

**KAJIAN DAYA HAMBAT ANTIMIKROBA ALAMI EKSTRAK ETANOL  
KULIT SINGKONG TERHADAP PENURUNAN CEMARAN  
*Salmonella sp.* DAN *Escherichia coli* PADA DAGING AYAM  
(*Gallus domesticus*)**

(Skripsi)

Oleh

**RIA ISWANDARI**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2018**

## **ABSTRACT**

### **INHIBITORY STUDY OF CASSAVA LEATHER ETHANOL EXTRACT AS A NATURAL ANTIMICROBA IN REDUCING *Salmonella sp.* AND *Escherichia coli* CONTAMINATION ON CHICKEN MEAT (*Gallus domesticus*)**

**By**

**RIA ISWANDARI**

Chicken meat is a food product that is damaged easily and it's a good medium for microbial growth. Therefore, it is needed a way to reduce the contamination of microbial pathogens. Cassava leather is a byproduct that contains an active compounds and it has a natural antimicrobial function to reduce pathogenic microbe contaminant. The aim of this study to determine the presence of natural antimicrobial activity against *Escherichia coli* and *Salmonella sp.* in chicken meat, and to determine the best concentration of cassava ethanol extract in reducing contamination of *Escherichia coli* and *Salmonella sp.* on chicken meat. The research was conducted using single factor with 7 treatment in Completely Randomized Block Design as many as 5 replications. Seven treatments of this research K1 (100%), K2 (80%), K3 (60%), K4 (40%), K5 (20%), one positive control treatment K + (amoxicillin), and one treatment as control (96% ethanol).

The results showed that cassava ethanol extract able to inhibit the growth of *Escherichia coli* with the inhibitory diameter of 10.08 mm and *Salmonella sp.* with an inhibitory diameter diameter of 9.17 mm at a concentration of 100% cassava ethanol extract. Followed by extract concentrations of 80%, 60%, 40%, and 20%, with each inhibitory diameter 8.98 mm, 8.67 mm, 8.62 mm, 8.45 mm against *Escherichia coli* and 8.58 mm, 8.22 mm, 7.73 mm, 7.56 mm against *Salmonella sp.* The best concentration of cassava ethanol extract as a natural antimicrobial in chicken meat was 100% with total decrease to *Escherichia coli*  $5.8 \times 10^7$ cfu / g (69.05%) and total decrease of *Salmonella sp* by  $4.0 \times 10^7$  cfu / g (41.17%) with dilution using a 0.85% NaCl physiological solution resulting in the concentration of the extract to be 10%.

**Keywords:** *chicken meat, cassava leather, antimicrobial*

## **ABSTRAK**

### **KAJIAN DAYA HAMBAT ANTIMIKROBA ALAMI EKSTRAK ETANOL KULIT SINGKONG TERHADAP PENURUNAN CEMARAN *Salmonella* *sp.* DAN *Escherichia coli* PADA DAGING AYAM (*Gallus domesticus*)**

**Oleh**

**RIA ISWANDARI**

Daging ayam merupakan produk pangan yang mudah mengalami kerusakan dan menjadi media yang baik untuk pertumbuhan mikroba. Oleh karena itu, diperlukan upaya untuk menurunkan cemaran mikroba patogen tersebut guna memenuhi tingkat keamanan pangan pada daging ayam. Kulit singkong merupakan produk samping yang jumlahnya sangat melimpah dan memiliki kandungan senyawa aktif yang berperan sebagai antimikroba alami dalam menurunkan cemaran mikroba patogen pada daging ayam. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antimikroba alami terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* pada daging ayam, dan menentukan konsentrasi terbaik dari ekstrak etanol kulit singkong dalam menurunkan cemaran *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* pada daging ayam. Penelitian dilakukan menggunakan faktor tunggal dengan 7 perlakuan dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) sebanyak 5 kali ulangan. Tujuh perlakuan dengan 5 taraf konsentrasi ekstrak kulit singkong yaitu K<sub>1</sub> (100%), K<sub>2</sub> (80%), K<sub>3</sub> (60%), K<sub>4</sub> (40%), K<sub>5</sub> (20%), satu

perlakuan kontrol positif K<sub>+</sub> (amoxicillin), dan satu perlakuan sebagai kontrol (etanol 96%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit singkong mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dengan diameter daya hambat sebesar 10.08 mm dan *Salmonella sp.* dengan diameter daya hambat sebesar 9.17 mm pada konsentrasi ekstrak etanol kulit singkong 100%. Diameter daya hambat yang terbentuk pada konsentrasi ekstrak 80%, 60%, 40%, dan 20% masing-masing sebesar 8.98 mm, 8.67 mm, 8.62 mm, 8.45 mm terhadap *Escherichia coli* dan 8.58 mm, 8.22 mm, 7.73 mm, 7.56 mm terhadap *Salmonella sp.* Konsentrasi terbaik ekstrak etanol kulit singkong sebagai antimikroba alami pada daging ayam adalah 100% dengan total penurunan terhadap *Escherichia coli* sebesar  $5.8 \times 10^7$  cfu/g (69.05%) dan total penurunan terhadap *Salmonella sp.* sebesar  $4.0 \times 10^7$  cfu/g (41.17%) dengan pengenceran menggunakan larutan fisiologis NaCl 0,85% sehingga konsentrasi ekstrak menjadi 10%.

**Kata kunci :** *daging ayam, kulit singkong, antimikroba*

**KAJIAN DAYA HAMBAT ANTIMIKROBA ALAMI EKSTRAK ETANOL  
KULIT SINGKONG TERHADAP PENURUNAN CEMARAN  
*Salmonella sp.* DAN *Escherichia coli* PADA DAGING AYAM  
(*Gallus domesticus*)**

**Oleh**

**Ria Iswandari**

**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  
2018**

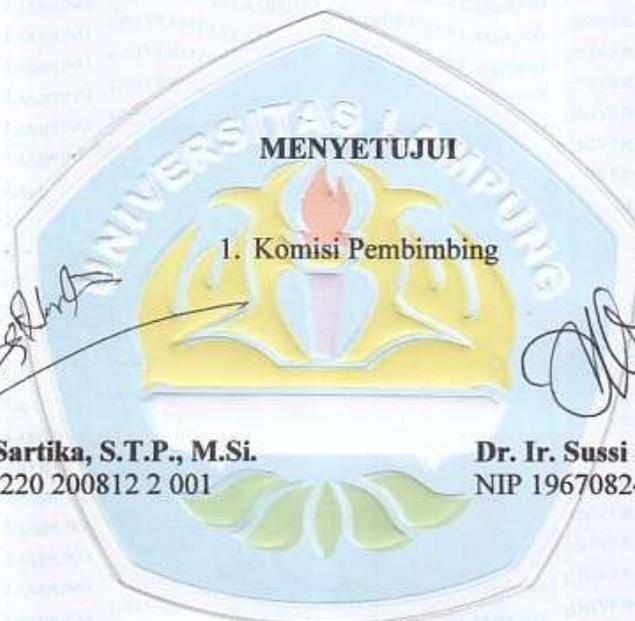
Judul Skripsi : **KAJIAN DAYA HAMBAT ANTIMIKROBA  
ALAMI EKSTRAK ETANOL KULIT  
SINGKONG TERHADAP PENURUNAN  
CEMARAN *Salmonella sp.* dan *Echerichia coli*  
PADA DAGING AYAM (*Gallus domesticus*)**

Nama Mahasiswa : **Ria Iswandari**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1414051081

Program Studi : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Pertanian

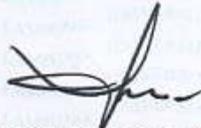


**1. Komisi Pembimbing**

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

**Dr. Ir. Sussi Astuti, M. Si.**  
NIP 19670824 199303 2 002

**2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian**

  
**Ir. Susilawati, M.Si.**  
NIP 19610806 198702 2 001

**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

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

**Sekretaris : Dr. Ir. Sussi Astuti, M.Si.**

**Penguji  
Bukan Pembimbing : Ir. Samsul Rizal, M.Si.**

*SRTA*  
.....  
*[Signature]*  
.....  
*[Signature]*  
.....

**2. Dekan Fakultas Pertanian**

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

**NIP. 19611020 198603 1 002**



**Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 30 Juli 2018**

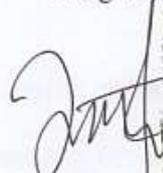
## PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya adalah Ria Iswandari NPM 1414051081.

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ini adalah hasil kerja saya sendiri yang berdasarkan pada pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukanlah hasil dari plagiat karya orang lain.

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

Bandar Lampung, Juli 2018  
Yang membuat pernyataan



**Ria Iswandari**  
NPM. 1414051081

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Negara Ratu, Lampung Timur pada 20 Mei 1995, sebagai anak pertama dari dua bersaudara, dari pasangan Bapak Ngadiyo dan Ibu Siti Munawaroh. Penulis memiliki 1 orang adik bernama Rudi Andoko.

Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SD Negeri 2 Negara Ratu pada tahun 2007, kemudian melanjutkan pendidikan menengah pertama di SMP Negeri 2 Purbolinggo dan lulus pada tahun 2010. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di SMA Negeri 1 Purbolinggo dan lulus pada tahun 2013. Pada tahun 2013 penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Agroekoteknologi, Universitas Brawijaya, kemudian Penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2014 melalui jalur tes tertulis Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Pada bulan Januari sampai Maret 2017, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Bandar Sakti, Kecamatan Terusan Nunyai, Kabupaten Lampung Tengah. Pada bulan Juli sampai Agustus 2017, penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di CV. Bumi Waras, Kecamatan Way Lunik Kabupaten Teluk Betung Selatan Provinsi Lampung dan menyelesaikan laporan PU yang

berjudul “Mempelajari Proses Analisa Mutu Produk Minyak Goreng Kemasan Di CV Bumi Waras”.

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah aktif di Unit Kegiatan Mahasiswa Fakultas Pertanian Forum Studi Islam Fakultas Pertanian (UKMF FOSI FP) Unila sebagai Anggota Hubungan Masyarakat masa kepengurusan 2014-2015, Ikatan Mahasiswa Lampung Timur (IKAM LAMTIM) sebagai anggota Departement KWU masa kepengurusan 2014-2015, Bendahara Umum(BENDUM) masa kepengurusan 2015-2016, Sekertaris Umum (SEKUM) masa kepengurusan 2016-2017, Badan Eksekutif Mahasiswa Universitas Lampung ( BEM U) sebagai KMBX masa kepengurusan 2014-2015, Staf Ahli Menteri Kesma BEM U masa kepengurusan 2015-2016, Bimbingan Rohani Mahasiswa (BIROHMAH) sebagai anggota Hubungan Masyarakat masa kepengurusan 2015-2016. Penulis menjadi finalis PIMNAS XXIX IPB Bogor tahun 2016, juara 3 Provinsi Lampung dalam pemilihan Pemuda Pelopor Kemenpora RI tahun 2017, dan terpilih sebagai Pemuda Mandiri Membangun Desa Kemenpora RI tahun 2017. Penulis menjadi Asisten Dosen mata kuliah Kewirausahaan tahun ajaran 2016/2017, dan Rancangan Percobaan 2016/2017.

## SANWANCANA

Segala puji bagi Allah yang dengan nikmat-Nya, petunjuk serta ridho-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini yang berjudul “Kajian Daya Hambat Antimikroba Alami Ekstrak Etanol Kulit Singkong terhadap Penurunan Cemaran *Salmonella sp.* dan *Echerichia coli* pada Daging Ayam (*Gallus domesticus*)”. Dalam penulisan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bantuan, bimbingan, dan dorongan baik itu langsung maupun tidak langsung dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Ibu 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 Dosen Pembimbing I skripsi, terimakasih atas izin penelitian yang diberikan, arahan, saran, bantuan dana penelitian, motivasi selama proses penelitian hingga penyelesaian skripsi Penulis.
4. Ibu Dr. Ir. Sussi Astuti, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik sekaligus Dosen Pembimbing II skripsi atas saran, motivasi dan bimbingan

yang telah diberikan selama menjalani perkuliahaan, proses penelitian dan penyelesaian skripsi Penulis.

5. Bapak Ir. Samsul Rizal, M.Si., selaku Dosen Pembahas atas saran, bimbingan, dan evaluasinya terhadap karya skripsi Penulis.
6. Seluruh Bapak dan Ibu dosen pengajar, staff administrasi dan laboratorium di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung dan seluruh pihak Laboratorium Bakteriologi Balai Veteriner Lampung.
7. Kedua Orang Tua dan adik tercinta, terimakasih atas kasih sayang yang tucurah kepada Penulis yang tiada hentinya, serta semangat, motivasi, nasihat, dan doa yang selalu menyertai Penulis.

Penulis berharap semoga Allah SWT senantiasa membalas segala amal dan kebaikan semua pihak diatas dan semoga skripsi ini bermanfaat. Aamiin.

Bandar Lampung, Juli 2018

Penulis,

**Ria Iswandari**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	vii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	viii
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Tujuan .....	5
1.3. Kerangka Pemikiran .....	5
1.4. Hipotesis .....	7
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	8
2.1. Antimikroba.....	8
2.1.1. Mekanisme Kerja Antimikroba .....	8
2.1.2. Metode Uji Antimikroba .....	11
2.2. Singkong .....	14
2.2.1. Morfologi Singkong .....	14
2.2.2. Singkong Mana Lagi.....	15
2.2.3. Kulit Singkong .....	16
2.2.4. Kandungan Senyawa Aktif Kulit Singkong .....	16
2.2.4.1. Senyawa Tanin.....	17
2.2.4.1. Senyawa HCN.....	18
2.2.4.1. Senyawa Saponin .....	19
2.3. Daging ayam .....	20
2.4. <i>Salmonella sp.</i> .....	22
2.5. <i>Escherichia coli</i> .....	25
<b>III. METODE PENELITIAN</b> .....	27
3.1. Tempat dan Waktu .....	27
3.2. Bahan dan Alat .....	27
3.3. Metode Penelitian .....	28
3.4. Pelaksanaan Penelitian .....	28
3.4.1. Persiapan Sampel .....	29

3.4.2. Pembuatan Ekstrak .....	30
3.4.3. Uji Kadar Senyawa Aktif Ekstra Kulit Singkong.....	32
3.4.4. Pembuatan Suspensi Bakteri .....	34
3.4.5. Uji Aktifitas Antimikroba terhadap <i>E.Coli</i> dan <i>Salmonella</i> sp. ...	35
3.4.6. Uji Penurunan Total <i>E.Coli</i> .....	36
3.4.7. Uji Penurunan Bakteri <i>Salmonella</i> sp.....	39
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>43</b>
4.1. Ekstrak Etanol Kulit Singkong.....	43
4.2. Senyawa Aktif dalam Ekstrak Etanol Kulit Singkong .....	44
4.2.1. Tanin .....	44
4.2.2. Saponin .....	45
4.2.3. HCN.....	46
4.3. Suspensi Bakteri Uji .....	47
4.4. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Kulit Singkong.....	49
4.5. Uji Penurunan Total Bakteri pada Daging Ayam.....	57
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>60</b>
5.1. Kesimpulan .....	60
5.2. Saran .....	61
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>62</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>69</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri .....	12
2. Syarat mutu mikrobiologis daging ayam .....	20
3. Kadar senyawa aktif ekstrak etanol kulit singkong. ....	44
4. Hasil pengukuran diameter zona hambat dan uji lanjut BNT taraf 5% oleh ekstrak etanol kulit singkong terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> dan <i>Salmonella sp.</i> ....	50
5. Hasil uji penurunan total <i>E.coli</i> dan <i>Salmonella sp.</i> pada daging ayam menggunakan ekstrak etanol kulit singkong konsentrasi terbaik (100%).....	57

