PEMANFAATAN SINGKONG DAN DAUN SINGKONG KARET SEBAGAI ANTIMIKROBA ALAMI UNTUK MENURUNKAN CEMARAN *Staphylococcus Aureus, Salmonella sp, Vibrio sp* dan *Escherichia Coli* PADA IKAN TONGKOL (*Euthynnus Affinis)*

(TESIS)

Oleh

WIDIA RINI HARTARI

FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018

ABSTRACT

USING CEARA AND LEAVES CEARA RUBBER AS A NATURAL ANTI-MICROBE FOR REDUCING CONTAMINATION OF *Staphylococcus Aureus, Salmonella sp,Vibrio sp* AND *Escherichia Coli* IN MACKEREL FISH (*Euthynnus Affinis)*

By

WIDIA RINI HARTARI

Mackerel fish is one of fishing result that contain high protein and omega 3 fatty acid. Mackerel fish is easy to be contaminated by microbes. Microbe contamination can be reduced by using ceara rubber as an alternative a natural anti-microbe. Ceara rubber contains antimicrobial such as saponin active compound which reduces bacterial cell wall surface tension and inhibits enzyme activity. The objective of this research was to find out the inhibition ability and reduced amount of *Staphylococcus Aureus*, *Salmonella sp*, *Vibrio sp* and *Escherichia Coli* bacterias in mackerel tuna fish. This research was conducted in two stages. The first stage was preparing ceara and leaves ceara rubber extract samples, bacteria isolation and mackerel fish. The second stage was count a microbe with procedure such as colony count test, inhibiting zone test and test of reduced numbers of *Staphylococcus Aureus, Salmonella sp, Vibrio sp* and *Escherichia Coli*, with 25%. 50%, 75% and 100% ceara rubber tree extract concentrations. The results research was analyzed by RAKL and BNT analyses. The results showed that the highest inhibition zone of was *Escherichia Coli* (13.06 mm), *Salmonella sp* (12.78 mm), *Vibrio sp* (11.07 mm), and the smallest was *Staphylococcus Aureus* (10.69 mm). Ceara rubber extract decreased bacteria significantly at $\alpha_{0,05}$, such as *Vibrio sp* (1.68 x 10^6 CFU/mL), *Salmonella sp* (1.41 x 10^6 CFU/mL), *Staphylococcus Aureus* (1.3 x 10^6 CFU/mL), and *Escherichia Coli* (1.01 x 10^6 CFU/mL). While on the ceara leaves yielded the highest inhibition zone on *Vibrio sp* (15,58 mm), *Escherichia coli* (13,44 mm), *Salmonella sp* (12,97 mm), and *Staphylococcus aureus* (10.62 mm). Leaves ceara rubber extract decreased bacteria significantly $\alpha_{0,05,}$ such as *Salmonella sp* (1.92 x 10^6 CFU/mL), *Vibrio sp* (1.91 x 10^6 CFU/mL), *Staphylococcus aureus* (0.92 x 10^6 CFU/mL) and *Escherichia coli* (0.35 x 10^6 CFU/mL).

Keywords: mackerel fish, ceara, anti-microbe, inhibiting zone.

ABSTRAK

PEMANFAATAN SINGKONG DAN DAUN SINGKONG KARET SEBAGAI ANTIMIKROBA ALAMI UNTUK MENURUNKAN CEMARAN *Staphylococcus Aureus, Salmonella sp, Vibrio sp* dan *Escherichia Coli* PADA IKAN TONGKOL (*Euthynnus Affinis)*

Oleh

WIDIA RINI HARTARI

Ikan tongkol merupakan ikan yang mengandung protein tinggi dan asam lemak omega 3. Ikan tongkol mudah mengalami kerusakan akibat kontaminasi mikroba. Alternatif penurunan kontaminasi mikroba dapat dilakukan salah satunya menggunakan singkong dan daun singkong karet yang mengandung senyawa aktif penghambat pertumbuhan mikroba. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui adanya daya hambat dan penurunan jumlah bakteri *Staphylococcus Aureus, Salmonella sp, Vibrio sp* dan *Escherichia Coli* pada ikan tongkol. Penelitian dilakukan melalui 2 tahap, yaitu tahap pertama adalah persiapan sampel ekstrak singkong karet, isolasi bakteri dari ikan tongkol. Tahap kedua pelaksanaan penelitian meliputi uji angka koloni (TPC), uji zona hambat dan uji penurunan angka *Staphylococcus Aureus, Salmonella sp, Vibrio sp* dan *Escherichia Coli*, dengan konsentrasi ekstrak singkong dan daun singkong masing-masing 25%. 50%, 75% dan 100%. Data hasil penelitian di analisis dengan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa percobaan dengan ekstrak singkong karet menghasilkan zona hambat tertinggi untuk bakteri *Escherichia Coli* yaitu 13,00 mm, kemudian *Salmonella sp* 12,78 mm, *Vibrio sp* 11,07 mm dan yang terkecil *Staphylococcus Aureus* 10,69 mm. Ekstrak singkong karet menurunkan cemaran bakteri secara signifikan pada $\alpha_{0,05}$ sebagai berikut adalah *Vibrio sp* 1,68 x 10^6 CFU/mL, *Salmonella sp* 1,41 x 10^6 CFU/mL, *Staphylococcus Aureus* 1,3 x 10^6 CFU/mL, *Escherichia Coli* 1,01 x 10^6 CFU/mL. Ekstrak daun singkong karet membentuk zona hambat sebagai berikut *Vibrio sp* (15,58 mm), *Escherichia coli* (13,44 mm), *Salmonella sp* (12,97 mm), dan *Staphylococcus aureus* (10,62 mm). Ekstrak daun singkong karet menurunkan cemaran bakteri secara signifikan pada $\alpha_{0,05}$ sebagai berikut adalah *Salmonella sp* 1,92 x 10^6 CFU/mL, *Vibrio sp* sekitar 1,91 x 10^6 CFU/mL, *Staphylococcus aureus* 0,92 x 10^6 CFU/mL dan yang terakhir *Escherichia coli* 0,35 x 10^6 CFU/mL.

Kata Kunci : Ikan Tongkol, Antimikroba, Singkong Karet, Zona Hambat.

PEMANFAATAN SINGKONG DAN DAUN SINGKONG KARET SEBAGAI ANTIMIKROBA ALAMI UNTUK MENURUNKAN CEMARAN *Staphylococcus Aureus, Salmonella sp, Vibrio sp* dan *Escherichia Coli* PADA IKAN TONGKOL (*Euthynnus Affinis)*

Oleh

Widia Rini Hartari

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
MAGISTER SAINS

Pada

Program Studi Magister Teknologi Industri Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Lampung

FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018

Judul Tesis	:	**PEMANFAATAN SINGKONG DAN DAUN SINGKONG KARET SEBAGAI ANTIMIKROBA ALAMI UNTUK MENURUNKAN CEMARAN *Staphylococcus Aureus, Salmonella sp, Vibrio sp* dan *Escherichia Coli* PADA IKAN TONGKOL (*Euthynnus Affinis*)**
Nama Mahasiswa	:	Widia Rini Hartari
Nomor Pokok Mahasiswa	:	1624051003
Program Studi	:	Magister Teknologi Industri Pertanian
Fakultas	:	Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Dr. Dewi Sartika, S.T.P., M.Si.
NIP 19701220 200812 2 001

Dr. Ir. Suharyono A.S, M.S.
NIP 19590530 198603 1 004

2. Ketua Program Studi
Magister Teknologi Industri Pertanian

Dr. Sri Hidayati, S.T.P., M.P.
NIP 19710930 199512 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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

Sekretaris : **Dr. Ir. Suharyono A.S, M.S.** .....

Penguji
Bukan Pembimbing : **Dr. Ir. Tanto Pratondo Utomo, M.Si.** .....

2. Dekan Fakultas Pertanian

Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP 19611020 198603 1 002

3. Direktur Program Pascasarjana Universitas Lampung

Prof. Dr. Sudjarwo, M.S.
NIP 19530528 198103 1 002

Tanggal Lulus Ujian Tesis : **12 Januari 2018**

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya adalah **Widia Rini Hartari** NPM **1624051003**

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 pernah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukan hasil dari plagiat karya orang lain.

Dengan demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 12 Januari 2018
Yang membuat pernyataan

Widia Rini Hartari
NPM. 1624051003

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 30 Agustus 1994 , sebagai anak kedua dari tiga bersaudara, pasangan Bapak Dalijo dan Ibu Sanariah. Penulis menikah dengan Bigi Undadraja. Pendidikan penulis diawali di TK. Handayani Tanjung Karang Barat pada tahun 1999, kemudian dilanjutkan di Sekolah Dasar Negeri 6 Gedung Air, diselesaikan pada tahun 2006, yang kemudian dilanjutkan ke Madrasah Tsanawiyah Negeri 1 Bandar Lampung, diselesaikan pada tahun 2009, dan Sekolah Menengah Atas Negeri 3 Bandar Lampung yang diselesaikan pada tahun 2012.

Pada tahun 2012, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) Undangan dan lulus pada tahun 2016. Pada September 2016 penulis melanjutkan pendidikan S2 di Magister Teknologi Industri Pertanian (MTIP), Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

MOTTO

Buang rasa malasmu sedini mungkin, karena waktu tidak akan kembali untuk menunggu usahamu bangkit, dan bagaikan musuh sang waktu akan meninggalkanmu dan senang dalam penyesalanmu, maka jangan tunggu waktu untuk memulainya.
(Penulis)

Jadikanlah
sabar dan shalat sebagai
penolongmu, sesungguhnya Allah SWT
beserta orang-orang yang sabar(Al-Baqoroh:286).

Manusia diberikan akal dan pikiran untuk mengontrol semuanya dan manusia diberikan ilmu pengetahuan untuk menjadi alat dalam menjalani hidup ini, tetapi manusia diberikan bekal agama untuk dunia dan akhirat.
Jangan berharap lebih jika belum berusaha lebih, hasil yang diperoleh sesuai dengan usaha yang dilakukan.
(Penulis)

Seiring Do'a dan Rasa Syukur kehadirat Allah SWT Serta Shalawat dan Salam Selalu Tercurah Kepada Baginda Tercinta Nabi Muhammad SAW beserta Keluarga dan Para Sahabat.

Ku persembahkan Karya Kecil ini sebagai tanda cinta dan bakti Ku kepada:

Bapak dan Ibu Tersayang, Suamiku Tercinta, serta Adik dan KakakKu, Keluarga, Almamater, dan Sahabat sekaligus kelurga baru.

SANWACANA

Puji dan syukur penulis ucapkan ke hadirat Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, karena atas rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan Tesis ini.

Dengan selesainya Tesis ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.S., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Ibu Dr. Sri Hidayati, S.T.P., M.P., selaku Ketua Program Studi Magister Teknologi Industri Pertanian (MTIP) Fakultas Pertanian Universitas Lampung atas izin penelitian yang diberikan.
3. Dr. Dewi Sartika, S.T.P., M.Si., selaku pembimbing satu tesis sekaligus sebagai Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan pengarahan, saran, nasihat dan masukan dalam menyelesaikan tesis ini.
4. Dr. Ir. Suharyono., M.S., selaku pembimbing dua yang telah banyak memberikan pengarahan, saran, nasihat dan masukan dalam menyelesaikan tesis ini.
5. Dr. Ir. Tanto Pratondo Utomo., M.Si., selaku penguji yang telah memberikan saran dan masukan guna terselesaikanya tesis ini.
6. Ayah yang telah mendidik ku dan mengajarkan arti hidup sesungguhnya, semoga diri ini mampu menjadi pribadi yang berguna bagi keluarga, bangsa,

dan negara. Ibu, Kakak, Adik serta saudara-saudara ku tercinta yang telah memberikan dukungan, motivasi, dan yang selalu menyertai penulis dalam do'anya untuk melaksanakan dan menyelesaikan tesis.

7. Suamiku tercinta Bigi Undadraja yang telah memberikan semangat dan dukungan baik moril dan materil dalam penyelesaian tesis ini.
8. Seluruh teman-teman MTIP 2016 dan kakak tingkat yang telah memberikan semangat selama ini.

