

**PENURUNAN CEMARAN *Salmonella sp.* DAN *Escherichia coli* PADA
DAGING IKAN TONGKOL (*Euthynnus affinis*) MENGGUNAKAN
ANTIMIKROBA ALAMI DARI EKSTRAK ETANOL DAUN SINGKONG
MANALAGI (*Manihot utilisima*)**

(Skripsi)

Oleh

AHMAD SYAIFULAH



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

ABSTRACT

CONTAMINATION REDUCTION OF *Salmonella sp.* AND *Escherichia coli* IN MACKEREL MEAT (*Euthynnus affinis*) BY USING NATURAL ANTIMICROBIAL AGENT FROM MANALAGI CASSAVA LEAF ETHANOL EXTRACT (*Manihot utilisima*)

By

AHMAD SYAIFULLAH

Mackerel is one of the marine fisheries that is easily damaged by enzymes and microbial contamination of *Salmonella sp.* and *Escherichia coli*. On the other hand, cassava leaves contain antimicrobial compounds that can be used to reduce microbial contamination. This research aimed to determine the inhibitory power of ethanol extract of Manalagi cassava leaves against contamination of *Salmonella sp.* and *Escherichia coli*, determine the best concentration of ethanol extract of cassava leaves to inhibit the growth of contamination of *Salmonella sp.* and *Escherichia coli*, and determine the decrease in contamination of *Salmonella sp.* and *Escherichia coli* on tuna meat using ethanol extract of Manalagi cassava leaves. The research was designed using a completely randomized design with seven treatments and carried out in 3 replications. The treatments consisted of 5 levels of concentration of Manalagi cassava leaf ethanol extract; 100%(v/v), 80%(v/v), 60%(v/v), 40%(v/v), and 20%(v/v); one treatment of positive control (96% ethanol); and one treatment of negative control (aquades). The inhibitory

zone data obtained were tested by analysis of variance and continued with the LSD test at a 95% confidence level. The results showed that the best concentration of ethanol extract of Manalagi cassava leaves in inhibiting the growth of *Salmonella sp.* and *Escherichia coli* was 100%, with diameter inhibition of 1.51 mm and 2.39 mm, respectively. The application of ethanol extract of Manalagi cassava leaves at a concentration of 10% in tuna meat reduced population of *Salmonella sp.* at 4.7×10^5 cfu/g (22.5%) and *Escherichia coli* at 3.6×10^5 cfu/g (22.13%).

Keywords : antimicrobial, cassava leaves, *E. Coli*, mackerel, *Salmonella sp.*

ABSTRAK

PENURUNAN CEMARAN *Salmonella sp.* DAN *Escherichia coli* PADA DAGING IKAN TONGKOL (*Euthynnus affinis*) MENGGUNAKAN ANTIMIKROBA ALAMI DARI EKSTRAK ETANOL DAUN SINGKONG MANALAGI (*Manihot utilisima*)

Oleh

AHMAD SYAIFULLAH

Ikan tongkol merupakan salah satu hasil perikanan laut yang mudah mengalami kerusakan oleh enzim dan kontaminasi mikroba *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli*. Daun singkong memiliki kandungan senyawa antimikroba yang dapat digunakan untuk menurunkan kontaminasi mikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol daun singkong Manalagi terhadap cemaran *Salmonellasp.* dan *Echerichia coli*, menentukan konsentrasi terbaik ekstrak etanol daun singkong dalam menghambat pertumbuhan cemaran *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli*, dan mengetahui penurunan cemaran *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli* pada daging ikan tongkol menggunakan ekstrak etanol daun singkong Manalagi. Penelitian didesain menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan tujuh perlakuan dan dilakukan dalam 3 kali ulangan. Perlakuan terdiri dari 5 taraf konsentrasi ekstrak etanol daun singkong Manalagi yaitu 100%, 80%, 60%, 40%, 20%, dan satu perlakuan kontrol positif (etanol 96%), serta satu perlakuan kontrol negatif (aquades). Data zona hambat

yang diperoleh diuji dengan analisis sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji BNT pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Konsentrasi terbaik ekstrak etanol daun singkong Manalagi dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli* adalah 100%, dengan diameter hambatan masing-masing sebesar 1,51 mm dan 2,39 mm. Aplikasi ekstrak etanol daun singkong Manalagi dengan konsentrasi 10% pada daging ikan tongkol dapat menurunkan *Salmonella sp.* sebesar $4,7 \times 10^5$ cfu/g (22,5%) dan *Escherichia coli* sebesar $3,6 \times 10^5$ cfu/g (22,13%).

Kata kunci: antimikroba, daun singkong, *E. coli*, ikan tongkol, *Salmonella sp.*

**PENURUNAN CEMARAN *Salmonella sp.* DAN *Escherichia coli* PADA
DAGING IKAN TONGKOL (*Euthynnus affinis*) MENGGUNAKAN
ANTIMIKROBA ALAMI DARI EKSTRAK ETANOL DAUN SINGKONG
MANALAGI (*Manihot utilisima*)**

Oleh

AHMAD SYAIFULAH

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
2019**

Judul Skripsi : **PENURUNAN CEMARAN *Salmonella sp.*
DAN *Escherichia coli* PADA DAGING IKAN
TONGKOL (*Euthynnus affinis*)
MENGUNAKAN ANTIMIKROBA ALAMI
DARI EKSTRAK ETANOL DAUN SINGKONG
MANALAGI (*Manihot utilisima*)**

Nama Mahasiswa : **Ahmad Syaifullah**

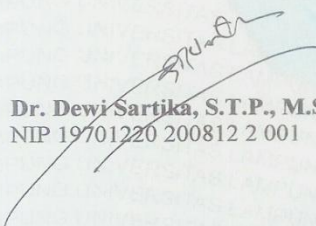
Nomor Pokok Mahasiswa : 1414051005

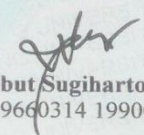
Program Studi : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Pertanian

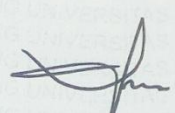
MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing


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


Ir. Ribut Sugiharto, M.Sc.
NIP 19660314 199003 1 009

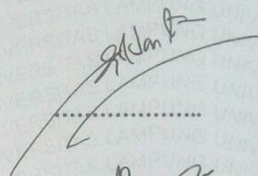
2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian


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

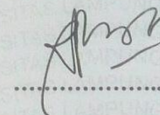
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

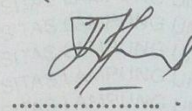
Ketua : **Dr. Dewi Sartika, S.T.P., M.Si.**



Sekretaris : **Ir. Ribut Sugiharto, M.Sc.**



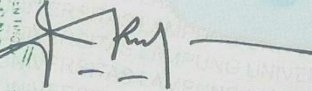
Penguji
Bukan Pembimbing : **Prof. Ir. Neti Yuliana, M.Si., Ph.D.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



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



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 29 Maret 2019

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya adalah Ahmad Syaifullah NPM 1414051005

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil kerja saya sendiri yang berdasarkan pada pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah 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, April 2019
Yang membuat pernyataan



Ahmad Syaifullah
NPM. 1414051005

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Desa Totokaton, Kecamatan Punggur, Kabupaten Lampung Tengah pada 08 November 1996, sebagai anak kedua dari tiga bersaudara, dari pasangan Bapak Jajak Saefudin dan Ibu Ermawanah. Penulis memiliki 1 orang kakak bernama Adrian Eka Saputra dan adik bernama Luthfiyatunnisa.

Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SD Negeri 3 Kotagajah pada tahun 2008, kemudian melanjutkan pendidikan menengah pertama di SMP Negeri 1 Punggur dan lulus pada tahun 2011. Pada tahun 2011, penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di SMA Negeri 1 Kotagajah dan lulus pada tahun 2014. 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 Mataram Ilir, Kecamatan Seputih Surabaya, Kabupaten Lampung Tengah. Pada bulan Juli sampai Agustus 2017, penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Republik Indonesia, Kecamatan Johar Baru, Kota Jakarta Pusat, Daerah Khusus Ibukota Jakarta dan menyelesaikan laporan PU yang berjudul “Mempelajari Pendaftaran

dan Sistem Penilaian Keamanan Pangan di Direktorat Penilaian Keamanan Pangan (PKP) Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) RI”.

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah aktif di Forum Ilmiah Mahasiswa (FILMA) Fakultas Pertanian sebagai Tutor Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Forum Komunikasi (FORKOM) Bidikmisi Universitas Lampung sebagai Sekretaris Umum (SEKUM) masa kepengurusan 2015-2016. Penulis pernah terpilih menjadi Duta Fakultas Pertanian pada tahun 2017-2018.

SANWACANA

Puji syukur kepada Allah atas segala nikmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini yang berjudul “Penurunan Cemaran *Salmonella sp.* dan *Eschericia coli* pada Daging Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*) oleh Antimikroba Alami dari Ekstrak Etanol Daun Singkong Manalagi (*Manihot utilissima*)”. Dalam penulisan skripsi ini, penulis mendapatkan banyak bantuan, bimbingan, dan motivasi secara langsung ataupun tidak langsung dari berbagai pihak. Oleh sebab itu, 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 Akademik sekaligus Pembimbing I skripsi, terimakasih atas bantuan, bimbingan, saran, dan motivasi selama menjalani perkuliahan serta proses penelitian hingga penyelesaian skripsi Penulis.
4. Bapak Ir. Ribut Sugiharto, M.Sc., selaku Dosen Pembimbing II skripsi atas bimbingan, saran, dan motivasi yang telah diberikan selama proses penelitian hingga penyelesaian skripsi.

5. Ibu Prof. Ir. Neti Yuliana, M.Si., PhD., selaku Dosen Pembahas atas bimbingan, saran, dan evaluasinya terhadap skripsi Penulis.
6. Seluruh Bapak dan Ibu Dosen, Staff di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung dan seluruh pihak Laboratorium Bakteriologi Balai Veteriner Lampung.
7. Kedua Orang Tua, Kakak, dan Adik tercinta, terimakasih atas kehangatan keluarga yang diberikan kepada Penulis, serta motivasi dan doa yang selalu diberikan.
8. Restu Putri Fitarni terima kasih atas kebersamaan, dukungan, serta semangat yang telah diberikan.
9. Teman-teman yang telah banyak membantu Penulis selama perkuliahan serta penyelesaian skripsi ini.

