaya kohesi antar partikel berkurang. Sedangkan untuk formula 4 (F4) akan memiliki nilai indeks kompresibilitas yang tinggi.

Nilai Indeks Kompresibilitas

Berdasarkan hasil nilai indeks kompresibilitas pada tabel 4.8 formula 1 Ekstrak kental metanol : Vivapur 101 dengan perbandingan (0,15 + 0,35 gram) memiliki laju alir yang baik. Menurut Voight (1989) nilai indeks kompresibilitas sebesar 25% menunjukkan sifat aliran yang agak baik sehingga mudah mengalir. Proses pembuatan tablet salah satunya terdiri dari proses pengempaan serbuk atau kompresibilitas, yang bertujuan untuk mengubah massa serbuk yang tidak berikatan menjadi suatu bentuk kesatuan sediaan padat tunggal.

4. Uji Keseragaman Bobot

Uji keseragaman bobot dapat dipengaruhi oleh distribusi ukuran rata-rata granul dan waktu alir granul, sebab distribusi ukuran granul yang tidak normal akan menyebabkan granul mengalir kurang bebas dan menyebabkan kecenderungan partikel yang berbeda selama mengalir.

Uji keseragaman bobot dilakukan untuk memastikan bahwa bobot yang terdapat di dalam kapsul pada suatu formula memiliki jumlah yang sama dan zat aktif yang sama dengan anggapan serbuk formula terdistribusi homogen. Faktor yang mempengaruhi keseragaman bobot sediaan adalah sifat aliran massa serbuk. Pengujian massa serbuk formula 1 memenuhi kriteria sifat alir yang baik sehingga akan berpengaruh keseragaman sediaan kapsul.

Berdasarkan persyaratan Farmakope Indonesia edisi IV bahwa kapsul dengan bobot rata-rata lebih dari 120 mg tidak boleh memiliki perbedaan dalam persen bobot isi tiap kapsul terhadap bobot rata-rata isi kapsul lebih dari 85% - 115%. Berdasarkan penimbangan ke lima kapsul pada formula 1 untuk uji keseragaman bobot menunjukkan tidak ada yang menyimpang lebih dari persyaratan. Berdasarkan uji keseragaman bobot dengan tambahan pengisi sehingga memperbesar bobot kapsul. kapsul A memiliki bobot 0,129 gram lebih besar dibandingkan dengan kapsul B 0,120, C 0,126, D 0,119 dan E 0,110.

5. Uji Higroskopisitas

Berdasarkan hasil pengamatan setiap harinya selama satu minggu bobot formula kapsul yang ditempatkan pada botol coklat tidak menunjukkan perubahan apapun. Pengamatan warna dan isi sediaan kapsul juga masih tetap warna

kehijauan. Hal ini menunjukkan selama satu minggu kelima kapsul masih stabil dan belum terjadi perubahan bobot atau warna.

Pengamatan dilanjutkan setiap minggunya selama 4 minggu diamati perubahan bobot setiap minggunya. Pada minggu pertama, kedua dan ketiga, setiap kapsul belum menunjukkan perubahan bobot. Akan tetapi pada minggu keempat mulai terjadi perubahan bobot pada salah satu kapsul. Perubahan bobot ini tidak signifikan hanya bertambah sekitar 1 mg. Pada minggu terakhir pengamatan dilakukan pengamatan terhadap warna serbuk isi kapsul. Serbuk sediaan kapsul menunjukkan warna kehijauan. Hal ini menunjukkan belum terjadi perubahan warna selama 4 minggu pengamatan.

Berdasarkan hasil uji higroskopis selama 4 minggu sediaan kapsul ekstrak metanol daun kelor menunjukan hasil yang relatif stabil. Dimana ekstrak merupakan bahan yang bersifat higroskopis sehingga mudah menyerap air. Dalam hal ini sediaan dapat tetap stabil dikarenakan penggunaan Vivapur 101 sebagai pembuatan serbuk ekstrak. Vivapur ini juga memiliki sifat sebagai adsorben. Selain itu vivapur 101 memiliki ukuran partikel yang lebih kecil, sehingga memiliki luas permukaan yang lebih besar. Semakin besarnya luas permukaan memungkinkan penyerapan kelembaban yang lebih besar, sehingga dapat mempertahankan kestabilan sediaan. Jumlah penggunaan yang cukup besar dengan perbandingan Ekstrak kental :Vivapur 101 (0,15:0,35) menghasilkan serbuk kering sediaan lebih kering, halus, mudah homogen dan stabil.

