

**KAJIAN DAYA HAMBAT EKSTRAK BEBERAPA KULIT BUAH  
SEBAGAI ANTIMIKROBA ALAMI DALAM MENURUNKAN  
CEMARAN *E.coli* PADA IKAN TONGKOL (*Euthynnus affinis*)**

Skripsi

Oleh

**Syarifah Rohana Maghfiro**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2017**

## **ABSTRACT**

### **STUDY OF INHIBITORY OF SOME FRUIT PEELS EXTRACT AS A NATURAL ANTIMICROBIAL IN REDUCING *E. COLI* ON TONGKOL FISH (*Euthynnus affinis*)**

**By**

**SYARIFAH ROHANA MAGHFIRO**

Tongkol fish is the one of potential commodities in Indonesia. The compositions of proteins and omega fatty acid in tongkol fish are high enough but this fish is decomposed quickly. The aims of this study were to find (1) the best kind of peels extract in the inhibition of *E. coli* bacteria contamination, (2) the best peels extract concentration in the inhibition of *E. coli* bacteria, (3) the best kind and concentration among fruit peels extract in the inhibition of *E. coli* bacterial contamination, (4) the influence of kind and concentration of best fruit peels to decrease contamination of *E.coli* in Tongkol fish (*Euthynnus affinis*). The experiment design was RAKL (Factor Randomized Block Design) factorial with fruit skin type factor and fruit skin extract concentration with three replications. The inhibition zone data which is obtained will be analyzed by using Homogeneity Test, Additivity Test, Anova Test, and then tested by Beda Nyata Terkecil (BNT) test at 5%. Furthermore the data decrease the number of *E. coli*

was analyzed using Anova Test, and then tested with the test of Beda Nyata Terkecil (BNT) at 1%.

The result of this research showed that the best peels extract in inhibition of *E. coli* bacteria contamination were orange peel (15.867 mm) and pineapple peel (16.533 mm) extracts, this caused of they were not significantly different in the BNT test 5%. The best concentration of fruit peel extract that inhibited of contamination of *E. coli* bacteria was on concentration 75%. The best peel and concentration of peel extract were orange fruit peel (75%) and pineapple peel (75%) with inhibition zone were 20,083 mm and 19,917 mm. were not significantly different in the BNT 5% test. The orange peel extract, pineapple peel, and dragon fruit peel as a natural antimicrobial have an effect on the decreased of contamination of *Echerichia coli* bacteria. Treatment of pineapple peel extract (75%) was the best treatment in reducing contamination of *E.coli*, because the pineapple peel extract (75%) can decreased contamination of *E.coli* on Tongkol fish was  $1,49 \times 10^9$  colony / gram.

**Keywords:** *Antimicrobial, Inhibitory, Echerichia coli, orange peel, pineapple peel, dragon fruit peel, Tongkol Fish.*

## **ABSTRAK**

### **KAJIAN DAYA HAMBAT EKSTRAK BEBERAPA KULIT BUAH SEBAGAI ANTIMIKROBA ALAMI DALAM MENURUNKAN CEMARAN *E.coli* PADA IKAN TONGKOL (*Euthynnus affinis*)**

**Oleh**

**SYARIFAH ROHANA MAGHFIRO**

Ikan tongkol merupakan salah satu komoditas ikan tangkap yang sangat potensial di Indonesia. Kandungan protein dan asam lemak omega ikan tongkol cukup tinggi, namun ikan tongkol sangat mudah mengalami kerusakan yang dapat mengakibatkan kebusukan. Tujuan penelitian ini yaitu: (1) Mengetahui jenis ekstrak kulit buah terbaik dalam penghambatan cemaran bakteri *E. coli*, (2) Mengetahui konsentrasi ekstrak kulit buah terbaik dalam penghambatan cemaran bakteri *E. coli*, (3) Mengetahui jenis dan konsentrasi terbaik diantara ekstrak kulit buah dalam penghambatan cemaran bakteri *E. coli*, (4) Mengetahui pengaruh jenis dan konsentrasi kulit buah terbaik untuk menurunkan cemaran *E.coli* pada ikan tongkol (*Euthynnus affinis*). Rancangan percobaan yang digunakan yaitu RAKL (Rancangan Acak Kelompok Lengkap) faktorial dengan faktor jenis kulit buah dan konsentrasi ekstrak kulit buah dengan tiga kali ulangan. Data zona hambat

yang diperoleh selanjutnya akan dianalisis dengan menggunakan Uji Homogenitas, Uji Additivitas, Uji Anova, dan selanjutnya diuji dengan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%. Selanjutnya data penurunan jumlah *E. coli* dianalisis menggunakan Uji Anova, dan selanjutnya diuji dengan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 1%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa Jenis ekstrak kulit buah terbaik dalam penghambatan cemaran bakteri *E. coli* yaitu ekstrak kulit buah jeruk (15.867 mm) dan buah nanas (16.533 mm), keduanya saling tidak berbeda nyata pada pengujian BNT 5%. Konsentrasi ekstrak kulit buah terbaik dalam penghambatan cemaran bakteri *E. coli* yaitu pada konsentrasi 75%. Jenis dan konsentrasi ekstrak kulit buah terbaik yaitu kulit buah jeruk 75% dan kulit buah nanas 75% dengan zona hambat sebesar 20,083 mm dan 19,917 mm, keduanya tidak berbeda nyata pada pengujian BNT 5%. Ekstrak kulit buah jeruk, kulit buah nanas, dan kulit buah naga sebagai antimikroba alami berpengaruh terhadap penurunan cemaran bakteri *E. coli*. Perlakuan ekstrak kulit nanas 75% merupakan perlakuan terbaik dalam menurunkan cemaran *E. coli* sebab ekstrak kulit buah nanas 75% dapat menurunkan cemaran *E. coli* pada ikan tongkol terbanyak yaitu  $1,49 \times 10^9$  koloni/gram

**Kata kunci:** *Antimikroba, Daya hambat, Echerichia coli, Kulit Jeruk, Kulit Nanas dan Kulit Buah Naga, Ikan Tongkol*

**KAJIAN DAYA HAMBAT EKSTRAK BEBERAPA KULIT BUAH  
SEBAGAI ANTIMIKROBA ALAMI DALAM MENURUNKAN  
CEMARAN *E.coli* PADA IKAN TONGKOL (*Euthynnus affinis*)**

**Oleh**

**SYARIFAH ROHANA MAGHFIRO**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN**

**Pada**

**Jurusan Teknologi Hasil Pertanian  
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2017**

**Judul Skripsi** : **KAJIAN DAYA HAMBAT EKSTRAK  
BEBERAPA KULIT BUAH SEBAGAI  
ANTIMIKROBA ALAMI DALAM  
MENURUNKAN CEMARAN *E.coli* PADA IKAN  
TONGKOL (*Euthynnus affinis*)**

**Nama Mahasiswa** : **Syarifah Rohana Maghfiro**

**No. Pokok Mahasiswa** : **1314051048**

**Program Studi** : **Teknologi Hasil Pertanian**

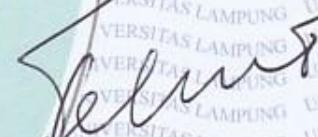
**Fakultas** : **Pertanian**




**MENYETUJUI**

**1. Komisi Pembimbing**

  
**Dr. Dewi Sartika, S.T.P., M.Si.**  
**NIP. 19701220200812 2 001**

  
**Ir. Sutikno, M.Sc., Ph.D**  
**NIP. 195601141986031002**

**2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian**

  
**Ir. Susilawati, M.Si**  
**NIP. 19610806198702 2 001**

**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

**Ketua**

**: Dr. Dewi Sartika, S.T.P., M.Si.**

**Sekretaris**

**: Ir. Sutikno, M.Sc., Ph.D.**

**Bukan Pembimbing**

**: Prof. Ir. Neti Yuliana, M.Si., Ph.D.**

**2. Dekan Fakultas Pertanian**

**Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.**

**NIP. 19611020198603 1 002**

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 14 Juni 2017**



*[Handwritten signature of Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa]*

*[Handwritten signatures of Dr. Dewi Sartika, Ir. Sutikno, and Prof. Ir. Neti Yuliana]*



## PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya adalah Syarifah Rohana Maghfiro NPM 1314051048 dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil kerja saya sendiri yang berdasarkan pada pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasi sebelumnya atau dengan kata lain bukanlah hasil dari plagiat karya orang lain. Demikianlah pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila di kemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, Juni 2017

Pembuat pernyataan

  
  
**Syarifah Rohana Maghfiro**  
NPM. 1314051048

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Trimodadi, 21 Mei 1996, sebagai anak pertama dari dua bersaudara, dari pasangan Bapak Mu'alim dan Ibu Syamsiyah. Pada tahun 2001, penulis mengenyam pendidikan dasar di SD Negeri 02 Trimodadi dan lulus pada tahun 2007. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan pendidikan menengah di SMP Negeri 3 Sukadana, kemudian pada tahun 2010 penulis melanjutkan pendidikannya ke SMA Negeri 01 Kotagajah dan lulus tahun 2013. Penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung pada tahun 2013 melalui jalur Undangan Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Pada bulan Januari-Maret 2016, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Kahuripan Jaya, Kecamatan Banjar Baru, Kabupaten Tulang Bawang dengan tema “Implementasi Keilmuan dan Teknologi Tepat Guna dalam Pemberdayaan Masyarakat dan Pembentukan Karakter Bangsa melalui Penguatan Fungsi Keluarga (POSDAYA)”. Pada bulan Agustus 2016, penulis melaksanakan melaksanakan Praktik Umum (PU) di PT. Indofood CBP Sukses Makmur Tbk. Lampung Selatan, dan menyelesaikan laporan PU yang berjudul “Mempelajari Proses Produksi Mie Instan di PT. Indofood CBP Sukses Makmur Tbk. Cabang Lampung, Tanjung Bintang, Kabupaten Lampung Selatan”.

Selama menjadi mahasiswa, penulis bergabung dalam Forum Ilmiah Mahasiswa Fakultas Pertanian sebagai Tutor Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Penulis pernah menjadi Asisten Dosen mata kuliah Mikrobiologi tahun ajaran 2015/2016 dan tahun ajaran 2017/2018, Kewirausahaan tahun ajaran 2016/2017 dan Pengemasan dan Penggudangan tahun ajaran 2016/2017. Penulis juga mengikuti organisasi berupa Unit Kegiatan Mahasiswa Universitas (UKMU) Tapak Suci Universitas Lampung.

## SANWACANA

Segala puji Penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga, Penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul **Kajian Daya Hambat Ekstrak Beberapa Kulit Buah Sebagai Antimikroba Alami dalam Menurunkan Cemaran *E.coli* Pada Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*)**. Dalam kesempatan ini Penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung;
2. Ir. Susilawati, M.Si.,selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung;
3. Ibu Dr. Dewi Sartika, S.T.P., M.Si, selaku Pembimbing Pertama dan Pembimbing Akademik atas bimbingan, arahan, nasehat, saran, serta motivasi selama Penulis menyusun skripsi;
4. Bapak Ir. Sutikno, M.Sc.,Ph.D. selaku Pembimbing Kedua atas bimbingan, saran, nasehat, serta motivasi selama Penulis menyusun skripsi dan menyelesaikan perkuliahan;

5. Ibu Prof. Ir. Neti Yuliana, M.Si., Ph.D. selaku Penguji atas saran dan nasehat selama Penulis menyelesaikan skripsi;
6. Seluruh Bapak dan Ibu dosen yang telah membekali ilmu selama proses perkuliahan di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Lampung;
7. Umi, Abi dan adik tercinta atas doa tulus, semangat, nasehat, cinta dan kasih sayang yang selalu diberikan kepada Penulis sampai saat ini;
8. Ibu Susi (kos) dan Bapak Trimo (kos) atas doa tulus, semangat, dan nasehat.
9. Teman-teman Ku Siska, Febry, Fitri, Indah, Oke, Nur, Umam, Yofita, dan Keluarga THP 2013 yang telah memberikan semangat, doa, dan kekeluargaan kepada Penulis sampai saat ini;
10. Teman-teman Keluarga 'Micro': Febry, Suci, Amel, Jessica, Eka, dan Astri yang telah memberikan semangat dan kekeluargaan kepada Penulis sampai saat ini;
11. Teman-teman tersayangku Ecy, Lupi, dan Ulpi yang memberikan semangat, doa, dan bantuan kepada Penulis sampai saat ini;
12. Keluarga Besar THP, Kakak dan Mbak angkatan 2011 dan 2012, serta adik-adik angkatan 2014, 2015, dan 2016 yang telah memberikan kekeluargaan dan pengalaman kepada Penulis.

Penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat. Aamiin.

