

**Kajian Daya Hambat Ekstrak Campuran Daun Waru (*Hibiscus tiliaceus L*)
dan Daun Jati (*Tectona grandis*) Sebagai Antimikroba Alami dalam
Menurunkan Cemaran *Eschericia coli* Pada daging Ayam (*Gallus
domesticus*)**

(Skripsi)

Oleh

WAHYUDI



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

ABSTRACT

STUDY OF INHIBITORY EFFECT OF COMBINATION OF WARU (*Hibiscus tiliaceus L.*) AND TEAK (*Tectona grandis*) LEAF EXTRACTS AS NATURAL ANTIMICROBIAL AGENT FOR REDUCING OF *Eschericia coli* ON CHIKEN MEAT (*Gallus domesticus*)

By

WAHYUDI

Chicken is the most common source of animal protein in Indonesia due to its high protein content and low price. However, because of not standardized process, chicken meats sold in traditional market is mostly contaminated by pathogens bacteria such as *Eschericia coli*. Previous research indicated that extracts of waru (*Hibiscus tiliaceus L.*) and teak (*Tectona grandis*) leafs inhibited *Eschericia coli* growth. Therefore in this research, we aimed 1) to study whether antimicrobial activity of extracts combinations of waru and teak leafs depend on the proportion of the each extract, 2) to find out the best combination of waru and teak leaf extracts that have the highest antimicrobial activity against *Eschericia coli*, and 3) to evaluate effectiveness of the best combination of the extracts for protecting of chicken meat from *Eschericia coli* contaminant. Non factorial treatments were arranged in Randomized Complete Block Design (RCBD) with three replicates.

Analyze of variance (Anova) and Least Significant Different (LSD) test were applied to the experimental data. The treatments were considered significant when α value less than 0,05. The results showed that antimicrobial activity of waru and teak leave extracts depends on the respective proportion in the blend. Increasing of antimicrobial activity was observed when waru and leafs extract concentration was increase in the mixture. The best proportion of waru and teak extracts to decrease *Eschericia coli* contaminant was when the proportion of waru extract 25% and teak extract 0%. The combination was effective to decrease *Eschericia coli* contaminant level on chiken meat with the percentage of decreasing was 56,26%.

Key words: waru leaf , teak leaf, natural antimicrobial agent, *eschericia coli*, chicken meat

ABSTRAK

KAJIAN DAYA HAMBAT EKSTRAK CAMPURAN DAUN WARU (*Hibiscus tiliaceus L.*) DAN DAUN JATI (*Tectona grandis*) SEBAGAI ANTIMIKROBA ALAMI DALAM MENURUNKAN CEMARAN *Eschericia coli* PADA DAGING AYAM (*Gallus domesticus*)

Oleh

WAHYUDI

Daging ayam merupakan salah satu bahan pangan bergizi tinggi, memiliki aroma yang enak, tekstur yang lunak, dan harga yang relatif murah. Akan tetapi, daging ayam mudah mengalami kerusakan mikrobiologis akibat dari cemaran bakteri patogen seperti *Eschericia coli*. Cemaran bakteri *Eschericia coli* dapat dihambat salah satunya dengan menggunakan antimikroba alami dari daun waru dan daun jati. Tujuan dari penelitian ini yaitu: 1) Mengetahui apakah aktivitas antimikroba ekstrak campuran daun waru dan daun jati tergantung pada proporsi masing-masing dalam campuran, 2) Mengetahui proporsi terbaik ekstrak campuran daun waru dan daun jati dalam menurunkan cemaran *Eschericia coli*, dan 3) Menguji efektivitas ekstrak proporsi terbaik dalam menurunkan cemaran *Eschericia coli* pada daging ayam. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) non faktorial dengan tiga ulangan. Data hasil

pengamatan dianalisis dengan sidik ragam RAKL dan dianalisis lebih lanjut dengan uji BNT sebagai pembandingan antar perlakuan pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antimikroba ekstrak daun waru dan daun jati tergantung pada masing-masing proporsi dalam campuran. Semakin banyak proporsi daun waru dalam campuran, maka aktivitas mikrobanya akan semakin besar. Proporsi ekstrak terbaik campuran daun waru dan daun jati dalam menurunkan cemaran *Eschericia coli* pada daging ayam adalah perlakuan W1J1 (25% daun waru) dengan zona hambat sebesar 4,487 mm. Perlakuan W1J1 (25% daun waru dan 0% daun jati) juga efektif dalam menurunkan cemaran *Eschericia coli* pada daging ayam dengan persentase penurunan sebesar 56,26% .