C. Aktivitas ekstrak dan senyawa aktif daun kelor dalam menghambat proliferasi sel kanker.

1. Uji aktivitas sitotoksik *Artemia salina* ekstrak etil asetat dan n-heksan dengan metode BSLT.

Uji aktivitas sitotoksik metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) digunakan sebagai pengujian awal aktivitas antikanker dari bahan alam. Masing-masing fraksi dilakukan uji sitotoksik secara in vitro dengan metode BSLT menggunakan larva udang *A. salina*.

Tabel 7 Hasil pengamatan uji sitotoksik ekstrak n-heksan *Moringa oleifera* L

No	C (PPM)	Jumlah Larva Mati			Total Larva	Total Larva Mati	% Kematian Larva	Log Konsentrasi	Probit	LC ₅₀
		I	II	III						
1	10	3	2	1	30	6	20	1	4.16	71,285
2	50	5	4	4	30	13	43.33	1.699	4.82	
3	100	5	5	6	30	16	53.33	2	5.08	
4	500	8	8	7	30	23	76.67	2.699	5,71	
5	Kontrol	0	0	0	30	0	0	0	0	

Berdasarkan tabel 7 diketahui bahwa berbagai konsentrasi ekstrak metanol *moringa oleifera* memberikan pengaruh yang berbeda-beda terhadap kematian larva udang *Artemia salina*. Total larva tiap vial uji dengan 3 kali replikasi yaitu 30 ekor untuk masing-masing konsentrasi, sehingga jumlah yang digunakan seluruhnya adalah 150 ekor larva. Persentase kematian larva udang didapat dengan membagi jumlah larva yang mati dengan jumlah larva hidup dikali 100%. Kemudian dilakukan analisis probit atau mencari tingkat kematian larva udang pada ekstrak. Hasil analisis probit dengan menggunakan metode kurva menunjukkan bahwa harga dari ekstrak *Moringa oleifera* yaitu 71,285 ppm.

Tabel 8 Hasil pengamatan uji sitotoksik ekstrak etil asetat *Moringa oleifera* L

No	C (PPM)	Jumlah Larva Mati			Total Larva	Total Larva Mati	% Kematian Larva	Log Konsentrasi	Probit	LC ₅₀
		I	II	III						
1	10	3	2	1	30	6	20	1	4.16	65,215
2	50	5	4	4	30	13	43.33	1.699	4.82	

3	100	5	5	6	30	16	53.33	2	5.08
4	500	8	8	7	30	23	76.67	2.699	5,71
5	Kontrol	0	0	0	30	0	0	0	0

Berdasarkan tabel 8 diketahui bahwa berbagai konsentrasi ekstrak metanol *moringa oleifera* memberikan pengaruh yang berbeda-beda terhadap kematian larva udang *Artemia salina*. Total larva tiap vial uji dengan 3 kali replikasi yaitu 30 ekor untuk masing-masing konsentrasi, sehingga jumlah yang digunakan seluruhnya adalah 150 ekor larva. Persentase kematian larva udang didapat dengan membagi jumlah larva yang mati dengan jumlah larva hidup dikali 100%. Kemudian dilakukan analisis probit atau mencari tingkat kematian larva udang pada ekstrak. Hasil analisis probit dengan menggunakan metode kurva menunjukkan bahwa harga dari ekstrak *Moringa oleifera* yaitu 65,215 ppm.