Bandar Lampung, Juni 2017

**Syarifah Rohana Maghfiro**

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xvii</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang dan Masalah.....	1
1.2. Tujuan Penelitian .....	4
1.3. Kerangka Pemikiran .....	4
1.4. Hipotesis .....	9
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1. Ikan Tongkol ( <i>Euthynnus affinis</i> ) .....	11
2.2. <i>Eschericia coli</i> .....	17
2.3. Antimikroba .....	21
2.4. Ekstrak Kulit Buah Sebagai Antimikroba Alami.....	25
<b>III. BAHAN DAN METODE</b>	
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian .....	31
3.2. Alat dan Bahan.....	31
3.3. Metode Penelitian .....	32
3.4. Pelaksanaan Penelitian .....	33
3.4.1. Penelitian tahap 1 .....	33
3.4.1.1 Ekstraksi kulit buah .....	33

3.4.1.2 Uji daya hambat antimikroba .....	35
3.4.2. Penelitian tahap 2 .....	37
3.4.2.1 Uji angka <i>Eschericia coli</i> .....	37
3.4.2.2 Uji penurunan jumlah <i>Eschericia coli</i> .....	39
3.5. Analisis Data .....	40
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1. Ekstrak kulit buah .....	41
4.2. Daya hambat antimikroba alami dari kulit buah jeruk, buah nanas, dan buah naga terhadap bakteri <i>E. Coli</i> .....	43
4.3. Efektivitas ekstrak kulit buah sebagai antimikroba alami dalam menurunkan cemaran <i>E. coli</i> pada ikan tongkol .....	52
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1. Kesimpulan .....	55
5.2. Saran .....	56
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>57</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>63</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. SNI 7388:2009 mengenai batas cemaran mikroba pada pangan. ....	13
2. Tabel percobaan .....	32
3. Hasil pengujian zona hambat ekstrak kulit buah jeruk, ekstrak kulit buah nanas, dan ekstrak kulit buah naga terhadap bakteri <i>E. coli</i> .....	45
4. Pengujian Beda NyataTerkecil (BNT) 5% terhadap jenis kulit buah pada pengujian zona hambat .....	46
5. Pengujian Beda NyataTerkecil (BNT) 5% terhadap pengaruh antar konsentrasi pada pengujian zona hambat.....	47
6. Data penurunan jumlah <i>E.coli</i> pada ikan tongkol .....	53
7. Data zona hambat ekstrak kulit buah jeruk, buah nanas, dan buah naga	63
8. Uji Kehomogenan (Kesamaan) Ragam ( <i>Bartlett's test</i> ) zona hambat ....	63
9. Analisis Sidik Ragam zona hambat .....	64
10. Petaan Percobaan zona hambat .....	65
11. Hasil Uji Pengaruh Antar Subjek.....	65
12. Uji Beda NyataTerkecil (BNT) 5% terhadap jenis kulit buah pada pengujian zona hambat .....	66
13. Pengujian Beda NyataTerkecil (BNT) 5% terhadap konsentrasi pada pengujian zona hambat .....	67
14. Uji Lanjut BNT terhadap ulangan percobaan zona hambat.....	68
15. Data penurunan koloni <i>E. coli</i> pada ikan tongkol.....	69
16. Uji Anova One Way data penurunan jumlah <i>E. coli</i> pada Ikan Tongkol	69
17. Uji Lanjutan Beda NyataTerkecil (BNT) ata penurunan jumlah <i>E. coli</i> pada Ikan Tongkol .....	69



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Skema Kerangka pemikiran .....	9
2. Ikan tongkol .....	11
3. Kulit buah jeruk .....	27
4. Kulit Nanas .....	28
5. Kulit buah naga merah .....	30
6. Diagram alir ekstraksi kulit buah jeruk.....	33
7. Diagram alir ekstraksi kulit buah nanas.....	34
8. Diagram alir ekstraksi kulit buah naga .....	34
9. Peremajaan Bakteri <i>E.coli</i> .....	35
10. Diagram alir pengujian zona hambat .....	36
11. Diagram alir uji angka <i>E.coli</i> pada ikan tongkol .....	38
12. Diagram alir uji penurunan <i>E.coli</i> pada ikan tongkol .....	39
13. (a) Simplisia kering kulit buah jeruk; (b) Simplisia kering kulit buah nanas; (c) Simplisia kering kulit buah naga .....	42
14. Ekstrak kulit buah nanas, buah jeruk, dan buah naga .....	43
15. (a) Zona hambat ekstrak kulit buah jeruk; (b) Zona hambat ekstrak kulit buah nanas; (c) Zona hambat ekstrak kulit buah naga.....	44
16. Pengujian Beda Nyata Terkecil (BNT) 1% terhadap penurunan jumlah <i>E. coli</i> pada ikan tongkol .....	53
17. Penimbangan Media Agar.....	71
18. Bakteri <i>E. coli</i> pada Media NB .....	71
19. Media NA plate Steril .....	71

Gambar	Halaman
20. Media NA miring Steril .....	71
21. Bakteri E. coli pada media NA miring .....	72
22. Pengenceran ekstrak kulit buah.....	72
23. Perendaman kertas cakram di dalam ekstrak .....	72
24. Kertas cakra Whattman No 42 .....	72
25. Koloni E. coli ikan tongkol tanpa penambahan ekstrak pada media Mac Conkey Agar .....	73
26. Koloni E. coli ikan tongkol denga penambahan ekstrak pada media Mac Conkey Agar .....	73
27. Ikan tongkol segar .....	73
28. Penyimpanan ikan tongkol segar .....	73
29. Ikan tongkol + E. coli tanpa penambahan ekstrak kulit buah .....	74
30. Ikan tongkol + E. coli dengan penambahan ekstrak kulit buah .....	74
31. Pengeringan simplisia .....	74
32. Koloni bakteri E.coli pada media Mac Conkey Agar .....	74

## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang dan Masalah

Tingkat produksi ikan tangkap khususnya ikan tongkol di Indonesia tergolong tinggi. Tingginya produksi ikan tongkol ini dapat dilihat dari data produksi yang berhasil diakumulasikan dari beberapa wilayah di Indonesia. Menurut Rahmantya dkk. (2015) dalam Analisis Data Pokok Kelautan dan Perikanan 2015, produksi ikan tongkol pada tahun 2015 sebesar 241.163 ribu ton/tahun. Produksi ikan tongkol pada tahun 2015 tersebut lebih tinggi jika dibandingkan rata-rata produksi ikan tongkol pada tahun 2005-2014 yaitu 29.026 ton/tahun (Kepmen Kelautan dan Perikanan RI, 2016).

Ikan tongkol merupakan salah satu komoditas ikan tangkap yang mudah rusak. Kerusakan ikan tongkol disebabkan oleh beberapa faktor seperti biologis dan perubahan kimiawi pada ikan mati. Kerusakan yang disebabkan faktor biologis dapat berupa kontaminasi mikroba yang disebabkan adanya kandungan asam amino bebas yang dapat membantu metabolisme mikroorganisme. Metabolisme mikroorganisme tersebut mampu memproduksi ammonia, biogenik amin, asam organik, keton dan komponen sulfur. Menurut Kurniawan *et al.* (2012) ikan tongkol jika dibiarkan pada suhu kamar, maka akan cepat terjadi proses pembusukan. Kandungan air yang tinggi pada tubuh ikan dapat menjadi

media untuk pertumbuhan bakteri pembusuk atau mikroorganisme lain, sehingga ikan sangat cepat mengalami proses pembusukan dan menjadi tidak segar lagi. Kerusakan pada ikan tongkol yang disebabkan oleh faktor kimiawi yaitu seperti kerusakan yang diakibatkan kandungan lemak yang teroksidasi (Sanger, 2010).

Salah satu penyebab kerusakan ikan tongkol yaitu cemaran *E. coli*. *E. coli* pada ikan tongkol dapat ditemukan pada insang, isi perut dan juga lapisan kulit luar ketika ikan sudah berada di darat. Cemaran *E. coli* terjadi pada ikan tongkol di beberapa pasar Bandar Lampung. Ikan tongkol di pasar ikan Gudang Lelang tercemar *E. coli* sebanyak  $1,3 \times 10^4$ – $1,8 \times 10^4$  koloni/gram. Ikan tongkol di pasar modern dan pasar tradisional Bandar Lampung tercemar *E. coli* sebanyak  $1,5 \times 10^4$ – $4,4 \times 10^4$  koloni/gram dan  $3,3 \times 10^4$ – $6,1 \times 10^4$  koloni/gram (Puri, 2016). Cemaran *E. coli* juga terjadi pada ikan tongkol di beberapa pasar Jogjakarta. Ikan tongkol di pasar Pakem tercemar *E. coli* sebanyak 7,3 MPN/gram. Pasar Indo Grosir, Pasar Wonosari, dan TPI Sadeng tercemar *E. coli* sebanyak 15 MPN/gram, 20 MPN/gram, dan 42 MPN/gram (Milo, 2013). Cemaran *E. coli* tersebut sudah melewati SNI yang menentukan batas cemaran mikroba pada ikan segar dalam SNI 7388:2009 mengenai batas cemaran mikroba pada pangan yaitu <3 MPN/gram.

Pencemaran *E. coli* pada ikan dapat dihambat dengan bahan antimikroba. Bahan antimikroba yang sudah ada di Indonesia seperti amoksilin dan ampisilin. Namun saat ini resistensi bakteri patogen terhadap satu atau lebih antibiotik semakin meningkat, seperti ampisilin dan amoksisilin terhadap bakteri *Escherichia coli* (Taneja, 2010). Menurut Mirawati *et al.* (2004), bakteri

Enterobacteriaceae secara *in vitro* juga telah resisten terhadap beberapa antimikroba seperti amikasin (32,5%), nitrofurantoin (26,7%) dan imipenem (3,7%). Selain itu antimikroba penisilin, sefuroksim, dan sulfametoksazol juga telah resisten terhadap kuman penyebab infeksi saluran kemih seperti *E. coli* (Samirah dkk., 2006). Perlu adanya pengembangan antimikroba yang lebih efektif seperti antimikroba dari bahan alami. Antimikroba dapat diperoleh dari kulit buah-buahan yang belum dimanfaatkan. Berdasarkan hal tersebut, beberapa penelitian mengembangkan kulit buah sebagai antimikroba yang dapat menurunkan cemaran mikroorganisme dalam bahan pangan karena dianggap lebih aman.

Antimikroba dalam kulit buah berupa senyawa kimia tertentu. Senyawa tertentu antara lain seperti saponin, tannin, flavonoid, terpenoid dan fenolik. Kandungan kimia dalam kulit jeruk manis adalah saponin, tannin, flavonoid, dan terpenoid (Sari, 2008). Kulit nanas mengandung flavonoid dan senyawa fenolik (Sandhar *et al.*, 2011). Damogalad dkk. (2013) menyatakan bahwa kulit nanas mengandung flavonoid dan tannin. Buah naga memiliki kandungan fenol dan flavonoid (Nurliyana dkk.,2010).

Kandungan senyawa aktif tersebut dapat diisolasi dengan cara ekstraksi. Ekstraksi merupakan kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan kedalam golongan minyak atsiri, alkaloida, falvonoida dan lain-lain. Dengan

diketuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Ditjen POM, 2000).

Berdasarkan kandungan bahan aktif yang terkandung di dalam kulit buah tersebut, maka diprediksi dapat menurunkan cemaran *E. coli* pada ikan tongkol. Oleh sebab itu, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pemanfaatan beberapa kulit buah tersebut dalam menurunkan cemaran *E. coli* pada ikan tongkol.

## **1.2. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui jenis ekstrak kulit buah terbaik dalam penghambatan cemaran bakteri *E. coli*.
2. Mengetahui konsentrasi ekstrak kulit buah terbaik dalam penghambatan cemaran bakteri *E. coli*.
3. Mengetahui jenis dan konsentrasi terbaik diantara ekstrak kulit buah dalam penghambatan cemaran bakteri *E. coli*.
4. Mengetahui pengaruh jenis dan konsentrasi kulit buah terbaik untuk menurunkan cemaran *E. coli* pada ikan tongkol (*Euthynnus affinis*).

## **1.3. Kerangka Pemikiran**

Kerusakan ikan tongkol disebabkan oleh beberapa faktor salah satunya yaitu faktor biologis. Kerusakan yang disebabkan faktor biologis dapat berupa kontaminasi mikroba yang disebabkan adanya kandungan asam amino bebas yang

dapat membantu metabolisme mikroorganisme. Metabolisme mikroorganisme tersebut mampu memproduksi ammonia, biogenik amin, asam organik, keton dan komponen sulfur. (Lu et, al., 2010). Hal ini dikarenakan ikan jenis ini mengandung asam amino histidin yang dikontaminasi oleh bakteri yang mengeluarkan enzim histidin dekarboksilase sehingga dapat menghasilkan histamin (Meryandini et al, 2009). Bakteri yang dapat mengkontaminasi diantaranya adalah bakteri *Sallmonella sp* dan *E. Coli* (Raden, et al., 2007).

Berdasarkan penelitian Ghasemi *et al.* (2009) pada ekstrak metanol dari 13 spesies kulit jeruk dengan menggunakan metode DPPH menunjukkan adanya kandungan fenol (berdasarkan metode Folin Ciocalteu) bervariasi dari 66,5-396,8 mg setara asam galat/g ekstrak dan kandungan flavonoid (berdasarkan metode AlCl antara 0,3-31,1 setara kuersetin mg/g ekstrak). Fraksi etil asetat kulit jeruk manis dengan metode DPPH, *Luminol Induced Chemiluminescence methods* dan *Folin Ciocalteu method* menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dengan kadar fenolik dan flavonoid total yang tinggi (Anagnostopoulou *et al.*, 2004). Berdasarkan Tao *et al.* (2009) komposisi kimia minyak atsiri yang diperoleh dari kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) dianalisis dengan kromatografi gas dan kromatografi gas/spektrometer massa (GC / MS), dua puluh tujuh komponen telah teridentifikasi. Selain itu, 96,03% w/w terdiri dari monoterpen dan seskuiterpen hidrokarbon yang terdiri dari limonen (77,49%), mirsin (6,27%), a-farnesen (3,64%), -terpinen (3,34%), *a*-pinen (1,49%), sabinen (1,29%).