Penulis berharap semoga Allah SWT membalas kebaikan mereka dan semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Bandar Lampung, 12 Januari 2018

Penulis

Widia Rini Hartari

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL iii

DAFTAR GAMBAR iv

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang dan Masalah 1

1.2. Tujuan Penelitian 4

1.3. Kerangka Pemikiran 4

1.4. Hipotesis 7

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ikan Tongkol 8

2.1.1. Peningkatan Produktivitas Ikan Tongkol Indonesia 9

2.1.2. Mutu Ikan Tongkol 10

2.2. Cemaran Bakteri Pada Ikan Tongkol..... 12

2.2.1. *Echerichia Coli* 12

2.2.2. *Staphylococcus Aureus* 15

2.2.3. *Salmonella* sp..... 18

2.2.4. *Vibrio* sp..... 21

2.3. Antimikroba..... 23

2.3.1. Mekanisme Kerja Antimikroba 24

2.3.2. Singkong Karet 25

2.3.3. Daun Singkong Karet 28

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian 32

3.2. Bahan dan Alat 32

3.3. Metode Penelitian 33

3.4. Pelaksanaan Penelitian 36

3.4.1. Penelitian Pendahuluan..... 36

3.4.2. Pengamatan 40

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Ekstraksi Singkong dan Daun Singkong Karet 44

4.2. Isolasi Bakteri *Staphylococcus Aureus, Salmonella sp, Vibrio sp,* dan *Echerichia Coli* Pada Ikan Tongkol..... 46

4.3. Pengujian Zona Hambat Antimikroba 47

4.3.1. Zona Hambat Antimikroba Ekstrak Singkong Karet... 47

4.3.2. Zona Hambat Antimikroba Ekstrak Daun Singkong Karet 56

4.3.3. Perbandingan Hasil Pengujian Zona Hambat Dengan Penambahan Ekstrak Singkong dan Daun Singkong Karet 62

4.4. Uji Penurunan Bakteri *Staphylococcus Aureus, Salmonella sp, Vibrio sp,* dan *Echerichia Coli* Pada Ikan Tongkol..... 63

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1.	Produksi Ikan Tongkol Pada Tahun 2015	10
2.	SNI 73388-2009 Batas Cemaran Ikan	11
3.	Kandungan Zat Gizi Pada Singkong Karet	27
4.	Kandungan Daun Singkong Karet	29
5.	Senyawa Fitokimia Daun Singkong	30
6.	Tabel Percobaan Zona Hambat Singkong Karet	34
7.	Tabel Percobaan Zona Hambat Daun Singkong Karet	35
8.	Tabel Percobaan Peurunan Singkong dan Daun Singkong Karet	36
9.	Diameter Zona Hambat Bakteri Dengan Penambahan Ekstrak Singkong Karet	49
10.	Tabel BNT Penambahan Ekstrak Singkong Pada Bakteri *E.Coli*	51
11.	Tabel BNT Penambahan Ekstrak Singkong Pada Bakteri *Salmonella sp*	52
12.	Tabel BNT Penambahan Ekstrak Singkong Pada Bakteri *Staphylococcus Aureus*	53
13.	Tabel BNT Penambahan Ekstrak Singkong Pada Bakteri *Vibrio sp*	54
14.	Diameter Zona Hambat Bakteri Dengan Penambahan Ekstrak Daun Singkong Karet	57
15.	Tabel BNT Penambahan Ekstrak Daun Singkong Pada Bakteri *E.Coli*	57
16.	Tabel BNT Penambahan Ekstrak Daun Singkong Pada Bakteri *Salmonella sp*	59

17. Tabel BNT Penambahan Ekstrak Daun Singkong Pada Bakteri *Staphylococcus Aureus* 60

18. Tabel BNT Penambahan Ekstrak Singkong Pada Bakteri *Vibrio sp* ... 61

19. Perbandingan Hasil Pengujian Zona Hambat Dengan Penambahan Ekstrak Singkong dan Daun Singkong Karet 62

20. Penurunan Bakteri *Staphylococcus Aureus, Salmonella sp, Vibrio sp,* dan *Echerichia Coli* 65

DAFTAR GAMBAR

Gambar Halaman

1. Ikan Tongkol *(Euthynnus affinis)* 8
2. *Eschericia coli* 12
3. *Staphylococcus aureus* 16
4. Bakteri *Salmonella sp* 20
5. Hasil Pewarnaan Gram *Vibrio sp* 22
6. Singkong Karet 25
7. Daun Singkong..... 28
8. Diagram Alir Ekstraksi Singkong Karet 37
9. Diagram Alir Ekstraksi Daun Singkong Karet 38
10. Diagram Alir Isolasi Bakteri *Staphylococcus Aureus, Salmonella sp, Vibrio sp,* dan *Echerichia Coli*..... 39
11. Diagram Alir Uji Angka *Staphylococcus Aureus, Salmonella sp, Vibrio sp,* dan *Echerichia Coli*..... 41
12. Diagram Alir Uji Aktivitas Antimikroba 42
13. Diagram Alir Penurunan Bakteri 43
14. Pengecilan Ukuran dan Pengeringan Singkong dan Daun Singkong . 45
15. Ekstraksi Singkong dan Daun Singkong Karet 45
16. Isolasi Bakteri 47
17. Pewarnaan Gram Bakteri 47
18. Zona Hambat Pada Singkong Karet 48

19. Hasil Pengujian Zona Hambat Bakteri Dengan Penambahan Ekstrak Singkong Karet (a) *Vibrio sp*, (b) *E.Coli*, (c) *Staphylococus Aureus*, (d) *Salmonella sp* 49

20. Grafik Pengaruh Penambahan Ekstrak Singkong Pada *E.Coli* Dalam Pembentukan Zona Hambat 51

21. Grafik Pengaruh Penambahan Ekstrak Singkong Pada *Salmonella sp* Dalam Pembentukan Zona Hambat 52

22. Grafik Pengaruh Penambahan Ekstrak Singkong Pada *Staphylococcus Aureus* Dalam Pembentukan Zona Hambat 53

23. Grafik Pengaruh Penambahan Ekstrak Singkong Pada *E.Vibrio* sp Dalam Pembentukan Zona Hambat 54

24. Hasil Pengujian Zona Hambat Bakteri (a) *Vibrio sp*, (b) *E.Coli*, (c) *Staphylococus Aureus*, (d) *Salmonella sp* Dengan Penambahan Ekstrak Daun Singkong Karet 56

25. Grafik Pengaruh Penambahan Ekstrak Daun Singkong Pada *E.Coli* Dalam Pembentukan Zona Hambat 58

26. Grafik Pengaruh Penambahan Ekstrak Daun Singkong Pada *Salmonella sp* Dalam Pembentukan Zona Hambat 59

27. Grafik Pengaruh Penambahan Ekstrak Daun Singkong Pada *Staphylococcus Aureus* Dalam Pembentukan Zona Hambat 60

28. Grafik Pengaruh Penambahan Ekstrak Daun Singkong Pada *Vibrio sp* Dalam Pembentukan Zona Hambat 61

29. Penurunan Mikroba Ikan Tongkol 66

30. Grafik Penurunan Jumlah Mikroba Pada Pengadukan 30 Menit Dengan Penambahan Ekstrak Daun Singkong Karet, pada $\alpha_{0,05}$=34,783 66

31. Grafik Penurunan Jumlah Mikroba Pada Pengadukan 90 menit Dengan Penambahan Ekstrak Daun Singkong Karet, pada $\alpha_{0,05}$=53,205..... 67

32. Grafik Penurunan Jumlah Mikroba Pada Pengadukan 30 menit Dengan Penambahan Ekstrak Singkong Karet, pada $\alpha_{0,05}$=89,682 68

33. Grafik Penurunan Jumlah Mikroba Pada Pengadukan 90 menit Dengan Penambahan Ekstrak Singkong Karet, pada $\alpha_{0,05}$=25,151 69

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang dan Masalah

Indonesia merupakan negara maritim yang kaya akan hasil kelautan dan perikanan. Produksi perikanan Indonesia pada tahun 2015 mencapai 14,79 juta ton. Produksi tersebut merupakan kontribusi dari produksi perikanan budidaya dan perikanan tangkap. Produksi perikanan tangkap dihasilkan dari produksi tangkap di laut mencapai 4,39 juta ton dan perairan umum 325 ribu ton. Salah satu hasil perikanan tangkap yang mengalami peningkatan produksi sebesar 5,65% dari tahun sebelumnya adalah ikan tongkol, yaitu mencapai 241 ribu ton. Pertumbuhan yang paling signifikan untuk ikan tongkol adalah jenis kenyar, lisong, dan tongkol komo (Sulistyo, dkk, 2015).

Hal ini dikuatkan dengan peningkatan konsumsi ikan di Indonesia yang mencapai 37,89 kg/kapita pada tahun 2014 dibandingkan dengan tahun sebelumnya yaitu 35,21 kg/kapita. Kemungkinan besar peningkatan konsumsi ikan akan meningkat setiap tahunnya, termasuk konsumsi ikan tongkol (Sulistyo, dkk, 2015).

Ikan tongkol lebih banyak diminati masyarakat untuk dikonsumsi karena dagingnya yang tebal dan durinya yang besar sehingga mudah untuk dipisahkan. Ikan tongkol juga banyak mengandung protein 26,2 mg/100g dan kandungan

asam lemak omega-3 yang baik untuk kecerdasan anak. Namun, ikan tongkol mudah mengalami kerusakan yang diakibatkan oleh kandungan lemak yang teroksidasi, kontaminasi mikroba dan adanya kandungan asam amino bebas yang dapat membantu metabolisme mikroorganisme, serta memproduksi ammonia, biogenik amin, asam organik, keton dan komponen sulfur (Sanger, 2010).

Nelayan dan penjual ikan tongkol biasanya memberikan es batu yang dimasukkan dalam wadah penyimpanan ikan tongkol, hal ini dimasudkan untuk menghambat kerusakan ikan tongkol, karena dengan suhu yang rendah pertumbuhan mikroba akan terhambat (Buckle *et al*, 1987). Namun hal itu hanya bersifat sementara, karena kontaminasi mikroba dapat berasal dari banyak tempat dan ketahanan mikroba untuk mengkontaminasi ikan tongkol.

Penurunan kontaminasi dari mikroba dapat dilakukan dengan penambahan garam, tetapi akan merubah tekstur dan rasa dari ikan tongkol, rasanya akan asin atau pahit tergantung konsentrasi garam yang ditambahkan, kemudian tekstur ikan tongkol akan keras. Hal ini mempengaruhi minat beli konsumen, sehingga perlu ada alternatif lain untuk menurunkan cemaran mikroba. Penggunaan antimikroba alami menjadi salah satu alternatif menurunkan cemaran mikroba, bahan pembuatan antimikroba dapat diperoleh dari bahan-bahan alami yang ada disekitar kita. Singkong dan daun singkong karet adalah salah satu bahan yang dapat dijadikan antimikroba.

Singkong karet merupakan singkong racun yang dalam kehidupan tidak termanfaatkan, tetapi mengandung zat aktif yang dapat menjadi antimikroba yaitu saponin, saponin merupakan senyawa glikosida kompleks yaitu senyawa hasil kondensasi suatu gula dengan suatu senyawa hidroksil organik yang apabila dihidrolisis akan menghasilkan gula (glikon) dan non-gula (aglikon) (Hilda, 2011).

Senyawa saponin memiliki sifat antibakteri dengan cara menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri karena saponin memiliki komponen aktif *aglycone* yang bersifat membranolitik, setelah tegangan permukaan dinding sel bakteri menurun, saponin membentuk kompleks dengan sterol yang menyebabkan pembentukan *single ion channel*. Adanya *single ion channel* menyebabkan ketidakstabilan membran sel sehingga menghambat aktivitas enzim, terutama enzim-enzim yang berperan dalam transpor ion yang sangat berperan dalam kehidupan bakteri terutama pada *Staphylococcus aureus, Salmonella sp, Vibrio sp* dan *Escherichia coli* (Zahro, 2013).

Pada daun singkong juga mengandung senyawa aktif yang dapat menjadi antimikroba dan antivirus alami yaitu senyawa flavonoid, triterpenoid, tanin serta saponin (Zahara, 2013). Mikroba yang tidak boleh ada pada ikan dan produk perikanan adalah *Staphylococcus aureus, Salmonella sp, Vibrio sp* dan *Escherichia coli* sesuai dengan SNI 7388-2009. Oleh karena itu antimikroba alami yang dibuat akan dipakai untuk menurunkan *Staphylococcus aureus, Salmonella sp, Vibrio sp* dan *Escherichia coli* pada ikan tongkol.

1.2. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui adanya daya hambat ekstrak singkong dan daun singkong karet terhadap cemaran *Staphylococcus aureus, Salmonella sp, Vibrio sp* dan *Escherichia coli* pada ikan tongkol.
2. Menentukan konsentrasi ekstrak singkong dan daun singkong karet terbaik dalam menghambat cemaran *Staphylococcus aureus, Salmonella sp, Vibrio sp* dan *Escherichia coli* pada ikan tongkol.
3. Mengetahui penurunan jumlah *Staphylococcus aureus, Salmonella sp, Vibrio sp* dan *Escherichia coli* pada ikan tongkol dengan penambahan ekstrak singkong dan daun singkong karet.