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Target kerja antimikroba. ....	9
2. Batang singkong manalagi (a), daun singkong manalagi (b), dan umbi singkong manalagi (c).....	15
3. Struktur sel bakteri.....	18
4. <i>Salmonella sp.</i> ....	22
5. <i>Escherichia coli</i> .....	24
6. Diagram alir uji aktivitas antimikroba (a), dan aplikasi ekstrak etanol kulit singkong dalam menurunkan cemaran mikroba pada daging ayam (b).....	29
7. Diagram alir ekstraksi.....	31
8. Diagram alir uji aktivitas antimikroba ( <i>Escherichia coli</i> dan <i>Salmonella sp.</i> )	36
9. Diagram alir perhitungan total <i>E.coli</i> pada daging ayam.....	38
10. Diagram alir uji penurunan total <i>E.coli.</i> pada daging ayam.....	39
11. Diagram alir perhitungan total <i>Salmonella sp.</i> pada daging ayam.....	41
12. Diagram alir uji penurunan total <i>Salmonella sp.</i> pada daging ayam.....	42
13. Hasil ekstraksi kulit singkong dengan etanol 96% .....	43
14. <i>Escherichia coli</i> (a), <i>Salmonella sp.</i> (b).....	48
15. Hasil perbandingan suspense dengan standar 0,5 Mc farland .....	48
16. Daya hambat <i>E.coli</i> (BNT 5% = 0,523).....	51

17. Daya hambat *Salmonella sp.* (BNT 5% = 0.557)..... 52
18. Daerah daya hambat ekstrak etanol kulit singkong terhadap *Salmonella sp.*  
(a)daerah daya hambat ekstrak etanol kulit singkong terhadap *E.coli* (b),  
daerah daya hambat aktivitas amoxicilin dan etanol 96% (c)..... 54

## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Daging ayam merupakan sumber protein hewani yang banyak dikonsumsi masyarakat dibanding daging sapi. Hal ini didukung data BPS (2016), peningkatan produksi daging ayam di Indonesia dari tahun 2014 - 2016 berturut-turut 1.544.378 ton, 1.628.307 ton, dan 1.689.584 ton. Sementara jumlah produksi daging sapi pada tahun 2014 - 2016 yaitu 438,77 ribu ton, 523,93 ribu ton, dan 583,14 ribu ton. Selain bernilai gizi tinggi daging ayam merupakan hasil peternakan yang mudah rusak (busuk), sehingga menjadi media yang sangat baik bagi pertumbuhan mikroba dan bertindak sebagai pembawa beberapa jenis penyakit yang membahayakan bagi manusia atau disebut *Foodborne disease*. *Foodborne disease* terjadi ketika seseorang mengonsumsi makanan atau minuman yang tercemar oleh mikroorganisme patogen seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Coliform*, dan *Salmonella sp* (Sartika *et al.*, 2016).

Menurut penelitian Setiowati *et al.* (2011), persentase sampel daging ayam dari pasar tradisional di Indonesia yang positif tercemar *Salmonella sp.* dan *E. coli* adalah 10,06%. Di Indonesia, khususnya di Malang diketahui bahwa 3 dari 36 sampel hasil penelitian sampel karkas ayam segar terdeteksi positif tercemar *Salmonella sp.* (Primajati, 2011). Hasil penelitian Sartika *et al.* (2016),

menunjukkan tingginya cemaran *Salmonella sp.* yang teridentifikasi pada daging ayam di pasar tradisional dan pasar modern di Bandar Lampung dengan tingkat cemaran tinggi yaitu sebesar  $3,30 \times 10^8$  cfu/g di pasar tradisional dan  $3,27 \times 10^8$  cfu/g di pasar modern. Mengacu pada SNI-7388 (2009) bahwa batas maksimum cemaran *Salmonella sp* pada daging ayam harus negatif, data menunjukkan bahwa daging ayam di pasar tradisional dan modern tersebut tidak memenuhi standar mutu. Infeksi bakteri ini pada hewan atau manusia dapat mengakibatkan penyakit yang disebut salmonellosis (Serbeniuk, 2002). Wabah salmonellosis di dunia menyebabkan gastroenteritis akut atau diare (1,3 milyar jiwa) dan kematian (13 juta jiwa) (Portillo, 2000). Lebih dari 50% penyebab wabah diare di dunia diakibatkan dari makanan yang tercemar *Salmonella sp.* (Milliotis dan Bier, 2003).

Ternak ayam yang terinfeksi *Salmonella sp.* dari lingkungannya dapat menyebarkan cemaran bakteri patogen ini melalui fesesnya. Kemudian feses tersebut akan mencemari kembali lingkungan sekitar seperti tanah dan air. Transmisi pencemaran *Salmonella sp.* dari lingkungan ke hewan, manusia ataupun pangan menyebabkan *food borne diseases* dan *water borne diseases* (Bell dan Kyriakides, 2002). Cemaran *Salmonella sp.* paling sering terjadi pada daging ayam, karena induk ayam yang terinfeksi *Salmonella sp.* secara transovarial (melalui indung telur) dan dapat menularkan bakteri tersebut melalui produk ternaknya. Menurut Dewi *et al.* (2008) kontaminasi mikroba pada permukaan daging selama pembelahan karkas (pemotongan karkas), pendinginan, pembekuan, penyegaran daging beku, pembuatan produk daging olahan, pengawetan, pengepakan, penyimpanan, dan pemasaran. Sanitasi yang kurang

baik menyebabkan cemaran mikroba patogen meningkat, salah satunya *Salmonella sp.* (Tarmudji, 2008).

Menurut Hariyadi (2005), *Salmonella sp.* merupakan bakteri indikator keamanan pangan. Hal ini karena semua serotipe *Salmonella sp.* yang diketahui di dunia ini bersifat patogen, sehingga adanya bakteri ini dalam pangan dianggap membahayakan kesehatan. *Salmonella sp.* menyebabkan penyakit yang biasa disebut dengan salmonellosis. Salmonellosis bersifat zoonosis artinya penyakit ini dapat ditularkan dari hewan ke manusia. *Salmonella sp.* menular ke manusia melalui bahan pangan yang berasal dari hewan ternak yang terinfeksi oleh bakteri tersebut (Tarmudji, 2008).

Mutu daging ayam dapat diuji dari segi biologi untuk melihat tingkat cemaran bakteri *E. coli*, karena bakteri *E. coli* digunakan sebagai indikator sanitasi suatu produk olahan yang berasal dari daging maupun minuman (Sasmita *et al.*, 2014).

Pencemaran mikroba pada bahan pangan merupakan hasil kontaminasi langsung atau tidak langsung dengan sumber-sumber pencemaran mikroba, seperti tanah, udara, air, debu, saluran pencernaan dan pernafasan manusia maupun hewan.

Berdasarkan SNI No. 01-7388-2009 tahun 2009 tentang batas maksimum cemaran mikroba dalam pangan, jumlah bakteri *Escherichia coli* adalah  $1 \times 10^1$  cfu/g.

Uji kontaminasi mikroba patogen merupakan indikator penting untuk mengetahui kualitas daging ayam olahan layak konsumsi. Keberadaan mikroba patogen pada daging sangat mungkin terjadi, sebab kandungan gizi yang tinggi pada daging ayam merupakan media yang baik bagi pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroorganisme (Yulistiani, 2010). Proses pengolahan daging ayam secara

sederhana dan tradisional juga sangat memungkinkan terjadinya cemaran bakteri patogen (Raza *et al.*, 2012). Oleh karena itu, diperlukan upaya untuk menurunkan cemaran mikroba tersebut guna memenuhi tingkat keamanan pangan pada daging ayam.

Beberapa upaya yang dapat dilakukan untuk mengendalikan terjadinya kerusakan dan perkembangan mikroba adalah dengan melakukan penyimpanan daging ayam pada suhu dingin 5°C, dan usaha pengawetan dengan bahan-bahan kimia maupun bahan alami yang memiliki sifat antimikroba (Setianto, 2009). Beberapa pedagang berupaya mengawetkan daging ayam dengan memberikan beberapa senyawa kimia seperti borak sebagai bahan pengawet yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Pemberian bahan kimia tersebut tidak dibenarkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) karena dapat membahayakan kesehatan konsumen.

Kulit singkong merupakan residu hasil pertanian yang terdapat dalam jumlah melimpah di berbagai daerah di Indonesia, termasuk di Lampung. Selama ini kulit singkong ini belum dimanfaatkan secara maksimal oleh masyarakat, padahal kulit singkong ini bisa dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan antimikroba alami. Kandungan senyawa fenol, flavonoid, sianida dan tanin dalam kulit singkong berperan sebagai antimikroba alami (Yi *et al.*, 2010). Kadar HCN (asam sianida) pada kulit singkong berkisar <50-250 ppm, batas aman kadar HCN yang dibenarkan FAO untuk dikonsumsi adalah <50 ppm. Berdasarkan Atma (2013) kadar HCN singkong Manalagi yaitu sebesar 19,5 ppm, yang artinya aman untuk dikonsumsi. Oleh sebab itu, diperlukan penelitian untuk mengetahui

efektivitas kulit singkong sebagai antimikroba guna menurunkan cemaran pada daging ayam yang terkontaminasi *Salmonella sp.* dan *E.coli*.

## 1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui adanya daya hambat ekstrak kulit singkong terhadap cemaran *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli*.
2. Menentukan konsentrasi terbaik ekstrak kulit singkong dalam penurunan cemaran *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli* pada daging ayam.

## 1.3. Kerangka Pemikiran

Cemaran *Salmonella sp.* paling sering dikaitkan dengan daging ayam, karena induk ayam yang terinfeksi *Salmonella sp.* secara transovarial (melalui indung telur) dapat menularkan bakteri tersebut melalui produk ternaknya. Hasil penelitian Sartika *et al.*(2016), menunjukkan bahwa tingginya cemaran bakteri patogen pada daging ayam di beberapa pasar tradisional dan modern di Bandar Lampung yaitu  $3,30 \times 10^8$ CFU/g, jauh diatas batas maksimum yang telah ditetapkan SNI. Di Indonesia, daging ayam menjadi tidak aman dikonsumsi karena beberapa faktor yaitu: tingkat pengetahuan peternak tentang cemaran mikroba rendah, kandang yang kurang bersih, sanitasi yang kurang memadai dan kemungkinan adanya kontaminasi pada pakan yang dikonsumsi ayam. Pertumbuhan mikroba pada produk pangan terjadi dalam waktu singkat dan pada kondisi yang sesuai, seperti tersedianya nutrisi, pH, suhu, dan kadar air bahan pangan. Sanitasi yang kurang baik dapat menyebabkan cemaran mikroba patogen meningkat diantaranya *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli* (Tarmudji, 2008).

Upaya penurunan cemaran mikroba tersebut, dapat diatasi dengan menggunakan antimikroba alami.

Senyawa antimikroba didefinisikan sebagai senyawa biologis atau kimia yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroba. Senyawa antimikroba adalah jenis bahan tambahan pangan yang digunakan untuk tujuan mencegah kebusukan atau keracunan oleh mikroorganisme pada bahan pangan. Beberapa jenis senyawa yang mempunyai aktivitas antimikroba adalah sodium benzoate, senyawa fenol, asam-asam organik, asam lemak rantai medium dan esternya, sulfur dioksida dan sulfite, nitrit, dan surfaktan, dimetil dikarbonat dan dietil bikarbonat, antimikroba alami dari produk alami baik dari produk hewani, tanaman maupun mikroorganisme. Komponen pengawet atau antimikroba adalah suatu komponen yang bersifat dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau kapang (bakteristatik atau fungistatik) atau membunuh bakteri atau kapang (Fadhilla, 2010).

Zat aktif yang terkandung dalam berbagai jenis ekstrak tumbuhan diketahui dapat menghambat beberapa mikroba patogen maupun perusak makanan. Zat aktif tersebut berasal dari bagian tumbuhan seperti biji, buah, rimpang, batang, kulit, daun, dan umbi. Kulit singkong memiliki kandungan HCN yang sangat tinggi sebesar 18,0 – 309,4 ppm/100 g kulit singkong (Richana, 2013). HCN atau asam sianida merupakan zat yang bersifat racun baik dalam bentuk bebas maupun kimia, yaitu glikosida, sianogen phaseulonathin, linamarin dan metillinamarin /lotaustrain (Coursey, 1973). Menurut FAO Jumlah asam sianida (HCN) sangat bervariasi mulai dosis yang tidak berbahaya (<50 ppm) sampai mematikan (>250

ppm). Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antibakteri adalah asam sianida, asam hidnokarpat, asam khaulmograt, asam gorlat dan tanin. Senyawa asam sianida dan tanin, mampu memberikan efek pengawetan terhadap ikan (Koswara, 2009)

Komponen utama dalam kulit singkong yang berfungsi sebagai antimikroba adalah senyawa fenolik, flavonoid, dan asam sianida. Meskipun asam sianida kulit singkong bersifat beracun, tetapi mudah dihilangkan karena sifatnya mudah larut dan menguap pada suhu 26°C. Efektivitas antimikroba dalam mengawetkan bahan makanan terjadi baik dengan cara mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme maupun secara langsung dengan memusnahkan seluruh atau sebagian mikroorganisme. Golongan flavonoid kulit singkong yang memiliki aktivitas antibakteri yakni asam sianida dan tanin (Heruwati *et al.*, 2007). Salah satu cara untuk menjaga kualitas pangan adalah dengan menambahkan bahan aditif berupa zat antimikroba. Kulit ubi kayu mengandung senyawa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antimikroba (Yi *et al.*, 2010).

#### **1.4. Hipotesis**

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah :

1. Ekstrak kulit singkong memiliki daya hambat terhadap cemaran *Salmonella sp.* dan *Echerichia coli*.
2. Terdapat konsentrasi terbaik ekstrak kulit singkong dalam penurunan cemaran *Salmonella sp.* dan *Echerichia coli* pada daging ayam.

## **II. TINJAUAN PUSTAKA**

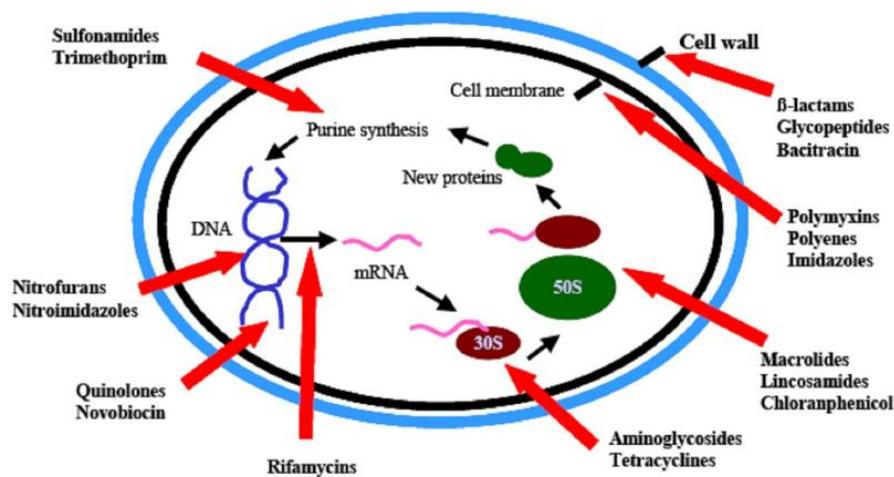
### **2.1. Antimikroba**

Antimikroba adalah komponen kimia yang memiliki kemampuan membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Aktivitas antimikroba adalah kemampuan suatu senyawa antimikroba untuk mempengaruhi dinding sel mikroba (Ultee *et al.*, 2000). Zat yang digunakan sebagai antimikroba harus mempunyai beberapa kriteria ideal antara lain: tidak bersifat racun bagi bahan pangan, ekonomis, tidak menyebabkan perubahan flavor, cita rasa dan aroma makanan, tidak mengalami penurunan aktivitas karena reaksi dengan komponen makanan, tidak menyebabkan timbulnya galur resisten, serta lebih bersifat membunuh dibanding menghambat pertumbuhan mikroba (Fadhilla, 2010).