Kandungan aktif yang terdapat dalam kulit nanas diantaranya yaitu flavonoid dan tannin (Damogalad dkk., 2013). Mekanisme kerja tanin sebagai

antimikroba menurut Naim tahun 2004 berhubungan dengan kemampuan tanin dalam menginaktivasi adhesi sel mikroba (molekul yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel. Tanin yang mempunyai target pada polipeptida dinding sel akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel (Sari dkk, 2011). Fenol merupakan salah satu antiseptik tertua dengan khasiat bactericidal (membunuh bakteri) . Mekanisme kerja fenol yaitu dengan denaturasi protein sel bakteri sehingga metabolisme sel bakteri tersebut terganggu (Rakhmanda, 2008).

Menurut Nurliyana dkk. (2010), buah naga memiliki kandungan fenol dan flavonoid. Buah naga merah memiliki betalains yang mengandung fenolik dan struktur non-fenolik yang bertanggung jawab untuk kapasitas antioksidan utama *Hylocereus* ungu, sedangkan fenolik non-betalainik menyumbang senyawa hanya sampai batas kecil yaitu  $7,21 \pm 0,02$  mg CE/100 gram. Betalains terkait dengan *anthocyanin* (yaitu turunan flavonoid), pigmen kemerahan yang ditemukan di kebanyakan tanaman. Namun, betalains secara struktural dan kimia seperti *anthocyanin* karena mengandung nitrogen sedangkan *anthocyanin* tidak. Flavonoid yang terkandung dalam buah naga meliputi quercetin, kaempferol, dan isorhamnetin (Panjuantiningrum, 2009). Penelitian Nurmahani juga membuktikan bahwa ekstrak n-heksan, kloroform dan etanol kulit buah naga merah memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri Gram positif dan Gram negatif (Nurmahani, 2012).

Beberapa senyawa aktif seperti saponin, tannin, fenol, flavonoid, dan terpenoid dapat bersifat antimikroba. Pernyataan ini sesuai dengan Newall *et al.* (1996) bahwa senyawa tanin dan flavonoid mempunyai aktivitas antibakteri untuk



melawan *Staphylococcus aureus*. Hal ini diperkuat dengan penelitian Reveny (2011) yang menyatakan senyawa tanin dan flavonid yang terkandung dalam ekstrak etanol 80%, fraksi n-heksan dan fraksi Etilasetat daun sirih merah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan jamur *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* merupakan jenis bakteri gram positif. Dinding sel bakteri gram positif hanya tersusun dari satu lapisan saja, yaitu lapisan peptidoglikan yang relatif tebal. Sedangkan dinding sel bakteri gram negatif termasuk *E. coli* mempunyai dua lapisan dinding sel, yaitu : lapisan luar yang tersusun dari lipopolisakarida dan protein, dan lapisan dalam yang tersusun dari peptidoglikan tetapi lebih tipis dari pada lapisan peptidoglikan pada bakteri gram positif (Timotius, KH, 1982 ).

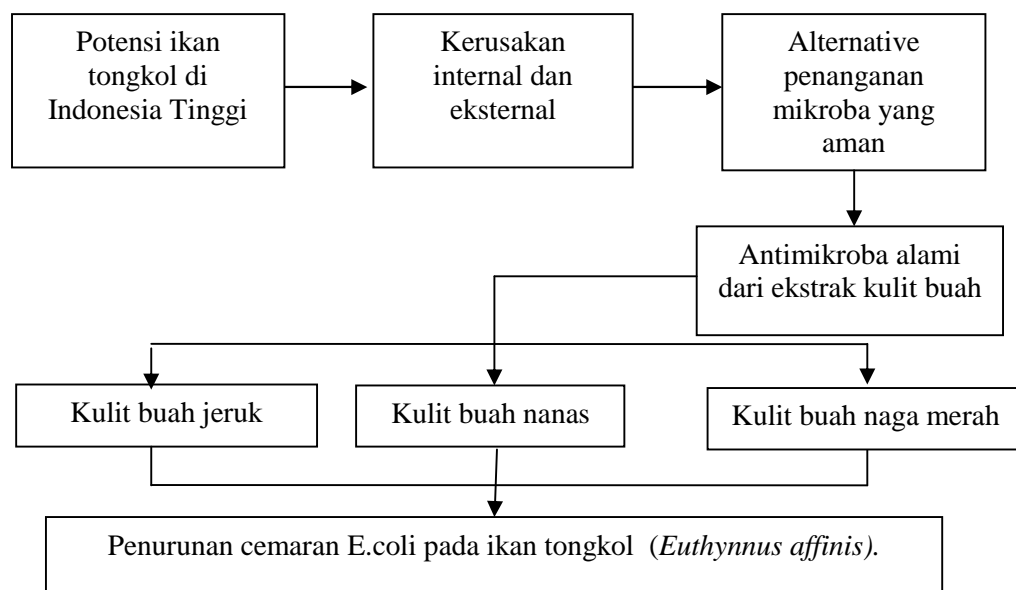
Mekanisme kerja senyawa fenol dalam membunuh sel bakteri ada 3 cara, yaitu mendenaturasi protein sel bakteri, menghambat sintesis dinding sel, dan merusak membran sel bakteri. Senyawa fenol mendenaturasi protein sel bakteri dengan cara membentuk ikatan hidrogen dengan protein bakteri. Hal ini mengakibatkan struktur protein bakteri menjadi rusak dan enzim menjadi inaktif. Akibat terdenaturasinya protein sel bakteri, maka semua aktivitas metabolisme sel bakteri terhenti, karena semua aktivitas metabolisme sel bakteri dikatalisis oleh enzim yang merupakan protein (Lawrence dan Block, 1968). Mekanisme fenol dalam menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan cara meracuni protoplasma dan memutuskan ikatan peptidoglikan (Naidu, 2000). Hal ini diperkuat oleh Volk dan Wheeler (1993) yang menyatakan bahwa mekanisme fenol dalam merusak membran sel bakteri, dengan cara ion H<sup>+</sup> dari senyawa fenol akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) bakteri sehingga molekul fosfolipid terurai menjadi

asam fosfat, gliserol dan asam karboksilat. Kondisi ini menyebabkan membran sel bakteri akan bocor

Senyawa flavonoid memiliki 2 cara dalam membunuh bakteri yaitu dengan merusak membran sel bakteri dan mendenaturasi protein sel bakteri. Mekanisme kerja senyawa flavonoid dalam merusak membran sel bakteri yaitu membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga membran sel bakteri rusak dan diikuti dengan masuknya air yang tidak terkontrol ke dalam sel bakteri, hal ini menyebabkan pembengkakan dan akhirnya membran sel bakteri pecah (Black dan Jacobs, 1993). Hal ini diperkuat oleh Harborne (1987) yang menyatakan bahwa senyawa flavonoid memiliki kemampuan mendenaturasi protein sel bakteri dengan cara membentuk ikatan hidrogen kompleks dengan protein sel bakteri. Sehingga, struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri yang mengandung protein, menjadi tidak stabil dan kehilangan aktivitas biologinya, akibatnya fungsi permeabilitas sel bakteri terganggu dan sel bakteri akan mengalami lisis yang berakibat pada kematian sel bakteri.

Nuria *et al.* (2009) yang menyatakan bahwa tanin dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan 4 cara yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menginaktifkan adhesin dan enzim sel mikroba, mengganggu transport protein serta merusak dinding sel bakteri. Penghambatan sintesis asam nukleat dengan cara menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Selain itu, tanin memiliki kemampuan untuk menginaktifkan adhesin dan enzim sel mikroba, serta mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (Cowan, 1994). Menurut Sari (2011), tanin juga merusak dinding sel bakteri dengan cara meracuni polipeptida dinding sel, hal ini

menyebabkan terjadinya tekanan osmotik maupun fisik sel bakteri sehingga sel bakteri akan mati. Tanin dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada konsentrasi tinggi tanin bekerja dengan membentuk ikatan yang stabil dengan protein bakteri sehingga, protoplasma bakteri terkoagulasi (Wiryawan *et al.*, 2000). Kerangka pemikiran tersebut dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 1. Skema Kerangka pemikiran

#### 1.4. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah :

1. Terdapat jenis ekstrak kulit buah terbaik dalam penghambatan cemaran bakteri *E. coli*.
2. Terdapat konsentrasi ekstrak kulit buah terbaik dalam penghambatan cemaran bakteri *E. coli*.

3. Terdapat jenis dan konsentrasi terbaik diantara ekstrak kulit buah dalam penghambatan cemaran bakteri *E. coli*.
4. Terdapat pengaruh jenis dan konsentrasi kulit buah terbaik untuk menurunkan cemaran *E.coli* pada ikan tongkol (*Euthynnus affinis*).

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*)

Ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) merupakan golongan dari ikan tuna kecil. Badannya memanjang, tidak bersisik kecuali pada garis rusuk. Sirip punggung pertama berjari-jari keras 15, sedang yang kedua berjari-jari lemah 13, diikuti 8-10 jari-jari sirip tambahan. Pada dasarnya ukuran asli ikan tongkol cukup besar, yaitu mencapai 1 meter dengan berat 13,6 kg. Ukuran rata-rata ikan tongkol yaitu sepanjang 50-60 cm (Auzi, 2008). Ikan Tongkol memiliki lapisan kulit luar yang licin berwarna abu-abu, dagingnya tebal, dan warna dagingnya merah tua (Bahar, 2004). Ikan tongkol dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Ikan tongkol  
Sumber : Chaerudin (2008).

Menurut Saanin (1984), klasifikasi Ikan tongkol adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Sub Phylum	: Vertebrata
Class	: Pisces
Sub Class	: Teleostei
Ordo	: Percomorphi
Family	: Scombridae
Genus	: <i>Euthynnus</i>
Species	: <i>Euthynnus affinis</i>

Komponen kimia utama daging ikan tongkol yaitu air, protein dan lemak yang berkisar 98 % dari total berat daging. Komponen ini berpengaruh besar terhadap nilai nutrisi, sifat fungsi, kualitas sensori dan stabilitas penyimpanan daging. Kandungan komponen kimia lainnya seperti karbohidrat, vitamin dan mineral yang berperan pada proses biokimia di dalam jaringan ikan mati (Sikorski, 1994). Hal ini diperkuat oleh Suzuki (1981), yang menyatakan bahwa ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) merupakan jenis ikan dengan kandungan gizi yang tinggi yaitu kadar air 71.00-76.76 %, protein 21.60-26.30%, lemak 1.30-2.10%, mineral 1.20-1.50% dan abu 1.45-3.40%. kandungan ikan tongkol juga diperkaya kandungan lemak omega 3. Kandungan gizi tersebut sangat baik untuk tubuh dalam memenuhi kebutuhan gizi serta pertumbuhan (Sanger, 2010). Kandungan asam lemak yang terdapat pada ikan tongkol yaitu asam lemak omega 3 dan 6. Menurut Khomsan (2006), total kandungan asam lemak omega 3 adalah sebesar 1,5 g/100 g dan asam lemak omega 6 sebesar 1,8 g/100 g. Salah satu fungsi dari asam lemak omega 3 yaitu, sebagai prekursor asam lemak esensial linoleat dan linolenat. Asam lemak esensial merupakan asam lemak yang tidak diproduksi oleh tubuh, melainkan harus didapatkan dari luar tubuh, seperti didapatkan dari asupan makanan. Secara umum bagian ikan yang dapat dimakan

(*edible portion*) berkisar antara 45-50 %. Daging ikan tongkol memiliki jaringan pengikat otot yang jumlahnya sedikit sehingga daging ikan tongkol mudah dicerna.

Ikan tongkol mudah mengalami kerusakan yang diakibatkan kandungan lemak yang teroksidasi. Selain itu kerusakan dapat disebabkan oleh kontaminasi mikroba dan adanya kandungan asam amino bebas yang dapat membantu metabolisme mikroorganisme, serta memproduksi ammonia, biogenik amin, asam organik, keton dan komponen sulfur (Lu et, al., 2010). Hal ini dikarenakan ikan jenis ini mengandung asam amino histidin yang dikontaminasi oleh bakteri yang mengeluarkan enzim histidin dekarboksilase sehingga dapat menghasilkan histamin (Meryandini et al, 2009). Bakteri yang dapat mengkontaminasi diantaranya adalah bakteri *Salmonella sp* dan *E. Coli* (Raden, et al., 2007). Berikut batas cemaran ikan segar dalam SNI SNI 7388:2009 mengenai batas cemaran mikroba pada pangan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. SNI 7388:2009 mengenai batas cemaran mikroba pada pangan.

<b>Kategori Pangan</b>	<b>Jenis Cemaran Mikroba</b>	<b>Batas Maksimum</b>
Ikan Segar	ALT (30°C, 72 jam)	5 x 10 <sup>5</sup> koloni/g
	APM <i>Eshericia coli</i>	<3/g
	<i>Salmonella sp</i>	Negatif/25g
	<i>Vibrio cholera</i>	Negatif/25g
	<i>Vibrio parahaemolitycus</i>	Negatif/25g

Sumber: Badan Standardisasi Nasional (2009).