1.3. Kerangka Pemikiran

Ikan merupakan bahan pangan yang rentan akan kontaminasi mikroba, sehingga cepat mengalami kerusakan. Ikan banyak mengandung protein, lemak dan vitamin, sehingga menjadi tempat tumbuh yang cocok bagi mikroba patogen maupun non patogen (Widiastuty, 2008). Salah satu ikan yang paling banyak dikonsumsi adalah ikan tongkol, karena mempunyai daging yang tebal dan duri yang besar, sehingga mudah untuk dipisahkan.

Ikan tongkol yang sudah mati, harus segera diolah untuk dikonsumsi, karena ikan tongkol yang sudah mati akan cepat terkontaminasi bakteri patogen yang akan merusak komponen pada ikan, dan jika dikonsumsi akan menimbulkan keracunan.

Hal ini dikarenakan ikan tongkol 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*, *Staphylococcus aureus, Vibrio cholerae* dan *E. Coli* (Raden, dkk, 2007). Jika ikan tongkol sudah terkontaminasi bakteri tersebut, maka dapat dikatakan sudah tidak layak dikonsumsi, karena sudah tidak memenuhi SNI 7288-2009.

Kontaminasi mikroba pada ikan tongkol dapat terjadi pada saat setelah penangkapan, penyimpanan ikan dengan menggunakan ember atau wadah yang tidak bersih sampai pendistribusian ikan kepada para penjual ikan. Kontaminasi paling banyak terjadi saat dijual oleh pedagang, hal ini dikarenakan pedagang tidak menjaga kebersihan ikan dan tidak memberikan perlakuan untuk mengurangi cemaran, sehingga total *coliform* 100% melebihi ambang batas (Anitsa, 2015).

Ikan yang sudah mengalami penurunan mutu akibat cemaran mikroba, akan semakin menurun harga jualnya. Oleh karena itu diperlukan upaya untuk dapat menurunkan cemaran mikroba agar ikan tongkol yang dijual tetap memiliki mutu yang baik. Antimikroba alami dapat menjadi alternatif yang baik dilakukan untuk menurunkan cemaran mikroba. Antimikroba alami dapat diperoleh dari bahan alami yang ada disekitar kita seperti singkong dan daun singkong karet.

Singkong dan daun singkong karet masih kurang dalam pemanfaatannya, padahal singkong karet mempunyai kandungan senyawa aktif yang dapat menjadi antimikroba. Kandungan itu adalah saponin. Saponin merupakan zat aktif yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga terjadi hemolisis sel, apabila saponin berinteraksi dengan bakteri, maka bakteri tersebut akan pecah atau lisis (Hilda, 2011).

Pada daun singkong juga mengandung senyawa aktif yang dapat menjadi antimikroba alami. Senyawa itu adalah flavonoid, triterpenoid, tanin serta saponin. Flavonoid , saponin dan triterpenoid sejak lama diketahui memiliki aktivitas antimikroba dan antivirus, senyawa ini sering ditemukan pada banyak tanaman obat dan diketahui memiliki aktivitas antivirus dan antibakteri, serta dapat mengobati kerusakan pada kulit (Zahara, 2013).

Pada penelitian yang akan dilaksanakan, pemanfaatan singkong dan daun singkong karet menjadi antimikroba alami dalam menurunkan cemaran *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp, Vibrio sp* dan *Escherichia coli* pada ikan tongkol, sehingga mutu ikan tongkol dapat dipertahankan.

1.4. Hipotesis

Adapun Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terdapat zona hambat antimikroba singkong dan daun singkong karet terhadap cemaran bakteri *Staphylococcus aureus, Salmonella sp, Vibrio sp* dan *Escherichia coli* pada ikan tongkol (*Euthynnus affinis*).
2. Terdapat konsentrasi ekstrak singkong dan daun singkong karet terbaik dalam penghambatan cemaran bakteri *Staphylococcus aureus, Salmonella sp, Vibrio sp* dan *Escherichia coli* pada ikan tongkol (*Euthynnus affinis*).
3. Terdapat penurunan jumlah *Staphylococcus aureus, Salmonella sp, Vibrio sp* dan *Escherichia coli* pada ikan tongkol dengan penambahan ekstrak singkong dan daun singkong karet.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*)

Ikan tongkol merupakan ikan yang paling digemari masyarakat, karena mempunyai daging yang tebal dan duri yang besar, sehingga mudah dalam pemisahannya. Bentuk ikan tongkol dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar 1. Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis)*
Sumber: Syarifah (2016).

Saanin (1984) menyatakan klasifikasi ikan tongkol sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Phylum : Chordata

Sub Phylum : Vertebrata

Class : Pisces

Sub Class : Teleostei

Ordo : Percomorphi

Family : Scombridae

Genus : Euthynnus

Species : *Euthynnus affinis*

Ikan tongkol memiliki nama latin *Euthynnus affinis*, merupakan jenis golongan ikan tuna yang berukuran kecil. Badan ikan tongkol memanjang sampai 50-60 cm dan tidak memiliki sisik, kecuali pada bagian garis rusuk (Syarifah, 2016). Kulit ikan tongkol berwarna abu-abu dengan daging berwarna merah, dan dapat mencapai berat 13,6 kg (Bahar, 2004).

Ikan tongkol mengandung banyak sekali zat gizi yang baik untuk kesehatan, kandungan itu antara lain protein 21,60- 26,30%, lemak 1,30-2,10%, air 71-76,76%, mineral 1,20-1,50% dan abu 1,45- 3,40% (Suzuki, 1981). Daging ikan tongkol memiliki jaringan pengikat otot yang sedikit, sehingga ikan tongkol mudah dicerna. Ikan tongkol juga memiliki kandungan unsur hara minor berupa mineral penting, seperti iodium dan flour serta asam lemak omega 3 yang baik untuk kecerdasan anak (Lassen, 1965, dalam Suwamba, 2008).

2.1.1. Peningkatan Produktivitas Ikan Tongkol Indonesia

Ikan tongkol mengalami peningkatan produktivitas setiap tahunnya, pada tahun 2015 mengalami kenaikan sebanyak 19,94% dengan rata-rata produksi sebanyak 241 ribu ton. Konsumsi ikan juga mengalami peningkatan setiap tahunnya, seperti pada tahun 2014 mencapai 8, 44% yaitu sebesar 37,89 kg/kapita (Sulistyo, 2015). Produksi ikan tongkol pada tahun 2015 dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Produksi Ikan Tongkol Pada Tahun 2015

Komoditas	Produksi (Ton)			Pertumbuhan (%)	Rata-rata Produksi (Ton)	Standard Deviasi (Ton)
	Triwulan					
	I	II	III	Triwulan I-III		
Tongkol	**219.880**	**228.980**	**274.630**	**19.94**	**241.163**	**29.338**
T. Krai	49.550	53.030	54.580	2.92	52.387	2.576
T. Komo	31.990	40.430	55.530	37.35	42.650	11.926
T. Abu-abu	16.550	16.800	18.230	8.51	17.193	906
Cakalang	117.680	112.520	137.560	22.25	122.587	13.221
Lisong	3.890	5.970	8.050	34.84	5.970	2.080
Kenyar	220	230	680	195.65	377	263

Sumber: Sulistyo (2015).

Ikan tongkol setiap tahunnya akan mengalami peningkatan permintaan, sehingga harus dapat memenuhi permintaan dan menjamin mutu ikan tongkol yang dijual agar dapat mempertahan mutu ikan tongkol dalam persaingan bebas.

2.1.2. Mutu Ikan Tongkol

Ikan tongkol sama dengan ikan lainnya, yaitu mudah mengalami kerusakan karena kandungan protein, lemak dan vitamin yang menjadi tempat pertumbuhan mikroba. Ikan akan mudah terkontaminasi saat setelah penangkapan, apalagi jika ikan sudah mati. Parameter untuk mengetahui mutu ikan dapat dilihat dari kenampakan fisik tubuh ikan, bau, tekstur, serta rasa ikan (Winarni dkk, 2003).

Mutu ikan tongkol yang baik dapat dilihat dari matanya masih relatif bening, masih terlihat seperti normalnya mata ikan hidup, belum melesak kedalam atau sudah buram, insangnya masih berwarna kemerahan, belum berwarna coklat gelap, tidak memiliki banyak lendir, jika ditekan dagingnya akan melesak kedalam tapi begitu tangan kita diangkat daging akan segera kembali ke posisi

semula, bau ikan normal, tidak terlalu amis apalagi busuk. Jika ikan sudah mengalami perubahan, maka ikan sudah mengalami penurunan mutu akibat kontaminasi mikroba (Anitsa, 2015).

Kontaminasi mikroba juga dapat mengakibatkan ikan tongkol tidak layak dikonsumsi lagi, karena bersifat racun. Ikan tongkol merupakan jenis ikan yang memiliki kandungan asam amino histidin yang dapat dikontaminasi oleh bakteri. Bakteri dapat mengeluarkan enzim histidin dekarboksilase yang selanjutnya akan menghasilkan histamin, bakteri yang biasa mengkontaminasinya adalah *Eschericia coli, Salmonella, Vibrio cholera, Enterobecteriacea dan Staphylococcus* (Syarifah, 2016).

Untuk mengetahui mutu dari ikan tongkol dapat dilihat dari jumlah cemaran bakteri yang ada pada ikan, semakin rendah bahkan negatif cemaran mikroba, maka ikan dalam keadaan mutu yang baik, dan sebaliknya. Apabila cemaran yang ada pada ikan tinggi, maka mutu ikan rendah dan sudah tidak layak untuk dikonsumsi. Mutu ikan harus sesuai SNI 7388-2009 yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. SNI Batas Cemaran Pada Ikan Dan Produk Perikanan Dalam SNI 7388:2009 Mengenai Batas Cemaran Mikroba Pada Pangan.

Kategori Pangan	**Jenis Cemaran Mikroba**	**Batas Maksimum**
Ikan dan Produk Perikanan	ALT (30^0C, 72 Jam)	5 x 10^5 koloni/g
	APM *Escherichia coli*	< 3/g
	Salmonella sp	Negatif/25 g
	Staphylococcus aureus	1 x 10^3 koloni/g
	Vibrio cholerae	Negatif/25 g

Sumber: BSN (2009).

2.2. Cemaran Bakteri Pada Ikan Tongkol

2.2.1. *Echerichia Coli*

Escherichia coli merupakan bakteri jenis gram negatif, dengan bentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 µm, lebar 0,4-0,7 µm, dan diameter 0,7 µm. *E. coli* hidup secara berkoloni dengan membentuk koloni yang bundar, cembung, halus dengan tepi yang nyata dan bersifat aerob fakultatif (Smith-Keary, 1988 ; Jawetz *et al.*, 1995).

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

Divisio : Protophyta

Subdivisio : Schizomycetea

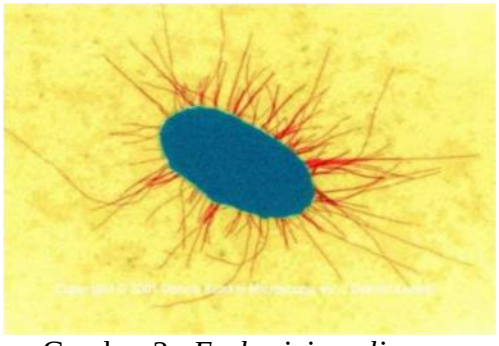
Kelas : Schizomycetes

Ordo : Eubacteriales

Familia : Enterobacteriaceae

Genus : Escherichia

Spesies : *Escherichia coli*



Gambar 2. *Eschericia coli*
Sumber: Smith-Keary (1988).

Escherichia coli merupakan bakteri non patogen yang secara normal berada pada saluran pencernaan manusia dan hewan berdarah panas. Beberapa jenis strain bakteri *Escherichia coli* yang patogen dapat memproduksi toksin berbahaya dan dapat mengganggu kesehatan manusia. *Escherichia coli* tipe enteropatogenik dapat menyebabkan diare, terutama pada bayi dan anak-anak di negara-negara sedang berkembang (Pelczar, and chan, 1988). Penyakit yang disebabkan *E. Coli* antara lain adalah sebagai berikut:

1. Infeksi saluran kemih

Infeksi saluran kemih akibat *E. Coli* kira-kira 90 % pada wanita muda. Gejalanya antara lain sering kencing, hematuria, disuria, dan piuria serta nyeri pada pinggang berhubungan dengan infeksi saluran kemih bagian atas.