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

Bandar Lampung, Maret 2019

Penulis,

Ahmad Syaifullah

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
 I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Kerangka Pemikiran	4
1.4 Hipotesis	6
 II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Antimikroba	7
2.1.1 Mekanisme Kerja Antimikroba	8
2.2 Singkong	10
2.2.1 Daun Singkong	12
2.3 Karakteristik Ikan Tongkol (<i>Euthynnus affinis</i>).....	15
2.3.1 Mutu Ikan Tongkol	18
2.4 <i>Salmonella sp</i>	20
2.5 <i>Echericha coli</i>	22
 III. METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	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	29
3.4.3 Uji Zona Hambat Antimikroba.....	30
3.4.4 Uji Angka <i>Salmonella sp.</i> dan <i>Eschericia coli</i> pada Daging Ikan Tongkol.....	31
3.4.5 Uji Penurunan <i>Salmonella sp.</i> dan <i>Eschericia coli</i>	33
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Ekstrak Etanol Daun Singkong	35
4.2 Zona Hambat Antimikroba	37
4.3 Uji Angka <i>Salmonella sp.</i> dan <i>Eschericia coli</i> pada Daging Ikan Tongkol	44
4.4 Uji Penurunan <i>Salmonella sp.</i> dan <i>Eschericia coli</i> pada Daging Ikan Tongkol	45
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	51
5.2 Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	60

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan zat gizi daun singkong	12
2. Senyawa fitokimia daun singkong	13
3. Ciri-ciri ikan segar bermutu tinggi dan rendah secara organoleptik	19
4. Syarat mutu mikrobiologis ikan segar	20
5. Diameter daya hambat ekstrak etanol daun singkong manalagi terhadap <i>Salmonella sp.</i> dan <i>Escherichia coli</i>	37
6. Hasil uji angka <i>Salmonella sp.</i> dan <i>Escherichia coli</i> pada daging ikan tongkol	44
7. Hasil uji penurunan <i>Salmonella sp.</i> dan <i>Escherichia coli</i> pada daging ikan tongkol menggunakan konsentrasi 10%	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Umbi singkong Manalagi (a), Batang singkong Manalagi (b), dan daun singkong Manalagi (c)	11
2. Ikan Tongkol (<i>Euthynnus affinis</i>)	16
3. <i>Salmonella sp.</i>	21
4. <i>Eschericia coli</i>	23
5. Diagram alir ekstraksi daun singkong	30
6. Diagram alir uji zona hambat	31
7. Diagram alir uji angka <i>Salmonella sp.</i> dan <i>Eschericia coli</i>	32
8. Diagram alir uji penurunan <i>Salmonella sp.</i> dan <i>Eschericia coli</i>	34
9. Daun singkong (a), simplisia daun singkong (b), dan ekstrak etanol daun singkong (c).....	35
10. Tampilan ekstrak etanol daun singkong dengan konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40%, dan 20%	37
11. Grafik hasil uji lanjut BNT taraf 5% diameter daya hambat ekstrak etanol daun singkong terhadap bakteri <i>Salmonella sp.</i> (BNT 5% = 0.241)	39
12. Grafik hasil uji lanjut BNT taraf 5% diameter daya hambat ekstrak etanol daun singkong terhadap bakteri <i>Eschericia coli</i> (BNT 5% = 0.364)	40

13. Tampilan daerah hambatan ekstrak terhadap bakteri Salmonella sp. (a) konsentrasi 100%, (b) konsentrasi 80%, (c) konsentrasi 60%, (d) konsentrasi 40%, (e) konsentrasi 20%, (f) etanol 96% dan aquades	43
14. Tampilan daerah hambatan ekstrak terhadap bakteri Eschericia coli (a) konsentrasi 100%, (b) konsentrasi 80%, (c) konsentrasi 60%, (d) konsentrasi 40%, (e) konsentrasi 20%, (f) etanol 96% dan aquades	43
15. Daging ikan tongkol (a), daging ikan tongkol dengan perendaman dalam ekstrak etanol daun singkong (b).....	50

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan merupakan salah satu hasil laut yang cukup tinggi produksinya. Berdasarkan data BPS (2017), produksi perikanan laut di Indonesia tahun 2013, 2014 dan 2015 berturut-turut 5.707 ton, 6.038 ton, dan 6.205 ton. Ikan merupakan bahan pangan yang memiliki kandungan zat gizi yang tinggi, seperti protein, lemak, mineral, karbohidrat dan air (Suriawiria, 2005). Tetapi ikan termasuk bahan pangan yang mudah rusak. Sehingga untuk memertahankan mutu ikan perlu dilakukan penanganan khusus (Widiastuty, 2008). Kerusakan yang terjadi diantaranya kerusakan biologis oleh enzim ataupun mikroorganisme pembusuk. Ikan mudah menjadi busuk diakibatkan adanya perubahan kimiawi pada ikan yang sudah mati (Suriawiria, 2005).

Ikan tongkol mudah mengalami kerusakan yang diakibatkan kandungan lemak yang teroksidasi. Selain itu kerusakan dapat disebabkan oleh kontaminasi mikroba dan adanya kandungan asam amino bebas yang dapat membantu metabolisme mikroorganisme, serta memproduksi ammonia, biogenik amin, asam organik, keton dan komponen sulfur. Berdasarkan hasil penelitian Puri (2016) diketahui cemaran mikroba pada ikan tongkol di pasar tradisional, pasar modern dan pasar gudang

lelang kota Bandar Lampung adalah $6,5 \times 10^4$ Cfu/g, *Escherichia coli* $1,53 \times 10^3$ Cfu/g, dan *Salmonella sp.* 3×10^1 Cfu/g.

Ikan tongkol diketahui memiliki kandungan protein dan asam lemak omega-3 yang tinggi (Katzung, 2001). Pada ikan tongkol terkandung histamin yang dijadikan salah satu indikator kesegaran ikan tongkol, karena histamin dapat menyebabkan keracunan pada orang yang mengonsumsinya. Histamin pada ikan tongkol dihasilkan dari perombakan asam amino histidin yang terkandung dalam ikan oleh bakteri, dan mengeluarkan enzim histidin dekarboksilase, yang selanjutnya menjadi histamin (Wei *et al.*, 1990).

Salah satu upaya penghambatan terjadinya kerusakan dan kontaminasi mikroba adalah dengan menyimpan ikan tongkol di tempat yang steril dengan menggunakan suhu beku dan penggunaan bahan-bahan pengawet yang bersifat antimikroba (Setianto, 2009). Maraknya pemberitaan saat ini tentang penyalahgunaan bahan-bahan kimia berbahaya sebagai bahan pengawet yang tidak sesuai dengan peruntukkannya seperti formalin yang telah membuat resah masyarakat. Formalin tidak diperbolehkan digunakan sebagai bahan pengawet makanan, karena dapat menyebabkan keracunan makanan yang bersifat akut serta dampak akumulasi bahan kimia yang bersifat karsinogen yang dapat memicu kanker (IARC, 2006).

Hasil survey yang dilakukan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan Indonesia pada tahun 2010 menunjukkan penggunaan formalin pada ikan dan hasil laut menempati peringkat teratas yakni, 66% dari total 786 sampel. Mengingat bahaya

yang diakibatkan oleh formalin, maka perlu digunakan bahan pengawet alami yang tidak berbahaya bagi kesehatan. Bahan pengawet alami dapat diperoleh dari beberapa tanaman yang mengandung senyawa antimikroba dengan cara mengekstrak senyawa antimikroba tersebut. Daun singkong adalah salah satu bahan yang dapat dijadikan antimikroba.

Saat ini daun singkong manalagi (*Manihot utilissima*) hanya dimanfaatkan untuk konsumsi dan pakan ternak. Zahara (2013) menjelaskan bahwa pada daun singkong diketahui mengandung senyawa aktif yang dapat menjadi antimikroba alami yaitu senyawa flavonoid, triterpenoid, tanin serta saponin. Hasil penelitian Hartari (2018) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun singkong karet (*Manihot glaziovii*) dapat menurunkan cemaran bakteri *Salmonella sp.* sebesar $6,4 \times 10^5$ Cfu/g dan *Escherichia coli* sebesar $3,3 \times 10^5$ Cfu/g. Informasi mengenai penggunaan daun singkong Manalagi (*Manihot utilissima*) sebagai antimikroba masih sangat jarang ditemukan. Oleh karena itu, diperlukan penelitian untuk mengetahui pemanfaatan daun singkong Manalagi sebagai antimikroba guna menurunkan cemaran *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli* pada daging ikan tongkol.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui daya hambat ekstrak etanol daun singkong Manalagi terhadap cemaran *Salmonella sp.* dan *Echerichia coli*.

2. Menentukan konsentrasi terbaik ekstrak etanol daun singkong Manalagi dalam menghambat pertumbuhan cemaran *Salmonella sp.* dan *Echerichia coli*.
3. Mengetahui penurunan cemaran *Salmonella sp.* dan *Echerichia coli* pada daging ikan tongkol menggunakan ekstrak etanol daun singkong Manalagi.

1.3 Kerangka Pemikiran

Ikan tongkol merupakan salah satu bahan pangan yang rentan mengalami kerusakan, kerusakan dapat disebabkan oleh faktor biologis seperti kontaminasi mikroba dan kandungan asam amino bebas yang dapat membantu metabolisme mikroorganisme. Metabolisme mikroorganisme tersebut mampu memproduksi ammonia, biogenic amin, asam organic, keton, dan sulfur (Lu *et al.*, 2010). Bakteri yang dapat mengontaminasi asam amino bebas tersebut diantaranya adalah *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli* (Wei *et al.*, 1990)

Hasil penelitian Zahara (2013) menunjukkan bahwa pada daun singkong mengandung senyawa aktif yang dapat menjadi antimikroba alami, yaitu flavonoid, triterpenoid, tanin serta saponin. Flavonoid, saponin dan triterpenoid diketahui memiliki aktivitas antimikroba, senyawa ini sering ditemukan pada banyak tanaman obat dan diketahui memiliki aktivitas antivirus dan antibakteri. Pada penelitian yang dilakukan Ebuehi *et al.* (2005) menunjukkan ekstrak air daun singkong mengandung alkaloid, tannin, antraquinon, flobatinnin, dan saponin. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan Hasyim *et al.* (2016) menggunakan metode *Folin Ciocalteu* menunjukkan bahwa ekstrak simplisia daun singkong (*Manihot esculenta Crantz*)

mengandung fenolik sebesar 30,70 mg *Gallic Acid Equivalent*/gram pada ekstrak methanol dan 24,38 mg *Gallic Acid Equivalent*/gram pada ekstrak air, serta menunjukkan adanya flavonoid total (menggunakan metode AICI) sebesar 881,33 mg *Retinol Equivalence*/gram pada ekstrak methanol dan 304,17 mg *Retinol Equivalence*/gram pada ekstrak air.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Pratiwi (2016) menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun singkong (*Manihot esculenta Crantz*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella sp.*, peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun singkong yang digunakan berpengaruh terhadap peningkatan diameter zona hambat yang terbentuk. Kemudian pada penelitian yang dilakukan Mutia *et al.* (2017) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta Crantz*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan nilai konsentrasi hambat minimum pada bakteri *Escherichia coli* sebesar 0,0625 % dan pada bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 0,03125%.