#### **2.1.1. Mekanisme Kerja Antimikroba**

Mekanisme antimikroba dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroba antara lain :(1) merusak dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan lisis atau menghambat pembentukan dinding sel pada sel yang sedang tumbuh, (2) mengubah permeabilitas membran sitoplasma yang menyebabkan kebocoran nutrien dari dalam sel, misalnya yang disebabkan oleh senyawa fenolik, (3) menyebabkan denaturasi sel, misalnya oleh alkohol dan (4) menghambat kerja enzim di dalam sel (Pelczar dan Reid, 1977).

Antimikroba merupakan produk alami atau organik dengan berat molekul rendah terbentuk oleh mikroorganisme dan tumbuhan yang aktif melawan mikroorganisme patogen. Pengembangan aktivitas ini melalui jumlah terbatas dari mekanisme antimikroba yang dapat mempengaruhi sintesis dinding sel, integritas sel, sintesis protein, replikasi DNA dan repair, transkripsi dan metabolit intermediate (Wax *et al.*, 2008).



Gambar 1. Target kerja antimikroba  
Sumber : Wax *et al.* (2008)

Efektivitas penghambatan merupakan salah satu kriteria suatu senyawa antimikroba untuk diaplikasikan sebagai bahan pengawet bahan pangan. Semakin kuat penghambatan senyawa antimikroba semakin efektif menurunkan cemaran mikroba patogen. Kerusakan yang ditimbulkan komponen antimikroba dapat bersifat mikrosidal (kerusakan tetap) atau mikrostatik (kerusakan sementara yang dapat kembali). Suatu komponen akan bersifat mikrosidal atau mikrostatik tergantung pada konsentrasi dan kultur yang digunakan. Mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh senyawa antimikroba disebabkan oleh

beberapa faktor, antara lain: (1) gangguan pada senyawa penyusun dinding sel, (2) peningkatan permeabilitas membran sel yang dapat menyebabkan kehilangan komponen penyusun sel, (3) menginaktivasi enzim, dan (4) destruksi atau kerusakan fungsi material genetik.

#### ***A. Mengganggu pembentukan dinding sel***

Mekanisme ini disebabkan karena adanya akumulasi komponen lipofilat yang terdapat pada dinding atau membran sel sehingga menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel. Terjadinya akumulasi senyawa antimikroba dipengaruhi oleh bentuk tak terdisosiasi. Pada konsentrasi rendah molekul-molekul phenol yang terdapat pada minyak thyme kebanyakan berbentuk tak terdisosiasi, lebih hidrofobik, dapat mengikat daerah hidrofobik membran protein dan dapat larut pada fase lipid dari membran bakteri. Pelczar dan Reid (1977), menyebutkan bahwa efek penghambatan senyawa antimikroba lebih efektif terhadap bakteri Gram positif daripada dengan bakteri gram negatif. Hal ini disebabkan perbedaan komponen penyusun dinding sel kedua kelompok bakteri tersebut. Pada bakteri gram positif 90 % dinding selnya terdiri atas lapisan peptidoglikan, selebihnya adalah asam teikoat, sedangkan bakteri gram negatif komponen dinding selnya mengandung 5 - 20 % peptidoglikan selebihnya terdiri dari protein, lipopolisakarida, dan lipoprotein.

#### ***B. Bereaksi dengan membran sel***

Komponen bioaktif dapat mengganggu dan mempengaruhi integritas membran sitoplasma, yang dapat mengakibatkan kebocoran materi intraseluler, seperti senyawa phenol dapat mengakibatkan lisis sel dan menyebabkan deaturasi protein,

menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat, dan menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel ( Ultee *et al.*, 2000)..

### ***C. Menginaktivasi enzim***

Mekanisme yang terjadi menunjukkan bahwa kerja enzim akan terganggu dalam mempertahankan kelangsungan aktivitas mikroba sehingga mengakibatkan enzim memerlukan energi yang besar untuk mempertahankan kelangsungan aktivitasnya. Akibatnya energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan menjadi berkurang sehingga aktivitas mikroba menjadi terhambat atau jika kondisi ini berlangsung lama akan mengakibatkan pertumbuhan mikroba terhenti (inaktif). Efek senyawa antimikroba dapat menghambat kerja enzim jika mempunyai spesifitas yang sama antara ikatan kompleks yang menyusun struktur enzim dengan komponen senyawa antimikroba. Corner (1995) menyatakan bahwa pada konsentrasi 0,005 M alisin (senyawa aktif dari bawang putih) dapat menghambat metabolisme enzim sulfhidril. Minyak oleoresin yang dihasilkan dari kayu manis, cengkeh, thyme, dan oregano dapat menghambat produksi ethanol, proses respirasi sel, dan sporulasi khamir dan kapang.

### ***D. Menginaktivasi fungsi material genetik***

Komponen bioaktif dapat mengganggu pembentukan asam nukleat (RNA dan DNA), menyebabkan terganggunya transfer informasi genetik yang selanjutnya akan menginaktivasi atau merusak materi genetik sehingga terganggunya proses pembelahan sel untuk pembiakan ( Wax *et al.*, 2008).

### 2.1.2. Metode Uji Antimikroba

Potensi dari suatu antimikroba diperkirakan dengan membandingkan zona hambat pertumbuhan terhadap mikroorganisme yang sensitif dari hasil penghambatan suatu konsentrasi larutan uji dibandingkan dengan antibiotik. Uji antimikroba dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu metode difusi dan metode dilusi. Pada metode difusi termasuk didalamnya metode *disk diffusion* (tes Kirby & Baur), *E-test*, *ditch-plate technique*, *cup-plate technique*. Sedangkan pada metode dilusi termasuk didalamnya metode dilusi cair dan dilusi padat (Pratiwi, 2008). Pada metode difusi, dilakukan pengukuran daya hambat dari senyawa antimikroba yang terkandung dalam ekstrak. Metode difusi merupakan metode yang paling umum digunakan, diantaranya yaitu:

1. Metode *disk diffusion*

Metode *disk diffusion* (tes Kirby & Baur) menggunakan piringan yang berisi agen antimikroba, kemudian diletakkan pada media agar yang sebelumnya telah ditanami mikroorganisme sehingga agen antimikroba dapat berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar. Dari hasil yang ditunjukkan, dilakukan pengukuran menggunakan jangka sorong. Semakin besar zona hambat yang dihasilkan, semakin besar pula aktivitas suatu zat antimikroba. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri oleh Suryawiria (1978) dalam Pradana (2013) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan
>20 mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
<5 mm	Lemah

Sumber : Pradana ,2013.

## 2. Metode *E-test*

Metode *E-test* digunakan untuk mengestimasi Kadar Hambat Minimum (KHM), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah sampai tertinggi dan diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme sebelumnya. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkan yang menunjukkan kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar (Pratiwi, 2008)..

## 3. *Ditch-plate technique.*

Pada metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakka pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan kearah parit yang berisi agen antimikroba tersebut ( Fardiaz,1989).

## 4. *Cup-plate technique.*

Metode ini serupa dengan disk diffusion, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji. Pada metode ini, media agar yang sudah

diinokulasikan dengan bakteri kemudian dibuat sebidang parit. Parit tersebut diisi dengan ekstrak dan diinkubasi pada waktu dan suhu optimum pertumbuhan bakteri. Setelah itu, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya hambatan yang terbentuk (Triwibowo *et al.*, 2013).

## 2.2. Singkong

Singkong (*Manihot utilisima*) merupakan tanaman tahunan tropika dan subtropika yang umbinya dikenal luas sebagai makanan pokok karena tinggi kandungan karbohidrat dan daunnya biasa dijadikan sayuran. Tanaman singkong merupakan tanaman nomortiga setelah padi dan jagung, sebagai tanaman sumber karbohidrat dan penghasil kalori terbesar dibanding tanaman lain. Di Indonesia tanaman ini memiliki nama lain lain, kasepe, ketela, sedangkan dalam bahasa Inggris disebut *cassava*. Singkong (*Manihot utilisima*) pertama kali dikenal di Amerika Selatan, kemudian dikembangkan di Brazil dan Paraguay (Uhan, 2013)..

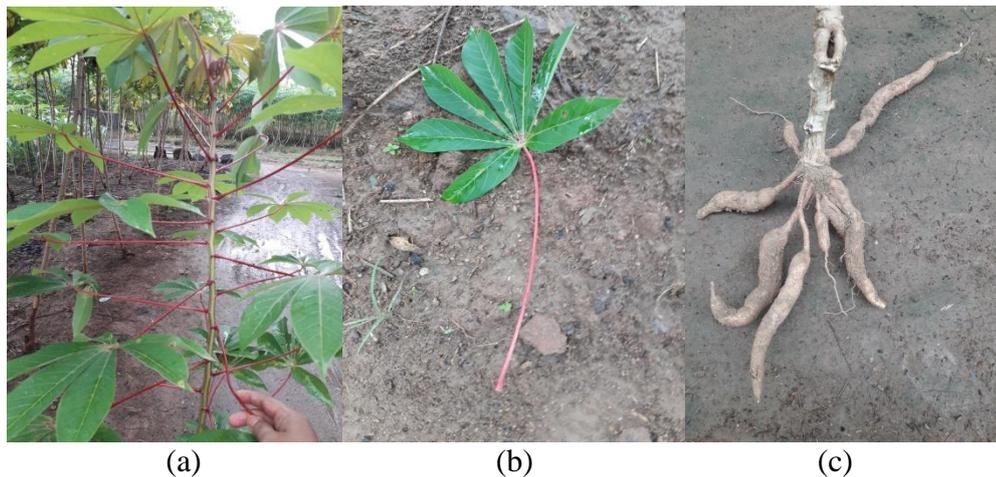
### 2.2.1. Morfologi singkong

Klasifikasi singkong menurut Uhan (2013) sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisio	: <i>Spermatophyta</i>
Sub divisio	: <i>Angiospermae</i>
Classis	: <i>Dicotilae</i>
Ordo	: <i>Euphorbiales</i>
Familli	: <i>Euphorbiaceae</i>
Genus	: <i>Manihot</i>
Species	: <i>Manihot utilisima</i>

Tanaman singkong (*Manihot utilissima*) termasuk tumbuhan berbatang pohon lunak atau getas (mudah patah). Tanaman singkong berbatang bulat dan bergerigi yang terjadi dari bekas pangkal tangkai daun, bagian tengahnya bergabus dan termasuk tumbuhan yang tinggi. Tanaman singkong bisa mencapai ketinggian 1-4 meter. Pemeliharaannya mudah dan produktif. Daun singkong memiliki tangkai panjang dan helaian daunnya menyerupai telapak tangan, dan tiap tangkai mempunyai daun sekitar 3-8 lembar. Tangkai daun tersebut berwarna kuning, hijau atau merah (Arland, 2007).

### 2.2.2. Singkong Manalagi



Gambar 2. Batang singkong manalagi (a), daun singkong manalagi (b), dan umbi singkong manalagi (c)

Singkong manalagi merupakan jenis umbi yang aman untuk dikonsumsi atau biasa disebut singkong makan. Memiliki umur panen 7-10 bulan, daun menjari agak lonjong, warna pucuk daun coklat, tangkai daun bagian atas berwarna merah dan merah muda bagian bawa, kulit umbi bagian luar berwarna coklat dan kulit umbi bagian dalam berwarna putih. Warna daging umbi putih, memiliki kualitas

rebus yang baik dan rasa yang manis karena rendahnya kadar HCN yaitu 19.5 ppm, kadar pati 66,5%, dan kadar protein 0,5% (Atman, 2011).

### **2.2.3. Kulit singkong**

Kulit singkong sering kali dianggap limbah yang tidak berguna oleh sebagian industri berbahan baku singkong. Oleh karena itu, bahan ini masih belum banyak dimanfaatkan dan dibuang begitu saja dan umumnya hanya digunakan sebagai pakan ternak. Kulit singkong dapat menjadi produk yang bernilai ekonomis tinggi, antara lain diolah menjadi tepung mocaf. Persentase kulit singkong kurang lebih 20% dari umbinya sehingga per kg umbi singkong menghasilkan 0,2 kg kulit singkong. Kulit singkong lebih banyak mengandung racun asam biru dibanding daging umbi yakni 3-5 kali lebih besar, tergantung rasanya yang manis atau pahit. Jika rasanya manis, kandungan asam birunya rendah sedangkan jika rasanya pahit, kandungan asam birunya lebih banyak (Salim, 2011).

### **2.2.4. Kandungan Senyawa Aktif Kulit Singkong**

Adanya kandungan tanin dalam ekstrak kulit singkong karena pada ubi kayu mengandung senyawa karbohidrat yang dapat dihidrolisis menjadi glukosa oleh asam. Coursey (1973) menyatakan bahwa di dalam akar, cabang dan daun ubi kayu terdapat zat racun asam sianida, baik dalam bentuk bebas maupun senyawa kimia, yaitu glikosida, sianogen pseulonathin, linamarin dan metilinarin /lotausralin. Hasil penelitian Gagola *et al.* (2014), menunjukkan bahwa terdapat senyawa fenolik dalam ekstrak kulit singkong diantaranya flavonoid, fenol, tanin, saponin, dan HCN. Menurut Jawetz *et al.* (2001), aktivitas kerja gabungan dari beberapa senyawa antibakteri lebih efektif dibanding daya kerja masing-masing

senyawa. Rusdi (1990) menyatakan bahwa senyawa antibakteri yang memiliki persentase terbesar kemungkinan dapat mempengaruhi keefektifan daya kerjanya. Di sisi lain aktivitas kerja gabungan dari beberapa senyawa antibakteri dapat juga kurang efektif dibanding daya kerja masing-masing senyawa.

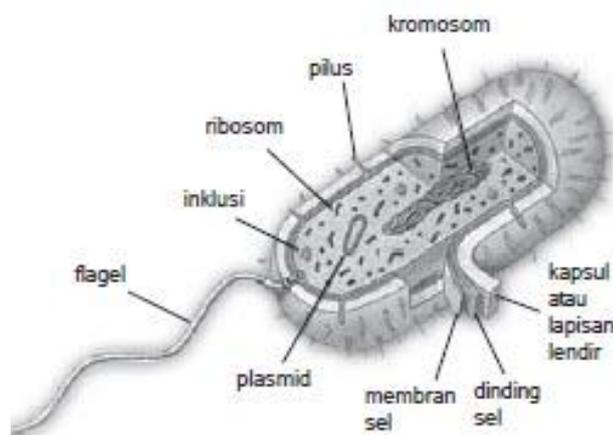
#### **2.2.4.1. Senyawa Tanin**

Tanin mempunyai aktivitas antibakteri dengan cara mempresipitasikan protein, menginaktifkan enzim dan destruksi fungsi materi genetik (Masduki, 1996).