2. Diare

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 melekat pada sel mukosa usus kecil. EPEC penyebab penting diare pada bayi, khususnya di negara berkembang.

b. *E. coli* Enterotoksigenik (ETEC)

Faktor kolonisasi ETEC yang spesifik untuk manusia menimbulkan pelekatan ETEC pada sel epitel usus kecil, sehingga penyebab diare.

c. *E. coli* Enteroinvasif (EIEC)

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. EIEC menimbulkan penyakit yang sangat mirip dengan shigelosis.

d. *E. coli* Enterohemoragik (EHEK)

EHEK menghasilkan verotoksin, dinamai sesuai efek sitotoksisnya 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*., 1996).

E. coli berperan penting dalam konversi pigmen-pigmen empedu, asam-asam empedu, sintesis vitamin K dan penyerapan zat-zat makanan. *E. coli* termasuk ke

dalam bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat oganik 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 CO2, H2O, energi, dan mineral. Di dalam lingkungan, bakteri pembusuk ini berfungsi sebagai pengurai dan penyedia nutrisi bagi tumbuhan (Ganiswarna, 1995).

2.2.2. Staphylococcus Aureus

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif dan jika diamati di bawah mikroskop akan tampak dalam bentuk bulat tunggal atau berpasangan, atau berkelompok seperti buah anggur (Gusti, 2014).

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah (Brooks *et al.* 2005):

Domain : *Bacteria*

Kingdom : *Eubacteria*

Divisi : *Firmicutes*

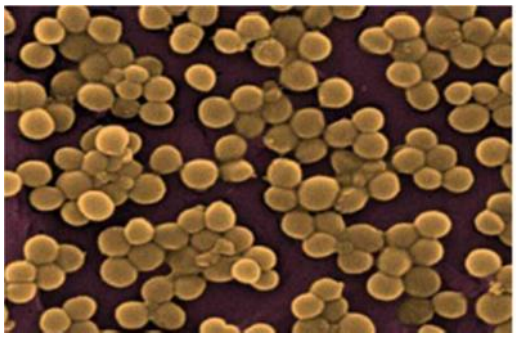
Class : *Cocci*

Ordo : *Bacillales*

Family : *Staphylococcaceae*

Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus*



Gambar 3. *Staphylococcus aureus*
Sumber: Gusti (2014).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2µm, tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur,memiliki sifat fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37ºC, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25ºC) (Fischetti *et al*. 2000).

Infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah radang supuratif (bernanah) pada jaringan lokal dan cenderung menjadi abses. Manifestasi klinis yang paling sering ditemukan adalah furunkel pada kulit dan impetigo pada anakanak. Infeksi superfisial ini dapat menyebar (metastatik) ke jaringan yang lebih dalam menimbulkan osteomielitis, artritis, endokarditis dan abses pada otak, paru-paru, ginjal serta kelenjar mammae. Pneumonia yang disebabkan *Staphylococcus aureus* sering merupakan suatu infeksi sekunder setelah infeksi virus influenza. *Staphylococcus aureus* dikenal sebagai bakteri yang paling sering mengkontaminasi luka pasca bedah sehingga menimbulkan komplikasi. Bila

terjadi bakteriemia, infeksi dapat bermetastasis ke berbagai organ (DeLeo *et al.* 2009).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang tahan pengeringan dan panas, tetap hidup pada suhu 50^0C selama 30 menit dan dapat hidup pada debu kering dan makanan yang didinginkan sampai membeku. Sifat khas *S. aureus* yang digunakan untuk membedakannya dengan Staphylococcus yang lain adalah kemampuan menghasilkan enzim koagulase yaitu suatu enzim yang dapat menggumpalkan plasma (Wahyuni, 2015).

Menurut Jawetz *et al.* (2007) mekanisme infeksi dari *Staphylococcus aureus* yaitu:

a. Perlekatan pada protein sel inang Struktur sel *Staphylococcus aureus* memiliki protein permukaan yang membantu penempelan bakteri pada sel inang. Protein tersebut adalah laminin dan fibronektin yang membentuk matriks ekstraseluler pada permukaan epitel dan endotel. Selain itu, beberapa galur mempunyai ikatan protein fibrin atau fibrinogen yang mampu meningkatkan penempelan bakteri pada darah dan jaringan.
b. Invasi Invasi *Staphylococcus aureus* terhadap jaringan inang melibatkan sejumlah besar kelompok protein ekstraseluler. Beberapa protein yang berperan penting dalam proses invasi *Staphylococcus aureus* adalah α-toksin, β-toksin, δ-toksin, γ-toksin, leukosidin, koagulase, stafilokinase, dan beberapa enzim (protease, lipase, DNAse, dan enzim pemodifikasi asam lemak).

c. Perlawanan terhadap ketahanan inang *Staphylococcus aureus* memiliki kemampuan mempertahankan diri terhadap mekanisme pertahanan inang. Beberapa faktor pertahanan diri yang dimiliki *Staphylococcus aureus* yaitu : simpai polisakarida, protein A, dan leukosidin.
d. Pelepasan beberapa jenis toksin. Pelepasan beberapa jenis toksin diantaranya yaitu eksotoksin, superantigen, dan toksin eksfoliatin.

2.2.3. Salmonella sp

Bakteri *Salmonella* pertama kali ditemukan tahun 1885 pada tubuh babi oleh Theobald Smith (yang terkenal akan hasilnya pada anafilaksis), namun *Salmonella* dinamai dari Daniel Edward Salmon, ahli patologi Amerika (Ryan KJ dan Ray CG, 2004). *Salmonella* adalah suatu genus bakteri enterobakteria. Bakteri gram negatif batang berbentuk tongkat yang menyebabkan beberapa macam penyakit seperti tifoid, paratifoid, dan penyakit *foodborne* (Imelda, 2013). Bakteri dari genus *Salmonella sp.* merupakan bakeri penyebab infeksi. *Salmonella sp.* dapat tumbuh optimum di berbagai kondisi lingkungan di luar inang. Sebagian besar serotipe *Salmonella sp.* tumbuh pada kisaran suhu 5-47^{o}C dan optimum pada kisaran suhu 35-37^{o}C. *Salmonella sp.* tumbuh dalam kisaran pH antara 4-9 dengan pH optimal antara 6.5 dan 7.5.mereka membutuhkan aktivitas air tinggi (aw) antara 0,99 dan 0,94 (Pui *et al*, 2011)

Bakteri *Salmonella sp.* tidak membentuk spora dan panjangnya bervariasi. *Salmonella sp.* mempunyai flagel peritrika (*peritrichous flagella*) yang dapat memberikan sifat motil pada *Salmonella sp* tersebut (Brooks *et al*., 2004). Ciri-

ciri lainnya yaitu berkembang biak dengan cara membelah diri, mudah tumbuh pada medium sederhana, resisten terhadap bahan kimia tertentu (misal, brilian hijau, natrium tetrationat, natrium deoksikolat) yang menghambat bakteri enterik lain, oleh karena itu senyawa–senyawa tersebut berguna untuk inokulasi isolat *Salmonella* dari feses pada medium, serta struktur sel bakteri *Salmonella* terdiri dari inti (nukleus), sitoplasma, dan dinding sel. Karena dinding sel bakteri ini bersifat Gram negatif, maka memiliki struktur kimia yang berbeda dengan bakteri Gram positif (Pratiwi, 2011).

Salmonella sp adalah organisme yang mudah tumbuh pada medium sederhana namun hampir tidak pernah memfermentasikan laktosa dan sukrosa. Organisme ini membentuk asam dan kadang-kadang gas dari glukosa dan manosa serta biasanya akan menghasilkan H_2S. *Salmonella sp.* bisa bertahan dalam air yang membeku untuk periode yang lama. Organisme ini juga resisten terhadap bahan kimia tertentu yang bisa menghambat bakteri enterik yang lain (Brooks dan Morse, 2004). Banyak peneliti telah berhasil membuktikan bahwa *Salmonella sp.* ternyata menghasilkan toksin. Sebanyak 7% *S. typhi* dan *S.typhimurium* menyekresikan toksin yang bersifat neurotoksik, larut dalam air dan labil terhadap pemanasn serta oksigen (Arisman, 2009).

Salmonella sp. merupakan salah satu bakteri patogen penyebab keracunan makanan pada hewan dan manusia. Bakteri ini masuk melalui kontaminasi makanan dan minuman. Bakteri ini menyebabkan infeksi *Salmonella sp* dapat dilihat pada Gambar 4.

Gambar 4 . Bakteri *Salmonella sp*
Sumber: Aguskrisno, (2012)

Adapun Taksonomi dari bakteri *Salmonella sp*.yaitu:

Phylum : *Bacteria (Eubacteria)*

Class : *Prateobacteria*

Ordo : *Eubacteriales*

Family : *Enterobacteriae*

Genus : *Salmonella sp.*

Spesies : *Salmonella sp. sp*

(Sumber : Madigan *et al*, 2012).

Organisme ini hampir selalu masuk melalui rute oral biasanya bersamaan makanan dan minuman yang terkontaminasi. *Salmonella sp*.akan menuju ke bagian lambung dan akan menempel pada sel M (microfold) di bagian peyer patches juga di bagian enterosit. Bakteri tersebut akan menetap dan bereplikasi di vakuola endosit (Murray dkk., 2009). Bakteri ini diangkut dalam phagosomes ke lamina propria untuk dilepaskan. Sesampainya di sana, *Salmonella sp.* akan menyebabkan masuknya makrofag (strain non typoidal) atau netrofil (strain typoidal) (Brooks dan Morse, 2004).

Salmonella sp. yang terbawa melalui makanan ataupun benda lainnya akan memasuki saluran cerna. Di lambung, bakteri ini akan dimusnahkan oleh asam lambung, namun yang lolos akan masuk ke usus halus. Bakteri ini akan melakukan penetrasi pada mukosa baik usus halus maupun usus besar dan tinggal secara intraseluler dimana mereka akan berproliferasi. Bakteri ini mencapai epitel dan IgA tidak bisa menanganinya, maka akan terjadi degenerasi brush border. Di dalam sel bakteri akan dikelilingi oleh inverted cytoplasmic membrane mirip dengan vakuola fagositik (Dzen, 2003). Bakteri akan memasuki lamina propria dan melakukan penetrasi melalui intercellular junction. Dapat dimungkinkan munculnya ulserasi pada folikel limfoid (Singh, 2001). Pada awalnya *S. typhi* berpfoliferasi di Payer's patch dari usus halus, kemudian sel mengalami destruksi sehingga bakteri akan dapat menyebar ke hati, limpa, dan sistem retikuloendotelial. Dalam satu sampai tiga minggu bakteri akan menyebar ke organ tersebut. Bakteri ini akan menginfeksi empedu, kemudian jaringan limfoid dari usus halus, terutamanya ileum. Invasi bakteri ke mukosa akan memicu sel epitel untuk menghasilkan berbagai sitokin seperti IL-1, IL-6, IL-8, TNF-β, INF, GM-CSF (Singh, 2001).

2.2.4. Vibrio sp

Bakteri *Vibrio sp* adalah jenis bakteri yang dapat hidup pada salinitas yang relatif tinggi. Vibrio merupakan bakteri akuatik yang dapat ditemukan di sungai, muara sungai, kolam, dan laut. Bakteri *Vibrio* termasuk bakteri *anaerobic fakultatif*, yaitu dapat hidup baik dengan atau tanpa oksigen. Bakteri *Vibrio* tumbuh pada

pH 4 – 9 dan tumbuh optimal pada pH 6,5 – 8,5 atau kondisi alkali dengan pH 9,0 (Feliatra, 1999).

Klasifikasi *Vibrio* (Rodhi, 2014).

Kingdom : *Eubacteria*

Divisi : Bacteri

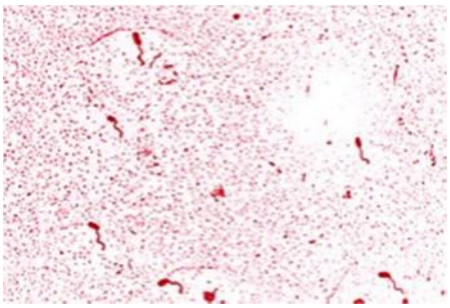
Class : *Schizomycetes*

Ordo : *Eubacteriales*

Family : *Vibrionaceae*

Genus : *Vibrio*

Spesies : *Alginolyticus.*



Gambar 5. Hasil Pewarnaan Gram Sel Bakteri *Vibrio sp*

Vibrio sp merupakan salah satu bakteri patogen yang tergolong dalam divisi bakteri, yang dapat menyebabkan kematian biota laut yang menghuni perairan, dan secara tidak langsung bakteri yang terbawa biota laut seperti ikan akan dikonsumsi oleh manusia, sehingga menyebabkan penyakit pada manusia. Secara umum, morfologi atau struktur tubuh dari bakteri Vibrio bila diisolir dari faeces penderita atau dari biakkan yang masih muda adalah batang bengkok seperti koma, tetapi akan berbentuk batang lurus bila diambil atau didapat dari biakan yang sudah tua.