Hasil penelitian Muthmainna dan Andi (2018) menunjukkan adanya zona hambatan berwarna bening dan melingkar di sekitar *paper disk*, sebagai tanda bahwa ekstrak etanol daun singkong (*Manihot utilissima*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Penelitian lain yang dilakukan Iswandari (2018) menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot utilissima*) dengan efek penghambatan tertinggi pada pertumbuhan *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli* adalah konsentrasi 100% dengan diameter daya hambat sebesar 9,17 mm dan 10,08 mm. Selain itu pada penelitian yang dilakukan oleh Hartari (2018) menunjukkan

bahwa ekstrak etanol daun singkong karet (*Manihot glaziovii*) terbaik yang mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*, dan *Vibrio sp* adalah konsentrasi 100% dengan diameter daya hambat berturut-turut yaitu 13,00 mm, 12,78 mm, 10,69 mm, 11,07 mm. Penghambatan yang ditunjukkan oleh daun singkong (*Manihot esculenta Crantz*) terhadap *Escherichia coli*, *Shigela sp.*, dan *Staphylococcus aureus*, kemudian penghambatan oleh kulit singkong (*Manihot utilisima*) terhadap *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* serta penghambatan oleh daun singkong karet (*Manihot glaziovii*) terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*, dan *Vibrio sp*. membuat adanya dugaan bahwa daun singkong (*Manihot utilisima*) dapat digunakan untuk menghambat cemaran *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli*.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol daun singkong Manalagi memiliki daya hambat terhadap cemaran *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli*.
2. Terdapat konsentrasi terbaik ekstrak etanol daun singkong Manalagi dalam penghambatan pertumbuhan cemaran *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli*.
3. Ekstrak etanol daun singkong Manalagi mampu menurunkan cemaran *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli* pada daging ikan tongkol.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Antimikroba

Antimikroba merupakan bahan kimia alami atau sintetik yang dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme. Sebuah sel mikroba yang normal memiliki dinding sel, membran sitoplasma yang tersusun oleh sejumlah besar protein yang salah satunya adalah enzim, asam nukleat dan senyawa lainnya.

Kerusakan pada salah satu komponen penyusun tersebut dapat mengawali terjadinya perubahan yang menuju kematian sel (Pelczar dan Chan, 1988).

Senyawa yang dapat membunuh mikroorganisme disebut agen sidal (*cidal agent*) yang meliputi bakterisidal, fungisidal dan virisidal. Sedangkan senyawa yang hanya mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme disebut agen statis (*static agent*) yang meliputi bakteristatik, fungistatik dan viristatik.

Berdasarkan sumbernya antimikroba digolongkan menjadi antimikroba alami dan antimikroba sintetik. Antimikroba alami diperoleh dengan cara mengekstrak langsung dari organisme yang menghasilkan senyawa bersifat antimikroba, sedangkan antimikroba sintetik dapat dihasilkan dengan membuat suatu senyawa yang sifatnya mirip dengan senyawa antimikroba alami (Setyaningsih, 2004).

Antimikroba dapat berupa desinfektan, antiseptik maupun antibiotik. (Pelczar dan Chan, 1988). Antibiotik adalah senyawa kimia yang dihasilkan oleh

mikroorganisme atau dihasilkan secara sintetik yang dapat membunuh atau menghambat perkembangan bakteri dan organisme lain (Utami, 2011). Antiseptik adalah bahan kimia yang digunakan untuk membunuh atau mencegah pertumbuhan mikroorganisme pada jaringan hidup (Levinson 2008). Desinfektan adalah substansi kimia yang dipakai untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme atau membunuh mikroorganisme pada benda mati (Depkes RI, 1996).

Penggunaan antimikroba harus memperhatikan beberapa hal, diantaranya zat yang digunakan 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 dibandingkan menghambat pertumbuhan mikroba (Frazier dan Westhoff 1988). Pemilihan suatu senyawa antimikroba untuk diaplikasikan sebagai bahan pengawet bahan pangan harus melihat keefektifan penghambatannya terhadap pertumbuhan mikroba. Semakin kuat daya penghambatannya semakin efektif digunakan.

2.1.1 Mekanisme Kerja Antimikroba

Menurut Pelczar dan Chan (1988) dan Tortora (2002) mekanisme kerja antimikroba dapat dibedakan menjadi beberapa macam, yaitu:

a. Menghambat sintesis dinding sel

Antimikroba yang mempunyai aktivitas menghambat sintesis dinding sel hanya aktif pada sel yang sedang aktif membelah. Mekanisme ini didasarkan pada perbedaan struktur dinding sel prokariotik yang terdiri atas peptidoglikan

yang hanya ditemukan pada dinding sel bakteri, sementara pada eukariotik seperti manusia, fungi dan sebagainya tidak terdapat peptidoglikan.

b. Merubah molekul protein dan asam nukleat

Mekanisme ini didasarkan pada kondisi dimana hidupnya suatu sel bergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu kondisi atau substansi yang mengubah keadaan ini, yaitu terdenaturasikannya protein dan asam-asam nukleat yang dapat merusak sel hingga tidak dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi *irreversible* (tidak dapat kembali) komponen-komponen selular yang vital ini.

c. Merusak membran plasma

Mekanisme ini didasarkan pada kemampuan beberapa antibiotik untuk merubah permeabilitas membran plasma. Perubahan ini akan mengakibatkan hilangnya metabolit penting dari dalam sel mikroba.

d. Menghambat sintesis asam nukleat

Mekanisme ini didasarkan pada penghambatan proses transkripsi dan replikasi DNA. Rusaknya asam nukleat (DNA atau RNA) oleh pemanasan, radiasi atau bahan kimia menyebabkan kematian sel, karena sel tidak mampu mengadakan replikasi maupun sintesis enzim. Bahan kimia yang merusak DNA misalnya radiasi ultraviolet, radiasi pengion, alkylating agent (gugus alkil dari bahan kimia bereaksi secara kovalen dengan basa purin dan atau pirimidin). Radiasi

ultraviolet menyebabkan *cross linking* diantara pirimidin dalam satu atau dua rantai polinukleotida, membentuk pyrimidine dimmers, sedangkan sinar pengion akan mengakibatkan pecahnya rantai nukleotida.

e. Menghambat sintesis metabolit esensial

Mekanisme ini didasarkan pada adanya penghambatan secara kompetitif dari aktivitas enzimatis dari mikroorganisme oleh senyawa yang mempunyai struktur yang mirip substrat untuk enzim.

2.2 Singkong

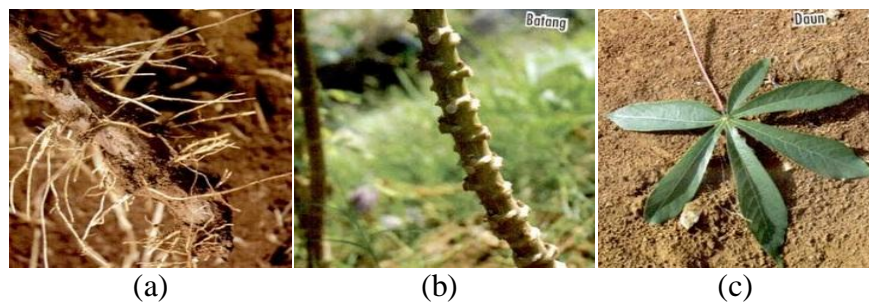
Singkong merupakan salah satu sumber karbohidrat yang berasal dari umbi. Singkong atau ketela pohon merupakan tanaman perdu. Singkong berasal dari benua Amerika, tepatnya dari Brasil. Penyebarannya hampir ke seluruh dunia, antara lain Afrika, Madagaskar, India, dan Tiongkok. Tanaman singkong banyak dikembangkan di negara-negara dengan wilayah pertanian yang luas (Purwono, 2009). Menurut (Koswara, 2009) varietas-varietas singkong unggul yang biasa ditanam penduduk Indonesia, antara lain Valenca, Mangi, Betawi, Basiorao, Bogor, SPP, Muara, Mentega, Gading, Malang 1, Malang 2, Andira 1, Andira 2, dan Andira 4. Selain itu menurut Atman (2011) terdapat 2 jenis singkong yang juga banyak ditanam di Indonesia yaitu singkong Manalagi dan singkong Thailand. Klasifikasi tanaman singkong menurut Purwono (2009) adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*

Divisio : *Spermatophyta*

Sub divisio : *Angiospermae*
 Classis : *Dicotilae*
 Ordo : *Euphorbiales*
 Familli : *Euphorbiaceae*
 Genus : *Manihot*
 Species : *Manihot utilisima*

Penampakkan umbi, batang dan daun singkong manalagi dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Umbi singkong Manalagi (a), Batang singkong Manalagi (b), dan daun singkong Manalagi (c). Sumber : Purwono (2009)

Tanaman singkong memiliki batang beruas-ruas dengan ketinggian mencapai lebih dari 3 meter. Warna batang bervariasi, ketika masih muda umumnya berwarna hijau dan setelah tua menjadi keputihan, kelabu, atau hijau kelabu. Batang berlubang, berisi empulur berwarna putih, lunak, dengan struktur seperti gabus. Susunan daun singkong berurat menjari dengan cangap 5-9 helai. Daun singkong, terutama yang masih muda mengandung sianida, namun kadarnya masih berada dibawah batas aman sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sayuran dan dapat menetralsisir rasa pahit sayuran lain, misalnya daun pepaya dan kenikir. Umbi singkong yang terbentuk merupakan akar yang menggelembung dan berfungsi sebagai tempat penampung makanan cadangan, bentuk umbi biasanya

bulat memanjang terdiri atas kulit tipis (kulit ari) berwarna kecokelat-coklatan (kering), kulit dalam agak tebal berwarna keputih-putihan (basah), dan daging bewarna putih atau kuning (tergantung) varietasnya yang mengandung sianida dengan kadar berbeda (Rukmana, 2002).

2.2.1 Daun Singkong

Selama ini masyarakat mengetahui daun singkong sebagai sayuran dan bahan makanan. Selain itu pemanfaatan daun singkong digunakan sebagai pakan ternak atau bahkan dibuang begitu saja. Padahal daun singkong dapat dimanfaatkan lebih lanjut, hal ini karena daun singkong juga mengandung zat gizi yang cukup banyak yaitu protein. Kandungan zat gizi pada daun singkong dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan zat gizi daun singkong

Bahan Kering	% Bahan kering
Protein kasar	41,7
Lemak	6,3
Bahan Ekstrak Tanpa Nitrogen	41,1
Abu	8,1

Sumber : Aletor (2010)

Selain kandungan protein kasar yang tinggi, daun singkong juga mengandung asam sianida (HCN). Asam sianida singkong diketahui bersifat beracun, tetapi mudah dihilangkan karena sifatnya mudah larut dan menguap pada suhu 26 °C. Adapun kandungan asam sianida yang masih aman untuk dikonsumsi manusia yaitu 50 mg/kg (ppm) bahan, tetapi jika melebihi kadar tersebut dapat menyebabkan keracunan (Winarno, 2004). Menurut Atman (2011) terdapat 2 jenis singkong yang banyak ditanam di Indonesia yaitu singkong Manalagi dan singkong Thailand.