2. Uji Penghambatan terhadap proliferasi sel kanker dengan Metode Kultur Sel

Uji bioaktivitas ekstrak daun kelor terhadap berbagai alur sel kanker dengan metode MTT. Kemampuan penghambatan ekstrak daun kelor dengan pelarut methanol (polar), etil asetat (semi polar) dan n-heksan (non polar) diuji pada alur sel kanker MCF-7, A549 dan HeLa. Kultur sel HeLa merupakan *continuous cell line* yang diturunkan dari sel epitel kanker leher rahim seorang wanita bernama Henrietta Lacks yang meninggal pada tahun 1951. Alur sel A549 berasal dari sel karsinoma paru-paru dari pria berumur 58 tahun dengan morfologi menyerupai epitelial. Kedua sel ini secara morfologi merupakan sel epithelial berbentuk polygonal dan tumbuh melekat dalam substrat dengan bagian yang terpisah-pisah (sel monolayer). Karena pertumbuhannya ditandai adanya perlekatan sel pada permukaan botol atau wadah pertumbuhan sel. Perlekatan sel dapat dilepaskan dengan penambahan larutan tripsin EDTA, setelah seluruh media pertumbuhan dibuang. Perlekatan antara sel satu dengan sel yang lain dan terhadap substrat kultur diperantarai oleh adanya glikoprotein permukaan sel, ion Ca^{2+} dan Mg^{2+} . Protein-protein lain yang dihasilkan oleh *cell line* dan serum, bergabung dengan permukaan sel dan substrat sehingga terjadi adisi sel.

Pada mamalia, perkembangbiakan sel diatur oleh serangkaian protein yang diproduksi oleh gen-gen *susceptible* tumor yang disebut onkogen (yang dalam keadaan normal disebut protoonkogen) dan gen penekan tumor. Gen yang termasuk onkogen meliputi gen-gen yang terlibat dalam signal mitogenik dan pemacu pertumbuhan ditemukan dalam proses daur sel (siklus sel). Kerusakan pada gen-gen tersebut beresiko terjadinya kanker atau proliferasi berlebihan. Sel kanker yang sedang berproliferasi mengalami beberapa fase yaitu fase mitosis (M), fase pasca mitosis (G1) yang meliputi sintesis RNA dan protein, fase sintesis DNA (fase S) dan fase pra-mitosis (G2) untuk persiapan mitosis.

Perbedaan sifat proliferasi sel normal dan sel kanker terlihat dari beberapa ciri. Yang pertama adalah kemampuannya untuk membentuk gumpalan tumor, tidak seperti sel normal. Sifat yang kedua adalah responnya terhadap populasi di kultur. Sifat yang ketiga adalah sifat pertumbuhan yang tidak tergantung pada perlekatan yang menyebabkan sel kanker akan terus membelah, sehingga sering disebut sel lestari atau sel yang abadi.

Tabel 9 Pengaruh ekstrak daun kelor terhadap penghambatan proliferasi sel kanker A549, HeLa dan MCF-7

Sampel	IC ₅₀ (µg/mL) sel HeLa	IC ₅₀ (µg/mL) sel A549	IC ₅₀ (µg/mL) sel MCF-7
Ekstrak metanol	1852.88	354274.99	1369.82
Ekstrak etil asetat	671,46	120366.67	1297.58
Ekstrak n-heksana	11753.33	-17270.00	1880.12
Isolat n-heksan	143.008	439.96	91.52

Tabel 9 menunjukkan antiproliferasi terhadap beberapa alur sel kanker ditemukan pada ketiga kelompok ekstrak. Jenis pelarut sangat mempengaruhi besar kecilnya penghambatan proliferasi. Penghambatan proliferasi sel kanker paru-paru oleh ekstrak etil asetat > ekstrak metanol > ekstrak n-heksana. Penghambatan proliferasi sel kanker MCF-7 tertinggi dengan IC_{50} 91.52. Aktivitas sitotoksik dari ekstrak yang menyerang sel-sel kanker dapat diklasifikasikan tiga katagori. Katagori pertama sangat aktif jika $IC_{50} < 10\mu\text{g/mL}$, katagori kedua adalah aktif jika IC_{50} 10 - 100 $\mu\text{g/mL}$ dan ketiga katagori cukup aktif jika IC_{50} 100-500 $\mu\text{g/mL}$.