Proses perubahan pada ikan setelah mati terjadi karena adanya aktivitas enzim, mikroorganisme, dan kimiawi. Ketiga hal tersebut menyebabkan tingkat kesegaran ikan menurun. Penurunan tingkat kesegaran ikan tersebut dapat terlihat dengan adanya perubahan fisik, kimia, dan organoleptik pada ikan. Semua proses

perubahan ini akhirnya mengarah ke pembusukan. Urutan proses perubahan yang terjadi pada ikan meliputi perubahan *pre rigor*, *rigor mortis*, dan *post rigor* (Junianto, 2003).

Perubahan *pre-rigor* atau sering dikenal dengan istilah *hiperaemia* merupakan fase yang terjadi pada ikan yang baru mengalami kematian yang ditandai dengan peristiwa terlepasnya lendir dari kelenjar di bawah permukaan kulit. Lendir yang dikeluarkan ini sebagian besar terdiri dari glukoprotein dan musin yang merupakan media ideal bagi pertumbuhan bakteri (Junianto, 2003). Lendir-lendir yang terlepas tersebut membentuk lapisan bening yang tebal di sekeliling tubuh ikan. Pelepasan lendir dari kelenjar lendir ini merupakan reaksi alami ikan yang akan menuju kematian. Jumlah lendir yang terlepas dan menyelimuti tubuh sangat banyak hingga mencapai 1 sampai 5% dari berat tubuhnya (Murniyati dan Sunarman, 2000).

Perubahan *rigor mortis* ditandai oleh mengembangnya tubuh ikan setelah mati. Perubahan *rigor mortis* merupakan akibat dari suatu rangkaian perubahan kimia yang kompleks di dalam otot ikan sesudah kematiannya. Setelah ikan mati, sirkulasi darah berhenti, suplai oksigen berkurang sehingga terjadi perubahan glikogen menjadi asam laktat. Perubahan ini menyebabkan pH tubuh ikan menurun, diikuti pula dengan penurunan jumlah *adenosin trifosfat* (ATP) serta ketidakmampuan jaringan otot mempertahankan kekenyalannya. Kondisi inilah yang dikenal dengan istilah *rigor mortis* (Junianto, 2003).

Menurut Eskin (1990), *rigor mortis* terjadi pada saat-saat siklus kontraksi-relaksasi antara myosin dan aktin di dalam miofibril terhenti dan terbentuknya



aktomiosin yang pemanen. *Rigor mortis* dianggap penting dalam industri perikanan, selain dapat memperlambat pembusukan oleh mikroba juga dikenal oleh konsumen sebagai petunjuk bahwa ikan masih dalam keadaan masih sangat segar. Penguraian ATP berkaitan erat dengan terjadinya rigor mortis. Pada saat ATP mulai mengalami penurunan, *rigor mortis* pun mulai terjadi dan mencapai kejang penuh (*full-rigor*). Energi pada jaringan otot ikan diperoleh secara anaerobik dari pemecahan glikogen. Glikolisis (penguraian glukosa) menghasilkan ATP dan asam laktat. Akumulasi asam laktat selain menurunkan pH otot, juga diikuti oleh peristiwa *rigor mortis*. Pada fase *rigor mortis* ini, pH tubuh ikan menurun menjadi 6,2-6,6 dari mula-mula pH 6,9-7,2. Tinggi rendahnya pH awal ikan sangat tergantung pada jumlah glikogen yang ada dan kekuatan penyangga (*buffering power*) pada daging ikan. Kekuatan penyangga pada daging ikan disebabkan oleh protein, asam laktat, asam fosfat, TMAO, dan basa-basa menguap. Setelah fase *rigor mortis* berakhir dan pembusukan bakteri berlangsung maka pH daging ikan naik mendekati netral hingga 7,5-8,0 atau lebih tinggi jika pembusukan telah sangat parah. Tingkat keparahan pembusukan disebabkan oleh kadar senyawa-senyawa yang bersifat basa. Pada kondisi ini, pH ikan naik dengan perlahan-lahan dan dengan semakin banyak senyawa basa purin dan pirimidin yang terbentuk akan semakin mempercepat kenaikan pH ikan (Eskin, 1990).

Fase *post rigor* merupakan permulaan dari proses pembusukan yang meliputi *autolisis* dan pembusukan oleh bakteri. *Autolisis* merupakan proses terjadinya penguraian daging ikan sebagai akibat dari aktivitas enzim dalam tubuh ikan (FAO 1995). Proses *autolisis* ditandai dengan meleemasnya daging ikan.

Lembeknya daging ikan disebabkan aktivitas enzim yang semakin meningkat sehingga terjadi pemecahan daging ikan yang selanjutnya menghasilkan substansi yang baik bagi pertumbuhan bakteri. *Autolisis* dimulai bersamaan dengan menurunnya pH. Mula-mula protein dipecah menjadi molekul-molekul makro yang menyebabkan peningkatan dehidrasi protein dan molekul-molekulnya pecah menjadi protease, lalu pecah menjadi pepton, polipeptida, dan akhirnya menjadi asam amino. Selain itu dihasilkan pula sejumlah kecil pirimidin dan purin basa yang dibebaskan pada waktu asam nukleat memecah. Bersamaan dengan itu, hidrolisis lemak menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol (Murniyati dan Sunarman, 2000).

Proses pembusukan yang disebabkan oleh aktivitas bakteri tidak akan terjadi sebelum masa *rigor mortis* berakhir. Pada akhir fase *rigor* saat hasil penguraian makin banyak, kegiatan bakteri pembusuk mulai meningkat. Bila fase *rigor* telah lewat (badan ikan mulai melunak) maka kecepatan pembusukan akan meningkat (Moeljanto, 1992). Bakteri yang semula hanya berada di insang, isi perut, dan kulit ikan mulai masuk ke otot dan memecahkan senyawa-senyawa sumber energi seperti protein, karbohidrat, dan lemak menjadi senyawa-senyawa busuk berupa indol, skatol, merkaptan, amonia, asam sulfida, dan lain-lain. Jumlah bakteri yang terdapat pada tubuh ikan ada hubungannya dengan kondisi perairan tempat ikan tersebut hidup. Bakteri yang umum ditemukan pada ikan adalah bakteri *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Sarcina*, *Vibrio*, *Flavobacterium*, *Serratia*, dan *Bacillus*. Menurut Moeljanto (1992), berbagai kondisi suhu dan lama penyimpanan memberikan pengaruh terhadap kandungan protein dan total koloni ikan.

Kerusakan kimiawi yang sering kali terjadi adalah proses oksidasi lemak yang mengakibatkan rasa pahit dan bau tengik serta perubahan warna. Proses oksidasi lemak menghasilkan sejumlah substansi yang dapat menyebabkan timbulnya bau dan rasa tengik yang disebut proses ketengikan. Proses ini dipercepat dengan adanya logam-logam berat, enzim-enzim lipooksidase dan panas. Senyawa hasil pemecahan hidropoksida merupakan produk sekunder yang sebagian besar berupa aldehid, keton, alkohol, asam karboksilat, dan alkana yang menyebabkan timbulnya diskolorisasi atau bau tengik pada ikan (FAO, 1995).

## **2.2. *Escherichia coli***

Bakteri *E. coli* merupakan merupakan bakteri Gram negatif, bentuk batang, memiliki ukuran 2.4 mikron 0.4 hingga 0.7 mikron, bergerak, tidak berspora, positif pada tes indol, glukosa, laktosa, sukrosa (Greenwood *et al.*, 2007). Menurut Purwoko (2007), dinding sel bakteri gram negatif tersusun atas membran luar, peptidoglikan dan membran dalam. Peptidoglikan yang terkandung dalam bakteri gram negatif memiliki struktur yang lebih kompleks dibandingkan gram positif. Membran luarnya terdiri dari lipid, liposakarida dan protein. Peptidoglikan berfungsi mencegah sel lisis, menyebabkan sel kaku dan memberi bentuk kepada sel.

Menurut Salle (1961), Klasifikasi dari *Escherichia coli* adalah sebagai berikut :

Divisio : Protophyta  
Subdivisio : Schizomycetea  
Kelas : Schizomycetes

Ordo : Eubacteriales  
Familia : Enterobacteriaceae  
Genus : Escherichia  
Spesies : *Escherichia coli*

Pertumbuhan bakteri *E. coli* optimal pada suhu 37<sup>0</sup>C pada media yang memiliki kandungan pepton sebesar 1% yang digunakan sebagai sumber karbon dan nitrogen. *E. coli* dapat memfermentasi laktosa dan memproduksi indol yang berfungsi untuk mengidentifikasi bakteri yang terdapat atau mengkontaminasi makanan dan air. *E. coli* dapat bertahan hidup hingga suhu 60<sup>0</sup>C pada waktu 15 menit atau pada suhu 55<sup>0</sup>C pada waktu 60 menit (Ganiswarna, 1995). Biakan *Escherichia coli* berupa koloni berwarna merah pada agar Mac Conkey yang menunjukkan bahwa basil memfermentasi laktosa dan bersifat non patogen di dalam usus (Gibson, 1996). *E. coli* termasuk ke dalam bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungannya karena tidak dapat menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkannya. Zat organik diperoleh dari sisa organisme lain. Bakteri ini menguraikan zat organik dalam makanan menjadi zat anorganik, yaitu CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, energi, dan mineral. Di dalam lingkungan, bakteri pembusuk ini berfungsi sebagai pengurai dan penyedia nutrisi bagi tumbuhan (Ganiswarna, 1995).

Bakteri *E. coli* dapat bersifat patogen terutama akibat toksin yang dihasilkan. *E. coli* umumnya tidak menyebabkan penyakit bila masih berada dalam usus, tetapi dapat menyebabkan penyakit pada saluran kencing, paru, saluran empedu, dan saluran otak (Jawetz *et al.*, 2001). *E. coli* menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus. *E. coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare.

*E. coli* berasosiasi dengan enteropatogenik menghasilkan enterotoksin pada sel epitel (Jawetz *et al.*, 1995). Manifestasi klinik infeksi oleh *E. coli* bergantung pada tempat infeksi dan tidak dapat dibedakan dengan gejala infeksi yang disebabkan oleh bakteri lain (Jawetz *et al.*, 1995).

Bakteri *E. coli* dapat menginfeksi manusia melalui cemaran pada beberapa bahan pangan dan air. Jenis bahan pangan yang tercemar biasanya disebabkan oleh sanitasi air dan peralatan yang buruk. Bakteri *E. coli* menjadi indikasi dari kontaminasi fekal pada air minum, air untuk MCK, dan makanan. Sanitasi yang buruk dituding sebagai penyebab banyaknya kontaminasi bakteri *E. coli* dalam air bersih yang dikonsumsi masyarakat (Adisasmito, 2007). Dari air yang tercemar tersebut, bakteri *E. coli* selanjutnya dapat mencemari bahan pangan yang berkontak langsung seperti produk daging, ikan, maupun sayuran ketika proses pencucian. Pada tahun 1982 pertama kali dilaporkan terjadinya wabah diare berdarah yang disebabkan oleh *E. coli* O157:H7 pada 20.000 orang dengan kematian sebanyak 250 orang, akibat mengonsumsi hamburger setengah matang dari restoran cepat saji di Amerika Serikat (Riley *et al.*, 1983). Wabah diare berdarah karena *E. coli* O157:H7 pernah juga dilaporkan di Kanada, Jepang, Afrika, dan Inggris. Di Amerika Serikat, sebanyak 3 – 5% pasien dengan gejala HUS berakhir dengan kematian (Boyce *et al.*, 1995). Beberapa penyakit yang disebabkan oleh *E. coli* yaitu :

#### 1. Infeksi saluran kemih

*E. coli* merupakan penyebab infeksi saluran kemih pada kira-kira 90 % wanita muda. Gejala dan tanda-tandanya antara lain sering kencing, disuria,

hematuria, dan piuria. Nyeri pinggang berhubungan dengan infeksi saluran kemih bagian atas.

## 2. Diare

*E. coli* yang menyebabkan diare banyak ditemukan di seluruh dunia. *E. coli* diklasifikasikan oleh ciri khas sifat-sifat virulensinya, dan setiap kelompok menimbulkan penyakit melalui mekanisme yang berbeda. Ada lima kelompok galur *E. coli* yang patogen, yaitu :

### a. *E. coli* Enteropatogenik (EPEC)

EPEC penyebab penting diare pada bayi, khususnya di negara berkembang. EPEC sebelumnya dikaitkan dengan wabah diare pada anak-anak di Negara maju. EPEC melekat pada sel mukosa usus kecil.

### b. *E. coli* Enterotoksigenik (ETEC)

ETEC penyebab yang sering dari “diare wisatawan” dan penyebab diare pada bayi di negara berkembang. Faktor kolonisasi ETEC yang spesifik untuk manusia menimbulkan pelekatan ETEC pada sel epitel usus kecil.

### c. *E. coli* Enteroinvasif (EIEC)

EIEC menimbulkan penyakit yang sangat mirip dengan shigelosis. Penyakit yang paling sering pada anak-anak di negara berkembang dan para wisatawan yang menuju negara tersebut. Galur EIEC bersifat non-laktosa atau melakukan fermentasi laktosa dengan lambat serta bersifat

tidak dapat bergerak. EIEC menimbulkan penyakit melalui invasinya ke sel epitel mukosa usus.

d. *E. coli* Enterohemoragik (EHEK)

EHEK menghasilkan verotoksin, dinamai sesuai efek sitotoksiknya pada sel Vero, suatu ginjal dari monyet hijau Afrika.

e. *E. coli* Enteroagregatif (EAEC)

EAEC menyebabkan diare akut dan kronik pada masyarakat di negara berkembang.