Permeabilitas sel yang terganggu menyebabkan sel tidak dapat melakukan aktivitas sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Harborne, 1996).

Senyawa-senyawa antimikroba menurut Pelczar dan Chan (1988) akan bekerja mempengaruhi permeabilitas membran sitoplasma sel, di mana sitoplasma berfungsi mengatur keluar masuknya zat antara sel dan lingkungan luar.

Membran sel bakteri gram negatif tersusun atas lapisan peptidoglikan yang tipis dan lapisan fosfolipid. Membran sel merupakan protein yang tertanam dan menyatu dengan lapisan rangkap molekul-molekul fosfolipid dengan ujung hidrofobiknya yang menghadap ke dalam dan ujung hidrofiliknya yang menghadap keluar. Struktur sel bakteri dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur sel bakteri

Sumber : Frazier dan Westhoff (1988)

Adanya protein tersebut akan memungkinkan molekul, air, dan ion-ion dapat masuk ke dalam sel. Senyawa-senyawa berkonsentrasi tinggi akan berdifusi dan ditangkap oleh sensor hidrofilik. Komponen hidrofilik akan mengikat molekul-molekul senyawa yang akhirnya menyebabkan lisisnya seluruh membran lipoprotein. Senyawa antibakteri dapat melisiskan membran sel dengan melarutkan lapisan 14 fosfolipid dari membran sel bakteri sehingga akan menghambat pertumbuhan dinding sel (Fessenden dan Fessenden, 1999).

#### 2.2.4.2. Senyawa HCN

Kulit singkong memiliki kandungan HCN yang sangat tinggi yaitu sebesar 18,0 – 309,4 ppm/100 g kulit singkong (Richana, 2013). HCN atau asam sianida merupakan zat yang bersifat racun baik dalam bentuk bebas maupun kimia, yaitu glikosida, sianogen phaseulonathin, linamarin dan metillinamarin/lotaustrain (Coursey, 1973). Jumlah asam sianida (HCN) sangat bervariasi mulai dari dosis yang tidak berbahaya (<50 ppm) sampai yang mematikan (>250 ppm). Asam sianida ini mempunyai dosis ambang batas 0,5-3

mg/kg berat badan. Jika dikonsumsi terus-menerus pada dosis ambang batas akan menimbulkan penyakit *tropical ataxic neuropathy* dengan gejala timbulnya lesi pada saraf mata dan pendengaran, meningkatkan kadar tiosianat dalam darah, serta menyebabkan penyakit gondok. Namun, asam sianida ini mudah hilang selama kulit singkong diproses terlebih dahulu dengan cara perendaman, pengeringan, perebusan, dan fermentasi. Asam sianida (HCN) bersifat racun sehingga diduga sianida masuk ke dalam struktur sel *Staphylococcus aureus* dan meracuninya sehingga mengganggu proses metabolisme dalam sel bahkan mematikan sel (Lenny, 2006).

#### **2.2.4.3. Senyawa Saponin**

Senyawa saponin merupakan senyawa metabolik sekunder yang berfungsi sebagai antiseptik sehingga memiliki kemampuan antibakteri (Prasetyo *et al.*, 2008). Adanya senyawa antibakteri tersebut akan menghalangi pembentukan atau pengangkutan masing-masing komponen ke dinding sel yang mengakibatkan lemahnya struktur disertai dengan penghilangan dinding sel dan pelepasan isi sel yang akhirnya akan mematikan maupun menghambat pertumbuhan sel bakteri tersebut. Pernyataan ini diperkuat oleh Matasyoh *et al.* (2014) bahwa senyawa saponin menyebabkan penurunan tegangan permukaan sel dan menyebabkan sel lisis. Sementara flavonoid memiliki aktivitas antibakteri dengan cara mengikat asam amino nukleofilik pada protein dan inaktivasi enzim. Saponin menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba dengan cara berinteraksi dengan membrane sterol. Efek utama saponin terhadap bakteri adalah adanya pelepasan protein dan enzim dari dalam sel-sel (Zablotowicz *et al.*, 1996). Saponin dapat bersifat antimikroba dengan merusak membran sel. Rusaknya membran

menyebabkan substansi penting keluar sel dan juga dapat mencegah masuknya bahan-bahan penting ke dalam sel. Jika fungsi membran sel dirusak maka akan mengakibatkan kematian sel (Monalisa *et al.*, 2011).

### **2.3. Daging Ayam**

Daging adalah semua bagian tubuh ternak yang secara umum dapat dimakan termasuk jaringan-jaringan dan organ tubuh bagian dalam seperti hati, ginjal, dan lain-lain. Menurut Soeparno (1994) daging adalah semua jaringan hewan dan semua produk hasil pengolahan jaringan tersebut yang dapat dimakan dan tidak menimbulkan gangguan kesehatan bagi konsumen. Berdasarkan definisi tersebut maka organ-organ dalam (jeroan) dan produk olahan seperti corned termasuk dalam kategori daging. Dalam kehidupan sehari-hari yang disebut daging adalah jaringan otot, meskipun komponen utama penyusun daging adalah otot, tetapi otot tidak sama dengan daging (Suharyanto, 2009).

Daging ayam merupakan salah satu sumber protein hewani yang berkualitas tinggi yang banyak dikonsumsi karena mudah dicerna, dengan harga yang relatif terjangkau. Dari aspek mikrobiologi suatu produk pangan aman dikonsumsi jika tidak mengandung mikroba patogen, yaitu mikroba yang dapat menyebabkan gangguan kesehatan pada manusia yang mengkonsumsi (Saptarini, 2009). Salah satu mikroorganisme patogen yang penting dari aspek kesehatan masyarakat dan keamanan pangan adalah bakteri *Salmonella sp.* dan *E.coli* (Purnawijayanti, 2001).

Kualitas daging ayam dipengaruhi oleh beberapa faktor, baik pada waktu hewan masih hidup maupun setelah dipotong. Pada waktu hewan hidup faktor penentu

kualitas daging adalah cara pemeliharaan, meliputi pemberian pakan, tata laksana pemeliharaan, dan perawatan kesehatan, sedangkan setelah hewan dipotong kualitas daging dipengaruhi oleh perdarahan pada waktu hewan dipotong dan kontaminasi mikroba (Murtidjo, 2003). Daging ayam harus memenuhi kualitas mikrobiologis yang telah ditetapkan oleh SNI 7388 (2009) dengan ambang batas cemaran total mikroba maksimal 10<sup>6</sup> CFU/g. Ditinjau dari segi mutu, daging ayam memiliki nilai gizi yang lebih tinggi dibandingkan hewan ternak lainnya. Daging ayam mempunyai kandungan protein yang lebih tinggi, komposisi protein ini sangat baik karena mengandung semua asam amino esensial yang mudah dicerna dan diserap oleh tubuh, akan tetapi daging ayam juga mempunyai kadar lemak yang cukup tinggi dibandingkan hewan ternak lainnya (Surisdiarto dan Koentjoko, 1990). Tabel syarat mutu mikrobiologis daging ayam berdasarkan SNI 7388:2009 dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Syarat mutu mikrobiologis daging ayam

Jenis	Satuan	Persyaratan
Total plate count	Cfu/g	maksimum 1 x 10 <sup>6</sup>
<i>Coliform</i>	Cfu/g	maksimum 1 x 10 <sup>2</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cfu/g	maksimum 1 x 10 <sup>2</sup>
<i>Salmonella sp</i>	Per 25g	negatif
<i>Escherichia coli</i>	Cfu/g	maksimum 1 x 10 <sup>1</sup>
<i>Campylobacter sp</i>	Per 25 g	negatif

Sumber : SNI 7388:2009

Menurut Jay *et al.* (2005), banyaknya kejadian kontaminasi bakteri pada daging ayam terjadi pada saat pemotongan, pengepakan, pendistribusian dan pengolahan produk asal hewan. Kontaminasi juga dapat terjadi akibat sanitasi yang kurang

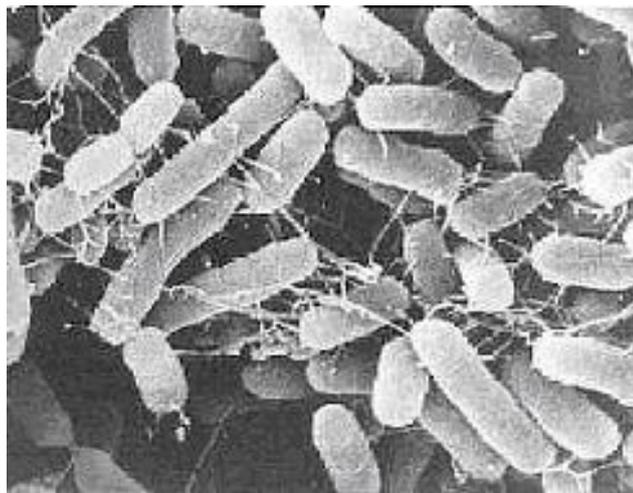
baik di peternakan, tempat pemotongan maupun tempat pengolahan daging ayam. Pemakaian air dari sanitasi yang kurang baik dalam proses pemotongan, pengolahan, dan penyimpanan dapat meningkatkan jumlah cemaran mikroba di dalam daging ayam. Menurut Rahardjo dan Santoso (2005), mikroorganisme yang mengkontaminasi bahan pangan dapat menyebabkan kerusakan bahan pangan tersebut. Kerusakan daging ayam secara biologis banyak berakibat oleh adanya pertumbuhan mikroorganisme yang berasal dari ternak. Pencemaran dari lingkungan baik pada saat proses pemotongan, penyimpanan, maupun pemasaran. Pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme di pengaruhi oleh faktor suhu penyimpanan, waktu, tersedianya oksigen, dan kadar air pada daging.

#### **2.4. *Salmonella sp***

Bakteri ini termasuk dalam famili Enterobacteriaceae, merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang. *Salmonella sp.* tidak membentuk spora, bersifat aerobik atau anaerobik fakultatif, motil dengan flagella peritrikat. *S. typhimurium* dapat tumbuh pada suhu antara 5-47°C, dengan suhu optimum 35-37°C. Nilai pH optimum untuk pertumbuhannya berkisar 6,5- 7,5. Sedangkan Aw optimum untuk pertumbuhannya adalah 0,945-0,999. Makanan-makanan yang sering terkontaminasi oleh *S. typhimurium* adalah telur dan hasil olahan, ikan dan hasil olahannya, daging ayam, daging sapi, susu dan hasil olahannya. Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit tipus pada manusia ( Ray, 2001).

Beberapa penelitian menyatakan bahwa jumlah *Salmonella* lebih kecil atau sama dengan 10<sup>5</sup> CFU/gr telah dapat menyebabkan infeksi. *Salmonella* tidak tahan terhadap pH asam, tetapi mampu melewati lambung yang ber pH asam. Hal ini

terjadi karena produk makanan tersebut mengandung banyak lemak atau gula sehingga melindungi *Salmonella sp.* dari keasaman lambung. Dengan demikian bakteri tersebut dapat mencapai usus halus dan menimbulkan gejala penyakit. Cemaran *Salmonella sp.* pada bahan makanan dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. *Salmonella sp.*  
Sumber : Madigan (2012)

*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.*

Taksonomi bakteri *Salmonella sp.* menurut Madigan (2012) sebagai berikut:

Kingdom : *Bacteria*  
Phylum : *Proteobacteria*  
Class : *Gamma proteobacteria*  
Ordo : *Enterobacteriales*  
Family : *Enterobacteriaceae*  
Genus : *Salmonella*  
Spesies : *Salmonella sp.*

*Salmonella sp.* yang mengontaminasi pangan terdapat di udara, air, tanah, sisa kotoran manusia maupun hewan atau produk makanan hewan (Arifah, 2010).

*Salmonella sp.* adalah salah satu bakteri gram negatif yang bersifat patogen dan merupakan agen yang paling sering menyebabkan *food borne disease* di dunia.

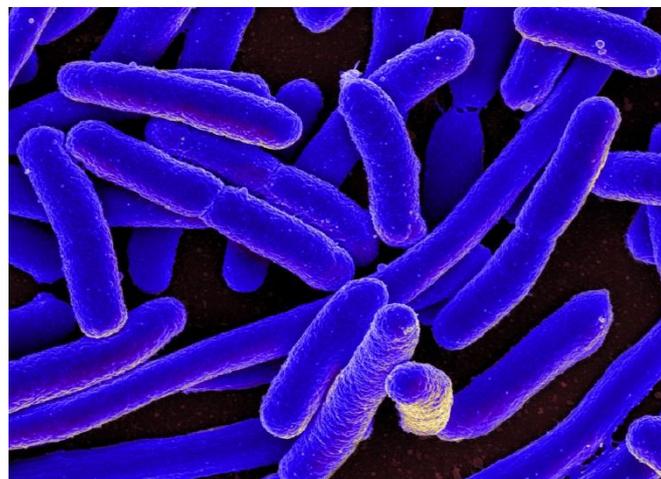
Infeksi *Salmonella sp.* pada hewan maupun manusia dapat menyebabkan salmonellosis yang mengganggu saluran cerna dan banyak diantaranya mengakibatkan kematian. Salmonellosis pada manusia dapat ditularkan melalui makanan asal hewan yang terkontaminasi oleh *Salmonella sp.* Salmonellosis bersifat endemis hampir di seluruh kota besar di Indonesia. Diperkirakan salmonellosis terjadi sebanyak 60.000 hingga 1.300.000 kasus dengan sedikitnya 20.000 kematian per tahun. (Suwandono *et al.*, 2005).

Salmonellosis disebabkan oleh infeksi bakteri *Salmonella* yang menyerang saluran gastrointestinal yang mencakup usus halus, dan usus besar atau kolon.

Serangan gastroenteritis terjadi 8-72 jam setelah mengkonsumsi makanan yang tercemar *Salmonella*, dengan gejala sakit perut mendadak dengan diare encer atau berair, kadang-kadang dengan lendir atau darah. Penderita gastroenteritis seringkali merasa mual dan muntah, demam dengan suhu 38-39°C (Chung *et al.*, 2003; Cox, 2000). Ray (2001) menjelaskan bahwa secara umum gejala penyakit salmonellosis berlangsung 2 - 3 hari, dengan angka mortalitas rata-rata 4,1 %, dengan variasi 5,8 % pada penderita berumur di bawah 1 tahun, 2 % sampai umur 50 tahun dan 15 % pada umur di atas 50 tahun.