Pelarut n-heksan dapat mengekstrak senyawa alkaloid, aglikon dan glikosida, sterol, terpenoid, dan flavonoid (Houghton & Raman, 1998; Cowan 1999). Metanol dapat melarutkan komponen polifenol yang telah terbukti bersifat toksik terhadap sel kanker. Kemampuan ekstrak metanol menghambat sel kanker karena ekstrak ini mengandung senyawa polar, seperti gula, asam amino, dan glikosida fenolik dengan berat molekul rendah dan tingkat kepolaran sedang, flavonoid aglikon, antosianin, terpenoid, saponin, tannin, flavon, fenon dan polifenol (Houghton dan Raman 1998; Dehkharghanian *et al.* 2010). Ekstrak metanol kurang menunjukkan efek penghambatan pada sel kanker. Hal ini diduga karena komponen bioaktif terekstrak dalam kadar yang sangat rendah oleh pelarut heksana.

Penghambatan pada sel kanker oleh isolat n-heksan diduga karena adanya triterpenoid yang terdapat pada ekstrak daun kelor menyebabkan siklus sel *arrest* (terhenti) sehingga sel tidak dapat berproliferasi. Mekanisme penghambatan sel kanker lambung AGS oleh komponen antosianin (malvidin, sianidin, delphinidin, pelargonidin, peonidin) dilaporkan oleh Shih *et al.* (2005). Malvidin (0 - 200 μM) menunjukkan aktivitas antiproliferasi sel dan menyebabkan siklus sel *arrest* (terhenti) pada fase G0/G1. Akumulasi malvidin pada fase G1 sel AGS 20% (100 μM) dan 30% (200 μM). Sel kanker dalam siklus proliferaatif merupakan sel-sel yang sensitif terhadap efek senyawa anti-tumor dan umumnya senyawa sitotoksik bekerja dengan jalan merusak enzim atau substrat yang dipengaruhi oleh sistem enzim. Sebagian besar efek pada enzim atau substrat berhubungan dengan sintesis DNA. Dengan demikian senyawa bioaktif yang terdapat dalam miana diduga menghambat sel yang sedang membelah atau sintesis DNA.

Komponen bioaktif seperti asam fenolat berperan dalam mencegah kanker dan antigenotoksik karena langsung berinteraksi dengan reseptor aril hidrokarbon (Kampa *et al.* 2003). Senyawa bioaktif yang terdapat pada miana diduga berinterkalasi dengan DNA sehingga secara langsung akan mempengaruhi transkripsi dan replikasi. Polifenol dilaporkan mampu membentuk kompleks tripartit dengan topoisomerase II dan DNA. Topoisomerase II adalah suatu enzim tergantung ATP yang bekerja mengikat DNA dan menyebabkan double-strand break pada ujung 3'fosfat sehingga memungkinkan penukaran strand dan pelurusan DNA superkoil. Pelurusan strand ini diikuti dengan penyambungan strand DNA oleh topoisomerase II. Topoisomerase ini sangat penting fungsinya dalam replikasi dan perbaikan DNA. Pembentukan kompleks tripartit tersebut akan menghambat penyambungan kembali strand DNA, menyebabkan penghambatan daur sel terhenti di fase G1 dan G2 serta memacu terjadinya apoptosis. Adanya gangguan pada sistem perbaikan DNA *double strand* akan memicu kematian sel secara apoptosis (Bandeale *et al.* 2008).

Ekstrak kelor diduga menghambat sel kanker melalui mekanisme apoptosis. Apoptosis dicirikan dengan morfologi sel mengerut, terjadinya kondensasi dan fragmentasi inti sel. Kematian sel disebabkan karena perubahan metabolik yang terganggu diikuti dengan pecahnya sel menjadi benda apoptotik. Proantosianin dilaporkan menginduksi apoptosis pada sel lestari SNU-C4 melalui jalur mitokondria dengan meningkatkan ekspresi gen proapoptosis (Bax) dan menurunkan ekspresi gen antiapoptosis (Bcl-2). Weigun *et al.* (2004) melaporkan bahwa epigeninidin menginduksi apoptosis pada fase G2. Apoptosis yang diinduksi pada sel Hep G2 mungkin dimediasi melalui jalur p53 dan induksi ekspresi p21 berasosiasi dengan sel siklus *arrest* G2.