Kata kunci : daun waru, daun jati, antimikroba alami, *eschericia coli*, daging ayam

**KAJIAN DAYA HAMBAT EKSTRAK CAMPURAN DAUN WARU
(*Hibiscus tiliaceus L*) DAN DAUN JATI (*Tectona grandis*) SEBAGAI
ANTIMIKROBA ALAMI DALAM MENURUNKAN CEMARAN *Eschericia
coli* PADA DAGING AYAM (*Gallus domesticus*)**

Oleh

WAHYUDI

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

**: KAJIAN DAYA HAMBAT EKSTRAK
CAMPURAN DAUN WARU (*Hibiscus
tiliaceus L*) DAN DAUN JATI (*Tectona
grandis*) SEBAGAI ANTIMIKROBA
ALAMI DALAM MENURUNKAN
CEMARAN *Eschericia coli* PADA
DAGING AYAM (*Gallus domesticus*)**

Nama Mahasiswa

: Wahyudi

Nomor Pokok Mahasiswa

: 1514051083

Program Studi

: Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas

: Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

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

Dr. Ir. Samsu Udayana Nurdin, M.Si.
NIP 19670615 199403 1 003

2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian

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

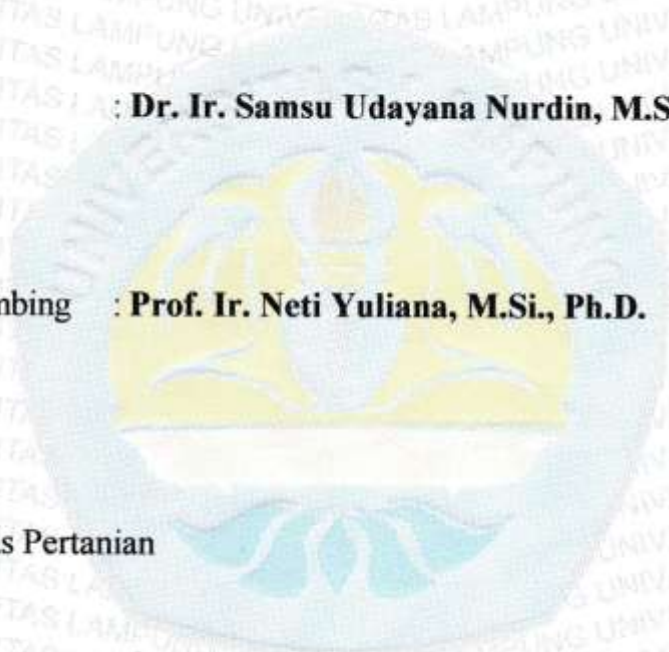
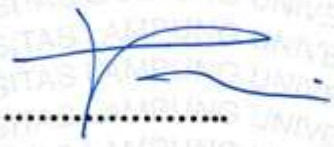
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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

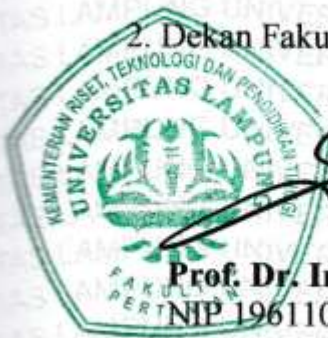
Sekretaris : Dr. Ir. Samsu Udayana Nurdin, M.Si.

**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 : 16 Mei 2019

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya adalah Wahyudi NPM 1514051083

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, 16 Mei 2019

Yang membuat pernyataan



Wahyudi
NPM. 1514051083

RIWAYAT HIDUP



Penulis lahir di desa Wana, Kecamatan Melinting, Kabupaten Lampung Timur pada 23 Agustus 1998 sebagai anak pertama dari Bapak Marino dan Ibu Wakini, serta sebagai kakak dari Maria Dwi Rahayu.

Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di SD Negeri 4 Wana pada tahun 2009. Penulis melanjutkan pendidikan menengah di SMP Kosgoro Bandar Sribhawono dan lulus pada tahun 2012, kemudian melanjutkan pendidikan menengah atas di SMA Negeri 1 Bandar Sribhawono dan lulus pada tahun 2015. Pada tahun yang sama, penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Pada bulan Januari sampai Maret 2018, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di desa Tambah Dadi, Kecamatan Purbolinggo, Kabupaten Lampung Timur. Pada bulan Juli sampai Agustus 2018, penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di PT. Haldin Pacific Semesta Lampung Plant dengan judul “Mempelajari Proses Produksi *Ginger Powder* dan Implementasi *Good Manufacturing Practices (GMP)* di PT. Haldin Pacific Semesta Lampung Plant”. Selama menjadi mahasiswa, penulis bergabung dalam Staff Akademik Forum Studi Islam Fakultas Pertanian (2015), Staff Kementerian Dalam Negeri BEM U

KBM Unila (2016), dan Kepala Dapertemen Kesekretariatan dan Rumah Tangga (KRT) UKM U Sains dan Teknologi (2017). Penulis pernah menjadi Asisten Dosen mata kuliah Mikrobiologi Umum tahun ajaran 2018/2019.

SANWACANA

Bismillaahirrahmaanirrahiim. Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT, karena atas rahmat dan hidayah-Nya skripsi ini dapat diselesaikan. Skripsi dengan judul “Kajian Daya Hambat Ekstrak Campuran Daun Waru (*Hibiscus tiliaceus L.*) dan Daun Jati (*Tectona grandis*) Sebagai Antiikroba Alami Dalam Menurunkan Cemaran *Eschericia coli* Pada Daging Ayam (*Gallus domesticus*)” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Teknologi Pertanian di Universitas Lampung.

Dalam Kesempatan ini penulis 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 pembimbing pertama skripsi dan pembimbing akademik yang bersedia membimbing tiap langkah dalam pengerjaan skripsi ini. Terima kasih atas kesabaran, motivasi, nasihat, kesempatan serta bantuan dan fasilitas hingga penyusunan skripsi ini selesai;

4. Bapak Dr. Ir. Samsu Udayana Nurdin, M.Si., selaku pembimbing kedua yang telah banyak memberikan bimbingan, pengarahan, saran, nasihat dan kritikan dalam penyusunan skripsi dan selama perkuliahan;
5. Ibu Prof. Ir. Neti Yuliana, M.Si., Ph.D. selaku penguji yang telah memberikan saran dan nasihat selama Penulis menyelesaikan skripsi;
6. Keluargaku tercinta, Ibu, Ayah, dan Adik yang selalu memotivasi Penulis untuk terus semangat dan tidak pantang menyerah selama awal sampai akhir perkuliahan, atas doa, cinta, dan kasih sayang yang selalu diberikan kepada penulis sampai saat ini;
7. Bapak dan Ibu dosen dan Staf administrasi dan laboratorium yang telah memberikan ilmu, wawasan dan bantuan kepada penulis selama kuliah;
8. Sahabat-sahabatku (Yogi, Karvien, Ali Al Hafif, Yahdinata, Faris Naufal, Aziz Mahendra, Juniarto dan Egit) serta teman-teman terbaikku dan keluargaku THP angkatan 2015 yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, terima kasih atas pengalaman yang diberikan, semangat, dukungan, canda tawa, serta kebersamaannya selama ini;
9. Teman-teman kontrakan (Andi, Roni, Dersan, Galeh, dan Rizqi) yang selalu menemani, memberikan hiburan, dan kebersamaannya selama ini;
10. Pimpinan Balai Besar Penelitian Veteriner Bandar Lampung dan Staff Bakteriologi (Buk Ari, Buk Titin, dan Pak Kamsu) terima kasih atas bantuan yang diberikan selama penulis melaksanakan penelitian di Balai Besar Penelitian Veteriner Bandar Lampung;

11. Teman-teman UKM U Saintek 2017, Kakak, adik dan almamater tercinta, terimakasih telah memberikan semangat dan pengalaman yang luar biasa serta semua pihak yang telah membantu penulisan skripsi ini.
12. Teman-teman “Tim Antibakteri” yang telah memberikan motivasi dan semangat kepada penulis.