Jalur penyebaran infeksi vibrio yang tepat belum jelas, tetapi transmisi dicurigai lewat mulut. Untuk mengisolasikan *Vibrio spp*. dari bagian tubuh yang berhubungan dengan usus secara klinis dari ikan normal. Di bawah kondisi-kondisi tertentu, bakteri mungkin mampu untuk memotong dinding usus, menghasilkan penyakit systemic. Pada saat serangan terjadi, banyaknya partikel yang cepat menyebar didalam lingkungan meningkat secara dramatis, sehingga meningkatkan kesempatan vibrio yang menyebabkan ikan akan terinfeksi (Rodhi, 2014).

3.1. Antimikroba

Antimikroba 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 (Asep, 2016).

Berdasarkan sifat toksisitas selektif maka sifat antimikroba terbagi menjadi 2, yaitu bakteriostatik pertumbuhan bakteri dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal konsentrasi minimal yang diperlukan untuk membunuh mikroba disebut dengan Kadar Bunuh Minimal antibakteri diantaranya adalah pH lingkungan, komponen perbenihan bakteri, stabilitas zat aktif, besarnya inokolum, lamanya inkubasi dan aktifitas metabolic bakteri (Asep, 2016).

3.1.1. Mekanisme Kerja Antimikroba

Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri diantaranya yaitu menghambat sintesisdinding sel, menghambat keutuhan permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim, dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein.

a. Penghambatan sintesis dinding sel bakteri.

Langkah pertama kerja obat berupa pengikatan obat pada reseptor sel (beberapa diantaranya adalah enzim transpeptida. Kemudian dilanjutkan dengan reaksi transpeptidase dan sintesis peptidoglikan terhambat. Mekanisme diakhiri dengan pembuangan atau penghentian aktivitas penghambat enzim autolisis pada dinding sel Pada lingkungan yang isotonislisis terjadi pada lingkungan yang jelas hipertonik, mikrob berubah menjadi protoplas atau sferoflas yang hanya tertutup oleh selaput sel yang rapuh. Sebagai contoh antibakteri dengan mekanisme kerja di atas adalah penicilin, sefalosporin, vankomisin, basitrasin, sikloserin, dan ampisilin.

b. Penghambatan Keutuhan Permeabilitas Dinding Sel Bakteri

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh selaput sitoplasma yang bekerja sebagai penghalang dengan permeabilitas selektif, melakukan fungsi pengangkutan aktif sehingga dapat mengendalikan susunan sel. Bila integritas fungsi selaput sitoplasma terganggu misalnya oleh zat bersifat surfaktan sehinga permeabilitas dinding sel berubah atau bahkan menjadi rusak, maka komponen penting, seperti

protein, asam nukleat, nukleotida, dan lainlain keluar dari sel dan sel berangsur-angsur mati (Asep, 2016).

Bahan yang ada di alam dan mengandung senyawa aktif dapat dijadikan antimikroba alami untuk menghambat pertumbuhan mikroba, terutama mikroba patogen, salah satunya adalah singkong dan daun singkong karet juga dapat diolah menjadi antimikroba.

3.2.1. Singkong Karet

Singkong merupakan bahan pangan yang dapat dijadikan pengganti nasi, karena singkong banyak mengandung karbohidrat. Masyarakat pedesaan lebih sering mengkonsumsi singkong karena mudah didapat dan harganya murah, tetapi terdapat singkong yang tidak dapat dikonsumsi langsung karena mengandung racun atau sering isebut singkong karet, sehingga pemanfaatan singkong karet kurang. Singkong karet dapat dilihat pada Gambar 6.

Gambar 6. Singkong Karet
Sumber: Hilda (2011).

Menurut Suprapti Lies, 2005 dalam sistematika (taksonomi) tanaman singkong jenis ini diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*

Divisio : *Spermatophyta*

Subdivisio : *Angiospermae*

Kelas : *Dicotyledonae*

Ordo : *Euphorbiales*

Famili : *Euphorbiaceae*

Genus : *Manihot*

Species : *Manihot glaziovii*

Batang singkong tegak setinggi 1,5-4m. Bentuk batang bulat dengan diameter 2,5-4cm, berkayu dan bergabus. Batang berwarna kecokalatan atau ke unguaan dan bercabang ganda tiga. Akar tanaman masuk kedalam tanah sekitar 0,5-0,6m beberapa akar ini di gunakan untuk menyimpan bahan makanan (karbohidrat). Akibatnya ukurannya trus membesar mengalahkan ukuran lain nya. Akar yang besar ini lah yang di sebut sebagai umbi singkong (Hilda, 2011).

Singkong dibagi menjadi 3 bagian yaitu daun 6%, batang 44% dan umbi 50%. Singkong mulai menghasilkan umbi pada bulan ke 6. Singkong karet mengandung racun sianida (HCN) sebesar 50mg/kg, sedangkan yang bersifat racun pada level 300-500 mg/kg bila dikonsumsi. Kandungan HCN dapat berkurang bila dilakukan perendaman dalam air sehari semalam, sebelum dikonsumsi (Hilda, 2011). Kandungan zat gizi pada singkong dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kandungan Zat Gizi Pada Singkong Karet

Kandungan nutrisi	Daun (%)	Batang (%)	Umbi (%)	Kulit (%)
Protein kasar	23,2	10,9	1,7	4,8
Serat kasar	21,9	22,6	3,2	21,2
Ekstrak eter	4,8	9,7	0,8	1,22
Abu	7,8	8,9	2,2	4,2
Ekstrak tanpa N	42,2	47,9	92,1	68
Ca	0,972	0,312	0,091	0,36
P	0,576	0,341	0,121	0,112
Mg	0,451	0,452	0,012	0,227
Energi metabolis	2590	2670	1560	3960

Sumber: Devendra (1977).

Menurut Hilda (2011) singkong karet mengandung komponen bioaktif yaitu saponin. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa jika dikocok di dalam air serta pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Saponin bekerja sebagai anti mikroba. Saponin merupakan senyawa yang berasa pahit dan menusuk, biasanya dapat menyebabkan bersin dan iritasi terhadap sel lendir.

Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks yaitu senyawa hasil kondensasi suatu gula dengan suatu senyawa hidroksil organik yang apabila dihidrolisis akan menghasilkan gula (glikon) dan non-gula (aglikon). Saponin ini terdiri dari dua kelompok : saponin triterpenoid dan saponin steroid. Saponin banyak digunakan dalam kehidupan manusia, salah satunya terdapat dalam lerak yang digunakan untuk bahan pencuci kain (batik) dan sebagai shampo. Saponin dapat diperoleh dari tumbuhan melalui proses ekstraksi (Hilda, 2011).

3.3.1. Daun Singkong Karet

Diantara varietas tanaman singkong yang banyak terdapat di Indonesia adalah singkong karet (Manihot glaziovii) yang umumnya ditanam di daerah pedesaan

sebagai tanaman halaman maupun ladang. Bentuk daun singkong dapat dilihat pada Gambar 7.

Gambar 7. Daun Singkong
Sumber: Asep (2016)

Adapun klasifikasi tanaman singkong adalah sebagai berikut :

Kingdom : plantae

Divisi : spermatophyte

Sub divisi : angiospermae

Kelas : dicotyledoneae

Ordo : euphorbiales

Famili : euphorbiaceae

Genus : manihot

Spesies : *manihot utilisima* (Tjitrosoepomo, 2005)

Daun singkong karet biasanya dijadikan pakan ternak atau dibuang begitu saja, karena dianggap mengandung racun. Padahal daun singkong karet dapat dimanfaatkan lebih lanjut, hal ini karena daun singkong juga mengandung zat gizi yang cukup banyak yaitu protein. Kandungan zat gizi pada daun singkong karet dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Kandungan Daun Singkong Karet

Bahan Kering	% Bahan Kering
Protein Kasar	32,96
TDN*)	75,91
Serat Kasar	14,94
Lemak	5,29
BETN	37,72
Abu	8,37

Sumber: Surayah (1996).

Daun singkong selain memiliki kandungan protein kasar yang tinggi juga memiliki kandungan HCN yaitu senyawa toksik pada tanaman singkong. Penurunan kadar HCN pada daun singkong dapat dilakukan dengan cara pengeringan dengan sinar matahari (Pond dan Manner, 1974); perendaman, penguapan, dan pengeringan dibawah suhu 75^0C (Ciptadi dan Mafhud, 1980); pengirisan, perendaman dan pencucian dengan air mengalir (Winarno, 1980). Kandungan HCN dalam daun singkong dapat juga dihilangkan atau diturunkan dengan cara tradisional, antara lain dengan memasak, menggoreng dan mengeringkan di bawah sinar matahari atau udara panas. Pengeringan selama 21 hari dapat mengurangi kadar HCN sehingga tidak berbahaya. Di samping itu singkong Karet mempunyal beberapa keunggulan diantaranya produksi daunnya yang lebih tinggi karena fase vegetatif lebih panjang, tidak terjadi pembentukan umbi clan tahan terhadap pemotongan daun, sehingga dapat menyediakan hijauan pakan ternak secara lebih banyak clan kontinyu (Surayah, 1996). Kandungan senyawa aktif pada daun singkong dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Senyawa Fitokimia Daun Singkong

Analisa	Ekstrak Air		Ekstrak Metanol	
	Simplisia	Daun rebusan	Simplisia	Daun rebusan
Alkaloid				
- Meyer	+	+	+	+
- Wagner	+	+	+	+
- Dragendorf	+	+	+	+
Tanin	+	+	+	+
Saponin	+	+	+	+
Triterpenoid	-	-	-	-
Steroid	-	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	+
Fenolik	+	+	+	+

Keterangan: - Terbentuk warna/endapan
+ Tidak terbentuk warna/endapan
Sumber: Banua (2015).

Oleh karena itu daun singkong dapat menjadi salah satu bahan untuk pembuatan antimikroba dengan kandungan komponen aktif seperti tertera di tabel atas.

a. Senyawa Flavonoid

Flavonoid diketahui berfungsi sebagai antimutagenik dan antikarsinogenik, selain itu memiliki sifat sebagai antioksidan, anti peradangan, anti alergi, dan dapat menghambat oksidasi LDL (*Low Density Lipoprotein*) (Rahmat, 2009). Berdasarkan ikatannya dengan gula, flavonoid terdiri dari dua kelompok yaitu glikosida yang berikatan dengan satu atau lebih molekul gula, dan yang lain yaitu aglikon adalah flavonoid yang tidak berikatan dengan gula. Kebanyakan flavonoid yang berasal dari tumbuh-tumbuhan adalah dalam bentuk glikosida (Martina, 2012).

b. Senyawa Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen biasanya dalam cincin heterosiklik dan bersifat aktif biologis menonjol. Struktur alkaloid beraneka ragam, dari yang sederhana sampai rumit, dari efek biologisnya yang menyegarkan tubuh sampai toksik. Satu contoh yang sederhana, tetapi yang efek fatalnya tidak sederhana adalah nikotina. Nikotin dapat menyebabkan penyakit jantung, kanker paru-paru, kanker mulut, tekanan darah tinggi dan gangguan terhadap kehamilan dan janin (Hilda, 2011).

c. Senyawa Tanin

Tannin yang berasal dari ekstrak tumbuhan diabsorbsi dengan cepat dari saluran cerna kemudian mengalami distribusi dan eliminasi yang cukup cepat pula. Senyawa tannin memiliki fungsi untuk menurunkan kolesterol total, VLDL dan triglicerid dan meningkatkan HDL sehingga memainkan peranan yang penting untuk mengatasi gangguan metabolisme lemak dan obesitas (Lei *et al*., 2007). Suatu derivat senyawa tanin yaitu *Ellagitannins* mempunyai aktivitas antibakteri dengan cara membentuk kompleks dengan proline yaitu sejenis protein pada dinding sel bakteri, menyebabkan protein *leakage*, terjadi kerusakan dinding sel bakteri sehingga menyebabkan kematian sel bakteri (Mohamed, 2010). Tanin juga dapat menghambat cara kerja enzim yang berperan dalam replikasi RNA virus mengendapkan protein virus yang sangat berguna untuk siklus hidup virus sehingga menyebabkan kematian virus (Haidari *et al*., 2009).