## 2.5. *Escherichia coli*

*E. coli* merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang, termasuk dalam famili Enterobacteriaceae. *E. coli* disebut juga koliform fekal karena ditemukan dalam saluran usus hewan dan manusia. Bakteri ini sering digunakan sebagai indikator kontaminasi kotoran. Kisaran suhu pertumbuhan *E. coli* antara 10-40°C dengan suhu optimum 37°C. Kisaran pH antara 4-9 dengan nilai pH optimum 5 dan nilai  $A_w$  minimum untuk pertumbuhan adalah 0,96. Bakteri ini sangat sensitif terhadap panas sehingga inaktif pada suhu pasteurisasi. Selain itu *E. coli* tumbuh baik dalam medium yang sederhana dan stabil serta mengandung glukosa, ammonium sulfat dan sedikit garam mineral. Cemaran *E. coli* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. *Escherichia coli* pada mikroskop elektron  
Sumber: Stevens (2009), dalam Marliena (2016)

Bakteri *Escherichia coli* dalam klasifikasi ilmiah adalah bakteri yang tergolong dalam filum *Proteobacteria*, kelas *Gammaproteobacteria*, ordo *Enterobacteriales*, family *Enterobacteriaceae*, dari genus *Escherichia* (Ikmalia, 2008). Nama bakteri *Escherichia coli* berasal dari nama seorang bakteriologist

asal Jerman yaitu Theodor Von Escherich (Andriani, 2006). Secara morfologis bakteri *Esherichia coli* merupakan bakteri yang berasal dari golongan gram negatif dan berbentuk batang dalam sel tunggal ataupun berpasangan. Bakteri ini bersifat motil dengan alat gerak berupa flagel peritrik yang dimilikinya, tetapi beberapa bakteri ini ada yang bersifat nonmotil (Noviana, 2004). *Esherichia coli* mempunyai panjang sekitar 2,0 sampai 6,0  $\mu\text{m}$  dengan lebar 1,1 hingga 1,5  $\mu\text{m}$ . *Esherichia coli* merupakan spesies bakteri yang tidak memiliki kapsul (Supardi dan Sukamto, 1999).

Bakteri *E. coli* merupakan bakteri yang bersifat fakultatif anaerob dan memiliki tipe metabolisme fermentasi dan respirasi tetapi pertumbuhannya paling banyak di bawah keadaan anaerob, namun beberapa *E. coli* juga dapat tumbuh dengan baik pada suasana aerob. Suhu yang baik untuk menumbuhkan *E. coli* yaitu pada suhu optimal  $37^{\circ}\text{C}$  pada media yang mengandung 1% peptone sebagai sumber nitrogen dan karbon. Ukuran sel dari bakteri *E. coli* biasanya berukuran panjang 2,0 – 6,0  $\mu\text{m}$  dan lebar 1,1 – 1,5  $\mu\text{m}$  dengan bentuk sel bulat dan cenderung ke batang panjang (Melliawati, 2009).

### III. BAHAN DAN METODE

#### 3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi Universitas Lampung dan Laboratorium Bakteriologi Balai Veteriner Lampung pada bulan Februari 2018 sampai Mei 2018.

#### 3.2. Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian adalah kulit putih singkong Manalagi yang diperoleh dari Kecamatan Batanghari Nuban, Kabupaten Lampung Timur, daging ayam, kultur *Salmonella sp.*, dan kultur *E.coli*. Bahan pembantu yang digunakan adalah alkohol 70%, etanol 96%, NaCl fisiologis 0,85%, etil asetat, petroleum eter, *Mac Conkey Agar (MCA)*, akuadest, aluminium foil, kapas, kertas saring, kertas cakram, Nutrient Agar (NA), Nutrient Broth (NB), XLD dan BPW serta bahan lain untuk analisa mikrobiologi.

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu timbangan, loyang, oven, *vacuum rotary evaporator*, *spektrofotometer UV-VIS*, cawan petri, tabung reaksi, autoklaf, *incubator*, *colony counter*, pipet tetes, micrometer, kertas saring, erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur, pinset, dan alat analisis lainnya

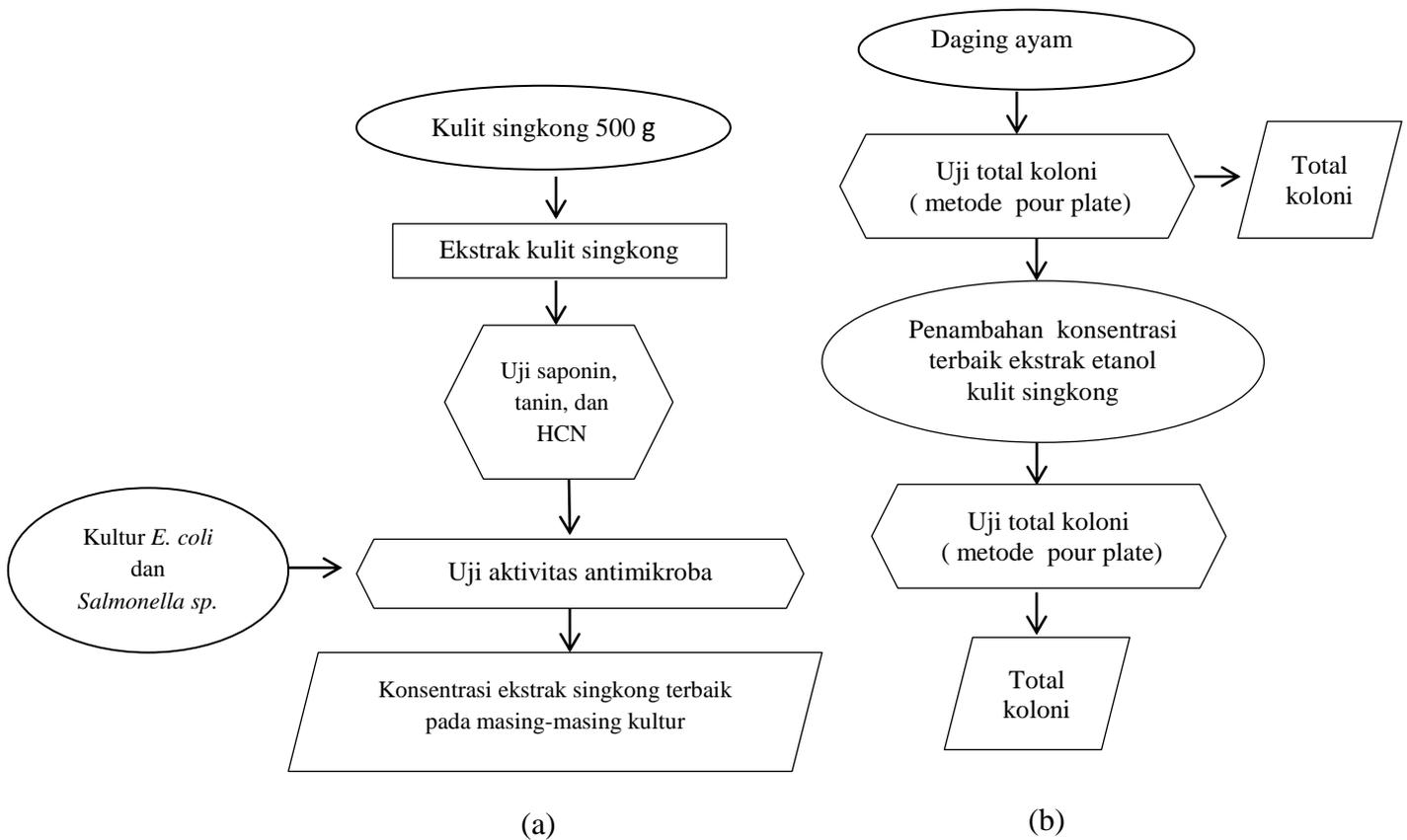
### 3.3. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan untuk mencari konsentrasi terbaik ekstrak kulit singkong sebagai antimikroba terhadap daya hambat *Salmonella sp.* dan *Echerichia coli*. Masing-masing percobaan menggunakan faktor tunggal dengan 7 perlakuan dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) sebanyak 5 kali ulangan. Tujuh perlakuan dengan 5 taraf konsentrasi ekstrak kulit singkong yaitu K<sub>1</sub> (100%), K<sub>2</sub> (80%), K<sub>3</sub> (60%), K<sub>4</sub> (40%), K<sub>5</sub> (20%), satu perlakuan kontrol positif K<sub>+</sub> (amoxicillin), dan satu perlakuan sebagai kontrol (etanol 96%). Data dianalisis kesamaan ragam dengan Uji Bartlett untuk mengetahui kehomogenan data. Setelah data tersebut homogen, kemudian data dianalisis dengan sidik ragam untuk mendapatkan ragam penduga galat dan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh antar perlakuan. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilakukan uji lanjut menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5% (Steel dan Torrie, 1991). Sebagai data penunjang dilakukan uji kuantitatif saponin, tanin, dan HCN.

### 3.4. Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian terdiri dari beberapa tahap, tahap pertama pembuatan ekstrak kulit singkong menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Setelah diperoleh ekstrak kulit singkong, kemudian dilakukan tahap uji daya hambat ekstrak kulit singkong terhadap cemaran *Salmonella sp.* dan *Echerichia coli* dengan lima konsentrasi ekstrak kulit singkong yaitu 20 % (v/v), 40 % (v/v), 60% (v/v), 80% (v/v), dan 100% (v/v). Konsentrasi terbaik ekstrak kulit singkong ditentukan dari daerah daya hambat paling luas dari kelima konsentrasi

ekstrak kulit singkong. Selanjutnya dilakukan uji total mikroba pada daging ayam. Konsentrasi ekstrak kulit singkong terbaik kemudian digunakan untuk uji penurunan *Salmonella sp.* dan *Echerichia coli* pada daging ayam. Uji kadar saponin, tanin, dan HCN digunakan sebagai data penunjang. Diagram pelaksanaan penelitian dapat dilihat pada Gambar 6.



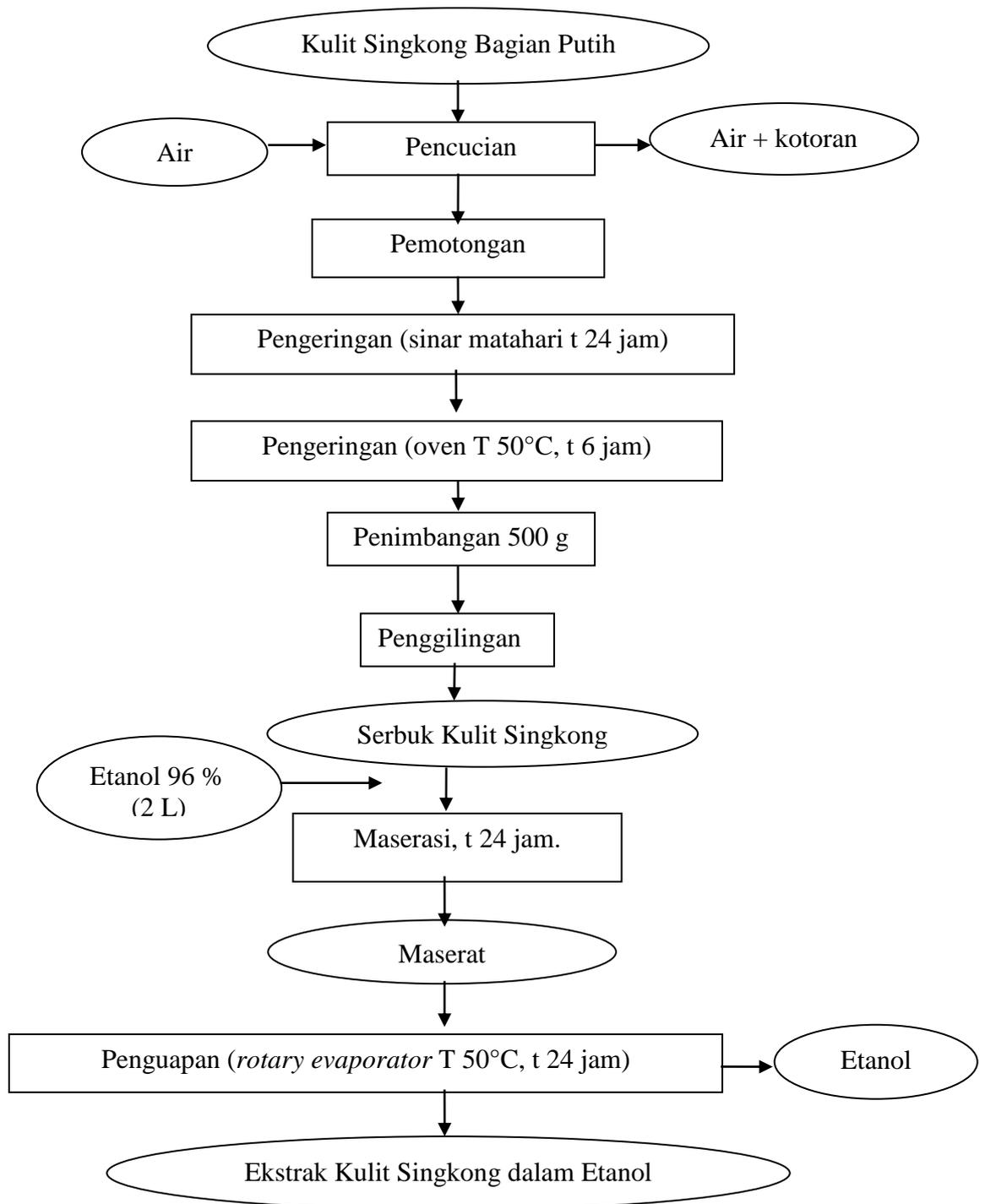
Gambar 6. Diagram alir uji aktivitas antimikroba (a), dan aplikasi ekstrak etanol kulit singkong dalam menurunkan cemaran mikroba pada daging ayam (b)

### 3.4.1. Persiapan Sampel

Sampel daging ayam diperoleh dari Pasar Tugu Bandar Lampung pada pagi hari dan diambil secara acak. Sampel kulit singkong varietas Manalagi diperoleh dari kebun singkong di Kecamatan Batanghari Nuban, Kabupaten Lampung Timur. Sampel kulit singkong dipilih dari singkong yang sudah siap panen (7-10 bulan). Kultur bakteri *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli* diperoleh dari koleksi Laboratorium Bakteriologi Balai Veteriner Lampung.