Singkong Manalagi memiliki umur panen 7-10 bulan, bentuk daun menjari agak lonjong, warna pucuk daun coklat, warna tangkai daun merah bagian atas dan merah muda bagian bawah, warna batang muda hijau muda, warna batang tua coklat, warna kulit umbi coklat bagian luar dan putih bagian dalam, warna daging umbi putih, kualitas rebus baik dan memiliki rasa yang enak dengan kadar HCN 19,5 mg (Atman, 2011). Sedangkan singkong Thailand memiliki umur panen 8-12 bulan, bentuk daun menjari agak lonjong dan gemuk, warna pucuk daun hijau kekuningan, warna tangkai daun hijau atas dan hijau kekuningan bagian bawah, warna batang muda hijau, warna batang tua putih kekuningan, warna kulit umbi putih kekuningan, warna daging umbi lebih kuning, kualitas rebus baik dengan rasa pahit, dengan kadar HCN 124 mg/kg (Atman, 2011). Kandungan Senyawa aktif pada daun singkong dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. 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)

Flavonoid dan saponin sejak lama diketahui memiliki aktivitas antimikroba dan antivirus (Robinson, 1991). Berdasarkan hal itu daun singkong dapat

dimanfaatkan menjadi bahan pembuatan antimikroba dengan kandungan senyawa aktif seperti pada Tabel 2.

a. 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 (Hilda, 2011).

b. Senyawa Tanin

Tannin yang berasal dari ekstrak tumbuhan diabsorpsi dengan cepat dari saluran cerna kemudian mengalami distribusi dan eliminasi yang cukup cepat pula. Senyawa tannin memiliki fungsi untuk menurunkan kolesterol total, *Very Low Density Lipoprotein* dan triglicerid dan meningkatkan *High Density Lipoprotein* 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).

c. Senyawa Flavonoid

Flavonoid diketahui berfungsi sebagai antimutagenik dan antikarsinogenik, selain itu memiliki sifat sebagai antioksidan, anti peradangan, anti alergi, dan dapat menghambat oksidasi *Low Density Lipoprotein* (LDL) (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). Menurut Black dan Jacobs (1993) flavonoid dapat merusak membran sel bakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga membran sel bakteri pecah. Senyawa flavonoid juga dapat mendenaturasi protein sel bakteri dengan cara membentuk ikatan hydrogen kompleks dengan protein sel bakteri, sehingga struktur dinding sel membran sitoplasma bakteri menjadi tidak stabil dan kehilangan aktivitas biologinya, akibatnya fungsi permeabilitas sel bakteri menjadi terganggu dan sel bakteri akan mengalami lisis (Harborne, 1987)

2.3 Karakteristik Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*)

Ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) merupakan salah satu jenis ikan yang sering dikonsumsi masyarakat Indonesia. Ikan tongkol yang memiliki nama latin *Euthynnus affinis*, merupakan jenis golongan ikan tuna yang berukuran kecil. Ikan tongkol memiliki badan yang memanjang dan tidak memiliki sisik, kecuali pada bagian garis rusuk. Ukuran ikan tongkol dapat mencapai 1 meter dengan

berat 13,6 kg. Pada umumnya ikan tongkol memiliki panjang tubuh 50-60 cm. Kulit ikan tongkol berwarna abu-abu dengan daging berwarna merah (Bahar, 2004). Ikan tongkol banyak dijumpai, terutama di perairan yang terhubung langsung dengan laut terbuka, yaitu lautan Pasifik dan Hindia. Selama bulan Juni sampai Agustus dalam setahun, ikan tongkol dewasa berkumpul didekat pantai di perairan yang memiliki suhu 20°C – 25°C dan salinitas 20%-26% untuk melakukan proses pemijahan. Ikan tongkol memakan ikan-ikan yang berukuran kecil, seperti ikan pelagis, teri, dan cumi-cumi (Williamsom, 1970).

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

Kingdom : *Animalia*
Phylum : *Chordata*
Sub Phylum : *Vertebrata*
Class : *Pisces*
Sub Class : *Teleostei*
Ordo : *Percomorphi*
Family : *Scombridae*
Genus : *Euthynnus*
Species : *Euthynnus affinis*



Gambar 2. Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*)
Sumber : Syarifah (2016)

Daging ikan tongkol memiliki komponen yang utama adalah air, protein, dan lemak, yang berkisar antara 98% dari total berat daging. Komponen yang terkandung dalam ikan memiliki pengaruh terhadap nutrisi serta sifat fungsi, kualitas sensori dan stabilitas penyimpanan daging. Komponen lain yang terkandung seperti karbohidrat, vitamin dan mineral hanya berkisar 2% (Sikorski, 1994). Setiap 100 gram daging ikan tongkol mempunyai komposisi kimia yang terdiri dari 69,40% air, 1,50% lemak, 25,00% protein, dan 0,03% karbohidrat (Sanger, 2010).

Daging ikan tongkol memiliki jaringan pengikat otot yang jumlahnya sedikit, hal ini yang menjadikan ikan tongkol salah satu ikan yang dagingnya dengan mudah dicerna. Selain itu ikan tongkol memiliki kandungan unsur hara minor berupa mineral penting, seperti iodium dan fluor. Kandungan air pada ikan tongkol akan menurun saat musim panas, dan kandungan lemaknya menjadi maksimal. Ikan tongkol memiliki kandungan gizi yang tinggi. Selain itu ikan tongkol juga diperkaya kandungan lemak omega 3. Kandungan gizi tersebut sangat baik untuk tubuh dalam memenuhi kebutuhan gizi serta pertumbuhan (Sanger, 2010).

Kandungan asam lemak yang terdapat pada ikan tongkol yaitu asam lemak omega-3 dan omega-6. Menurut Ali Khomsan (2006), total kandungan asam lemak omega 3 adalah sebesar 1,5 g/100 g dan asam lemak omega 6 sebesar 1,8 g/100 g. Salah satu fungsi dari asam lemak omega 3 yaitu, sebagai prekursor asam lemak esensial linoleat dan linolenat. Asam lemak esensial merupakan asam lemak yang tidak diproduksi oleh tubuh, melainkan harus didapatkan dari luar tubuh, seperti didapatkan dari asupan makanan.

2.3.1 Mutu Ikan Tongkol

Ikan merupakan salah satu bahan pangan yang mudah mengalami kerusakan atau *perishable food*, hal ini mengharuskan dilakukannya perlakuan yang tepat pada ikan setelah ditangkap agar mutu ikan tetap terjaga. Menurut Murniyati dan Sunarman (2000), kerusakan yang terjadi pada ikan tongkol dapat digolongkan sebagai berikut :

- a. Kerusakan-kerusakan enzimatik yang disebabkan oleh enzim.
- b. Kerusakan-kerusakan fisika yang disebabkan oleh kecorobohan dalam penanganan, misalnya luka-luka kekar, patah, kering, dan sebagainya.
- c. Kerusakan-kerusakan biologis yang disebabkan oleh bakteri, jamur, ragi dan serangga.
- d. Kerusakan-kerusakan kimiawi yang disebabkan oleh adanya reaksi-reaksi kimia, misalnya ketengikan yang disebabkan oleh oksidasi lemak, dan denaturasi protein

Ikan tongkol merupakan salah satu hasil laut yang sering dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Hal ini dikarenakan ikan tongkol memiliki kandungan protein yang tinggi serta asam lemak omega-3. Seperti hasil laut lainnya, ikan tongkol juga mudah mengalami kerusakan. Kerusakan yang terjadi seperti pembusukan yang disebabkan oleh bakteri dan perubahan biokimia pada ikan yang sudah mati (Sanger, 2010). Penanganan ikan setelah ditangkap sangat perlu diperhatikan, karena akan berpengaruh terhadap mutu ikan tersebut (Rangkuti, 1994). Menurut Winarni *et al.* (2003) mutu ikan dapat dilihat dari penampakan

fisik, bau, dan tekstur. Ciri-ciri ikan segar yang bermutu tinggi maupun yang bermutu rendah secara organoleptik disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Ciri-ciri ikan segar bermutu tinggi dan rendah secara organoleptik.

Parameter	Ikan yang bermutu tinggi	Ikan yang bermutu rendah
Mata	Cerah, bola mata menonjol, kornea jernih	Bola mata cekung, pupil putih susu, kornea keruh
Insang	Warna merah cemerlang, tanpa lendir	Warna kusam dan berlendir
Lendir	Lapisan lendir jernih, transparan, mengikat cerah, belum ada perubahan warna	Lendir berwarna kekuningan sampai coklat tebal, warna cerah hilang, pemutihan nyata
Daging dan perut	Sayatan daging sangat cemerlang, berwarna asli, tidak ada pemerahan sepanjang tulang belakang, perut utuh, ginjal merah terang, dinding perut dagingnya utuh, bau isi perut segar	Sayatan daging kusam, warna merah jelas sepanjang tulang belakang, dinding perut memebubur dan bau busuk
Bau	Segar, bau rumput laut, bau spesifik menurut jenis	Bau busuk
Konsistensi	Padat, elastis bila di tekan dengan jari sulit menyobek daging dari tulang belakang,	Sangat lunak, bekas jari tidak mau hilang bila di tekan, mudah sekali menyobek daging dari tulang belakang

Sumber : Badan Standarisasi Nasional (2006)

Penurunan mutu ikan tongkol dapat menyebabkan keracunan pada konsumen setelah mengkonsumsi ikan tongkol tersebut. Gejala keracunan tersebut ditandai dengan adanya rasa gatal pada tubuh, bibir bengkak, berkeriat, wajah merah, mual dan muntah, sakit kepala, serta jantung berdebar lebih kencang. Ikan tongkol akan menyebabkan keracunan apabila mutu ikan tersebut telah menurun. Hal ini dikarenakan adanya kontaminasi bakteri patogen seperti *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, dan bakteri patogen lainnya.

Keracunan yang terjadi setelah mengonsumsi ikan tongkol (*scombroid fish poisoning*) disebabkan oleh kandungan histamin yang terdapat pada daging ikan tongkol. Ikan tongkol merupakan jenis ikan yang memiliki kandungan asam amino histidin yang dapat dikontaminasi oleh bakteri. Bakteri dapat menghasilkan enzim histidin dekarboksilase yang dapat merubah asam amino histidin menjadi histamin (Hidayati, 2008). Hal tersebut dapat terjadi pada ikan tongkol yang terlalu lama disimpan pada suhu ruang atau pada suhu dingin sekalipun dalam jangka waktu yang lama. Syarat mutu mikrobiologis ikan segar berdasarkan SNI 7388:2009 dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Syarat mutu mikrobiologis ikan segar

Jenis	Satuan	Persyaratan
Total Plate Count	Cfu/g	Maksimum 5×10^5
<i>Coliform</i>	Cfu/g	Maksimum 3
<i>Salmonella sp.</i>	Per 25g	Negatif
<i>Vibrio cholera</i>	Per 25g	Negatif
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Per 25g	Negatif

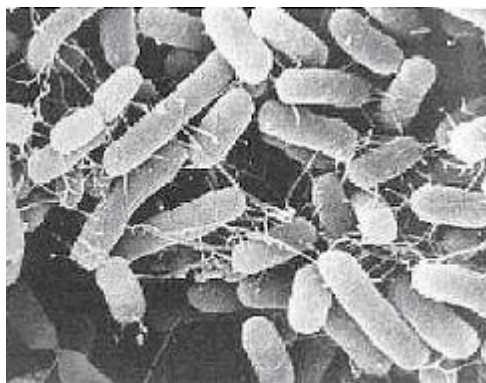
Sumber : Badan Standarisasi Nasional (2009)