### 3. Sepsis

Bila pertahanan inang normal tidak mencukupi, *E. coli* dapat memasuki aliran darah dan menyebabkan sepsis.

### 4. Meningitis

*E. coli* dan *Streptokokus* adalah penyebab utama meningitis pada bayi. *E. coli* merupakan penyebab pada sekitar 40% kasus meningitis neonatal (Jawetz *et al.*, 1995).

## 2.3. Antimikroba

Antimikroba merupakan zat yang memiliki sifat membunuh mikroba. Antibakteri adalah zat yang memiliki sifat membunuh bakteri terutama bakteri merugikan manusia yang biasanya menyebabkan infeksi. Zat atau agen yang digunakan sebelumnya ditentukan harus bersifat toksisitas selektif, yaitu suatu zat

berbahaya bagi bakteri atau parasit tetapi tidak membahayakan inang konsentrasi tertentu dapat ditoleransi oleh host yang dapat merusak bakteri (Suwandi, 2012).

Antimikroba dapat bekerja secara bakterisidal (membunuh) atau bakteriostatik (menghambat pertumbuhan mikroba). Menurut Pelezar & Chan (1988) Berdasarkan sifat toksisitas selektif maka sifat antibakteri terbagi menjadi 2, yaitu bakteriostatik pertumbuhan bakteri dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal dan konsentrasi minimal yang diperlukan untuk membunuh mikroba disebut dengan Kadar Bunuh Minimal antibakteri diantaranya adalah pH lingkungan, komponen perbenihan bakteri, stabilitas zat aktif, besarnya inokulum, lamanya inkubasi dan aktifitas metabolic bakteri (Suwandi, 2012).

Mekanisme kerja antimikroba terbagi menjadi 5 cara, yaitu:

#### 1. Merusak Dinding Sel

Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukan atau mengubah setelah selesai terbentuk. Contoh: antibiotik jenis penisilin dan sefalosporin.

#### 2. Merusak Membran Sel

Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lainnya dan memelihara komponen- komponen seluler. Kerusakan pada membran sitoplasma dapat berakibat terhambatnya pertumbuhan sel sehingga menyebabkan kematian sel. Contoh: antibiotik jenis polimiksin B dan amfoterisin.



### 3. Menghambat Sintesis Protein Sel Mikroba

Kehidupan sel bergantung pada pemeliharaan molekul protein dan asam nukleat. Antimikroba dapat mengakibatkan koagulasi protein atau denaturasi bahan-bahan sel yang penting. Contoh: antibiotik jenis tetrasiklin dan streptomisin.

### 4. Menghambat Metabolisme Sel Mikroba

Setiap enzim dari beratus-ratus enzim berbeda-beda yang ada di dalam sel dan merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel. Contoh: antibiotik jenis kloramfenikol dan metafen.

### 5. Penghambatan Sintesis Asam Nukleat dan Protein

Protein, DNA dan RNA memegang peranan penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti gangguan apapun yang terjadi pada zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan sel. Contoh : antibiotik jenis norfosaksin dan sulfanilamida.

Menurut Pratiwi (2008) metode yang umum digunakan untuk menguji daya antimikroba diantaranya adalah:

#### 1. Metode Difusi

##### a) Metode Sumuran (Perforasi)

Bakteri uji yang umurnya 18-24 jam disuspensikan ke dalam media agar pada suhu sekitar 45°C. Suspensi bakteri dituangkan ke dalam cawan

petri steril. Setelah agar memadat, dibuat lubang-lubang dengan diameter 6-8 mm. Kedalam lubang tersebut dimasukkan larutan zat yang akan diuji aktivitasnya sebanyak 20 $\mu$ L, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Aktivitas antimikroba dapat dilihat dari daerah bening yang mengelilingi lubang perforasi.

b) Metode Cakram Kertas

Zat yang akan diuji diserapkan ke dalam cakram kertas dengan cara meneteskan pada cakram kertas kosong larutan antimikroba sejumlah tertentu dengan kadar tertentu pula. Cakram kertas diletakkan diatas permukaan agar padat yang telah diolesi bakteri, diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas antimikroba dapat dilihat dari daerah hambat di sekeliling cakram kertas.

2. Metode Dilusi

a) Metode Pengenceran Tabung

Antibakteri disuspensikan dalam agar *Tryptic Soy Broth* (TSB) dengan pH 7,2-7,4 kemudian dilakukan pengenceran dengan menggunakan beberapa tabung reaksi. Selanjutnya dilakukan inokulasi bakteri uji yang telah disuspensikan dengan NaCl fisiologis steril atau dengan TSB, yang tiap mililiternya mengandung kurang lebih 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup> bakteri. Setelah diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam, tabung yang keruh menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan tabung yang bening menunjukkan zat antibakteri yang bekerja.

b) Metode Pengenceran Agar

Zat antimikroba dicampur sampai homogen pada agar steril yang masih cair dengan suhu terendah mungkin ( $\pm 45^{\circ}\text{C}$ ) dengan menggunakan berbagai konsentrasi aktif, larutan tersebut dituangkan ke dalam cawan petri steril kemudian setelah memadat dioleskan bakteri uji pada permukaannya.

#### 2.4. Ekstrak Kulit Buah Sebagai Antimikroba Alami

Beberapa kulit buah dapat dijadikan sumber antimikroba alami diantaranya yaitu kulit buah jeruk, nanas, dan buah naga. Kandungan kimia dalam kulit jeruk manis diantaranya saponin, tannin, flavonoid, dan terpenoid (Sari, 2008). Kulit buah jeruk manis memiliki bau yang khas aromatic dan rasa pahit yang mengandung minyak atsiri 90% yang berisikan limonin, glukosida-glukosida hesperidina, isohesperidin, auratiamarina, dan damar (Rini, dkk., 2009). Berdasarkan Tao *et al.* (2009) komposisi kimia minyak atsiri yang diperoleh dari kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) dianalisis dengan kromatografi gas dan kromatografi gas/spektrometer massa (GC / MS), dua puluh tujuh komponen telah teridentifikasi. Sembilan puluh enam koma nol tiga persen w/w terdiri dari monoterpen dan seskuiterpen hidrokarbon yang terdiri dari limonen (77,49%), mirsin (6,27%), a-farnesen (3,64%), -terpinen (3,34%), a-pinen (1,49%), sabinen (1,29%).

Berdasarkan penelitian Ghasemi *et al.* (2009) pada ekstrak metanol dari 13 spesies kulit jeruk menunjukkan adanya kandungan fenol (berdasarkan metode Folin Ciocalteu) bervariasi dari 66,5-396,8 mg setara asam galat/g ekstrak dan

kandungan flavonoid (berdasarkan metode AlCl antara 0,3-31,1 setara kuersetin mg/g ekstrak. Fraksi etil asetat kulit jeruk manis dengan metode DPPH, *Luminol Induced Chemiluminescence* methods dan *Folin Ciocalteu* method menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dengan kadar fenolik dan flavonoid total yang tinggi (Anagnostopoulou *et al.*, 2004).

Uji aktivitas antibakteri secara difusi cakram menunjukkan bahwa minyak atsiri jeruk manis memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Penicillium chrysogenum*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* dan *Saccharomyces cerevisiae*, dengan zona hambatan berkisar antara 14,57 mm - 23,37 mm dan MIC berkisar antara 4,66  $\mu\text{LmL}$ -18,75  $\mu\text{LmL}^{-1}$ . Pada penelitian Bryan *et al.* (2008) menyebutkan bahwa minyak atsiri dari 7 spesies jeruk memiliki aktivitas anti mikroba terhadap *Salmonella* spp. dengan MIC 1%. Analisis komposisi minyak atsiri secara kromatografi gas – spektrometri gas (GC/MS) terdiri dari d-limonen 94% dan myrcene 3%.

Ekstrak air dan ekstrak etanol daun jeruk manis (*Citrus sinensis*) dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri (Ekwenye *et al.*, 2010 ). Berdasarkan metode difusi disk agar, ekstrak air daun jeruk manis terhadap *E. coli* pada diameter 7 mm, sedangkan pada *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Staphylococcus aureus* terdapat zona hambat antara 0-3 mm, sedangkan pada ekstrak etanol menunjukkan adanya zona hambat yang kecil antara 1-3 mm pada semua bakteri. Gambar kulit buah jeruk dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kulit buah jeruk  
Sumber :Nugraha(2012).

Pemanfaatan buah nanas sangat beragam. Selain dikonsumsi sebagai buah segar, nanas juga banyak digunakan sebagai bahan baku industri pertanian. Dari berbagai macam pengolahan nanas seperti selai, manisan, sirup, dan lain-lain maka akan didapatkan kulit yang cukup banyak sebagai hasil buangan atau limbah (Rosyidah, 2010). Industri pengolahan nanas ini tiap jam dapat mengolah buah nanas segar sebanyak 30 ton, dan menghasilkan limbah sebanyak 50-65 % atau sebesar 15-19,5 ton limbah. Salah satu permasalahan yang dihadapi seiring dengan berjalannya industri pengolahan nanas ini adalah adanya limbah kulit nanas yang semakin meningkat. Kulit nanas merupakan produk hasil olahan industri yang terdiri dari sisa daging buah, kulit, dan kulit terluar. Limbah industri nanas ini kebanyakan masih belum dimanfaatkan secara baik dan berdaya guna, bahkan sebagian besar masih merupakan buangan. Hal ini apabila penanganan limbah tersebut kurang tepat, maka akan dapat menyebabkan terjadinya pencemaran lingkungan maupun pemborosan sumber daya (Rosyidah, 2010). Kulit buah nanas dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Kulit Nanas  
Sumber: Plur (2010).

Nanas termasuk buah yang mempunyai kandungan sangat kompleks. Sejumlah tanaman nanas mengandung fitokimia fenolik seperti asam fenolik, flavonoid, tanin, lignin dan non fenolik seperti karotenoid dan vitamin C yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan dan antikarsinogenik (Hatam, 2013). Selain itu, kandungan flavonoid kulit nanas memiliki kemampuan sebagai antioksidan dan antiinflamasi, antialergi, antivirus, antikanker dan antibakteri (Sandhar *et al.*, 2011). Hal ini diperkuat oleh Damogalad dkk. (2013), yang menyatakan bahwa kandungan kimia yang terdapat dalam kulit nanas adalah flavonoid dan tannin. Menurut Rakhmanda (2008) Kandungan klor, iodium, fenol dan enzim bromelin pada nanas mempunyai efek menekan pertumbuhan bakteri. Senyawa fenol yang terkandung di dalam kulit buah nanas merupakan salah satu antiseptik tertua dengan khasiat *bactericidal* (membunuh bakteri) . Mekanisme kerja fenol yaitu dengan denaturasi protein sel bakteri sehingga sifat khas bakteri tersebut hilang (Rakhmanda, 2008).

Sebuah tes *phytochemical* yang dilakukan pada kulit nanas dan buah nanas menunjukkan terdapatnya senyawa Tanin. Tanin merupakan senyawa fenolik yang larut dalam air, yang berasal dari tumbuhan berpembuluh dengan berat molekul 500 hingga 3000 gram/mol. Senyawa ini banyak terdistribusi pada daun, buah, kulit batang dan batang, umumnya berasa sepat. Tanin mempunyai aktivitas biologis sebagai pengkhelat ion logam, antioksidan biologis dan merupakan senyawa antibakteri (Suwandi, 2012). Tanin ini telah ditemukan untuk membentuk reversibel kompleks dengan protein kaya prolin dalam penghambatan sintesis protein sel. Mekanisme kerja tanin sebagai antimikroba menurut Naim tahun 2004 berhubungan dengan kemampuan tanin dalam menginaktivasi adhesi sel mikroba (molekul yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel. Tanin yang mempunyai target pada polipeptida dinding sel yang akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel karena tanin merupakan senyawa fenol (Sari dkk, 2011).

Buah naga merah memiliki betalains yang mengandung fenolik dan struktur non-fenolik yang bertanggung jawab untuk kapasitas antioksidan utama *Hylocereus* ungu, sedangkan fenolik non-betalainik menyumbang senyawa hanya sampai batas kecil yaitu  $7,21 \pm 0,02$  mg CE/100 gram. Betalains terkait dengan *anthocyanin* (yaitu turunan flavonoid), pigmen kemerahan yang ditemukan di kebanyakan tanaman. Namun, betalains secara struktural dan kimia seperti *anthocyanin* karena mengandung nitrogen sedangkan *anthocyanin* tidak (Nurliyana dkk.,2010). Flavonoid yang terkandung dalam buah naga meliputi quercetin, kaempferol, dan isorhamnetin (Panjuantiningrum, 2009).

Pemanfaatan buah naga merah banyak yang terpaku pada daging buahnya saja, sedangkan kulitnya belum dimanfaatkan secara optimal. Padahal, kulit buah naga memiliki beberapa manfaat salah satunya yaitu sebagai antibakteri. Menurut Nurmahani (2012). fraksi n-heksan *Opuntia humifusa* yang memiliki kedekatan famili dengan buah naga merah mempunyai aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini juga membuktikan bahwa ekstrak n-heksan, kloroform dan etanol kulit buah naga merah memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri Gram positif dan Gram negatif. Kulit buah naga dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Kulit buah naga merah  
Sumber : Dokumentasi pribadi



### **III. BAHAN DAN METODE**

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

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Hasil Pertanian dan Laboratorium Pengolahan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, serta Laboratorium Organik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penelitian diselesaikan pada bulan Desember 2016 sampai dengan Maret 2017.