### 3.4.2. Pembuatan Ekstrak

Kulit singkong bagian putih dicuci bersih dengan air mengalir. Selanjutnya ditiriskan, kemudian dipotong kecil-kecil. Sampel dikeringkan di bawah sinar matahari selama satu hari, dilanjutkan dengan oven selama 6 jam pada suhu 50° C sampai sampel benar-benar kering, kemudian ditimbang berat keringnya sebanyak 500 g. Setelah itu sampel digiling menggunakan blender hingga terbentuk serbuk. Ekstraksi kulit singkong dilakukan secara maserasi, yaitu serbuk kulit singkong direndam dengan pelarut etanol 96% sebanyak 2 liter di dalam botol maserasi yang tertutup rapat dan dibiarkan selama 24 jam pada temperatur kamar, terlindung dari sinar matahari langsung sambil sesekali diaduk, kemudian disaring sehingga diperoleh filtrat dan ditampung dalam wadah (botol maserasi). Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C selama 24 jam sampai diperoleh ekstrak cair kulit singkong. Diagram ekstraksi kulit singkong dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Diagram ekstraksi kulit singkong  
Sumber : Modifikasi Ningsih *et al.* (2013)

### 3.4.3. Uji Kadar Senyawa Aktif Ekstrak Kulit Singkong

#### 3.4.3.1. Identifikasi Kadar Saponin (Basset *et al.*, 1994).

Sebanyak 1,25 g serbuk kulit singkong direfluks dengan 50 ml petroleum eter pada suhu 60-80°C selama 30 menit. Setelah dingin larutan petroleum eter dibuang dan residu yang tertinggal dilarutkan dalam 50 ml etil asetat. Larutan dipindahkan ke corong pisah kemudian dipisahkan larutan etil asetat. Residu yang tertinggal dilarutkan dengan n-butanol sebanyak 3 kali masing-masing dengan 50 ml. Seluruh larutan butanolik dicampur dan diuapkan dengan rotavapor. Sisa penguapan dilarutkan dengan metanol 10 ml kemudian larutan ini diteteskan ke dalam 50 ml dietil eter sambil diaduk. Endapan yang terbentuk dalam campuran dituang pada kertas saring yang telah diketahui bobotnya. Endapan di atas kertas saring kemudian dibilas dengan 10 ml dietil eter. Kertas saring dikeringkan kemudian ditimbang sampai bobot tetap. Selisih bobot kertas saring sebelum dan sesudah penyaringan ditetapkan sebagai bobot saponin. Analisa data dilakukan secara univariat dimana kadar saponin yang dihitung menggunakan rumus :

$$\frac{X2-X1}{A} \times 100 \% = \dots\dots\%$$

Keterangan:

X1 = bobot kertas saring (g)

X2 = bobot kertas saring + endapan saponin (g),

A = bobot ekstrak sampel (g)

#### 3.4.3.2. Identifikasi Kadar Tanin (Basset *et al.*, 1994).

Serbuk kulit singkong ditimbang sebanyak 10 g, kemudian ditambah etanol 96 % sebanyak 200 mL dan dilakukan proses maserasi selama 18 jam. Setelah proses

maserasi, larutan tersebut disaring menggunakan kertas saring dan dikeringkan sampai terbentuk ekstrak kental yang kering. Larutan sampel dengan konsentrasi 1000 ppm dibuat dengan cara menimbang ekstrak kental yang kering sebanyak 50 mg, dilarutkan dengan etanol 96 % sebanyak 50 mL. Setelah itu didapatkan larutan sampel dengan konsentrasi 1000 ppm kemudian dilakukan pengenceran dengan cara diambil larutan induk sebanyak 1 mL dilarutkan dengan etanol 96 % dalam labu 10 mL sehingga didapatkan larutan sampel dengan konsentrasi 100 ppm, dilakukan pengenceran kedua dengan cara diambil larutan dengan konsentrasi 100 ppm sebanyak 1 mL diencerkan dengan etanol 96 % dalam labu 10 mL sehingga didapatkan larutan sampel dengan konsentrasi 10 ppm. Selanjutnya larutan uji tersebut dilakukan uji kuantitatif. Uji kuantitatif dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 380 nm.

#### 3.4.3.3 . Identifikasi Kadar HCN ( AOAC, 1925)

Sebanyak 10-20 g serbuk kulit singkong (20 mesh), ditambah 100 ml aquades dalam labu Kjeldahl dan didiamkan selama 2 jam, kemudian ditambah 100 ml aquades, kemudian didestilasi uap (steam). Destilat ditampung dalam erlenmeyer berisi 20ml NaOH 2.5%. Setelah destilat mencapai 150 ml, ditambah 8 ml NH<sub>4</sub>OH, 5ml KI 5% dan dititrasi dengan 0.02N AgNO<sub>3</sub> sampai terjadi kekeruhan (kertas karbon hitam diletakkan dibawah labu titrasi).

$$1 \text{ ml AgNO}_3 = 1.08 \text{ mg HCN}$$

$$\text{Bobot HCN} = \frac{\text{mL titar (blanko sampel)}}{\text{mg sampel}} \times 0.54 \text{ mg} \times 100\%$$

### 3.4.4. Pembuatan Suspensi Bakteri

#### 3.4.4.1. Pembuatan suspensi bakteri *E.coli*

1. Peremajaan bakteri uji

Peremajaan bakteri *E.coli* dilakukan dalam tiga tahap, yaitu peremajaan menggunakan media *Nutrient Broth*, media *Mac Conkey Agar*, dan media *Nutrient Agar* miring. Pertama, bakteri *Echerichia 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 1 ml bakteri uji dari biakan NB dan ditanam pada media *Mac Conkey Agar* (MCA) dengan metode *pour plate* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya diambil sebanyak 2 ose dari biakan MCA dan digores pada medium *Nutrient Agar* (NA) permukaan agar miring kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

2. Pembuatan standar turbiditas 0,5 Mc Farland (Sutton, 2011)

Sebanyak 9,95 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambah 0,05 ml BaCl<sub>2</sub> 1% kemudian dihomogenkan dengan vortex. Apabila kekeruhan suspensi bakteri uji adalah sama dengan kekeruhan suspensi standart, berarti konsentrasi suspens bakteri adalah 1,5 x 10<sup>8</sup> CFU/ml.

3. Peremajaan bakteri *Salmonella sp.*

Media dibuat dengan melarutkan sebanyak 5,3 g Xylose Lisine Deoxycholate (XLD) agar dalam *aquadest* sebanyak 100 ml, kemudian dipanaskan hingga mendidih disertai pengadukan sampai bubuk benar-benar larut. Media ini kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sebanyak 50 µl kultur bakteri dituang dalam cawan

petri steril lalu digores dengan teknik goresan sinambung dalam media Natrium Agar (NA). (Silvikasari, 2011).

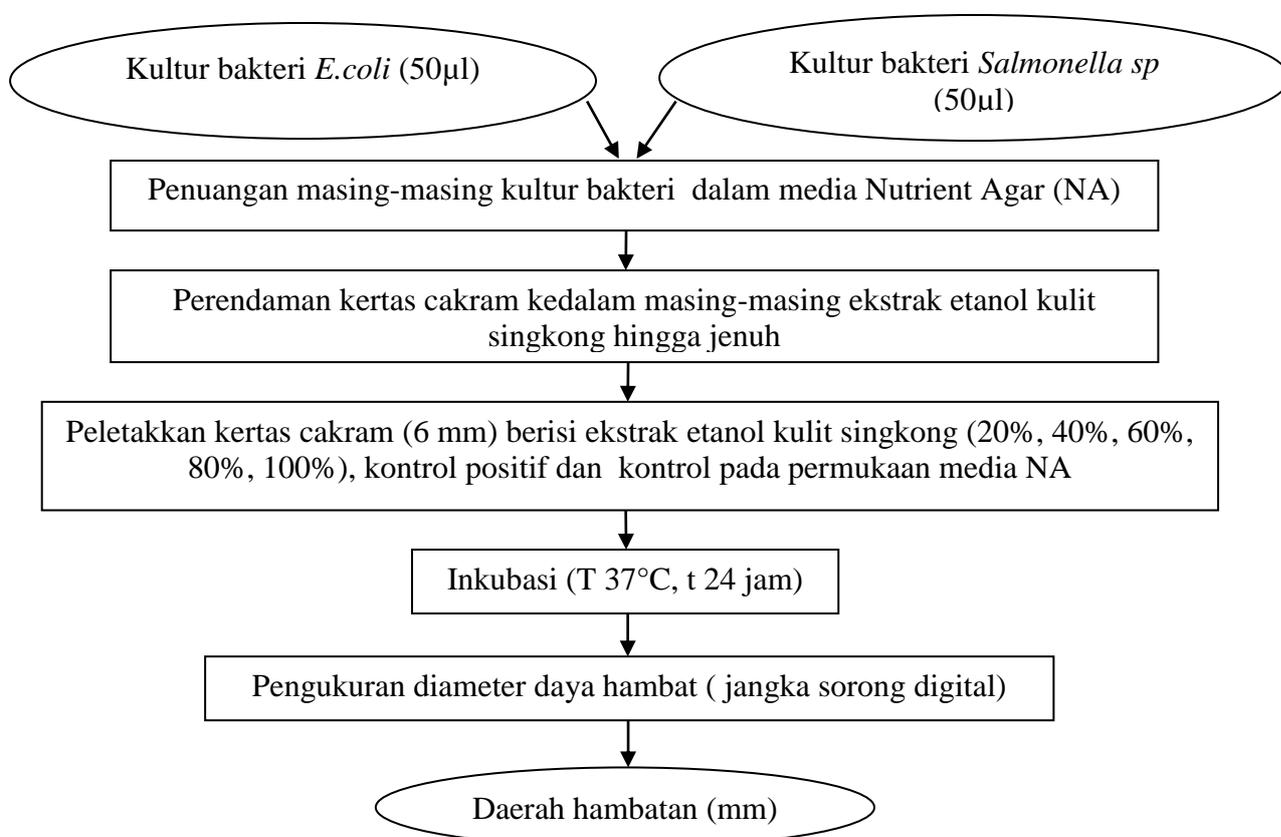
#### 4. Pembuatan suspensi bakteri

Koloni bakteri *E.coli* dan *Salmonella sp.* yang sudah diremajakan pada biakan NA umur 24 jam diambil sebanyak 2 ose kemudian disuspensikan dalam 2 ml NaCl fisiologis 0,85% dalam tabung reaksi steril dan dihomogenkan dengan vortex selama 15 detik. Kekeruhan yang diperoleh kemudian dibandingkan secara visual dengan standar 0,5 Mc Farland. Kekeruhan dilihat dan dibandingkan dengan latar belakang kertas hitam putih bergaris. Jika suspensi bakteri uji terlalu keruh, maka dilakukan penambahan larutan NaCl fisiologis 0,85%. Jika suspensi bakteri uji kurang keruh, maka ditambahkan beberapa ose bakteri yang sudah diremajakan. Suspensi bakteri uji yang kekeruhannya sudah sama dengan standar 0,5 Mc Farland kemudian digunakan untuk uji aktivitas antimikroba (Ningsih dkk, 2013 dalam Kusuma, 2017).

#### **3.4.5. Uji Aktivitas Antimikroba terhadap *E. Coli* dan *Salmonella sp.***

Uji aktivitas antimikroba dilakukan untuk melihat efek antibakteri yang dihasilkan dengan melihat adanya diameter zona hambat yang terbentuk. Media yang digunakan untuk membiakkan bakteri uji *E.coli* dan *Salmonella sp.* adalah Nutrient Agar. Konsentrasi ekstrak etanol kulit singkong yang digunakan yaitu 100%, 80%, 60%, 40%, dan 20%. Sediaan ekstrak 100% diperoleh dari 20 ml ekstrak cair, konsentrasi 80 % (v/v) diperoleh dari 16 ml ekstrak ditambah 4 ml aquades, konsentrasi 60 % (v/v) diperoleh dari 12 ml ekstrak ditambah 8 ml aquades, konsentrasi 40 % (v/v) diperoleh dari 8 ml ekstrak ditambah 12 ml

aquades, konsentrasi 20 % (v/v) diperoleh dari 4 ml ekstrak ditambah 16 ml aquades, kontrol positif digunakan Amoxicillin sebanyak 20 ml, dan kontrol (blanko) digunakan etanol 96% sebanyak 20 ml. Uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan Metode Difusi Kertas Cakram dan hasil uji antibakteri didasarkan pada pengukuran Diameter Daerah Hambat (DDH) pertumbuhan bakteri yang terbentuk di sekeliling kertas cakram. Diagram ujiaktivitas antimikroba menurut Lay *et al.* (1994), dapat dilihat pada Gambar 8.

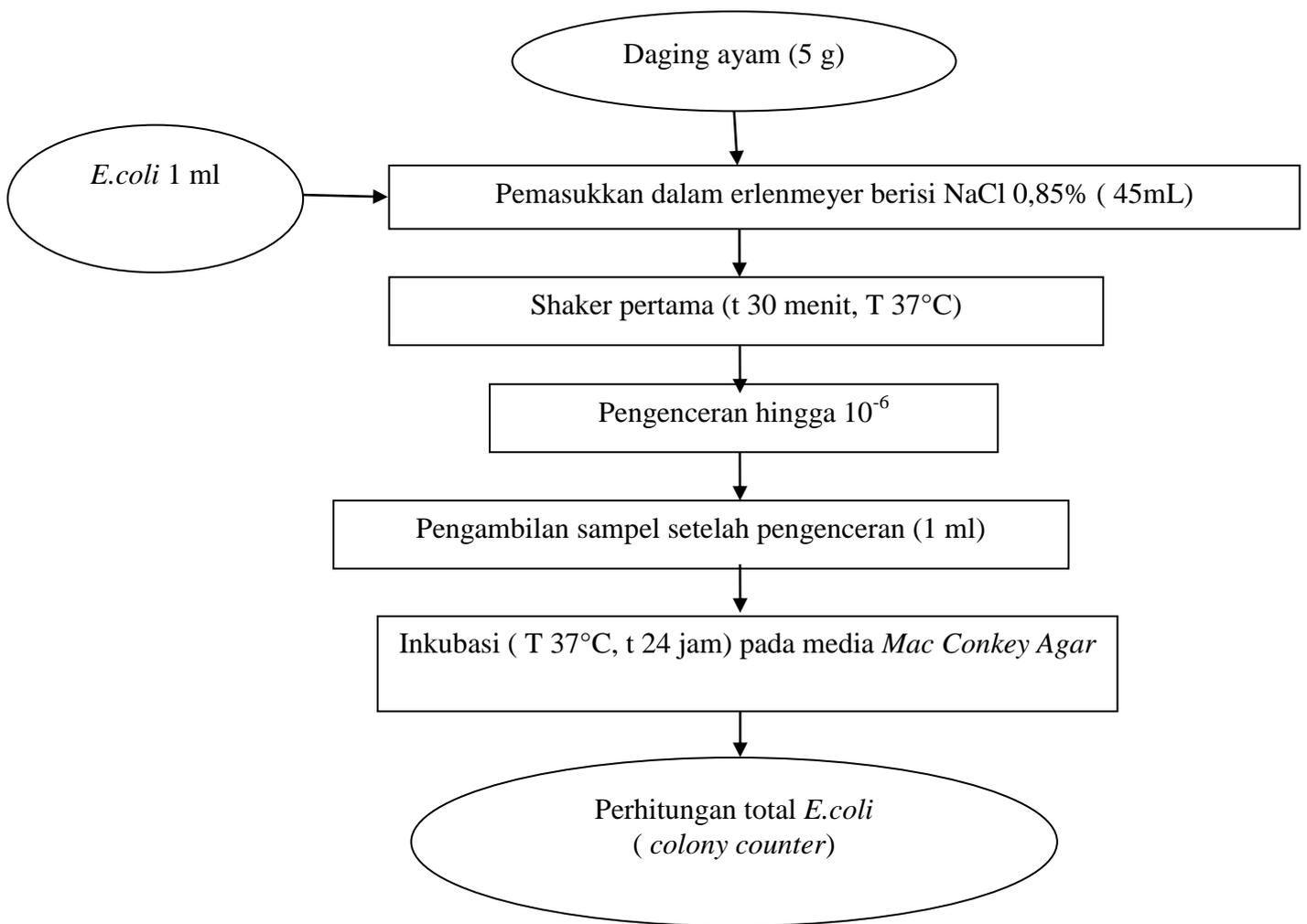


Gambar 8. Uji aktivitas antimikroba  
Sumber : Lay *et al.* (1994)