2.4 *Salmonella sp.*

Salmonella sp. merupakan bakteri batang gram-negatif. Karena habitat aslinya yang berada di dalam usus manusia maupun binatang, bakteri ini dikelompokkan ke dalam *enterobacteriaceae* (Brooks, 2004). *Salmonella sp.* adalah bakteri batang yang tidak membentuk spora, biasanya motil dengan flagella peritrisous. *Salmonella sp.* bersifat anaerob fakultatif yang secara biokimia dikarakterisasi dengan kemampuannya memfermentasi glukosa yang memproduksi asam dan gas, dan tidak mampu menyerang laktosa dan sukrosa. *Salmonella sp.* termasuk bakteri mesofilik dengan temperatur pertumbuhan optimumnya 38°C (Forsythe

dan Hayes 1998). *Salmonella sp.* dapat tumbuh pada aktivitas air yang rendah ($a_w \leq 0,93$) yang responnya tergantung strain dan jenis pangan. *Salmonella sp.* dapat bertahan pada kisaran pH 3,6 – 9,5 dan pertumbuhan optimal pada nilai pH mendekati normal. Menurut Madigan dan Martinko (2003) taksonomi dari *Salmonella sp.* adalah sebagai berikut:

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



Gambar 3. *Salmonella sp.*
Sumber : Madigan dan Martinko (2003)

Salmonella sp. tahan hidup dalam air yang dibekukan dalam waktu yang lama, bakteri ini resisten terhadap bahan kimia tertentu (misalnya hijau brilliant, sodium tetrathionat, sodium deoxycholate) yang menghambat pertumbuhan bakteri enterik lain, tetapi senyawa tersebut berguna untuk ditambahkan pada media

isolasi *Salmonella sp.* pada sampel feses. Klasifikasi *Salmonella sp.* sangat kompleks, biasanya diklasifikasikan menurut dasar reaksi biokimia, serotipe yang diidentifikasi menurut struktur antigen O, H dan Vi yang spesifik. Menurut reaksi biokimianya, *Salmonella sp.* dapat diklasifikasikan menjadi tiga spesies yaitu *S. typhi*, *S. enteritidis*, *S. choleraesuis*, disebut bagan kauffman-white (Irianto, 2006). Berdasarkan serotipenya di klasifikasikan menjadi empat serotipe yaitu *S. paratyphi A* (Serotipe group A), *S. paratyphi B* (Serotipe group B), *S. paratyphi C* (Serotipe group), dan *S. typhi* dari Serotipe group D (Jawet'z, 2005).

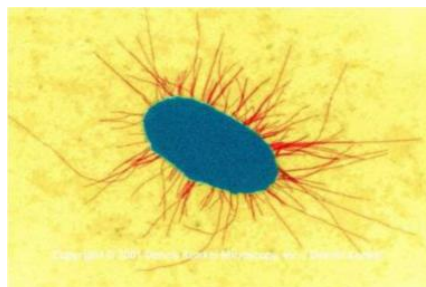
Salmonella yang terbawa melalui makanan ataupun benda lainnya akan memasuki saluran cerna, di dalam lambung bakteri ini akan dimusnahkan oleh asam lambung, namun yang lolos akan masuk ke usus halus. Bakteri ini akan melakukan penetrasi pada mukosa baik usus halus maupun usus besar dan tinggal secara intraseluler dimana mereka akan berproliferasi. Ketika bakteri ini mencapai epitel dan Imunoglobulin A tidak bisa menanganinya, maka akan terjadi degenerasi *brush border*. Kemudian, di dalam sel bakteri akan dikelilingi oleh *inverted cytoplasmic membrane* mirip dengan vakuola fagositik (Dzen, 2003). Setelah melewati epitel, bakteri akan memasuki lamina propria. Bakteri dapat juga melakukan penetrasi melalui *intercellular junction*, dapat dimungkinkan munculnya ulserasi pada folikel limfoid (Singh, 2001).

2.5 *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah bakteri yang berbentuk batang pendek dengan panjang sekitar 2 μm , lebar 0,4-0,7 μm , dan diameter 0,7 μm . *Escherichia coli* termasuk dalam bakteri yang bersifat aerob fakultatif dan salah satu jenis bakteri gram

negatif. *Escherichia coli* hidup secara berkoloni dengan membentuk koloni yang bundar, cembung, halus dengan tepi yang nyata (Smith, 1988). *Escherichia coli* memiliki sel yang berbentuk tunggal, berpasangan, dan dalam rantai pendek dan tidak terdapat kapsul. Sel bakteri ini biasa bergerak dengan menggunakan flagella peritrichous. *Escherichia coli* dapat memproduksi berbagai macam fimbria atau pili yang berbeda, memiliki banyak spesifikasi dan struktur antigen, seperti filamentous, proteinaceous, seperti rambut appendages yang terdapat disekeliling sel. Fimbria merupakan serangkaian hidrofobik dan memiliki pengaruh panas atau organ spesifik yang bersifat adhesi. Hal itu merupakan salah satu faktor yang penting dalam virulensi. Klasifikasi *Escherichia coli* berdasarkan Songer dan Post (2005) sebagai berikut:

Kingdom : *Bacteria*
Filum : *Proteobacteria*
Kelas : *Gamma Proteobacteria*
Ordo : *Enterobacteriales*
Family : *Enterobacteriaceae*
Genus : *Escherichia*
Species : *Escherichia coli*



Gambar 4. *Escherichia coli*
Sumber : Smith (1998)

Escherichia coli merupakan flora normal usus yang berperan penting dalam sintesis vitamin K, konversi pigmen-pigmen empedu, asam-asam empedu, serta dalam penyerapan zat-zat makanan. *Escherichia coli* termasuk salah satu bakteri heterotrof, yaitu dapat memperoleh makanan berupa zat organik yang berasal dari lingkungan sekitarnya, hal ini dikarenakan bakteri *Escherichia coli* tidak dapat menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkannya. Zat organik yang diperoleh berasal dari sisa organisme lain, dengan menguraikan zat organik pada makanan menjadi zat anorganik, seperti halnya CO₂, H₂O, energi dan mineral. Bakteri ini dapat menjadi pengurai dan penyedia nutrisi bagi tumbuhan (Ganiswarna, 1995).

Escherichia coli memiliki metabolisme dengan cara fermentasi dan respirasi, namun pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dapat dikatakan paling sedikit, yaitu pertumbuhan banyak di bawah keadaan anaerob. Pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* termasuk bakteri mesofilik dengan suhu pertumbuhan optimal 37°C. *Escherichia coli* dapat memfermentasi laktosa dan memproduksi indol yang berfungsi untuk mengidentifikasi bakteri yang terdapat atau mengontaminasi makanan dan air. *Escherichia coli* akan mati pada suhu 60°C selama 15 menit atau pada suhu 55°C selama 60 menit.

Escherichia coli dapat menjadi bakteri patogen apabila berada diluar saluran pencernaan (Jawetz, 1984). Bakteri *Escherichia coli* merupakan jasad indikator dalam substrat air dan bahan makanan, yang mampu memfermentasikan laktosa pada temperatur 37°C dengan membentuk asam dan gas, mereduksi nitrat menjadi nitrit, bersifat katalase positif, dan oksidase negatif (Fardiaz, 1992). Bakteri ini berpotensi patogen karena pada keadaan tertentu dapat menyebabkan diare

(Suriawiria,1986). *Escherichia coli* dapat menginfeksi tubuh dan menyebabkan diare. *Escherichia coli* dapat menginfeksi tubuh dengan mekanisme sebagai berikut:

1. *Escherichia coli* dapat memproduksi enterotoksin yang disebut dengan *Escherichia coli* enterotoksigen. Hal tersebut disebabkan bakteri tersebut memproduksi toksin yang berbeda. Toksin tersebut adalah toksin tahan panas (ST) dan toksin yang labil terhadap panas (LT). Toksin yang labil terhadap panas dapat meningkatkan aktifitas enzim adenil siklase dalam sel mukosa usus halus dan merangsang sekresi cairan.
2. *Escherichia coli* yang dapat menginvasi langsung lapisan epitelium dinding usus dan secara cepat menyebabkan diare. Invasi pada lapisan epitelium dinding usus dapat terjadi akibat adanya pengaruh oleh racun lipopolisakarida dinding sel atau endotoksin. Selain mekanisme diatas, *Escherichia coli* dapat menjadi pathogenesis dan dapat menyebabkan diare. Pathogenesis tersebut diantaranya adalah :
 - a. Enteropatogenik *Escherichia coli* (EPEC), patogen jenis ini dapat menyebabkan penyakit perut, dan melekat pada sel mukosa usus kecil.
 - b. Enterotoksigenik *Escherichia coli* (ETEC), diare yang disebabkan oleh patogen jenis ini seperti diare yang disebabkan oleh vibrio cholera. Patogen jenis ini terdapat pada sel epitel usus kecil.

- c. Enteroinvasif *Escherichia coli* (EIEC), patogen jenis ini dapat menimbulkan demam, buang air besar dengan lendir dan berdarah. EIEC dapat menginfeksi dengan melakukan invasi ke sel mukosa usus.

- d. Enterohemoragik *Escherichia coli* (EHEC), toksin yang dikeluarkan dari patogen jenis ini dapat menyebabkan sindroma hemolitik uremik, penyakit ini dapat dikatakan sudah merupakan diare akut bagi penderita (Jawet, 1984).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi Universitas Lampung dan Laboratorium Bakteriologi Balai Veteriner Lampung (SNI ISO/IEC 17025 2008 LP-181-IDN) pada bulan April 2018 s.d Juli 2018.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun singkong Manalagi yang diperoleh dari kebun singkong milik pak Jajak di Kecamatan Punggur, Kabupaten Lampung Tengah, daging ikan tongkol, kultur *Salmonella sp.*, kultur *Escherichia coli*, alkohol 70%, etanol 96%, NaCl fisiologis 0,85%, media Mac Conkey Agar (MCA), Media selektif *Salmonella*, media Nutrient Agar (NA), akuades, aluminium foil, kapas, kertas cakram, dan bahan lain untuk analisa mikrobiologi.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pisau, baskom, blender, kertas saring, maserator, *beaker glass*, erlenmeyer, cawan petri, *shaker waterbath*, timbangan, loyang, oven, *vacuum rotary evaporator*, tabung reaksi, autoklaf,

inkubator, *colony counter*, pipet tetes, micrometer, gelas ukur, pinset, dan alat analisis lainnya.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian dilakukan melalui dua tahap. Tahap pertama adalah persiapan sampel, dan ekstraksi daun singkong. Tahap kedua meliputi uji zona hambat antimikroba, uji angka *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli*, dan uji penurunan angka *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli*. Percobaan disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor tunggal dan 3 kali ulangan. Pada penelitian ini menggunakan 7 perlakuan dengan lima taraf konsentrasi ekstrak yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% serta perlakuan kontrol (Etanol 96%) dan kontrol negatif (aquades). Data yang diperoleh dianalisis sidik ragam untuk mendapatkan ragam penduga galat dan mengetahui ada tidaknya pengaruh antar perlakuan, kesamaan ragam dianalisis dengan uji Bartlett dan kementerian data dianalisis dengan uji Tuckey. Kemudian data dianalisis lebih lanjut menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