D. **STATUS LUARAN:** Tuliskan jenis, identitas dan status ketercapaian setiap luaran wajib dan luaran tambahan (jika ada) yang dijanjikan pada tahun pelaksanaan penelitian. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan bukti kemajuan ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi isian jenis luaran yang dijanjikan serta unggah bukti dokumen ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan melalui Simlitabmas mengikuti format sebagaimana terlihat pada bagian isian luaran

Tahun Luaran	Jenis Luaran	Status Luaran	Keterangan
2019	Jurnal terakreditasi Nasional terindeks sinta 4	Published	https://ojs3.unpatti.ac.id/index.php/ijcr/article/view/734/967 Indo. J. Chem. Res., 2019, Vol 7 , No 1 (2019), 2614-2627 (Online) , 2338-5359(print)
	Hak Cipta	Granted	https://e-hakcipta.dgip.go.id/index.php/list/71317 sertifikat nomor: EC00201971270
	Paten	Proses Terdaftar	
	Dokumen uji produk	Ada	Sementara dalam proses pembuatan buku
	Dokumen studi kelayakan	Ada	

E. **PERAN MITRA:** Tuliskan realisasi kerjasama dan kontribusi Mitra baik *in-kind* maupun *in-cash* (jika ada). Bukti pendukung realisasi kerjasama dan realisasi kontribusi mitra dilaporkan sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. Bukti dokumen realisasi kerjasama dengan Mitra diunggah melalui Simlitabmas mengikuti format sebagaimana terlihat pada bagian isian mitra

Realisasi kerjasama yang berperan dalam penelitian ini adalah UMK “Dua insan” yang dipimpin oleh Syahril Pakaya. UKM ini telah membantu secara nyata berperan pembuatan produk, sosialisasi dan pemasaran produk teh, kopi, kue nastar, biskuit, nastar dari daun kelor. Realisasi kerjasama dalam bentuk sosialisasi produk yakni pelatihan praktek pembuatan daun kelor telah dilaksanakan di desa Padengo, Limboto Barat. Hasil pelatihan ini Desa Padengo berhasil mengembangkan inovasi potensi desa (<https://youtu.be/BTCRT-Cm1U>).

F. **KENDALA PELAKSANAAN PENELITIAN:** Tuliskan kesulitan atau hambatan yang dihadapi selama melakukan penelitian dan mencapai luaran yang dijanjikan, termasuk penjelasan jika pelaksanaan penelitian dan luaran penelitian tidak sesuai dengan yang direncanakan atau dijanjikan.

Kendala selama penelitian adalah tidak lengkapnya sarana laboratorium berupa ruangan dan alat pengujian yang representatif sehingga analisis data harus dikerjakan di luar daerah dan di perguruan tinggi ternama seperti ITB, UGM dan Unpad. Hal ini menyebabkan antrian sampel dalam waktu yang cukup lama sehingga hasil laporan belum bisa dirampungkan dan luaran jurnal internasional belum bisa selesai tepat waktu.

G. RENCANA TINDAK LANJUT PENELITIAN: Tuliskan dan uraikan rencana tindak lanjut penelitian selanjutnya dengan melihat hasil penelitian yang telah diperoleh. Jika ada target yang belum diselesaikan pada akhir tahun pelaksanaan penelitian, pada bagian ini dapat dituliskan rencana penyelesaian target yang belum tercapai tersebut.

Keseluruhan rencana kegiatan sudah hampir tercapai semuanya. Yang masih belum tercapai adalah luaran tambahan yakni accepted jurnal internasional bereputasi karena terlambatnya data yang masuk sehingga masih dalam proses pembuatan draf jurnal.