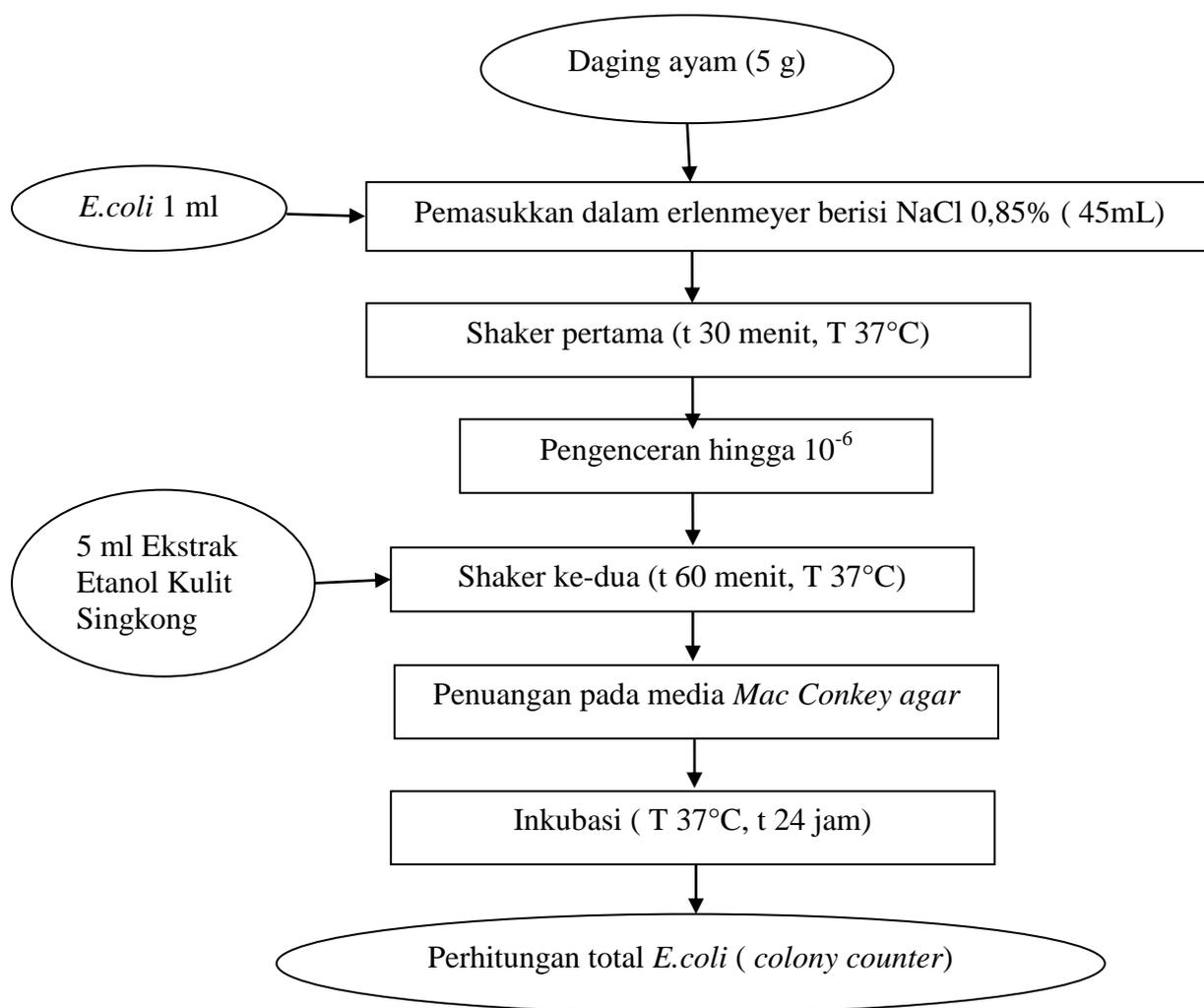
#### 3.4.6. Uji Penurunan Total *E.coli*

Daging ayam disiapkan, lalu ditimbang untuk mengetahui beratnya. Selanjutnya, daging ayam dipotong-potong dengan berat 5 g. Daging ayam dicelupkan dalam 1 ml kultur bakteri *E.coli*. yang sudah setara dengan standar 0,5 Mc Farland,

selanjutnya ditambah NaCl 0,85% sebanyak 45 ml. Pengenceran dilakukan hingga tingkat pengenceran  $10^{-6}$ . Selanjutnya diambil 1 ml untuk dituang (pour plate) pada cawan petri yang kemudian ditambahkan media *Mac Conkey Agar*. Inkubasi dilakukan dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Bakteri yang tumbuh dalam media dihitung sebagai jumlah awal bakteri *E.coli*. (perhitungan total *E.coli* pada daging ayam disajikan dalam Gambar 9). Selanjutnya 5 g daging ayam tersebut di rendam dan di shaker dalam larutan ekstrak etanol kulit singkong, sebanyak 5 ml pada konsentrasi 100% yang telah diencerkan menggunakan NaCl 0,85% sehingga konsentrasi menjadi 10% selama 60 menit pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  yang bertujuan supaya ekstrak etanol kulit singkong dapat berpenetrasi kedalam daging ayam, lalu dilakukan pour plate sebanyak 1 ml dalam media *Mac Conkey Agar* untuk melihat penurunan jumlah bakteri *E.coli* yang telah diberi ekstrak Total penurunan = Total mikroba awal (tanpa ekstrak) – Total mikroba akhir (dengan ekstrak). Uji penurunan bakteri *E.coli* pada daging ayam disajikan dalam Gambar 10.



Gambar 9. Diagram alir perhitungan total *E.coli* pada daging ayam  
Sumber : Modifikasi Lay *et al.* (1989) dalam Kusuma (2017)

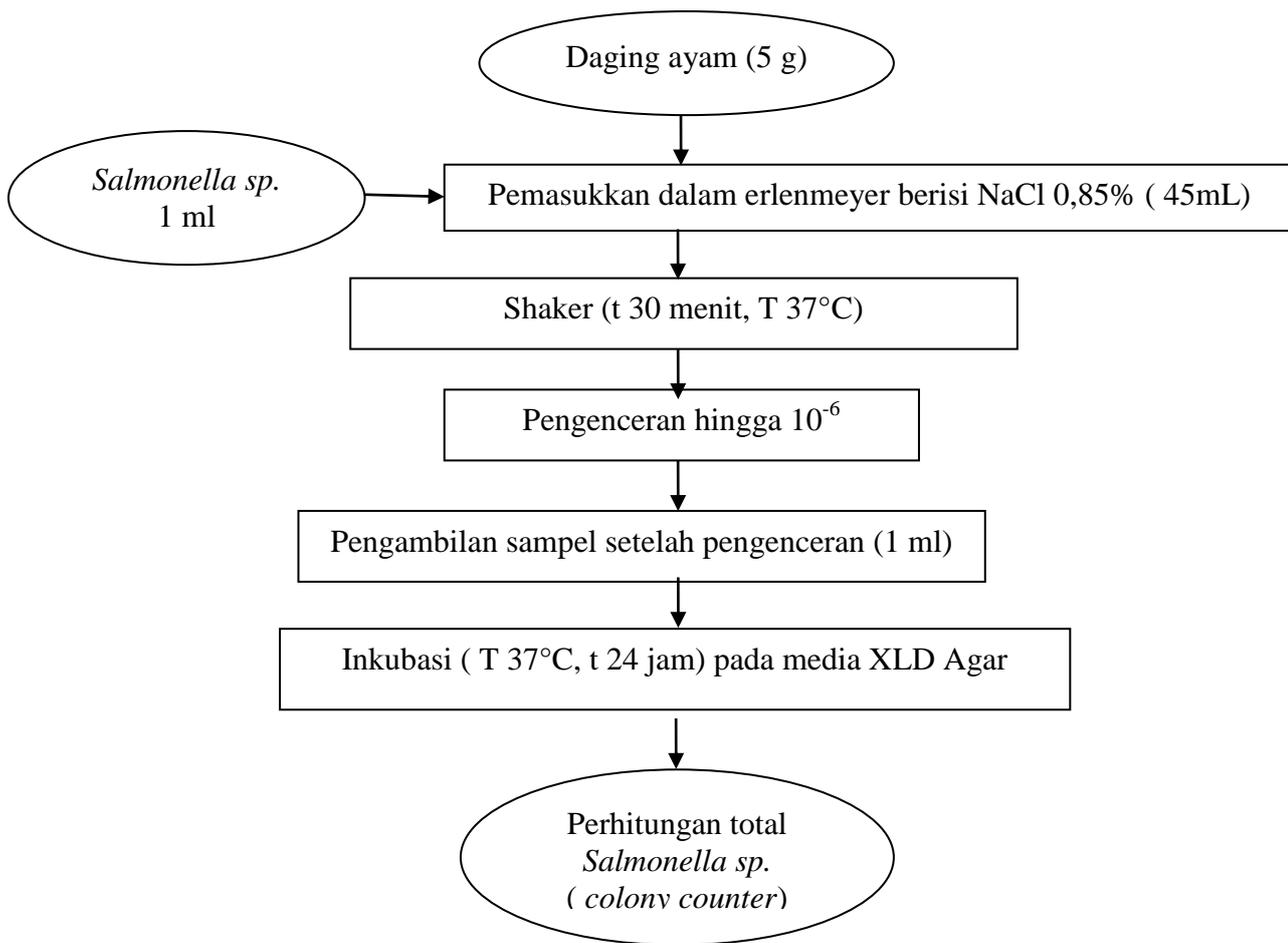


Gambar 10. Diagram uji penurunan total *E.coli* pada daging ayam  
 Sumber : Modifikasi Lay *et al.* (1989) dalam Kusuma (2017)

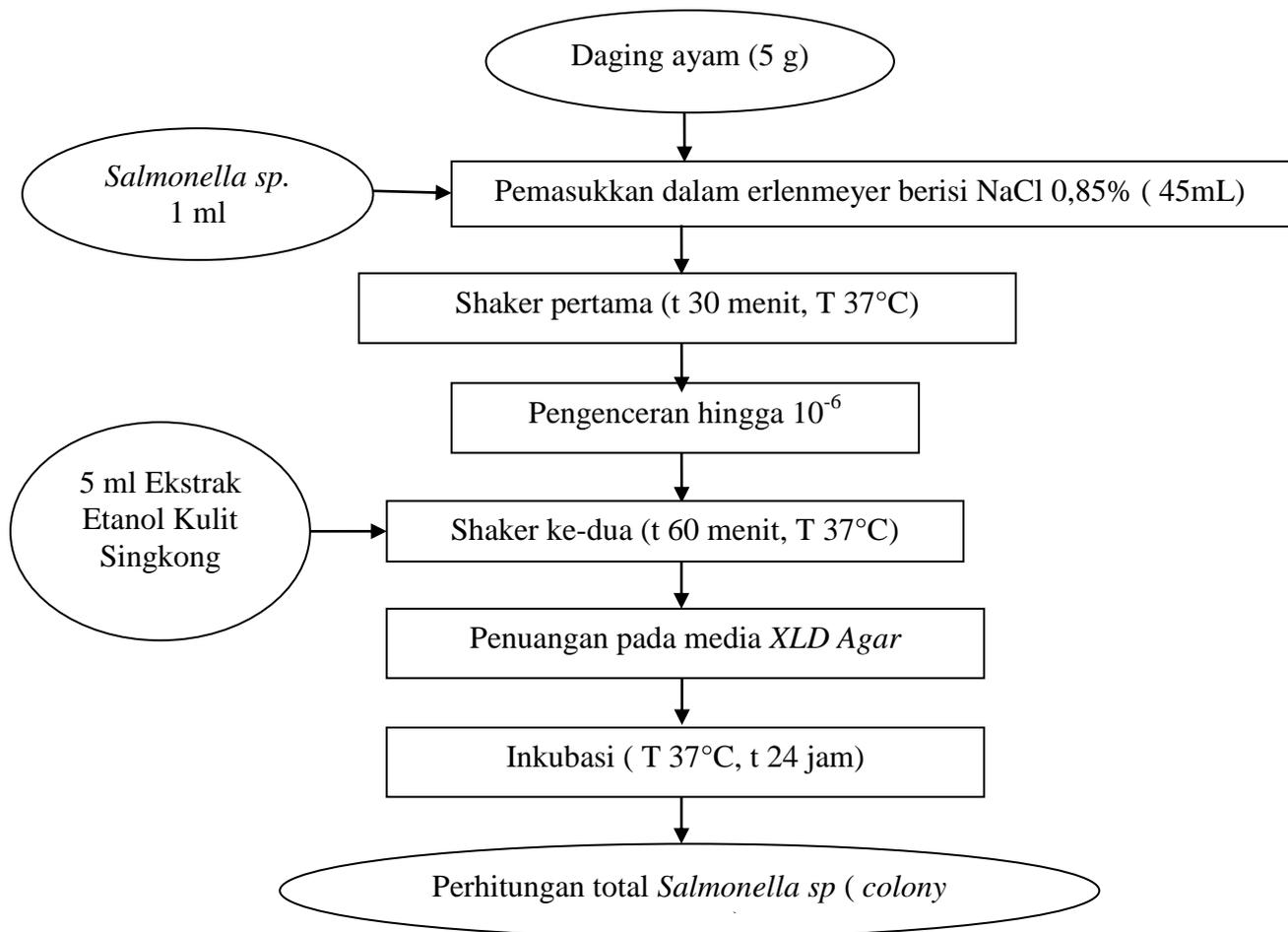
### 3.4.7. Uji Penurunan Bakteri *Salmonella sp.*

Daging ayam disiapkan, lalu ditimbang untuk mengetahui beratnya. Selanjutnya, daging ayam dipotong-potong dengan berat 5 g. Daging ayam dicelupkan dalam 1 ml kultur bakteri *Salmonella sp.* yang sudah setara dengan standar 0,5 Mc Farland, selanjutnya ditambah NaCl 0,85% sebanyak 45 ml. Pengenceran dilakukan hingga tingkat pengenceran  $10^{-6}$ . Selanjutnya diambil 1 ml untuk dituang (pour plate) pada cawan petri yang kemudian ditambahkan media XLD

Agar. Inkubasi dilakukan dengan suhu 37°C selama 24 jam. Bakteri yang tumbuh dalam media dihitung sebagai jumlah bakteri *Salmonella sp.* (perhitungan total *Salmonella sp.* pada daging ayam disajikan dalam Gambar 11). Selanjutnya 5 g daging ayam tersebut di rendam dan dishaker dalam larutan ekstrak etanol kulit singkong sebanyak 5 ml pada konsentrasi 100% yang telah diencerkan menggunakan NaCl 0,85% sehingga konsentrasi menjadi 10% selama 60 menit pada suhu 37°C yang bertujuan supaya ekstrak etanol kulit singkong dapat berpenetrasi kedalam daging ayam, kemudian dilakukan pour plate sebanyak 1 ml dalam media XLD Agar untuk melihat penurunan jumlah bakteri *Salmonella sp.* yang telah diberi ekstrak. Total penurunan = Total mikroba.(tanpa ekstrak) – Total mikroba(dengan ekstrak). Uji penurunan bakteri *Salmonella sp.* pada daging ayam disajikan dalam Gambar 12.



Gambar 11. Diagram alir perhitungan total *Salmonella sp.* pada daging ayam  
Sumber : Modifikasi Triwibowo *et al.* (2013)



Gambar 12. Diagram alir uji penurunan bakteri *Salmonella sp.* pada daging ayam  
Sumber : Modifikasi Triwibowo *et al.* (2013)

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

1. Ekstrak etanol kulit singkong memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella sp* pada daging ayam. Ekstrak etanol kulit singkong mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dengan diameter daya hambat sebesar 10.08 mm (aktivitas antibakteri sedang) dan memiliki kemampuan antimikroba terhadap *Salmonella sp.* dengan diameter daya hambat sebesar 9.17 mm (aktivitas antibakteri sedang) pada konsentrasi ekstrak etanol kulit singkong 100%. Konsentrasi ekstrak 80%, 60%, 40%, dan 20%, masing-masing diameter daya hambat yang terbentuk 8.98 mm, 8.67 mm, 8.62 mm, 8.45 mm terhadap *Escherichia coli* dan 8.58 mm, 8.22 mm, 7.73 mm, 7.56 mm terhadap *Salmonella sp.*
2. Konsentrasi terbaik ekstrak etanol kulit singkong sebagai antimikroba alami pada daging ayam adalah 100% dengan total penurunan terhadap *Escherichia coli* sebesar  $5.8 \times 10^7$  cfu/g ( 69.05%) dan total penurunan terhadap *Salmonella sp* sebesar  $4.0 \times 10^7$  cfu/g (41.17%) dengan pengenceran menggunakan larutan fisiologis NaCl 0,85% sehingga konsentrasi ekstrak menjadi 10%..