3.4 Pelaksanaan Penelitian

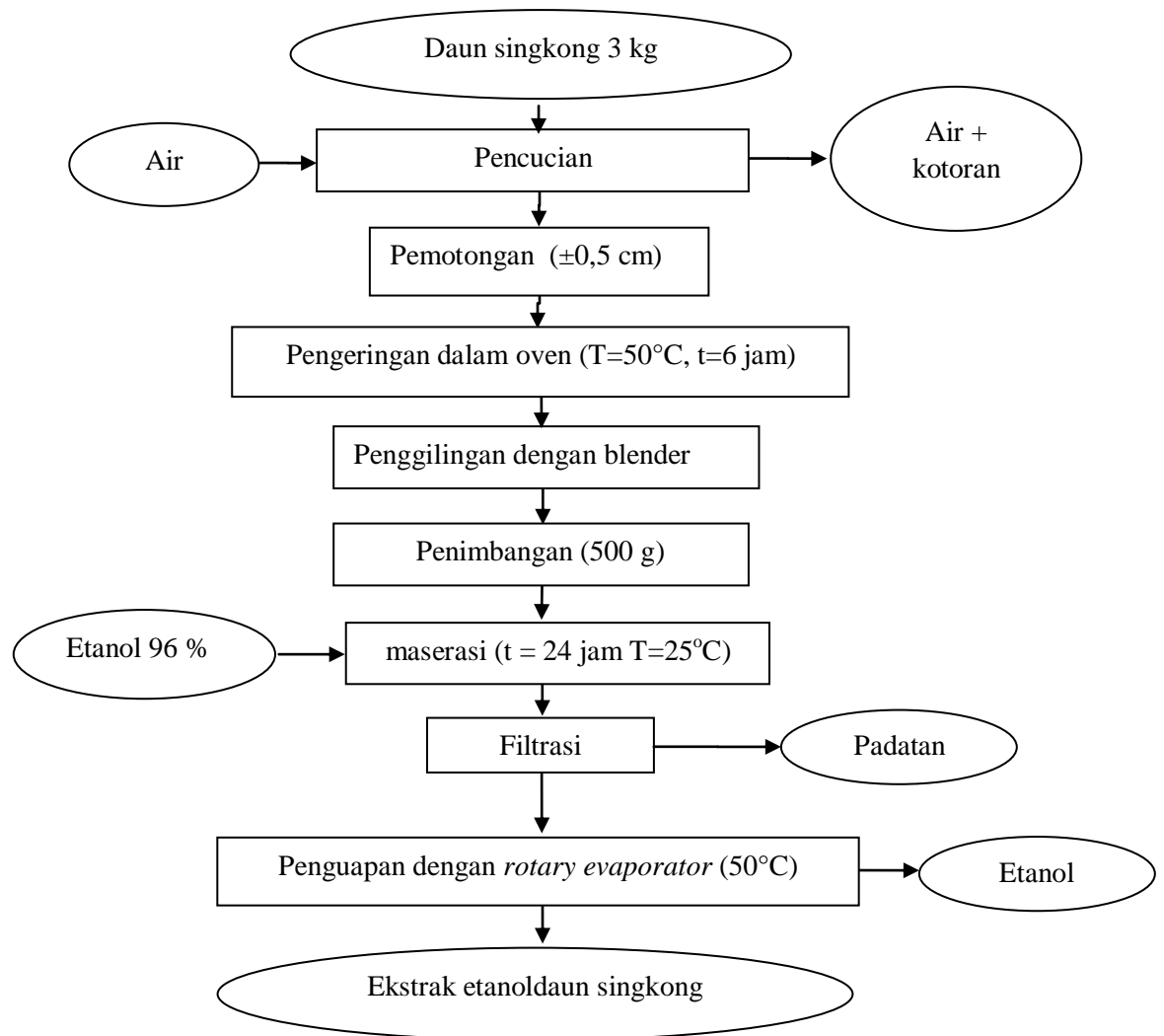
Pelaksanaan penelitian terdiri dari tahap persiapan sampel daging ikan tongkol, pembuatan ekstrak daun singkong, tahap uji zona hambat antimikroba, tahap uji angka *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli* pada daging ikan tongkol, tahap uji penurunan *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli* pada daging ikan tongkol.

3.4.1 Persiapan Sampel

Sampel daging ikan tongkol diperoleh dari Pasar Gudang Lelang Bandar Lampung pada pagi hari dan diambil secara acak. Sedangkan sampel daun singkong diperoleh dari kebun singkong milik pak Jajak di Kecamatan Punggur, Kabupaten Lampung Tengah. Daun singkong yang dipilih adalah daun singkong jenis Manalagi. Kultur bakteri *Salmonella sp.* dan *Echerichia coli* diperoleh dari koleksi Laboratorium Bakteriologi Balai Veteriner Lampung.

3.4.2 Pembuatan Esktrak

Daun singkong dicuci bersih dengan air mengalir. Selanjutnya ditiriskan, kemudian dipotong kecil-kecil dengan $\pm 0,5$ cm. Selanjutnya dikeringkan dengan oven selama 6 jam pada suhu 50°C sampai sampel benar-benar kering. Setelah itu sampel digiling menggunakan blender hingga terbentuk serbuk, kemudian timbang berat keringnya sebanyak 500 g. Ekstraksi singkong dilakukan secara maserasi, yaitu serbuk daun singkong direndam dengan pelarut etanol 96% sebanyak 2 liter di dalam botol maserasi yang tertutup rapat dan dibiarkan selama 24 jam pada suhu kamar (25°C), terlindung dari sinar matahari langsung sambil sesekali diaduk, kemudian disaring sehingga diperoleh filtrat dan ditampung dalam wadah penampungan (botol maserasi). Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak pekat. Diagram alir ekstraksi daun singkong dapat dilihat pada Gambar 5.

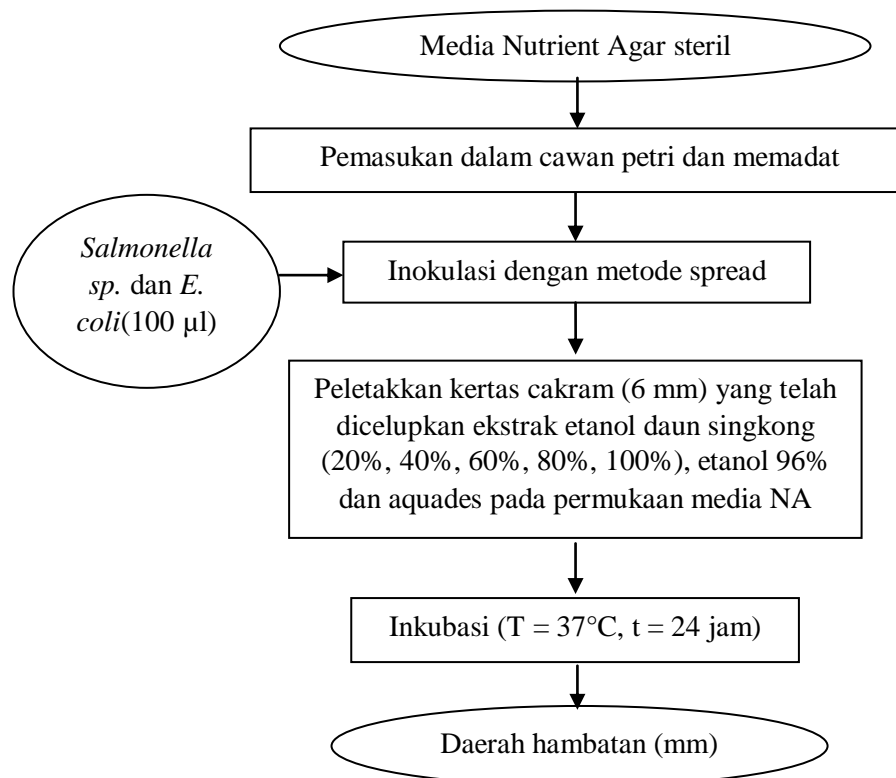


Gambar 5. Diagram alir ekstraksi daun singkong (dimodifikasi dari Ningsihet *et al*, 2013)

3.4.3 Uji Zona Hambat Antimikroba

Pembuatan media bakteri dilakukan terlebih dahulu sebelum dilakukan pembiakan bakteri. Media yang dibuat berfungsi sebagai tempat untuk membiakkan bakteri yang akan diuji. Kultur bakteri *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli* diinokulasikan pada masing-masing cawan petri yang sudah berisi media NA yang sudah memadat dengan metode spread. Kertas cakram yang telah dicelupkan dalam ekstrak etanol daun singkong, etanol 96% dan aquades diletakkan pada

permukaan media. Proses inkubasi dilakukan selama 24 jam dengan suhu 37°C. Hasil uji antibakteri didasarkan pada pengukuran Diameter Daerah Hambat (DDH) pertumbuhan bakteri yang terbentuk di sekeliling kertas cakram. Diagram alir pengujian antimikroba dimodifikasi berdasarkan Lay (1994) dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Diagram alir uji zona hambat dimodifikasi dari(Lay, 1994)

3.4.4 Uji Angka *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli* pada daging ikan tongkol

Daging ikan tongkol ditimbang sebanyak 1 gram, kemudian dihaluskan.

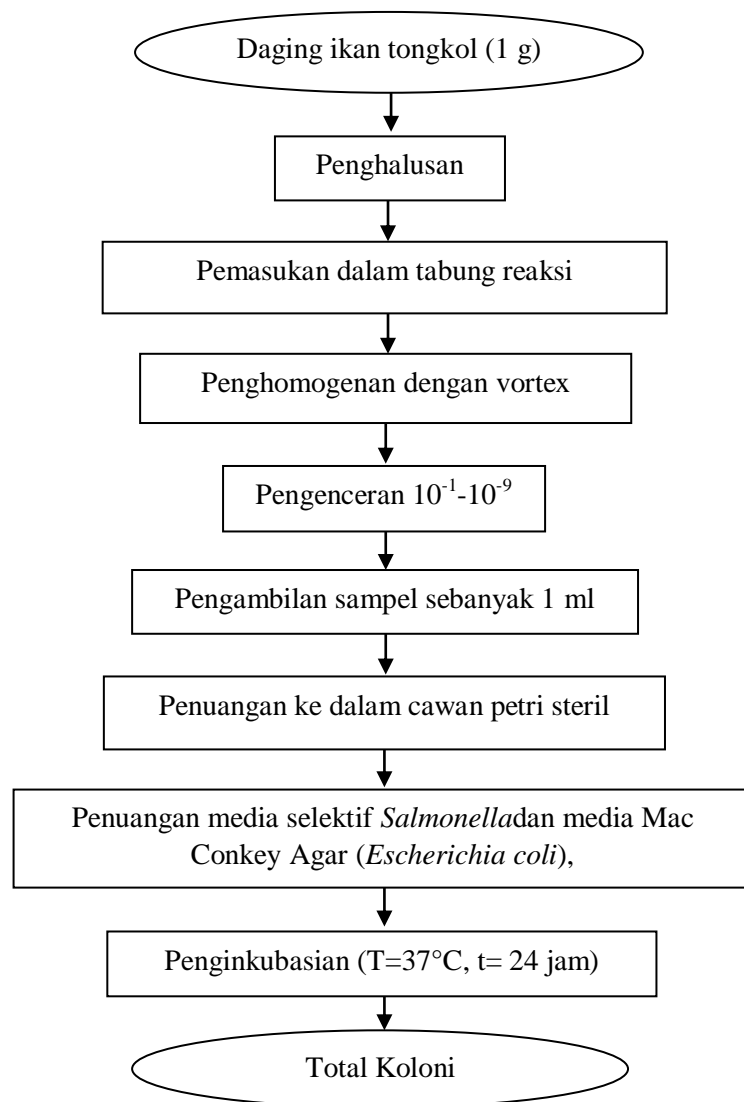
Selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan NaCl 0,85%.