III. BAHAN DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas Lampung dan Laboratorium Mikrobiologi Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional III, Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, Kementrian Pertanian yang beralamat Jalan Untung Suropati No.2 Labuhan Ratu, Bandar Lampung. Pada bulan Maret sampai Juni 2017.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ikan tongkol yang diperoleh dari pasar Gudang Lelang, Teluk Betung. Singkong dan Daun singkong karet diperoleh dari perkebunan Pak Rohman Kota Metro, etanol 70%, *Buffered Peptone Water (BPW),* media *Mac Conkey Agar (MCA), media selektif Staphylococcus, Salmonella dan Vibrio,* 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, vacuum rotary evaporator, gelas ukur, pengaduk, incubator, pipet tetes, colony counter, autoklaf, dan peralatan laboratorium lainnya.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan melalui dua tahap. Tahap pertama adalah persiapan sampel, ekstraksi singkong dan daun singkong karet dan isolasi bakteri dari ikan tongkol. Tahap kedua pelaksanaan penelitian meliputi uji angka *E.Coli, Salmonella Sp, Vibrio Sp* dan *Staphylococcus Aureus*, uji zona hambat antimikroba dan uji penurunan angka *E.Coli, Salmonella Sp, Vibrio Sp* dan *Staphylococcus Aureus*. Masing-masing percobaan menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan faktor ganda dan tiga kali ulangan. Pada penelitian pertama menggunakan ekstrak singkong-etanol 70% dengan empat taraf konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%. Pada penelitian kedua menggunakan ekstrak daun singkong-etanol 70% dengan empat taraf konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%. Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam untuk mendapatkan penduga ragam galat dan uji signifikasi untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar perlakuan. Kesamaan ragam diuji dengan uji Bartlett dan kemenambahan data diuji dengan uji Tuckey. Analisis data dilanjutkan dengan menggunakan uji BNT.

Tabel 6. Tabel Percobaan Zona Hambat Singkong

Konsentrasi	Singkong				
E.Colli	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Total	Rata-Rata
100%					
75%					
50%					
25%					
K+					
K-					
Salmonella	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Total	Rata-Rata
100%					
75%					
50%					
25%					
K+					
K-					
Staphylococcus	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Total	Rata-Rata
100%					
75%					
50%					
25%					
K+					
K-					
Vibrio	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Total	Rata-Rata
100%					
75%					
50%					
25%					
K+					
K-					

Tabel 7. Tabel Percobaan Zona Hambat Daun Singkong

Konsentrasi	Daun Singkong				
E.Colli	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Total	Rata-Rata
100%					
75%					
50%					
25%					
K+					
K-					
Salmonella	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Total	Rata-Rata
100%					
75%					
50%					
25%					
K+					
K-					
Staphylococcus	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Total	Rata-Rata
100%					
75%					
50%					
25%					
K+					
K-					
Vibrio	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Total	Rata-Rata
100%					
75%					
50%					
25%					
K+					
K-					

Tabel 8. Tabel Percobaan Uji Penurunan Singkong dan Daun Singkong

Mikroba	**Singkong**									
	Ulangan 1		**Ulangan 2**		**Ulangan 3**		**Rata-Rata**			
	30'	90'	30'	90'	30'	90'	T. 30'	T. 90'	Rataan 30'	Rataan 90'
E.Colli										
Salmonella										
Staphylococcus										
Vibrio										
Mikroba	**Daun Singkong**									
	Ulangan 1		**Ulangan 2**		**Ulangan 3**		**Rata-Rata**			
	30'	90'	30'	90'	30'	90'	T. 30'	T. 90'	Rataan 30'	Rataan 90'
E.Colli										
Salmonella										
Staphylococcus										
Vibrio										

3.4. Pelaksanaan Penelitian

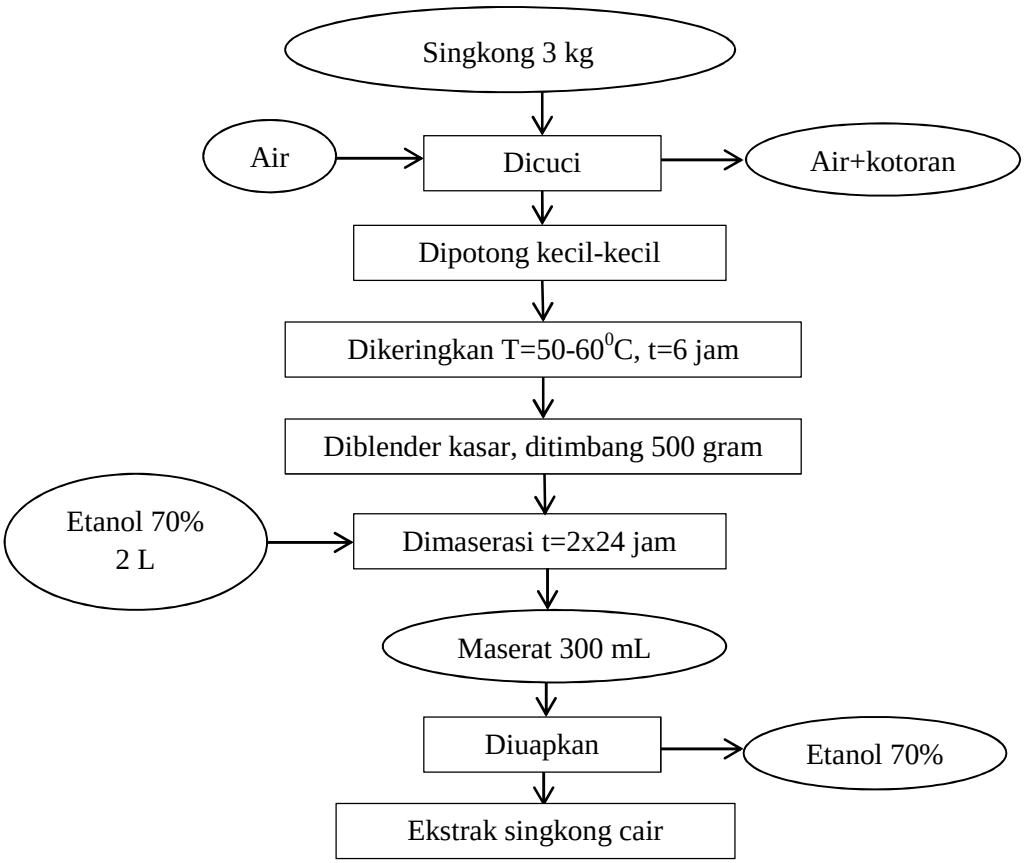
3.4.1. Penelitian Pendahuluan

3.4.1.1. Persiapan Sampel

Sampel ikan tongkol diambil di Pasar Gudang Lelang pada sore hari saat kapal menurunkan ikan. Sampel diambil secara random atau acak. Pengangkutan sampel dengan menggunakan cool box yang di dalamnya diberi tambahan es. Sedangkan sampel daun singkong dan daun singkong diambil dari kebun milik Pak Rohman di Kota Metro.

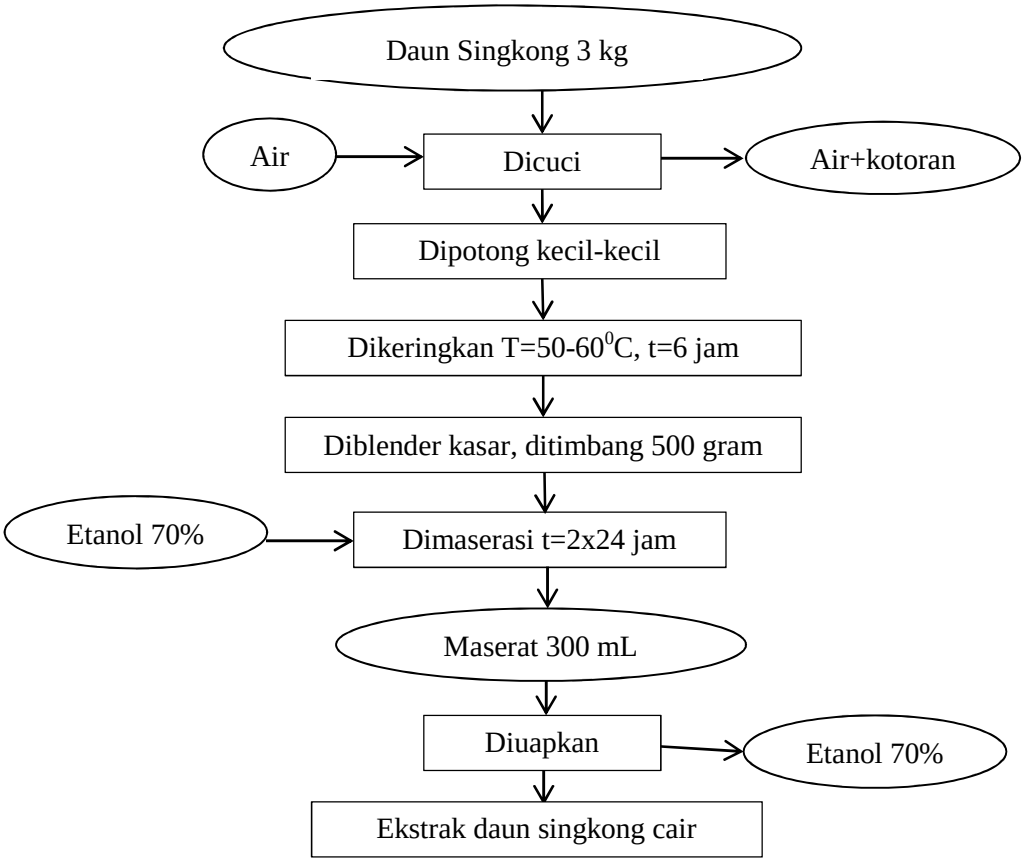
3.4.1.2. Ekstraksi Singkong dan Daun Singkong

Proses ekstraksi singkong dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Diagram Alir Ekstaksi (dimodifikasi dari Ellifas dkk, 2012)

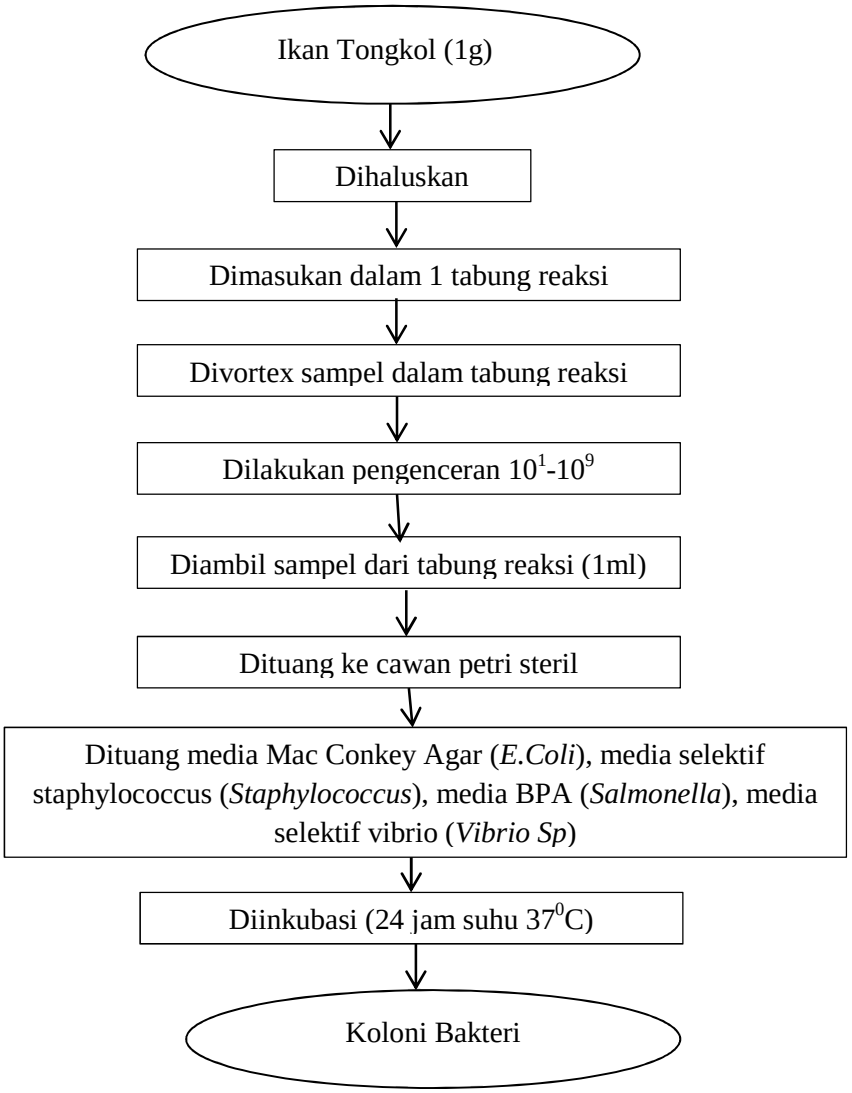
Proses ekstraksi daun singkong dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Diagram Alir Ekstaksi (dimodifikasi dari Ellifas dkk, 2012)

3.4.1.3. Isolasi Bakteri *Eschericia Coli, Salmonella Sp, Vibrio Sp* dan *Staphylococcus Aureus*

Proses isolasi bakteri bakteri dapat dilihat pada Gambar 10.