## 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut Uji GCMS dan HPLC untuk mengetahui kadar senyawa antimikroba lainnya yang terkandung dalam kulit singkong, serta perlu dilakukan uji sensori untuk mengetahui tingkat penerimaan konsumen terhadap daging ayam yang telah direndam dengan ekstrak etanol kulit singkong. Disarankan antimikroba alami ini digunakan pada produk mentah yang kemudian dilakukan proses pengolahan secara terbuka (pemasakan tanpa penutupan) untuk mengurangi kadar tanin sehingga aman dikonsumsi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aksakal, A. 2010. Analysis of Whole Cell Protein Profiles of *Salmonella* Serovars Isolated from Chicken, Turkey and Sheep Faeces by *SDS-PAGE*. *Veteriner Medical*. 55(6):259-263.
- Ami, M. S. 2016. Kajian Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang dan Buah Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, hlm.162-166.
- Andriani. 2008. *Escherichia coli* sebagai Penyebab Penyakit Zoonosis. *Jurnal Litbang Deptan*. 5(28):173-176.
- AOAC. 1925. *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC.
- Atman, R. 2011. *Varietas dan Teknologi Ubi Kayu*. BPTP: Sumatra Barat.
- Basset, J., R. C. Denny, G. H. Jeffery, dan J. Mendham. 1994. *Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Best, G. K. 1999. *Antibacterial Chemotherapy*. www. Pharminto.com. diakses 10 Maret 2018.
- Bell, C. and A. Kyriakides. 2002. *Salmonella*. USA: Blackwell Science
- Berdy, J. 2005. Bioactive Microbial Metabolitas. *J Antibiotics Research Association*. 58(1):1-26.
- BSN (Badan Standardisasi Nasional). 2009. SNI 7388:2009 *Tentang Mutu Daging Ayam*. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- Corner, D.E. 1995. *Naturally Occurring Compounds in Antimicrobial in Food*. Marcell Dekker, Inc. New York.
- Coursey, D.G . 1973. *Cassava as Food . Toxicity and Technology* . Didalam : *Chronic Cassava Toxicity*. Editor Barry Nestel and Regional Mal Intyre . IDRC, Ottawa, Canada .

- Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(1):564-582
- Davis, W.W., and T. R. Stout. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology*. 22:659-665.
- Dewi E.S., E.S. Latifa, Fawwarahly, dan R. Kautsar. 2016. Kualitas Mikrobiologis Daging Unggas di RPA dan yang Beredar di Pasaran. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*. 4(1):378-385
- Ditjen POM, Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Dwidjoseputro. 1994. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan. Jakarta.
- Fadhilla, R. 2010. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Tumbuhan Lumut Hati (*Marchantia paleacea*) terhadap Bakteri Patogen dan Pembusuk Makanan. (Tesis): Program Studi Ilmu Pangan, IPB, Bogor
- Fardiaz, S. 1989. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Pangan*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. IPB. Bogor.
- Fessenden, R. and J.S. Fessenden. 1990. *Kimia Organik*. Diterjemahkan oleh Pudjaatmaka, A.H. Erlangga. Jakarta.
- Frazier, W.C, and D.C. Westhood. 1978. *Food Microbiology 2<sup>nd</sup>*: Mc Graw-Hills Company Inc. New York.
- Gagola, C., E. Suryanto, dan D. Wewengkang. 2014. Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Fenolik Cortex Umbi Ubi Kayu (*Manihot Esculenta*) Daging Putih dan Daging Kuning yang Diambil dari Kota Melonguane Kabupaten Kepulauan Talaud. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 3(2):115-123.
- Gunawan, I.W.G., I.G.A.G. Bawa, dan N. L. Sutrisnayanti. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid yang Aktif Antibakteri pada Herba Meniran (*Phyllanthus niruri Linn*). *Jurnal Kimia*. 2(1):31-39.
- Harbone, J.B. 1996. *Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Diterjemahkan oleh K. Padmawinata dan I. Soediro. ITB. Bandung.
- Hariyadi, R.D. 2005. *Bakteri Indikator Sanitasi dan Keamanan Air Minum*. [http://web.ipb.ac.id/~tpg/de/pubde\\_fdsf\\_bctrindktr.php](http://web.ipb.ac.id/~tpg/de/pubde_fdsf_bctrindktr.php). Diakses tanggal 23 Juni 2017.

- Hartari, W.R. 2018. 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). Program Studi Magister Teknologi Industri Pertanian. Unila, Bandar Lampung.
- Heruwati, E.S., H.E. Widyasari, dan J. Haluan. 2007. Pengawetan Ikan Segar Menggunakan Biji Picung (*Pangium edule R.*). *Jurnal Pacapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 2(1):1-9.
- Ikmalia. 2008. Analisa Profil Protein Isolat *Escherichia coli* Hasil Iradiasi Sinar Gamma. (Skripsi). Fakultas Sains Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Istiana, S. 2005. Perbandingan Daya Antibakteri Perasan Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata Roxb.*) dengan Bawang Putih (*Allium sativum, L.*) terhadap *Staphylococcus aureus*. (Skripsi). Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. Surabaya.
- Jawetz, E., J. L. Melnick, and E. A. Adelberg. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi XXII. Terjemahan :bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Salemba Medika. Surabaya.
- Jones, D.S. 2010. *Statistik Farmasi*. Penerjemah: H.U. Ramadanianti., dan H. Rivai. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Kaur, S.P., R.Rao and S. Nanda . 2011. Amoxicillin A B Road Spectrum Antibiotic. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*. 3(3):30-37.
- Koswara, S. 2009. *Teknologi Praktis Pengolahan Daging*. eBookpangan.com. Diakses tanggal 20 November 2017.
- Kusuma, S. N. 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*). (Skripsi). Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
- Lay, W.B. 1994. *Analisa Mikroba di Laboratorium*. Edisi I. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoid, Fenilpropanoid dan Alkaloid*. USU. Medan.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko, and J. Parker. 2003. *Biology of Microorganism*. 10<sup>nd</sup>. Prentice Hall, USA: 707-726, 815-818, Apendix 2 A-5.

- Masduki, I. 1996. Efek Antibakteri Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu*) terhadap *S.aureus* dan *E.coli*. *Cermin Dunia Kedokteran*. 10(9):21-24.
- Matasyoh, L. G. 2014. Antimicrobial Assay and Phyto Chemical Analysis of *Solanum nigrum* Complex Growing in Kenya. *African Jurnal of Microbiology Research*. 8(50):156-165.
- Marliena, L. 2016. Uji Bakteriologis dan Organoleptik Daging Ayam (*Gallus domesticus*) di Pasar Tradisional dan Pasar Modern Kota Bandar Lampung. (Skripsi). Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
- Melliawati, R. 2009. *E.coli* dalam Kehidupan Manusia. *Biotrends*. 4(1):1-6.
- Miliotis, M.D dan J. Bier, W. 2003. *International Handbook of Foodborne Pathogenens*. Marcel Dekker Inc. USA.
- Monalisa, D. 2011. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Tapak Liman (*Elephantopus scabir L.*) terhadap *S. aureus* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal Bioma*. 9(2):1-7.
- Morin, R. B. and M. Gorman. 1995. Kimia dan Biologi Antibiotik  $\beta$ -lactam (Chemistry and Biology  $\beta$ -lactam Antibiotics. Edisi III. Diterjemahkan oleh Mulyani S. IKIP Semarang Press. Semarang
- Murtidjo, B.A. 2003. *Pemotongan, Penanganan, dan Pengolahan Daging Ayam*. Yogyakarta: Kanisius Media.
- Ningsih, A.P., Nurmiati dan A. Agustien. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kental Tanaman Pisang Kepok Kuning (*Musa paradisiaca Linn.*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Echerichia coli*. *Jurnal Biologi Universtas Andalas*. 2(3): 207-213.
- Noviana, H. 2004. Pola Kepekaan Antibiotik *Escherichia coli* yang Diisolasi dari Berbagai Spesimen Klinis. (Skripsi). Fakultas Kedokteran Universitas Katolik Atma Jaya. Jakarta.
- Nugroho, F., P.I. Utami dan I. Yuniastuti. 2011. Evaluasi Penggunaan Antibiotik pada Penyakit Pneumonia di Rumah Sakit Umum Daerah Purbalingga. *Jurnal Farmasi*. 8(1):134-144
- Pelczar, M. J. and R.D. Reid. 1979. *Microbiology*. Mc Graw-Hill. Singapore
- Pelczar, Michel J.Jr, and E.C.S. Chan. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Diterjemahkan oleh Ratna Sri, H. UI Press. Jakarta.
- Portillo, F.G. 2000. *Molecular and cellular biology o f Salmonella pathogenesis in microbial foodborne disease: Mechanisms of pathogen esis and toxin synthesis* . Technomic Publishing Company . Inc.

- Pradana, Dedi., D. Suryanto, dan Y. Djayus. 2013. Uji Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang *Rhizophora mucronata* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus agalactiae* dan Jamur *Saprolegnia sp.* *J Aquacoastmarine*. 2(1):78-92
- Prescott, L. M. 2005. *Microbiology*. Mc. Grow-Hill: New York
- Primajati, S.E. 2011. Deteksi Bakteri Patogen *Salmonella sp* dan *Listeria monocytogenes* pada Karkas Ayam Broiler Segar yang Beredar Di Kota Malang. (Skripsi). Universitas Brawijaya. Malang
- Purnawijayanti, H. A. 2001. *Sanitasi, Higiene, dan Keselamatan Kerja dalam Pengolahan Makanan*. Kanisius. Yogyakarta.
- Putri, F. D. 2017. Kajian Pengendalian Cemaran *Salmonella sp.* pada Udang Putih (*Litopenaeus vannamei*) Menggunakan Antimikroba Alami dari Buah dan Daun Tomat Cherry (*Lycopersicum cerasiformae Mill.*). (Skripsi). Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
- Ray B. 2001. *Fundamental Food Microbiology*. Ed ke-2. Boca Raton: CRC Pr.
- Razak, A., A. Djamali, dan G. Revila. 2013. Uji Daya Hambat Air Perasan Buah Jeruk Nipis (*Cirus aurantifolia*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *S.aureus* secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2(1):1-4.
- Reveny, J. 2011. Daya Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih (*Piper betle Linn.*). *Jurnal Ilmu Dasar*. 12(1): 6-12
- Richana, N. 2013. *Mengenal Potensi Ubi Kayu dan Ubi Jalar*. Nuansa Cendikia. Bandung
- Riemann, H. and F.L. Byan. 1979. *Foodborne Infection and Intoxication*. 2nd edition. Academic Press Inc. San Diego
- Rusdi. 1990. *Tetumbuhan sebagai Sumber Bahan Obat*. Pusat Penelitian Universitas Andalas. Padang.
- Salim, E. 2011. *Pemanfaatan Kulit Singkong Menjadi Tepung Mocaf sebagai Alternatif Pengganti Terigu*. Lily Publisher. Yogyakarta.
- Saptarini, K. 2009. Isolasi *Salmonella sp.* pada Sampel Daging Sapi di Wilayah Bogor serta Uji Ketahanannya terhadap Proses Pendinginan dan Pembekuan. (Tesis). Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- 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.
- Sartika, D., Susilawati, dan A. Gusman. 2016. Identifikasi Cemaran *Salmonella Sp.* pada Ayam Potong dengan Metode Kuantifikasi di Tiga Pasar Tradisional dan Dua Pasar Modern di Kota Bandar Lampung. *Jurnal Teknologi Industri & Hasil Pertanian*. 21(2):89-96.
- Sasmita, Y., I.G. Suarjana., dan M.D. Rudyanto. 2014. Cemaran *Escherichia Coli* pada Daging Broiler yang Disimpan di *Showcase* di Swalayan di Denpasar. *J. Indonesia Medicus Veterinus*. 3(1):68-72
- Serbeniuk F. 2002. Non-typhoidal *Salmonella*.  
[http://www.wou.edu/las/natsci\\_math/biology/boomer/Bio440/emerging2002/Salmonella2](http://www.wou.edu/las/natsci_math/biology/boomer/Bio440/emerging2002/Salmonella2). Tanggal akses 28 Februari 2018
- Setianto, M. S. 2009. *Pengaruh Konsentrasi Pala dan Lama Penyimpanan Suhu Dingin terhadap Jumlah Bakteri Coliform dan Tekstur Daging Sapi*.  
<http://sonyaza.blogspot.com/2009/01/pengaruh-konsentrasi-pala-danlama.html>. Tanggal Akses : 15 Juni 2017.
- Setiowati, W. E., E. N. Adoni, dan Wahyuningsih. 2011. Mikroba, Residu Antibiotika Sulfa dan Pestisida pada Bahan Asal Hewan di Propinsi Bali, NTB dan NTT tahun 1996-2002. Makalah Workshop Nasional.
- Soeparno. 1992. *Ilmu dan Teknologi Daging*. Edisi I. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Steel, R.G.D. dan J.H. Torrie. 1991. *Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik* (Terjemahan: Bambang Sumantri). PT Gramedia. Jakarta.
- Suharyanto. 2009. *Pengolahan Bahan Pangan Hasil Ternak*. Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu.
- Supardi dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Alumni. Bandung.
- Snyder, C. R., J. J. Kirkland, and J. L. Glajach. 1997. *Practical HPLC Method Development*. 2<sup>nd</sup>. John Wiley and Sons, Lnc. New York. Pp. 722-723.
- Tarmudji. 2008. *Salmonellosis yang Zoonosis*. <http://bbalitvet.litbang.deptan.go.id/>. Diakses 26 Juli 2017.

- Tiwari, A.K., M. Swapna., S. Ayesha, B., A. Zehra, B. Agawane,S. and K, Maddhusudaa. 2011. Identification of proglycemic and Antihyperglycemic Activity in Antioxidant Rich Fraction of Some Common Food Grains. *International Food Research Journal* 18(3): 915–923.
- Triwibowo, R. Rachmawati., dan I. Hermana. 2013. Penggunaan Cetylperidinium Chloride sebagai Anti Bakteri pada Udang. *J. JPB Perikanan*. 8(2):153.
- Ultee, A., R.A. Slump, G. Steging, and E.J. Smid. 2000. Antimicrobial Activity of Carvacrol Toward *Bacillus cereus* on Rice. *J Food Protect.* (5):620-524.
- Wax, G.R., K. Lewis, A.A. Salyer, dan H. Taber. 2008. *Bacterial Resistance to Antimicrobials*. 2<sup>nd</sup>. CRC Press. London.
- Yi, B., Hu, L., Mei, W., Zhou, K., Wang, H., Luo, Y., Wei, X, and Dai, H. 2010. Antioxidant Pheolic Compounds of Cassava ( *Manihot esculenta*) from Hainan Molecules. *Journals Molecules*. 16(2):10157-10167.