Penghomogenan dilakukan menggunakan vortex, kemudian dilakukan

pengenceran hingga tingkat pengenceran 10^{-9} . Sebanyak 1 ml sampel diambil dari

tabung reaksi dan dituangkan ke dalam cawan petri steril. Penuangan media

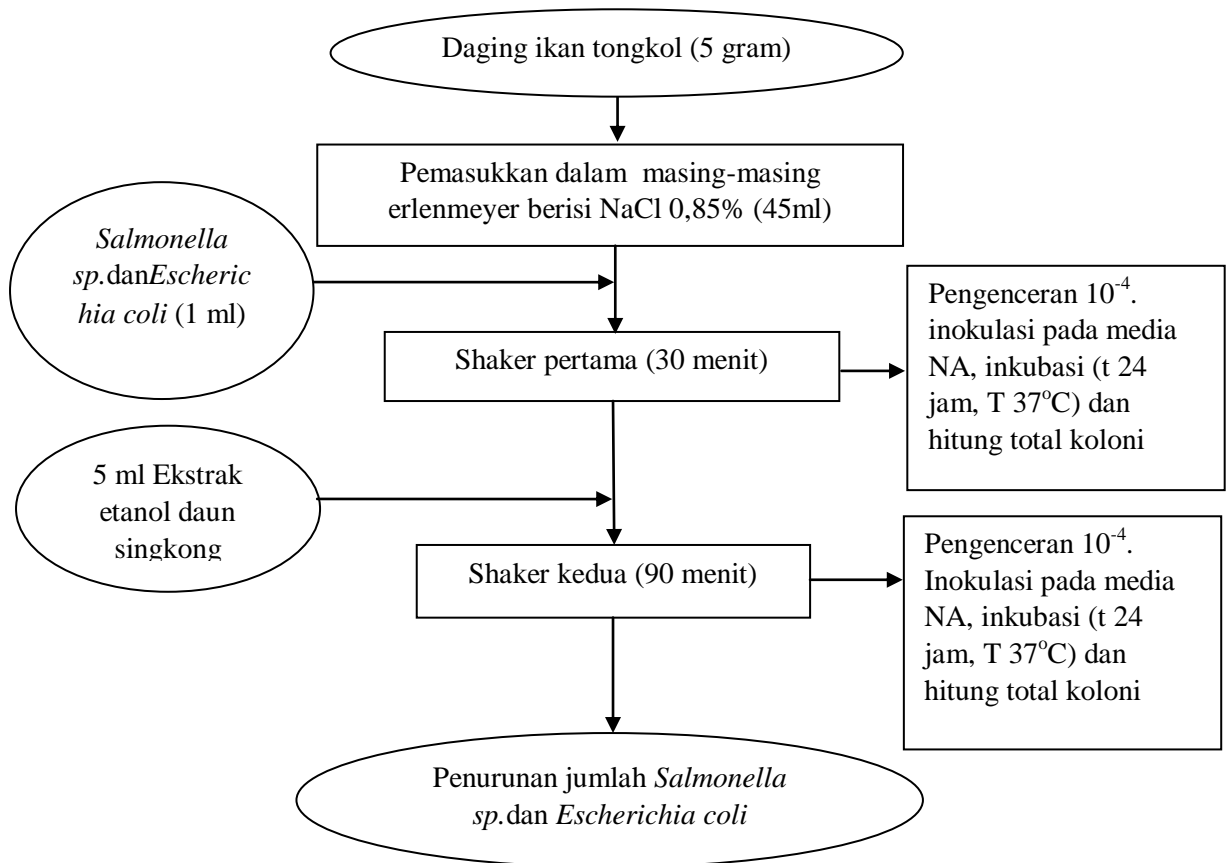
selektif *Salmonella* untuk bakteri *Salmonella sp.* dan media Mac Conkey Agar digunakan untuk uji angka *Escherichia coli*. Penginkubasian dilakukan selama 24 jam pada suhu 37°C. Total koloni yang terbentuk dihitung menggunakan *Colony counter*. Jumlah koloni dihitung dengan rumus : Jumlah koloni = jumlah koloni pada cawan / faktor pengenceran. Diagram alir uji angka *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Diagram alir uji angka *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli* (dimodifikasi dari Fardiaz, 1989)

3.4.5 Uji Penurunan *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli*

Daging ikan tongkol dipotong sebanyak 2 buah dan ditimbang dengan berat 5 gram, kemudian dimasukkan ke dalam masing-masing erlenmeyer yang berisi NaCl 0,85% sebanyak 45 ml. Kultur bakteri *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli* ditambahkan ke dalam masing-masing erlenmeyer sebanyak 1 ml, kemudian dilakukan shaker pertama selama 30 menit. Setelah itu diencerkan hingga 10^{-4} , kemudian 1 ml diinokulasikan pada media NA dengan metode *pour plated* dan diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam lalu dihitung total koloni sebagai total koloni awal. Setelah itu masing-masing erlenmeyer berisi daging ikan tongkol tersebut ditambahkan 5 ml ekstrak etanol daun singkong konsentrasi 100%. Penambahan NaCl 0,85% sebanyak 45 ml menyebabkan aplikasi ekstrak etanol daun singkong berubah menjadi 10%. Selanjutnya dilakukan shaker kedua sampai 90 menit. Setelah itu diencerkan hingga 10^{-4} , kemudian diinokulasikan pada media NA dengan metode *pour plated* dan dihitung total koloni sebagai total koloni akhir. Penurunan total *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli* dilihat dengan membandingkan total koloni awal dan akhir. Diagram alir uji penurunan *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Diagram alir uji penurunan *Salmonella* sp. dan *Escherichia coli* (dimodifikasi dari Fardiaz, 1989)

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol daun singkong Manalagi memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli*. Ekstrak etanol daun singkong mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella sp.* dengan diameter hambatan sebesar 1,51 mm (aktivitas antibakteri lemah) dan mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dengan diameter hambatan 2,39 mm (aktivitas antibakteri lemah) pada konsentrasi 100%. Konsentrasi 80%, 60%, 40%, dan 20% masing-masing diameter hambatan yang terbentuk yaitu 1,31 mm, 1,27 mm, 1,24 mm, 0,97 mm terhadap *Salmonella sp.* dan 1,78 mm, 1,61 mm, 1,27 mm, 1,23 mm terhadap *Escherichia coli*.
2. Konsentrasi terbaik ekstrak etanol daun singkong Manalagi dalam penghambatan pertumbuhan *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli* adalah 100%.
3. Ekstrak etanol daun singkong Manalagi konsentrasi 10% dapat menurunkan *Salmonella sp.* sebesar $4,7 \times 10^5$ cfu/g (22,5%) dan *Escherichia coli* sebesar $3,6 \times 10^5$ cfu/g (22,13%) pada daging ikan tongkol.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yaitu :

1. Uji kadar senyawa antimikroba yang terkandung dalam daun singkong Manalagi.
2. Uji sensori untuk mengetahui tingkat penerimaan konsumen terhadap daging ikan tongkol yang telah direndam dalam ekstrak etanol daun singkong Manalagi.
3. Uji dengan jenis bakteri berbeda untuk membuktikan bahwa ekstrak etanol daun singkong Manalagi dapat menurunkan jenis bakteri yang lain.
4. Uji penurunan cemaran mikroba menggunakan ekstrak etanol daun singkong Manalagi konsentrasi 100%.

DAFTAR PUSTAKA

- Aletor, O. 2010. Comparative nutritive and physio-chemical evaluation of cassava (*Manihot esculenta*) leaf protein concentrate and fish meal. *Journal of Food Agriculture & Anvironment*. WLF Publisher. 8(2): 39-43.
- Atman, R. 2011. *Varietas dan Teknologi Ubi Kayu*. BPTP. Sumatera Barat.
- BPOM, RI. 2010. *Acuan Sediaan Herbal*. Direktorat Obat Asli Indonesia. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Jakarta. 5(1): 30-31.
- Badan Pusat Statistik. 2017. Tabel Produksi Perikanan Menurut Subsektor (ribu ton), 1999-2015. <https://www.bps.go.id/staticable/2014/01/16/1711/produksi-perikanan-menurut-subsektor-ribu-ton-1999-2015.html>. Diakses 29 Mei 2018.
- BSN (Badan Standardisasi Nasional) (2009). SNI 7388 : 2009 Tentang Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- BSN (Badan Standardisasi Nasional) (2006). SNI 01-2729-2006 Tentang Ikan segar – Bagian 1 : Spesifikasi. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- Bahar, B. 2004. *Panduan Praktis Memilih dan Menangani Produk Perikanan*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Banua. 2015. *Uji Fitokimia Pada Daun Singkong*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Black, J. M. and Jacobs, E. M. 1993. *Medical Surgical Nursing IV*. W.B. Saunders Company. Philadelphia.
- Brooks, G. F. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi 23. Boston McGraw-Hill. Boston. 325 hlm.
- Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(1):564-582.
- Departemen Kesehatan, RI. 1996. *Pedoman Praktis Pemantauan Gizi Orang Dewasa*. Depkes. Jakarta.
- Dzen, S.M. 2003. *Bakteriologi Medik*, Edisi 1. Bayu Media Publishing. Malang. hlm. 134.

- Ebuehi, O.A.T., Babalola, O., dan Ahmed, Z. 2005. Phytochemical, nutritive and anti-nutritive composition of cassava (*Manihot esculenta* L.) tubers and leaves. *Nigerian Food Journal*. 23:40-46
- 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. *Mikrobiologi Pangan*. Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Fardiaz, Srikandi. 1992. *Mikrobiologi Pangan*, Edisi 1. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Faridz, R., Hafiluddin, dan Mega, A. 2007. Analisis Jumlah Bakteri dan Keberadaan *Escherichia coli* pada Pengolahan Ikan Teri Nasi di PT. Kelola Mina Laut Sumenep. *Jurnal Embryo*. 4(2): 94-106.
- Frazier, W.C. dan Westhoff, D.C. 1988. *Food Microbiology*, Edisi 4. McGraw-Hill. New York.
- Forsythe, S.J. dan P.R. Hayes. 1998. *HACCP and Product Quality in Food Hygiene*, Microbiology and HACCP. Aspen Publisher. Gaithersburg. 276-324.
- Ganiswarna, S. G. 1995. *Farmakologi dan Terapi*, Edisi 4. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Gunawan, Didik dan Mulyani, S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)* Jilid 1. Penebar Swadaya. Jakarta. 115 hlm.
- Haidari, M., Ali, M., Casscells S., and Madjid, M. 2009. Pomegranate (*Punica granatum*) Purified Polyphenol Extract Inhibits Influenza Virus and has a Synergistic Effect with Oseltamivir. *Phytomedicine*. 16: 1127-1136.
- Hambali, E., Mujdaliah, S., Tambunan, A.H., Pattiwi, A.W., dan Hendroko, R. 2008. *Teknologi Bioenergi*. AgroMedia Pustaka. Jakarta.
- Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB. Bandung.
- 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). Pasca Sarjana Fakultas Pertanian. Universitas Lampung. Lampung
- Hasyim, Syamsul, F., dan Lia, K. D. 2016. Effect of Boiled Cassava Leaves (*Manihot esculenta* Crantz) on Total Phenolic, Flavonoid and its Antioxidant Activity. *Jurnal Biokimia IPB*. 3(3): 116 – 127.
- Hidayati, D., Aunorohim, D.E.A., dan Hasnitha, F.D. 2008. Studi Kandungan DDT (Dichloro Diphenyl Trichloroethane) pada Kerang Hijau (*Perna viridis* L.)

di Perairan Pantai Timur Surabaya dan Pantai Rongkang Kwanyar Madura. ITS. Surabaya.