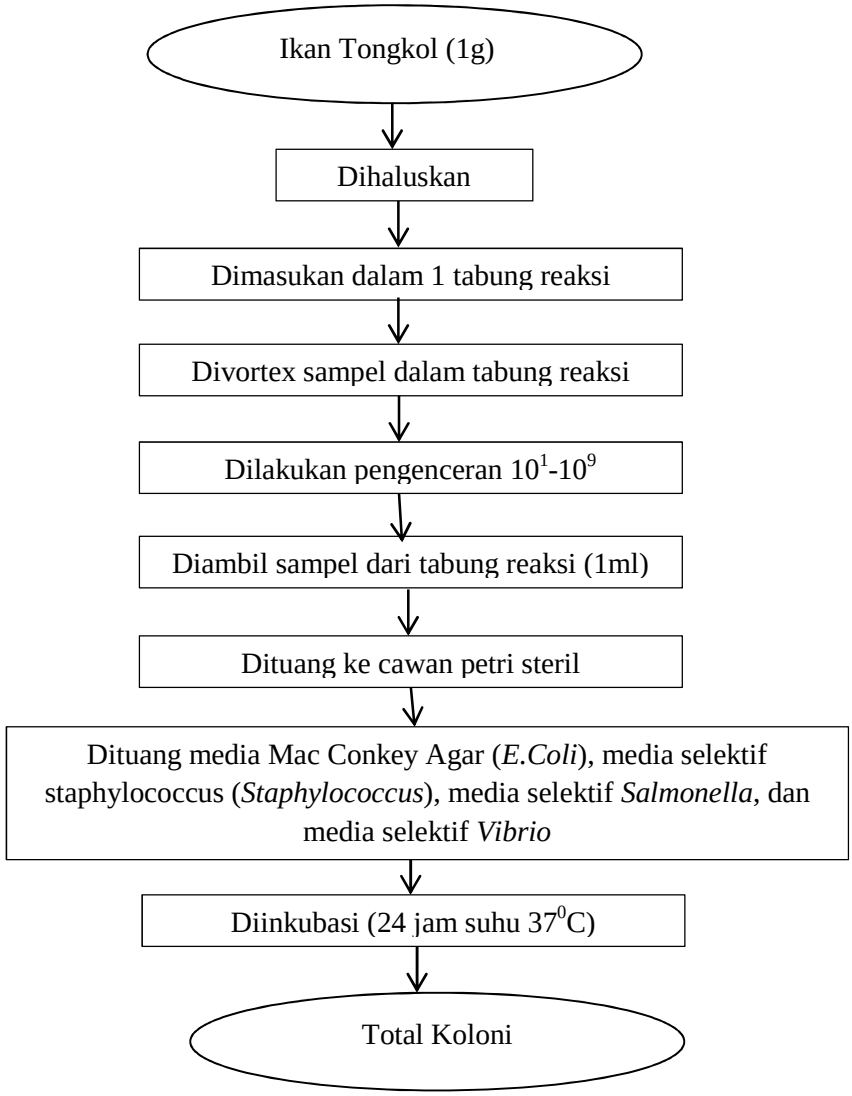


Gambar 10. Diagram alir isolasi bakteri *E.coli, Salmonella Sp, Vibrio Sp,*dan *Staphylococcus* pada ikan tongkol (dimodifikasi dari Fardiaz, 1989).

3.4.2. Pengamatan

3.4.2.1. Uji Angka *Eschericia Coli, Salmonella Sp, Vibrio Sp* dan *Staphylococcus Aureus*

Metode yang digunakan adalah metode cawan tuang Eschericia coli dilakukan dengan cara sampel ikan tongkol diambil sebanyak 1 g kemudian dihaluskan. Setelah itu, disiapkan BPW 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^{0} C setelah itu dilakukan pengamatan koloni dan dihitung jumlah koloni. Prosedur untuk Uji angka *Staphylococcus Aureus*, *Salmonella Sp,* dan *Vibrio Sp* sama, hanya dibedakan media tumbuh yang digunakan adalah media selektif bakteri masing-masing. Prosedur uji dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Diagram alir uji angka E.coli dan Staphylococcus pada ikan tongkol (dimodifikasi dari Fardiaz, 1989).

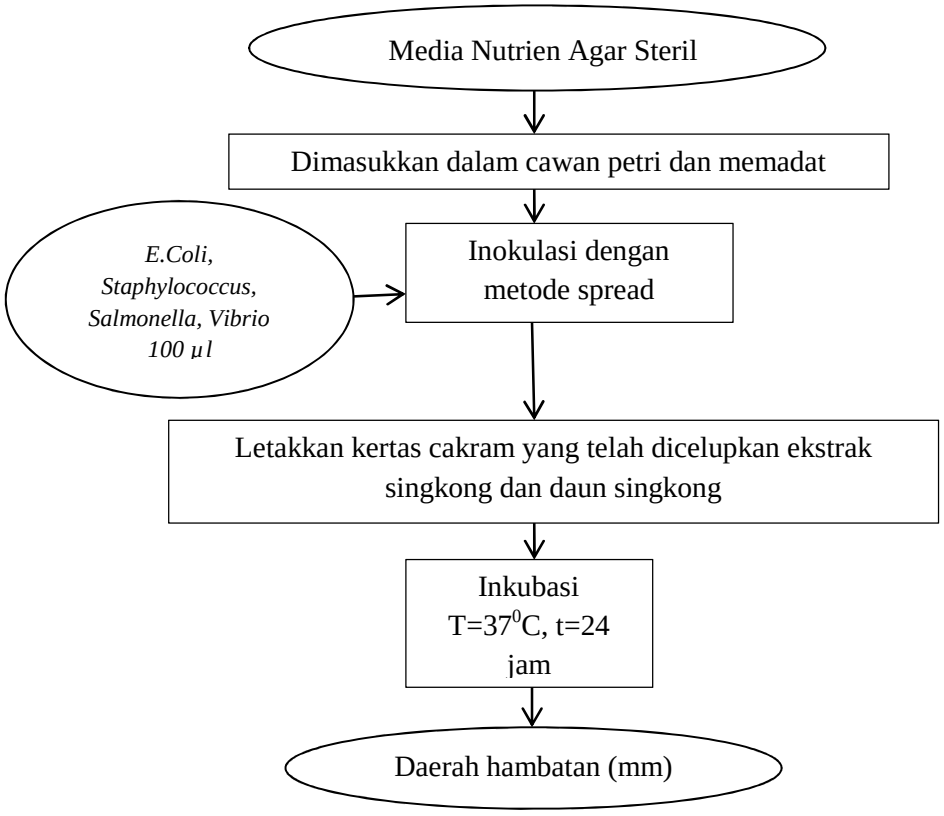
Pengamatan :

Jumlah koloni dihitung dengan rumus berikut :

Jumlah koloni = jumlah koloni pada cawan 1/faktor pengenceran

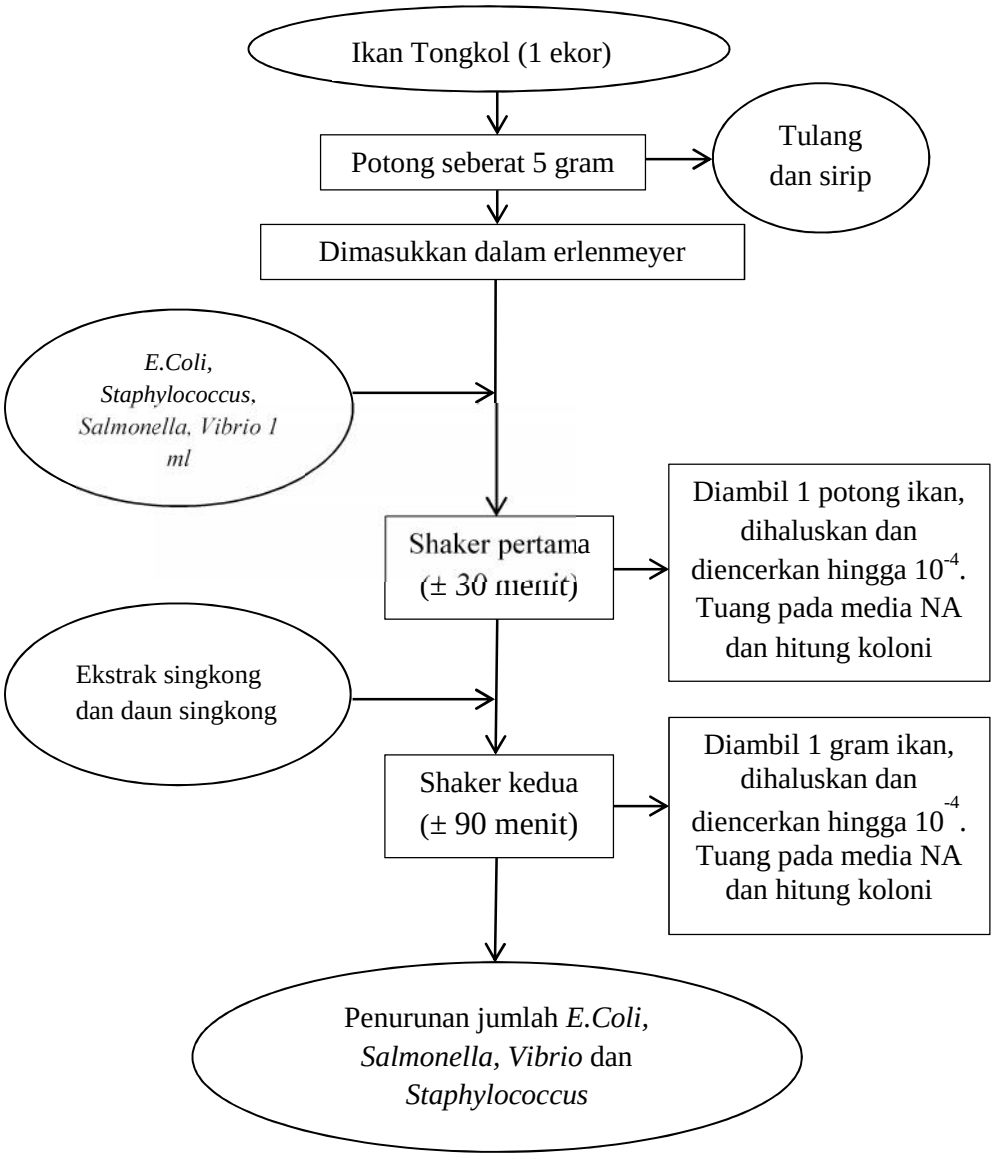
3.4.2.2. Uji Zona Hambat Antimikroba

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 Mc Conkey Agar untuk *E.Coli* dan media selektif Sthaphylococus untuk *Staphylococcus*, media selektif *Salmonella* dan media selektif *Vibrio*. Tetapi jika kultur sudah murni dapat dilakukan analisa dengan media NA (Nutrien Agar). Metode pengujian antimikroba dimodifikasi berdasarkan Lay (1994) dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Diagram Alir Uji Antimikroba (Bauer, 2008)

3.4.2.3. Uji Penurunan *Eschericia Coli, Salmonella Sp, Vibrio Sp* dan *Staphylococcus Aureus*



Gambar 13. Diagram Alir Uji Angka *E.Coli* dan *Staphylococcus* Pada Ikan Tongkol (dimodifikasi Dari Fardiaz, 1989).

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Daya hambat yang terbentuk pada penambahan ekstrak singkong karet secara signifikan pada $\alpha_{0,05}$ sebagai berikut *Escherichia Coli* yaitu 13,00 mm, kemudian *Salmonella sp* 12,78 mm, *Vibrio sp* 11,07 mm dan yang terkecil *Staphylococcus Aureus* 10,69 mm. Pada penambahan ekstrak daun singkong karet diameter zona yang terbentuk adalah *Vibrio sp* 15,58 mm, *Escherichia coli* 13,44 mm, *Salmonella sp* 12,97 mm, dan yang terendah pada bakteri *Staphylococcus aureus* 10,62 mm.

2. Konsentrasi ekstrak singkong dan daun singkong yang membentuk zona terbesar adalah konsentrasi 100%, walaupun belum dapat mengalahkan kontrol positif amoxilin, tetapi sudah berpeluang menjadi antimikroba alami.