#### **3.2 Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ikan tongkol yang diperoleh dari Pasar Ikan Gudang Lelang, kulit jeruk manis, kulit buah naga, kulit buah nanas yang diperoleh dari Pasar Cendrawaih Metro dan Pasar Sukadana, etanol 96%, media *Mac Conkey Agar (MCA)*, *Nutrient Agar*, *Nutrient Broth*, *Buffered Peptone Water*, akuades, alcohol 70 %, alumunium foil, kapas dan kertas cakram.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pisau, baskom, blender, kertas saring, maserator, beaker glass, Erlenmeyer, cawan petry, shaker waterbath, *vacum rotary evaporator*, gelas ukur, pengaduk, inkubator, pipet tetes, jangka sorong, autoklaf, dan peralatan laboratorium lainnya.

### 3.3 Metode Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan yaitu RAKL (Rancangan Acak Kelompok Lengkap) faktorial, dengan faktor jenis kulit buah dan konsentrasi ekstrak kulit buah. Konsentrasi terbagi menjadi empat taraf yaitu : 10% (v/v), 25% (v/v), 50% (v/v), dan 75% (v/v) dan tiga kali ulangan.

Tabel 2. Tabel percobaan

No	Perlakuan Ekstrak kulit	Konsentrasi (%)	Ulangan		
			I	II	III
1	Jeruk	10			
		25			
		50			
		75			
2	Nanas	10			
		25			
		50			
		75			
3	Buah Naga	10			
		25			
		50			
		75			

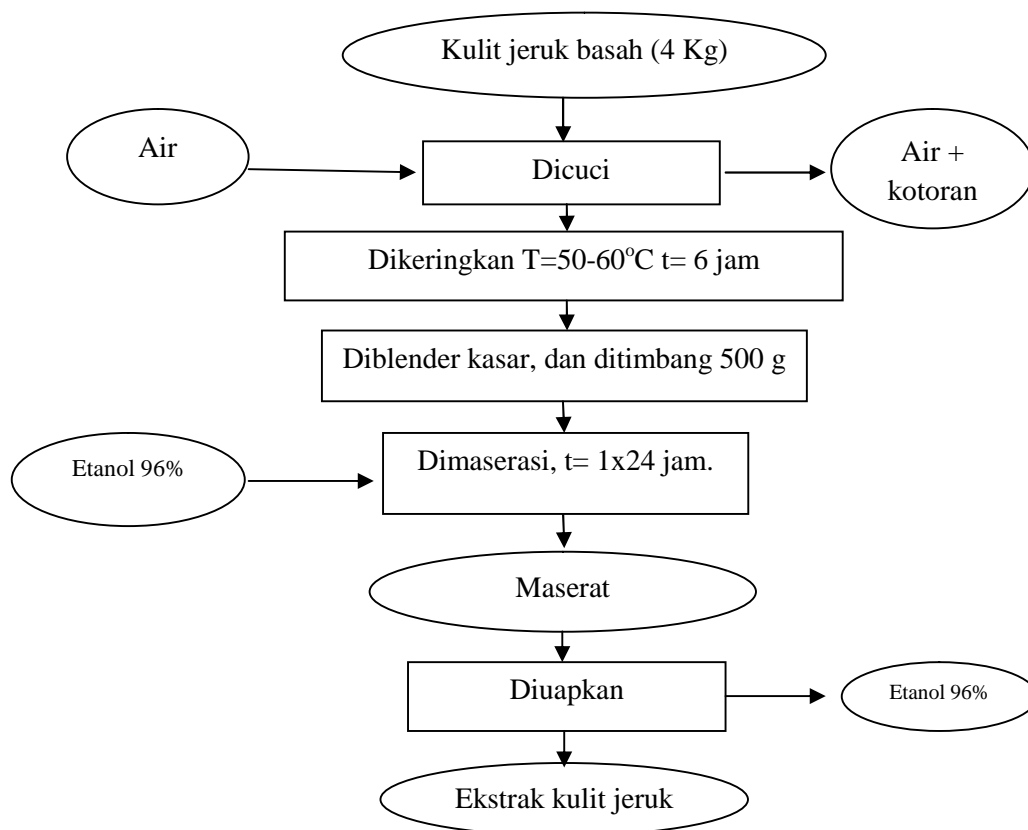
### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.4.1 Penelitian Tahap 1

Sampel kulit buah yang digunakan diambil dari pasar Cerdrawasih Metro dan Pasar Sukadana pada sore hari, dicuci dan langsung diangin-anginkan sebelum dioven.

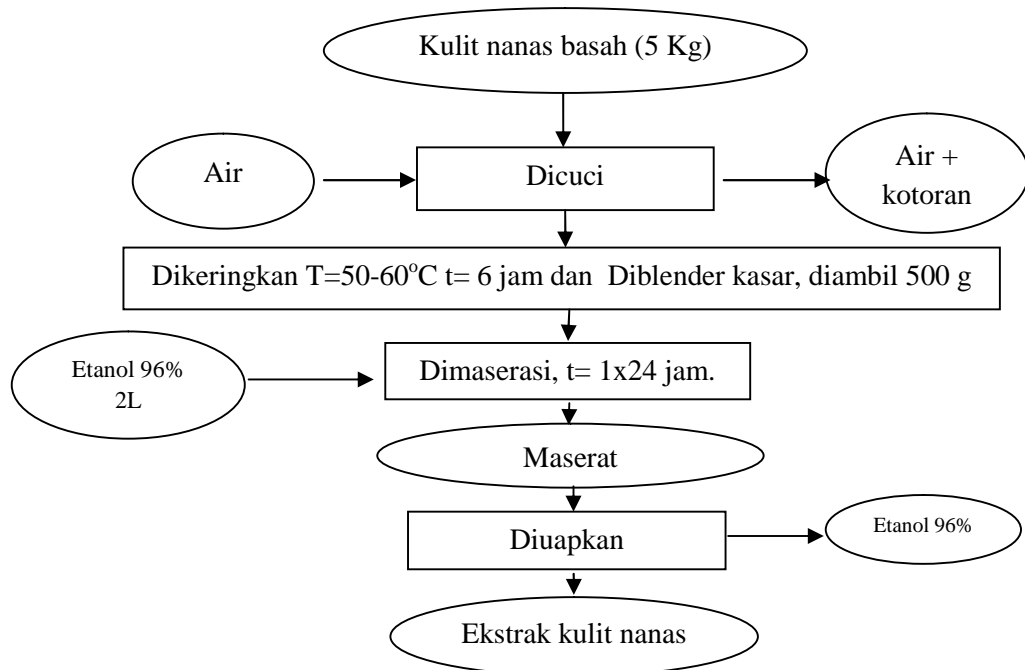
##### 3.4.1.1 Ekstraksi kulit buah

- Cara pembuatan ekstrak kulit jeruk adalah sebagai berikut:



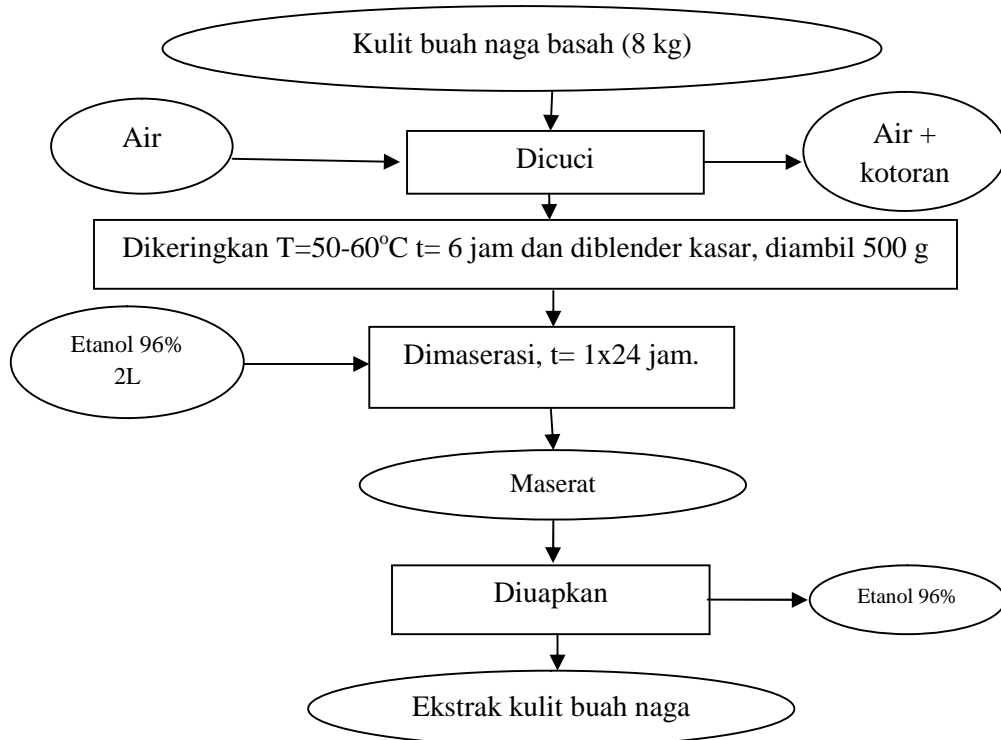
Gambar 6. Ekstraksi kulit buah jeruk  
Sumber : Dimodifikasi dari Ellifas dkk. (2012).

- Cara pembuatan ekstrak kulit nanas adalah sebagai berikut:



Gambar 7. Ekstraksi kulit buah nanas  
Sumber : Dimodifikasi dari Ellifas dkk. (2012).

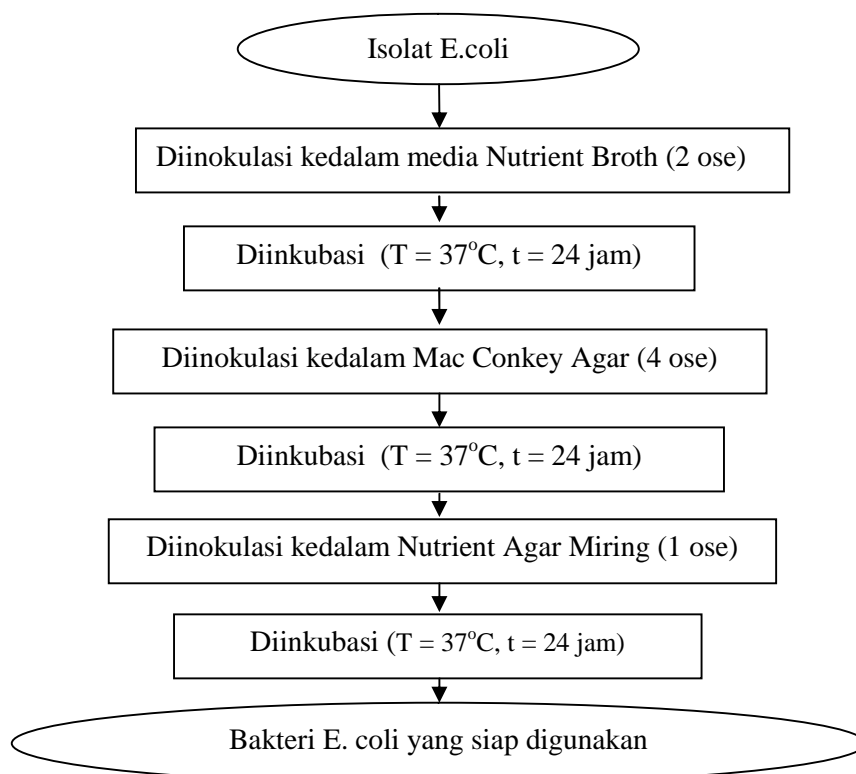
- Cara pembuatan ekstrak kulit buah naga adalah sebagai berikut:



Gambar 8. Ekstraksi kulit buah naga  
Sumber : Dimodifikasi dari Ellifas dkk. (2012).