- 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. hlm. 6.
- IARC. 2006. *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*, Edisi 88. WHO. Lyon.
- Irianto. 2006. *Mikrobiologi : Mengungkap Dunia Mikroorganisme Jilid 2*. Yrama Media. Jakarta.
- Iswandari, R. 2018. Kajian Daya Hambat Antimikroba Alami Ekstrak Etanol Kulit Singkong Terhadap Penurunan Cemaran *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli* Pada Daging Ayam (*Gallus domesticus*). (Skripsi). Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Lampung. 86 hlm.
- Jawetz, E. 1984. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. EGC. Jakarta.
- Jawetz, E., Melnick, J., dan Adelberg, E. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba Medika. Jakarta.
- Katzung, B.G. 2001. *Farmakologi Dasar dan Klinik*, Edisi 1. Salemba Medika. Jakarta.
- Khomsan, A. 2006. *Peranan Pangan dan Gizi untuk Kualitas Hidup*. Grasindo. Jakarta.
- Koswara, S. 2009. *Teknologi Pengolahan Singkong (Teori dan Praktek)*. Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Lawrence, C. A. and S. S. Block. 1968. *Disinfection, Sterilization and Preservation*. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Lay, W.B. 1994. *Analisa Mikroba di Laboratorium*, Edisi I. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Lei, F., Zhang X. N., Wang, W., Xing, D.M, Xie, W.D., Su, H., dan Du, L.J. 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.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoid, Fenilpropanoid dan Alkaloid*. USU. Medan.
- Levinson, W. 2008. *Review of Medical Microbiology and Immunologi*, Edisi 10. Mc Graw-Hill. New York.
- Madigan, M. T., dan Martinko, J. M., 2003. *Biology of Microorganisms*, Edisi 10. Southern Illinois University Carbondale. 1019 hal.

- Mardaningsih, Ana, dan Resmi, A. 2014. Pengembangan Potensi Ekstrak Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) Sebagai Agen Bakteri. *Pharmacia*. 4(2): 184-192
- Maria, A., Masnur, T., dan Siti, K. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Protobiont*. 4(1): 184-189.
- Martina, M. 2012. Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea Indica* L.) Dapat Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutans*. Universitas Udayana. Denpasar. Hal. 38-40.
- Matasyoh, L.G. 2014. Antimicrobial Assay and Phyto-chemical 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*. 13: 33-38.
- Mutia, C., Sri, P.F., dan Ratu, C. 2017. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Prosiding Farmasi UNISBA*. 3(1).
- Muthmainna, B., dan Andi, N. 2018. Uji Aktivitas Antimikroba Herba Daun Singkong (*Manihot utilissima* Pohl) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Diagnosis*. 12(6).
- Naidu, A. S., dan Clemens, R. A. 2000. *Natural Food Antimicrobial Systems*. CRC Press. Florida.
- Ningsih, A.P., Nurmiati dan Agustien, A. 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.
- Nur, J., Dwyana A., dan Abdullah A. 2013. Biokativitas Getah Pelepah Pisang Ambon *Musa paradisiacavar sapientum* Terhadap Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeuroginosa*, dan *Escherichia coli*. (Skripsi). Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Nuria, M.C., Faizatun, A., dan Sumantri. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu –ilmu Pertanian*. 5: 26 –37.
- Nuria, M.C., 2010. Antibacterial Activities From Jangkang (*Homalocladium platycladum* (F.Muell) Bailey) Leaves. *Jurnal Ilmu Pertanian*. 6(2): 9-15.

- Okoli, R.I., Turay, A. A., Mensah, J.K., and Aigbe, A. O. 2009. Phytochemical and Antimicrobial Properties of Four Herbs From Edo State, Nigeria. Report and Opinion. 1(5) : 67-73.
- Pelczar, M.J., dan Chan, E.C.S. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Universitas. Indonesia Press. Jakarta.
- Pendit, P.A.C., Zubaidah, E., dan Sriherfyna, F.H. 2016. Karakteristik Fisik-Kimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*). Jurnal Pangan dan Agroindustri. 4(1): 400-409
- PerKa BPOM, RI. 2016. *Persyaratan Penggunaan Bahan Tambah Pangan Perisa*. Badan Pengawas Obat dan Makanan. Jakarta.
- Petrucci, R. H. 2008. *Kimia Dasar Prinsip dan Terapan Modern Jilid 3*, Edisi 4. Erlangga. Jakarta.
- Pratiwi, A.P. 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta Crantz.*) Terhadap *Shigella sp.* Jurnal Kesehatan. 7(1): 161-164.
- Puri, A. A. 2016. Uji Bakteriologis dan Organoleptik Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*) di Pasar Tradisional, Modern, dan Gudang Lelang Kota Bandar Lampung. (skripsi). Fakultas Pertanian. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Purwono. 2009. *Budidaya 8 Jenis Tanaman Unggul*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Rahmat. 2009. Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Sayuran Indigenous Jawa Barat. (skripsi). Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rangkuti, D. 1994. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi*. Sekolah Analis Kimia. Padang.
- Robinson, T. 1991. *Kandungan organik tumbuhan tinggi*, Edisi 6. ITB. Bandung.
- Ronny. 2011. Tingkat Konsumsi Ikan : Peluang Hambatan dan Strategi. Warta Pasar Ikan. 14: 35-12
- Rosana, I.R., 2015. Aktivitas Antibakteri Jamu “Empot Super” Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Echerichia coli*. (Skripsi). UIN Maulana Malik. Malang.
- Rukmana, R. 2002. *Usaha Tani Ubi Kayu*. Kanisius. Jogjakarta.
- Saanin, H. 1984. *Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan*. Binacipta. Jakarta.
- Salim, M., Yahya, Hotnida, S., Tanwirotn, N., dan Marini. 2016. Hubungan Kandungan Hara Tanah dengan Produksi Senyawa Metabolit Sekunder pada Tanaman Duku (*Lansium domesticum Corr var Duku*) dan Potensinya sebagai Larvasida. Jurnal Vektor Penyakit. 10(1): 11-18.
- 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

- Saraswati, F.N., 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Limbah Kulit Pisang Kepok (*Musa Balbisiana*) terhadap Bakteri Penyebab Jerawat (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Propionibacterium acne*). (Skripsi). UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta. 67 hlm.
- Sari, F. P. dan Shofi, M, S. 2011. Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba Dari Tanaman Yodium (*Jatropha multifida* Linn) Sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. Artikel Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro Semarang. <http://eprints.undip.ac.id/36728/1/18.Artikel1.pdf>. diakses pada 2 Desember 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>. Diakses 15 Januari 2018.
- Sikorski, Z. E., dan Pan, S. B. 1994. *Preservation of Seafood Quality*. Blackie Academic and Professional London. United Kingdom.
- Singh, R.S. 2001. *Plant Diseases*, Edisi 7. Oxford dan IBH Publishing CO. PVT. LTD. New Delhi. 640 hlm.
- Smith, K. P.F. 1988. *Genetic Elements in Escherichia coli*. Macmillan Molecular biology series. London. 1-9: 49-54.
- Songer, J.G. dan Post, K.W. 2005. *Veterinary Microbiology: Bacterial and Fungal Agents of Animal Disease*. Elsevier Saunders. St. Louis.
- Suci, N. K. 2017. Kajian Daya Hambat Ekstrak Kulit Dan Jantung Pisang Muli (*Musa Acuminata*) Sebagai Antimikroba Alami Dalam Menurunkan Cemar *Echerichia Coli* Pada Daging Ayam (*Gallus Domesticus*). (Skripsi). Fakultas Pertanian. Universitas Lampung. Lampung.
- Suriawiria. 2005. *Pengujian Mutu Hasil Perikanan yang Aman Bagi Kesehatan*. Jasa Boga. Jakarta.
- Suryawati S, dan Murniyanto E. 2011. Hubungan sifat tanah Madura dengan kandungan minyak atsiri dan tingkat kelarutannya pada jahe (*Zingiber officinale* L) . *Agrovigor*. 4(2): 99-104.
- Suryawiria, U. 1978. *Mikroba Lingkungan*, Edisi ke-2. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Syarifah, M. 2016. Pemanfaatan Kulit Nanas, Kulit Buah Naga, dan Kulit Jeruk Manis Untuk Menurunkan Cemar *E. Coli* Pada Ikan Tongkol. (Skripsi). Fakultas Pertanian. Universitas Lampung. Lampung.
- Tortora, G.J. 2002. *Microbiology an Introduction*. Addison Wesley Longman Inc. San Fransisco. USA.
- Undadraja, B., dan Dewi, S. 2018. Identifying Chemical Compound In Ceara Rubber Skin Which Is Potential To Be Natural Anti-Microbe By Using

- Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). Proceeding International Conference On Cassava. hlm. 24-27.
- Utami, E. R. 2011. Antibiotika, Resistensi. *Jurnal Antibiotika Resistensi dan Rasionalitas Terapi*. 1(4): 191-198.
- Vinolina N.S. 2014. Peningkatanproduksi centellosida pada pegagan (*Centella asiatica*) melalui pemberian fosfor dan metiljasmonat dengan umur panen yang berbeda. (Disertasi). Universitas Sumatera Utara. Sumatera Utara.
- Volk, W.A, dan Wheeler, MF. 1993. *Mikrobiologi Dasar Jilid I*, Terjemahan: Markam. Erlangga . Jakarta.
- Wei, C.I., Chen, J.A., Koburger, J.A., Otwell, W.S. and Marshall, M.R. 1990. Bacterial Growth And Histamine Production On Vacuum Packaged Tuna. *Journal Food Science*. 55: 59-63
- Wibowo, S., dan Yunizal. 1998. *Penanganan ikan segar*. Instalasi Perikanan Laut Slipi. Jakarta.
- Widiastuty, I. 2008. Analisis mutu ikan tuna selama lepas tangkap pada perbedaan preparasi dan waktu penyimpanan. (Tesis). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Williamsom. 1970. Little Tuna *Euthynnus affinis* Hongkong Area. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*. 36(1): 9-18.
- Winarnti, T. F., Swastawati, Y.S., Darmanto, dan Dewi, E. N. 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. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Winarti, Dewi, K., dan Enny, F. 2009. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Akar Sidaguri (*Sida rhombifolia* Linn). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 12(2) : 52-56.
- Wiryanan, K.G., Tangendjaja, B., dan Suryahadi. 2000. Tannin degrading bacteria from Indonesian ruminants. In: J.D. Brooker (Ed.) *Tannins in Livestock and Human Nutrition*. ACIAR Proceedings.
- 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*. 46(4): 196-201.