H. DAFTAR PUSTAKA: Penyusunan Daftar Pustaka berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan. Hanya pustaka yang disitasi pada laporan akhir yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

- Ayotollahi AM, Ghanadian M, Afsaridove S, Abdella OM, Murzai M, and Aiskan G. 2011. Pentacyclic triterpenes in *Euphorbia microsciadia* with their T-Cell profiration activity. *Irian journal of pharmaceutical*. 10 (287-294).
- Babalola I, and Shode F. 2013. A potential pentacyclic triterpens natural product. *J of Pharmacognosy and phytochemistry*. 2(2): 214-222.
- Chukweubuka E, 2015. *Moringa oleifera* "The Mother's Best Friend". *International Journal of Nutrition and Food Sciences*. 4(6): 624-630. doi: 10.11648/j.ijnfs.20150406.14
- Chudzik M, Korzonek IS, and Kroe W. 2015. Triterpenes as potentially Cytotoxic compounds. *Molecules*. 20: 1610-1625.
- WD, Fatmawati S, dan Ersam T. 2015. *Uji aktivitas antioksidan terhadap DDPH dan ABTS dari fraksi-fraksi daun kelor (Moringa oleifera)*. (jurnal Prosiding Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains 2015 (SNIPS 2015) 8 dan 9 Juni 2015. Bandung.
- Isnan W dan Nurhaedah M, 2017. Ragam manfaat Tanaman Kelor (*Moringa olivera* lamk). *Info Teknis EBONI*. 14 (1): 62-75.
- Li XJ, Zou QP, Wang X, Kim KW, Lu MF, Ko SK, Yook CS, Kim YC, and Liu XQ. 2018. Lupane Triterpenes from the Leaves of *Acanthopanax gracilistylus*. *Molecules*.23,87;doi:10.3390/molecules23010087.
- Madrona GS, Branco IG, Seolin VJ, Filho AA, and Bergamasco R, 2015. Evaluation of extracts of *Moringa oleifera* Lam seeds obtained with NaCl and their effects on water treatment. 34(3): 289-293. 10.4025/actascitechnol.v34i3.9605
- Marcus AC., Nwineewii JD., 2015. Studies on the crude extract of moringa oleifera leaf for preliminary identification of some phytochemicals and organic functions. *IOSR Journal of Applied Chemistry (IOSR-JAC) e-ISSN: 2278-5736. Volume 8, Issue 12 Ver. II (Dec. 2015), PP 01-05 www.iosrjournals.org*
- Martins D, Carrion LL, Ramos DF, Salome KS, and Silva PA. 2013. Triterpenes and antimicrobial of *Durorra macopyhlla* Huber (*Rubiaceae*). *Biomed*. 7: 10155/605831.
- Napolean p, Anitha J, and Renitta E. 2009. Isolation, analysis and identification of phytochemicals of antimicrobial activity of *Moringa oleifera* Lam. *Curren biotika*. 3(1): 33-39.
- Prakash CV & Prakash I. 2012. Isolation and structural characterization of lupane triterpenes from *Polypodium vulgare*. *Res. J. Pharm.*; 1(1): 23-27.
- Salimi YK, Bialangi N, Saiman.2017. Isolasi dan Identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak metanol daun kelor (*Moringa Oleifera* Lamk) *Journal Akademika*. Vol 6 Nomor 2. <http://journal.umgo.ac.id/index.php/akademika/issue/view/17>

14. Siddhuraju P, and Becker, K. (2003). *Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agro-climatic origins of drumstick tree (Moringa oleifera Lam.)*. J Agric Food Chem 15: 2144–2155 (online). (<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf020444%2B>).
15. Silva DL, David J, Silva L, Santos R, David J, Lima L, Reis P, and Fontane R. 2012. Bioactive oleanoat, lupinee and ursane triterpenoid acid derivates. *Molecules*. 17:12197-12205.
16. Situmeang B, Suparman AR, Kadarusman M, and Herlina T. 2018. Isolasi senyawa Triterpen dari Ekstrak Etil Asetat Tumbuhan Pirdot (*Sauauria vulkani* Kurth). *J. Kimia Valensi*. 4 (2): 92-97. <http://10.15408/jkv.v4i2.7272>