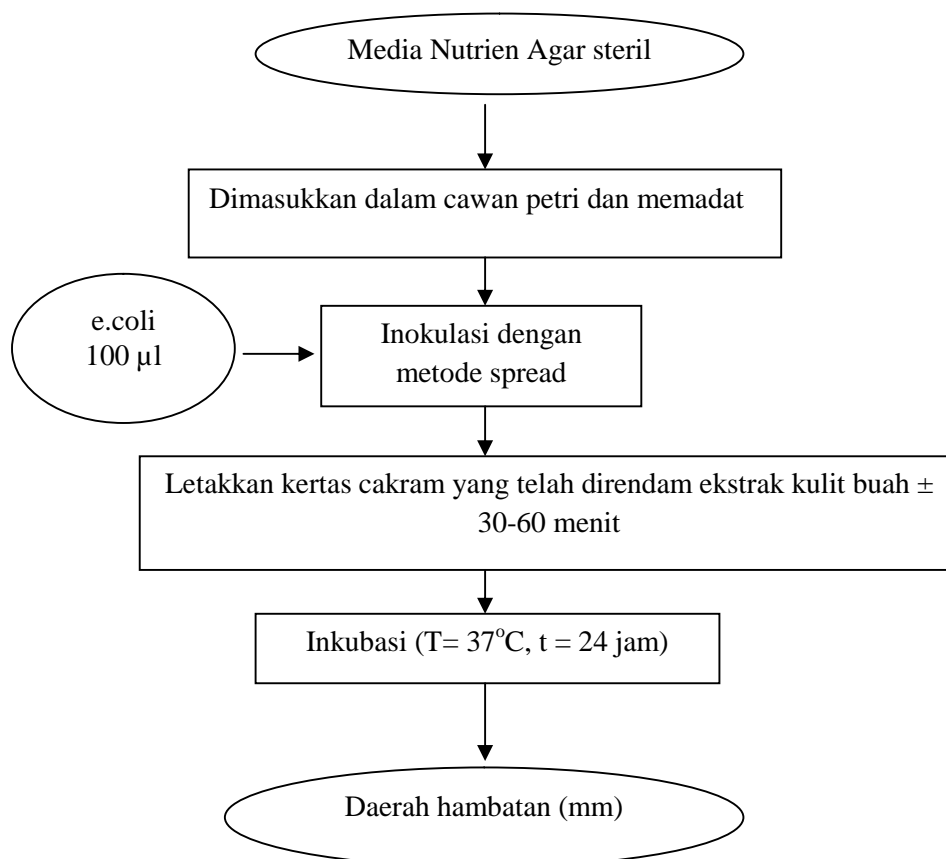
### 3.4.1.2 Uji daya hambat antimikroba

Kultur *E. coli* yang digunakan terlebih dahulu bakteri diremajakan. Peremajaan *E. coli* ini dilakukan dalam tiga tahap, yaitu peremajaan menggunakan media *Nutrient Broth*, media *Mac Conkey*, dan media *Nutrient Agar* miring. Pertama, bakteri *E. coli* murni sebanyak 2 ose ditumbuhkan pada media *Nutrient Broth* (NB) kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator pada suhu 37°C. Peremajaan kedua dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 4 ose bakteri dalam media NB dan diinokulasi pada media *Mac Conkey Agar* dengan metode cawan gores dan diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya, dilakukan peremajaan ketiga dengan cara diambil 2 ose dari biakan pada *Mac Conkey* agar dan digores pada media *Nutrient Agar* miring dan diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C.



Gambar 9. Peremajaan Bakteri *E.coli*  
Sumber : Dimodifikasi dari Suwandi (2012).

Selanjutnya, untuk pengujian antimikroba media bakteri dibuatkan terlebih dahulu sebelum dilakukan pembiakan bakteri. Media ini berfungsi sebagai tempat untuk membiakkan bakteri yang akan diuji. Pada penelitian ini media bakteri yang dibuatkan adalah media Nutrient Agar. Bakteri *E. coli* yang digunakan yaitu sebanyak 100  $\mu$ l yang diinokulasi dengan metode spread. Selanjutnya, diletakkan kertas cakram yang telah direndam ekstrak kulit buah selama  $\pm$  30-60 menit dipermukaan media. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C dan diukur daerah hambatan yang terbentuk. Metode pengujian antimikroba dimodifikasi berdasarkan Suwandi (2012) :

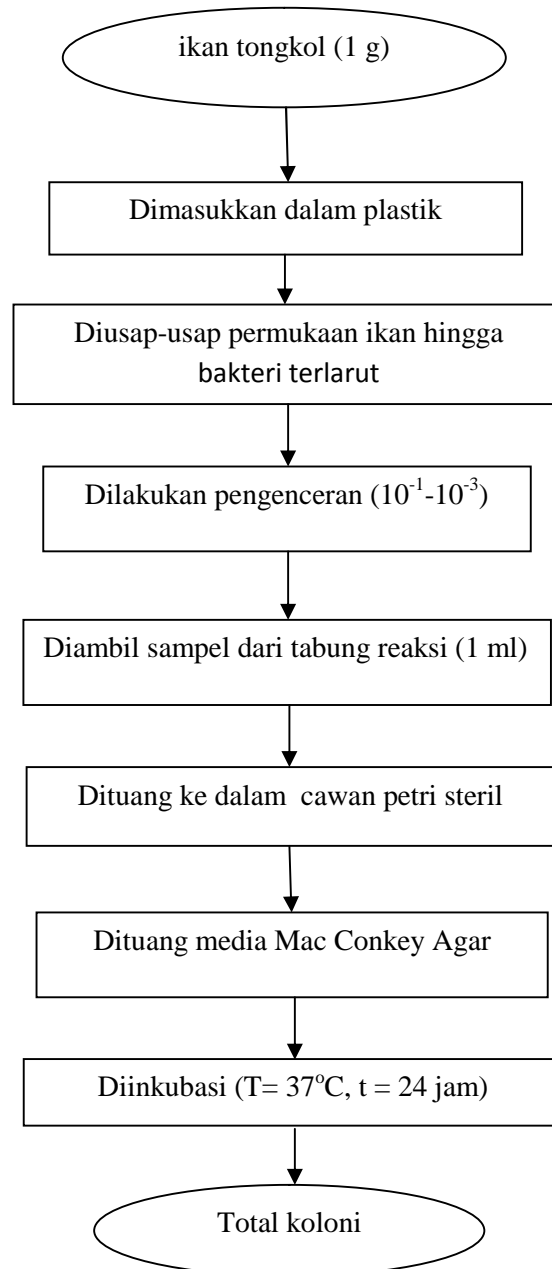


Gambar 10. Pengujian zona hambat  
Sumber : Dimodifikasi dari Suwandi (2012).

### 3.4.2 Penelitian Tahap 2

#### 3.4.2.1 Uji angka *Eschericia coli*

Metode yang digunakan adalah metode cawan tuang *Eschericia coli* dilakukan dengan cara sampel ikan tongkol diambil sebanyak 1 g kemudian dimasukkan ke dalam plastik klip. Setelah itu, disiapkan BPW (*Buffered Peptone Water*) dimasukan kedalam sembilan tabung reaksi, yang masing-masing diisi 9 ml BPW. Ikan tongkol yang telah halus dimasukan kedalam BPW kedalam tabung reaksi pertama. Dilakukan pengenceran hingga  $10^{-9}$ , selanjutnya sampel yang telah diencerkan diambil sebanyak 1 ml dan dituangkan kedalam cawan petri steril, kemudian dituang media *Mac Conkey Agar*. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}$  C setelah itu dilakukan pengamatan koloni dan dihitung jumlah koloni. Prosedur untuk Uji angka *E. coli* pada ikan tongkol dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 11. Uji angka *E.coli* pada ikan tongkol  
Sumber : Dimodifikasi dari Fardiaz (1989).

Pengamatan :

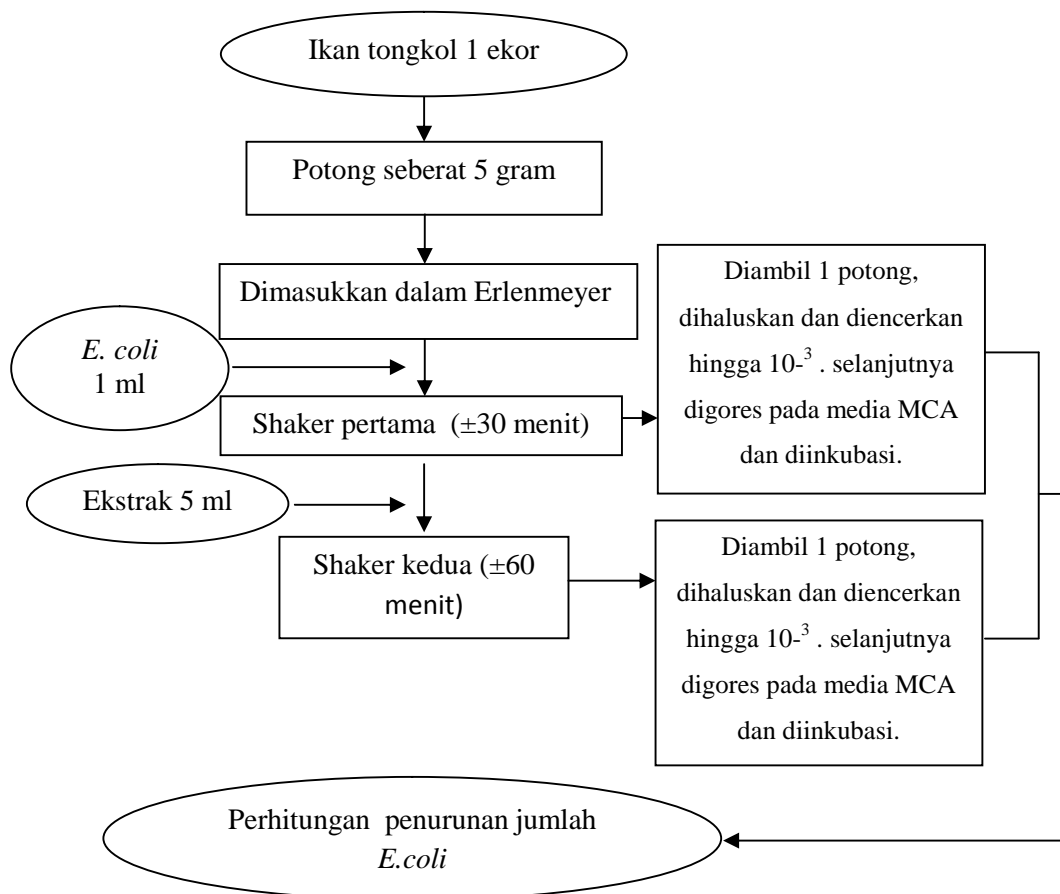
Jumlah koloni dihitung dengan rumus berikut :

Jumlah koloni = jumlah koloni pada cawan 1/faktor pengenceran



### 3.4.2.2 Uji penurunan jumlah *Eschericia coli*

Pengujian ini menggunakan ikan tongkol segar yang di potong seberat 5 gram. Selanjutnya dua potongan ikan tersebut dimasukkan kedalam erlenmeyer dan di tambahkan *E. coli* sebanyak 1 ml dan di shaker  $\pm 30$  menit dengan kecepatan 80 rpm. Diambil 1 potong, dan diencerkan hingga  $10^{-3}$ . Selanjutnya digores pada media MCA dan diinkubasi. Sisa potongan dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan 5 ml ekstrak kulit buah dan di shaker  $\pm 60$  menit dengan kecepatan 80 rpm. Selanjutnya, diencerkan hingga  $10^{-3}$ , digores pada media MCA dan diinkubasi selama 24 jam lalu dihitung penurunan jumlah *E.coli*.



Gambar 12. Uji penurunan *E.coli* pada ikan tongkol  
Sumber : Dimodifikasi dari Fardiaz (1989).

### 3.5. Analisis Data

Data zona hambat yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan menggunakan Uji Homogenitas, Uji Additivitas, Uji Anova, dan selanjutnya diuji dengan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%. Selanjutnya data penurunan jumlah *E. coli* dianalisis menggunakan Uji Anova, dan selanjutnya diuji dengan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 1%.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Jenis ekstrak kulit buah terbaik dalam penghambatan cemaran bakteri *E. coli* yaitu ekstrak kulit buah jeruk (15.867 mm) dan buah nanas (16.533 mm), keduanya saling tidak berbeda nyata pada pengujian BNT 5%.
2. Konsentrasi ekstrak terbaik dari kulit buah jeruk buah nanas dan buah naga dalam penghambatan cemaran bakteri *E. coli* yaitu pada konsentrasi 75% .
3. Jenis dan konsentrasi ekstrak kulit buah terbaik yaitu kulit buah jeruk 75% dan kulit buah nanas 75% dengan zona hambat sebesar 20,083 mm dan 19,917 mm, keduanya tidak berbeda nyata pada pengujian BNT 5%.
4. Ekstrak kulit buah jeruk, kulit buah nanas, dan kulit buah naga sebagai antimikroba alami berpengaruh terhadap penurunan cemaran bakteri *Echerichia coli*. Perlakuan ekstrak kulit nanas 75% merupakan perlakuan terbaik dalam menurunkan cemaran *E.coli* sebab ekstrak kulit buah nanas 75% dapat menurunkan cemaran *E.coli* pada ikan tongkol terbanyak yaitu  $1,49 \times 10^9$  koloni/gram.

## **5.2. Saran**

Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut dengan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi dan jenis bakteri berbeda untuk membuktikan bahwa ekstrak kulit buah jeruk, nanas, dan buah naga dapat menurunkan jenis bakteri yang lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adisasmito, W. 2007. *Sistem Kesehatan*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta
- Auzi. 2008. *Euthynnus affinis*. [http://commons.wikimwdia.org/wiki/Euthynnus\\_affinis](http://commons.wikimwdia.org/wiki/Euthynnus_affinis). Diakses pada 25 November 2016.
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). 2009. Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan. SNI 7388 : 2009. IC S 67.220.20.
- Bahar, B. 2004. *Memilih dan Menangani Produk Perikanan*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Black, J. M. and E. M. Jacobs. 1993. *Medical Surgical Nursing*. 4th edition. Philadelphia: W. B. Saunders Company.
- Boy, F. 2010. Musim Penangkapan Ikan Pelagis Besar. <http://eprints.undip.ac.id>. 6 November 2016.
- Boyce , T.G. Swerdlow D.L., and Griffin P.M. 1995. *Escherichia coli 0157:H7 and the Hemocytic Urenic Syndrome*. N. Eng. J.Med. 333: 364-368.
- Bryan; P.G. Crandali; V.I. Chalova; S.C.Ricke. 2008. Orange Essential Oil Microbial Activities against Salmonella sp.. *Journal of Food Science*, 73 (6), 264-267.
- Buckle, K.A., Edwards, R. A., Fleet, G.H., dan Wootton, M. 1987. *Ilmu Pangan*. Diterjemahkan Oleh Hari Purnomo Dan Adiono. UIP. Jakarta.
- Cowan, M.M. 1999. *Plant Products as Antimicrobial Agents*. *Clinical Microbiology Reviews*.
- Lawal, D. 2013. Medicinal, Pharmacological and Phytochemical Potentials of *Annona comsus* Linn. Peel – A Review. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*. Vol. 6(1), Hlm. 101-104.
- Damogalad, Viondy, Hosea Jaya Edy, Hamidah Sri Supriati. 2013. Formulasi Krim Tabir Surya Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus* L Merr) Dan Uji In Vitro Nilai Sun Protecting Factor (Spf). *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi – Unsrat*. Vol. 2, No. 02, Hlm. 39-44 ISSN 2302 – 2493.

- Ditjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman 3-5, 10-11.
- Eskin, N.. 1990. *Biochemistry of Food*. Edisi II. Academic Press. New York.
- Fardiaz, S. 1989. *Petunjuk Laboratorium Analisis Mikrobiologi Pangan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi IPB*. Bogor.
- Food and Agriculture Organization (FAO). 1995. *Quality and Quality Changes in Fresh Fish*. Huss HH (Editor). Food and Agriculture Organization of The United Nation. Roma.
- Ghasemi, K., Yosef, G., Mohammad, A. E.,. 009. Antioxidant Activity, Phenol And Flavonoid Contents Of 13 Citrus Species Peels And Tissue. *Pak. J.Pharm. Sci*, 22 (3), 277-281.
- Gibson, J. M. 1996. *Mikrobiologi dan Patologi Modern untuk Perawat*. Jakarta: ECG.
- Gunawan., Didik dan Sri, M. (2010). *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)* jilid 1, Jakarta: Penebar Swadaya. Halaman 106, 107, 120.
- Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB. Bandung.
- Hatam, Sri Febriani. Edi Suryanto, Jemmy Abidjulu. 2013. Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus* .L. Merr). Program Studi Farmasi Unstrat Manado. *Jurnal Ilmiah Farmasi-Unstrat*, Vol. 2, No.01, Hlm.8-12.
- Jawetz E, J. L. Melnick, E. A. Adelberg, G. F. Brooks, J. S. Butel, L. N. Ornston. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran ed. 20. University of California*. San Francisco.
- Jawetz E, J. L. Melnick, E. A. Adelberg, G. F. Brooks, J. S. Butel, L. N. Ornsto. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran, Buku I, Edisi I, Alih bahasa: Bagian Mikrobiologi*. FKU Unair, Salemba Medika, Jakarta. Indonesia.
- Junianto. 2003. *Teknik Penanganan Ikan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Kementerian Kelautan Dan Perikanan Republik Indonesia. 2016. *Rencana Pengelolaan Perikanan Wilayah Pengelolaan Perikanan Negara Republik Indonesia 712*. Kementerian Kelautan dan Perikanan. Jakarta.
- Khomsan, A. 2006. *Peranan Pangan dan Gizi untuk Kualitas Hidup*. Grasindo. Jakarta.
- Kurniawan, R., Dessy Y., Syahril N. 2012. *Analisis Bakteri Pembentuk Histamin pada Ikan Tongkol di Perairan Pasie Nan Tigo Koto Tengah Padang*

*Sumatra Barat. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Riau. Riau.*

- Lawrence, C. A. and S. S. Block. 1968. *Disinfection, Sterilization and Preservation*. Philadelphia: Lea and Febiger.
- Meryandini, Anja et al. 2009. Isolasi bakteri dan karakterisasi enzimnya. *Makara Sains* 2009; 13: 33-38.
- Milo, M.S., Purwijatiningsih, L.M.E., Pranata, F.S.. 2013. *Mutu Ikan Tongkol (Euthynnus affinis C.) Di Kabupaten Gunungkidul dan Sleman Derah Istimewa Yogyakarta*. J. UAJY. Yogyakarta.
- Mirawati, S., Agus Sjahrurachman, T., Ikaningsih, Usman Chatib Warsa. 2004. Etiologi dan Resistensi Bakteri Penyebab Infeksi Saluran Kemih di Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo dan Rumah Sakit Metropolitan Medical Center, Jakarta 2001- 2003. Dalam: Naskah Lengkap- “The 4th Jakarta Nephrology & Hypertension Course and Symposium of Hypertension”. Jakarta: *Perhimpunan Nefrologi Indonesia*. h.51-62
- Moeljanto. 1992. *Pengawetan dan Pengolahan Hasil Perikanan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Murniati, AS dan Sunarman. 2000. *Pendinginan Pembekuan dan Pengawetan Ikan*. Kanisius. Yogyakarta.
- Naim, Rochman. 2004. Tanin. <http://www.kompas.com/kompas-cetak/0409/15/sorotan/1265264.htm>. Diakses 20 April 2017.
- Naidu, A. S. dan R. A. Clemens. 2000. *Natural Food Antimicrobial Systems*. LCC: CRC Press.
- Newall, CA, Anderson LA, Phillipson JD. 1996. *Herbal Medicines A Guide for Health-care Professionals*. The Pharmaceutical Press. London.
- Nugraha, Ayi Arya. 2012. Part I : Studi Keragaman Jeruk. <https://ayorange.wordpress.com/2012/09/23/studi-keragaman-jeruk/>. Diakses 1 Juli 2017.
- Nuria, M.C., A. Faizatun., dan Sumantri. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu –ilmu Pertanian*. 5: 26 –37.
- Nurliyana, R., dkk. 2010. Antioxidant Study of Pulps and Peels of Dragon Fruits: A Comparative Study. *International Food Research Journal*. 17: 367-375..
- Nurmahani, M.M., Osman, A., Abdul Hamid, A., Mohamad Ghazali, F. dan Pak Dek, M.S. 2012. Short Communication Antibacterial Property of

- Hylocereus polyrhizus and Hylocereus undatus Peel Extracts. *Int. Food Res. J.*;19(1):77-84
- Panjuantiningrum, Feranose. 2009. *Pengaruh Pemberian Buah Naga Merah (Hylocereus Polyrhizuz) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Yang Diinduksi Aloksan*. Skripsi. Universitas Sebelas Maret. Solo.
- Plur, Napi. 2010. Analisis Usaha Pemanfaatan limbah Kulit Nanas Menjadi Minuman. Artikel Teknologi Pangan. <http://www.gubuktani.com>. Diakses pada tanggal 1 November 2016
- Pratiwi, ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Yogyakarta: Penerbit Erlangga. Halaman 176.
- Praveena Y. S. N. dan Padmini, P. 2011. Antibacterial Activities of Mycotoxins from Newly Isolated Filamentous Fungi. *International Journal of Plant, Animal, and Enviromental Science*. 1(1) : 8-13.
- Praveena, Jasmine R. Estherlydia, D. 2014. Comparative Study of Phytochemical Screening and Antioxidant Capacities of Vinegar Made From Peel and Fruit Of Pineapple (Ananas Comosus L.). *Food Chemistry and Food Processing, Loyola College, Chennai. International Journal of Pharma and Bio Sciences*. Vol. 5(4), Hlm. 394 – 403 ISSN 0975-6299.
- Puri, Anitsa A. 2016. *Uji Bakteriologis dan Organoleptik Ikan Tongkol (Euthynnus Affinis) di Pasar Tradisional, Modern dan Gudang Lelang Kota Bandar Lampung*. Skripsi. Universitas Lampung. Lampung.
- Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikroba*. PT. Bumi Aksara. Jakarta.
- Raden, F, Hafiluddin dan Mega Anshari. 2007. Analisis Jumlah Bakteri dan Keberadaan Bakteri Escherichia coli Pada Pengolahan Ikan Teri Nasi PT.Kelola Mina Laut Sumenep. *Jurnal. Embryo*. Vol. 4 no.2.
- Rahmantya, Krisna F., Asianto, A.d., Wibowo, Daadang, Wahyuni, Tri, dan Somad, W.A. 2015. *Analisis Data Pokok Kelautan dan Perikanan 2015*. Pusat Data, Statistik, dan Informasi. Jakarta.
- Rakhmanda, AP. 2008. *Perbandingan Efek Antibakteri Jus Nanas (Ananas Cosmosus L. merr) pada Berbagai Konsentrasi Terhadap Streptococcus Mutans*. Artikel Karya Tulis Ilmiah.
- Reveny, Julia. 2011. *Daya Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih Merah (Piper betle Linn.)*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Riley, L.W., Remis, R.S., Helgerson, S.D., McGee, H.B., Wells, J.G., Davis, B.R., Hebert, R.J., Olcott, H.M., Johnson, L.M., Hargrett, N.T., Blake, P.A., and Cohen, M.L. 1983. Hemorrhagic colitis associated with a rare Escherichia coli serotype. *N. Engl. J. Med.* 308: 681–685.



- Rini, P.E. 2009. Pasokan dan Permintaan Tanaman Obat Indonesia Serta Arah Penelitian dan Pengembangannya. *Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik Indonesian Medicinal and Aromatic Crops Research Institute. Bogor*. Hlm 52-64.
- Saanin, H. 1984. *Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan jilid I dan II*. Bina Tjipta, Bandung.
- Salle, A. J. 1961. *Fundamental Principle of Bacteriologi 5th Edition*. MC Graw Hill Book Company Inc..New York, 414-418, 719-739.
- Samirah, Darwanti, Windarwati, dan Hardjoeno, 2006. Pola dan Sensitivitas Kuman di Penderita Infeksi Saluran Kemih. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and medical Laboratory*. Vol 12, No.3, juli 2006: 110-113.
- Sandhar HK, Kumar B, Prasher S, Tiwari P, Salhan M, Sharma P. 2011. A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids. *International Pharmaceutica Scientia* 1(1): 25-41.
- Sanger, G. 2010. Oksidasi Lemak Ikan Tongkol (*Auxis thazard*) Asap yang Direndam dalam Larutan Ekstak Daun Sirih. *Pacific Journal*. Vol. 2 No. 5. Hlm 870 – 873.
- Saraswati, F.N., 2015. Uji AKtivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Limbah Kulit Pisang Kepok (*Musa Balbisiana*) terhadap Bakteri Penyebab Jerawat (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Propionibacterium acne*). (Skripsi). UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta. 67 hlm.
- Sari, E.S. 2008. Pentingnya Pengujian Kandungan Gula pada Jeruk Pontianak (*Citrus Nobilis* Var. *Microcarpa*) sebagai Jaminan Kualitas Rasa. Unit PSMB Dinas Pontianak. [www.bsn.go.id/.../11%20%20PENTINGNYA%20PENGUJIAN%20KANDUNGAN%20GULA](http://www.bsn.go.id/.../11%20%20PENTINGNYA%20PENGUJIAN%20KANDUNGAN%20GULA). Diakses pada 29 Maret 2017.
- Sari, Fahriya Puspita, Shofi Muktiana Sari. 2011. Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha multifida* linn) Sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. Artikel Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro Semarang. <http://eprints.undip.ac.id/36728/1/18.Artikel1.pdf>. diakses pada 7 November 2016.
- Sari, R. dan Isadiartuti, D. 2011. Studi Efektivitas Sediaan Gel Antiseptik Tangan Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* Linn.). *Majalah Farmasi Indonesia*. 17(4).
- Sukadana, I. M., Santi, S. R., dan Juliarti, N. K. 2008. Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid dari Biji Pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Kimia*. 2 (1) : 15-18.
- Suriawiria, U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Penerbit Papas Sinar Sinanti. Jakarta. hal. 97-110

- Suwandi, Trijani. 2012. *Pengembangan Potensi Antibakteri Kelopak Bunga Hibiscus Sabdariffa L. (Rosela) Terhadap Sterptococcus Sanguinis Penginduksi Gingivitis Menuju Obat Herbal Terstandar*. Disertasi. Program Doktor Ilmu Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.
- Suzuki T. 1981 *Fish & Krill Proteins. Processing Technology. London: Appl. Sci Publ.*
- Taneja C, Haque N, Osler G, Shor FA, Zilber S, Kyan OP, Reyes CK et al. 2010. Clinical and economic outcomes in patients with community-acquired staphylococcus aureus. *J Hospital med.* 9(5):528-34.
- Tao, Neng-guo; Liu, Yue-jin; Zhang, Miao-Ing. 2009. Chemical Composition and Antimicrobial Activitiesn of Essential Oil From The Peel Of Bingtang Sweet Orange (*Citrus sinensis* Osbeck). *International Journal of Science and Technology*, 4 (7), Blackwell Publishing.
- Timotius, K. H.1982. *Mikrobiologi Dasar*.Universitas Kristen Satya Wacana. Salatiga.
- Volk, W. A dan M. F Wheler. 1991. *Mikrobiologi Dasar Jilid 2*. Erlangga. Jakarta.
- Volk, W.A, dan Wheeler, MF. 1993. *Mikrobiologi Dasar, Jilid I*, Alih bahasa: Markam. Erlangga . Jakarta.
- Winarno, F. G. 1993. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT Gramedia. Jakarta.
- Wiryawan, K.G., B. Tangendjaja & Suryahadi. 2000. Tannin degrading bacteria from Indonesian ruminants. In: J.D. Brooker (Ed.) *Tannins in Livestock and Human Nutrition. ACIAR Proceedings*.