3. Penurunan jumlah bakteri secara signifikan pada $\alpha_{0,05}$ yang tertinggi pada penambahan ekstrak umbi singkong karet adalah bakteri *Vibrio sp* 1,68 x 10^6 CFU/mL, *Salmonella sp* 1,41 x 10^6 CFU/mL, *Staphylococcus Aureus* 1,3 x 10^6 CFU/mL, *Escherichia Coli* 1,01 x 10^6 CFU/mL. Pada penurunan jumlah bakteri yang tertinggi dengan penambahan ekstrak daun singkong karet

adalah *Salmonella sp* 1,92 x 10^6 CFU/mL, *Vibrio sp* sekitar1,91 x 10^6 CFU/mL, *Staphylococcus aureus* 0,92 x 10^6 CFU/mL dan yang terakhir *Escherichia coli* 0,35 x 10^6 CFU/mL.

5.2. Saran

Adapun saran pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Perlu adanya penelitian lanjutan mengenai aplikasi ekstrak singkong dan daun singkong untuk menurunkan cemaran bakteri lainnya pada bahan lainnya, sehingga dapat diketahui optimalisasi penggunaan ekstrak singkong dan daun singkong sebagai antimikroba alami.
2. Perlu adanya penelitian lanjutan dengan menggunakan daun singkong yang dicacah dan langsung diaplikasikan ke ikan tongkol untuk mengetahui pengaruh masa simpan yang terjadi.

DAFTAR PUSTAKA

Anitsa, A. 2015. Uji Bakteriologis Dan Organoleptik Ikan Tongkol (*Euthynnus Affinis*) Di Pasar Tradisional, Modern Dan Gudang Lelang Kota Bandar Lampung. Universitas Lampung (Skripsi). Lampung.

Aguskrisno. 2012. Patogenisitas Mikroorganisme (online). https://aguskrisnoblog.wordpress.com/2012/01/07/patogenisitas-mikroorganisme-2/. Diakses pada 4 November 2017, pukul 19.00 wib.

Asep, A. 2016. Uji Anti Bakteri Etanol 70% Daun Singkong (Manihot Utilissima) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli*. STIKES Muhammadiyah Ciamis. Jawa Barat.

Arisman. *2009*. *Buku* Ajar Ilmu Gizi Keracunan Makanan. Penerbit EGC. Jakarta. Halaman 93.

Bahar, H. 2004. Sumber daya Perikanan Indonesia. Galia Indonesia. Jakarta

Banua. 2015. Uji Fitokimia Pada Daun Singkong. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Balai Veteriner. 2017. Pewarnaan Gram *Vibrio sp*. Bandar Lampung. Lampung.

Buckle, K.A., R.A. Edwads., G.H. Fleet., M. Wootton. 1987. Ilmu Pangan. Universitas Indonesia. Jakarta.

Brooks, Goe F. 2005. Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta. Edisi 23 : 325

Brooks, G. F. Dan S. Morse. 2004. Mikrobiologi Kedokteran ;Jawetz, Melnickand Adleberg's Medical Microbiology. Edisi23. Salemba Medika. Jakarta. Halaman 325.

Ciptadi, W dan Mahfhud. 1980. Mempelajari Pendayagunaan Umbi-umbian Sebagai Sumber Karbohidrat. Departement Teknologi Hasil Pertanian Bogor. IPB. Bogor.

DeLeo, F.R., B.A. Diep.,and M. Otto. 2009. Host defense and pathogenesis in *Staphylococcus aureus* infections" , J Dent, vol. 23, no. 1, hlm. 17-34.

Devendra, C. 1977. Utilization of Feedingstuff from the Oil Palm. Dalam: Feedingstuffs for Livestock in South East Asia. pp. 116-131.

Dzen, S.M. 2003. Bakteriologi Medical. Edisi I. Cetakan I : Bayumedia publishing. Malang. Halaman 134.

Ellifas, Krisdayanti. Ocky Dwi Suprobowati, dan SSBU, Djoko. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Nanas Terhadap Kematian Larva Aedes Aegypti. Jurnal Analisis Kesehatan Sains. Vol (1): 2.ISSN 23023635.

Eko, P. 2016. Pengaruh Penambahan Silase Daun Singkong Dan Mineral Mikro Organik Dalam Ransum Berbasis Limbah Kelapa Sawit Terhadap Kecernaan Serat Kasar Dan Protein Kasar Pada Sapi. Universitas Lampung. Lampung.

Fardiaz. 1989. Petunjuk Laboratorium Analisis Mikrobiologi Pangan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi IPB. Bogor.

Fischetti, A.V., R.P. Novick., J.J. Ferreti., D.A. Portnoy., and J.I. Rood. 2000. *Gram Positif*, ASM Press. Washington DC.

Feliatra. 1999. Identifikasi bakteri patogen (Vibrio sp) di perairan Nongsa Batam propinsi Riau. *Journal Natur Indonesia* 1I(1):28-33.

Ganiswarna S. G. 1995. Farmakologi dan Terapi. ed. 4, UI-Fakultas Kedokteran. Jakarta.

Gusti, A. 2014. Pengaruh Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda Citrifolia L.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus* Sebagai Penyebab Abses Periodontal Secara *In Vitro*. Universitas Mahasaraswati Denpasar. Bali.

Haidari, M., M. Ali., S.W. Casscells., and M. Madjid. 2009. *Pomegranate (Punica granatum) Purified Polyphenol Extract Inhibits Influenza Virus and has a Synergistic Effect with Oseltamivir*. Phytomedicine. 16: 1127-1136.

Hilda, R. 2011. Identifikasi Senyawa Bioaktif Dalam Singkong Karet (Manihot Glaziovii) Dan Uji Sitotoksik Terhadap Sel Murin Leukimia P388. Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan. Bogor. Hal. 6.

Imelda, K. 2013. Bakteri *Salmonella sp.* Http://kusumaimelda.blogspot.co.id/2013/04/bakteri-salmonella-sp.html. Diakses tanggal 1 November 2017, pukul 20.00 wib.

Jawetz E, J. L. Melnick, E. A. Adelberg, G. F. Brooks, J. S. Butel, and L. N. Ornston. 1995. Mikrobiologi Kedokteran ed. 20. University of California. San Francisco.

Jawetz, E, J. L. Melnick., dan E.A. Alderberg,. 2007. Mikrobiologi Kedokteran. Airlangga University Press. Surabaya. Hal. 318-319.

Lay, B. W. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium PT. Raja Gea Indo Persada. Jakarta.

Lei, F., X.N. Zhang., W. Wang., D.M. Xing., W.D. Xie., H. Su., and L.J. Du. 2007. *Evidence of Anti-Obesity Effects of the Pomegranate Leaf Extract in High Fat Diet Induce Obese Mice*. International Journal of Obesity. 31: 1023-1029.

Madigan. 2012. Brock Biology Of Microorganism 13th Edition. Pearson Education, Inc. San Fransisco. 22 p.

Marlina, N. 2017. Analisa Sianida Pada Singkong Dengan Metode Lian dan Hamir Yang Dimodifikasi. Balai Penelitian Ternak Ciawi. Bogor.

Martina, M. 2012. Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea Indica. L.)* Dapat Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutans*. Universitas Udayana. Denpasar. Hal. 38-40.

Matasyoh, Lex G., 2014. Antimicrobial Assay and Phyto-cemical Analysis of *Solanum nigrum* Complex Growing in Kenya. *African Journal of Microbiology Research*. 8(50).

Meryandini, A. 2009. Isolasi bakteri dan karakterisasi enzimnya. *Makara Sains* 2009; 13: 33-38.

Murray, R. K., D. K, Granner, dan V. W, Rodwell. *2009*. Biokimia Harper (27 Ed.). Buku Kedokteran. Penerbit EGC. Jakarta. Halaman 709.

Mohamed, S. 2010. *Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Selected Indian Folk Medicinal Plants*. International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR). 1(10): 430-434.

Raden, F., Hafiluddin dan M. Anshari. 2007. Analisis Jumlah Bakteri dan Keberadaan *Eschericia coli* pada Pengelolaan Ikan Teri Nasi di PT. Kelola Mina Laut Unit Sumenep. Embryo Vol 4(2) : 94-106.

Rahmat, H. 2009. Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Sayuran Indigenous Jawa Barat. (skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Pelczar, M.J., and E.C.S. Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi* jilid 2. The McGraw-Hill Companies.

Pratiwi, Erni. 2011. Pemeriksaan Salmonella. http://id.scribd.com/doc/54252133/tugas-bakteri2. Diakses pada 4 November 2017, pukul 18.00 wib.

Pui, C. F., W. C, Wong, L. C, Chai., R. Tunung, P. Jayeletchumi, M. S, Noor, A. Ubong, M. G, Farinazleen, Y. K, Cheah, and R. Son. 2011. Review Article Salmonella: A Foodborne Pathogen. *J. International Food Research*. Vol 18. p 465-473.

Rodhi. 2014. Bakteri *Vibrio sp.* http://rodhip.hol.es/?p=25. Diakses pada 5 November 2017, pukul 15.00 wib.

Ryan KJ, Ray CG (editors). 2004. Sherris Medical Microbiology (edisi ke-4th ed.). McGraw Hill. ISBN 0-8385-8529-9.

Sanger, G. 2010. Oksidasi Lemak Ikan Tongkol (*AuxisThazard*) Asap Yang Direndam Dalam Larutan Ekstrak Daun Sirih. Jurnal Jurusan Pengolahan Hasil Perikanan. Universitas Sam Ratulangi. Manado. 2(5): 870-873.

Saanin, H. 1984. Taksonomi Dan Kunci Identifikasi Ikan. Jilid I dan II. Bina Cipta. Bogor.

Salle, A. J. 1961. Fundamental Principle of Bacteriologi 5 th Edition. MC Crew Hill Book Company Inc. New York. Hal 414-418, 719-739.

Singh. 2001. Introduction To Food Engineering.Academic Press. London. 44 p.

Smith-Keary P. F. 1988. Genetic Elements in *Escherichia coli*, Mac millan Molecular biology series. London. Hal. 1-9, 49-54.

Suci, N.K. 2017. Kajian Daya Hambat Ekstrak Kulit Dan Jantung Pisang Muli (*Musa Acuminata*) Sebagai Antimikroba Alami Dalam Menurunkan Cemaran *Echerichia Coli* Pada Daging Ayam (*Gallus Domesticus*). Universitas Lampung. Lampung.

Sulistyo, B, dan Ismayanti. 2015. Analisis Data Pokok Kelautan dan Perikanan 2015. Pusat Data, Statistik dan Informasi Kementerian Kelautan dan Perikanan RI. Jakarta. Halaman 37.

Suprapti, Lies. 2005. *Tepung Tapioka: Pembuatan dan Pemanfaatannya.* Kanisius. Yogyakarta.

Surayah, A. 1996. Daun Singkong Dan Pemanfaatannya Terutama Sebagai Pakan Tambahan. Balai Penelitian Ternak. Bogor.

Suwamba, K. 2008. Proses Pemindangan dengan Mempergunakan Garam dengan Konsentrasi yang Berbeda. Denpasar.

Suzuki, T. 1981. Fish Krill Protein Procesing Technology. Aplied Science Publisher, Ltd. London.

Syarifah, M. 2016. Pemanfaatan Kulit Nanas, Kulit Buah Naga, dan Kulit Jeruk Manis Untuk Menurunkan Cemaran *E.Coli* Pada Ikan Tongkol. Universitas Lampung. Lampung.

Tjitrosoepomo, Gembong. 2005. Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan. Gadjah mada University Press. Yogyakarta.

Wahyuni. 2015. Deteksi *Staphylococcus Aureus* Penyebab Mastitis Subklinis Pada Kerbau Perah (*Bubalus Bubalis*) Di Kabupaten Enrekang. Universitas Hasanudin. Makassar.

Widiastuty, I., 2008. Analisis Mutu Ikan Tuna Selama Lepas Tangkap Perbedaan Preparasi dan Waktu Penyimpanan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Winarni, T, F. Swastawati, Y. S. Darmanto, dan E. N. Dewi. 2003. Uji Mutu Terpadu pada Beberapa Spesies Ikan dan Produk Perikanan di Indonesia. Laporan Akhir Hibah Bersaing XI Perguruan Tinggi. Universitas Diponegoro. Semarang.

Winarno, F. G. 1980. Kimia Pangan dan Gizi. PT. Gramedia. Jakarta.

Zahara, M. 2013. Efek Ekstrak Daun Singkong (Manihot Utilissima) Terhadap Ekspresi COX-2 Pada Monosit Yang Dipapar LPS E.Coli. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Jurnal Vol. 46 No.4 Desember 2013. Jember.

Zahro, L. 2013. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Saponin Jamur Tiram Putih (*Pleurotus Ostreatus*) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Surabaya. Jurnal Vol. 2 No. 3 September 2013. Surabaya.