Penulis sangat menyadari skripsi ini jauh dari kata sempurna, oleh sebab itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun dan dapat memberikan manfaat bagi penulis serta pembaca

Bandar Lampung, Mei 2019

Wahyudi

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xix
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang dan Masalah	1
1.2. Tujuan Penelitian.....	5
1.3. Kerangka Pemikiran	5
1.4. Hipotesis	10
II. TINJAUAN PUSTAKA	11
2.1. Klasifikasi Ayam.....	11
2.2. Daging Ayam	12
2.2.1 Karakteristik Daging Ayam.....	12
2.2.2 Aspek Mikrobiologis Daging Ayam.....	16
2.3. Bakteri <i>Eschericia coli</i>	19
2.4. Antimikroba	24
2.5. Metode Uji Antimikroba	29
2.6. Tanaman Waru (<i>Hibiscus tiliaceus L.</i>).....	31
2.7. Tanaman Jati (<i>Tectona grandis</i>).....	33
2.8. Uji Fenol Metode Follin-ciocalteu	35
2.9 Uji Sensori.....	36
III. BAHAN DAN METODE	38
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	38
3.2. Bahan dan Alat.....	38
3.3. Metode Penelitian.....	39
3.4. Pelaksanaan Penelitian	39

3.4.1 Preparasi Kultur Bakteri dan Sampel	39
3.4.2 Pembuatan Serbuk Daun	40
3.4.3 Pembuatan Ekstrak	41
3.5. Pengamatan	43
3.5.1 Uji Penurunan Total Mikroba	43
3.5.1.1 Peremajaan Bakteri Uji	43
3.5.1.2 Pembuatan Standar Turbiditas 0,5 Mc Farland	44
3.5.1.3 Pembuatan Suspensi Bakteri.....	45
3.5.1.4 Uji Total <i>Eschericia coli</i> Pada Daging Ayam	46
3.5.1.5 Uji Daya Hambat Antimikroba.....	47
3.5.1.6 Uji Penurunan Total <i>Eschericia coli</i> Pada Daging Ayam	48
3.5.2 Uji Kadar Fenol Daging Ayam	50
3.5.2.1 Pembuatan Kurva Standar Asam Galat dengan Reagen <i>Folin-ciocalteu</i>	50
3.5.2.2 Penetapan Konsentrasi Fenol (ppm GAE).....	50
3.5.3 Uji Derajat Keasaman (pH) Daging Ayam	51
3.5.4 Uji Aplikasi Perlakuan Terbaik Dalam Menurunkan Total <i>Eschericia coli</i> Daging Ayam.....	52
3.5.5 Pengujian Sensori (Warna dan Penampakan)	53
3.6 Analisis Data	54
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	55
4.1 Karakteristik Serbuk dan Ekstrak Daun.....	55
4.2 Pengaruh Pencampuran Ekstrak Daun Waru dan Daun Jati Terhadap Daya Hambat Bakteri <i>Eschericia coli</i>	57
4.2.1 Daya Hambat Antimikroba	57
4.2.2 Penurunan Total <i>Eschericia coli</i> Pada Daging Ayam.....	61
4.2.3 Kadar Fenol Daging Ayam	65
4.2.4 Derajat Keasaman (pH) Daging Ayam	68
4.3 Aplikasi Perlakuan Terbaik Dalam Menurunkan Total <i>Eschericia coli</i> Daging Ayam	70
4.4 Sensori Daging Ayam (Warna dan Penampakan)	71

4.4.1 Warna.....	72
4.4.2 Penampakan	73
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	76
5.1 Simpulan	76
5.2 Saran.....	77
DAFTAR PUSTAKA	78
LAMPIRAN.....	90

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tingkatan mutu karkas ayam berdasarkan sni 01-3924-2009	15
2. Spesifikasi persyaratan mutu batas maksimum cemaran mikroba pada daging ayam	19
3. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri.....	30
4. Rancangan percobaan	39
5. Standar turbiditas Mc Farland.....	45
6. Karakteristik koloni <i>Eschericia coli</i> yang tumbuh pada media <i>Eosin Methylene Blue</i> (EMB)	64
7. Pengaruh perlakuan terbaik dalam menurunkan total <i>Eschericia coli</i> daging ayam	70
8. Hasil uji total bakteri <i>Eschericia coli</i> pada daging ayam.....	91
9. Hasil uji daya hambat antimikroba (mm)	91
10. Uji kehomogenan ragam (<i>Barlett's test</i>) daya hambat antimikroba ...	91
11. Analisis ragam daya hambat antimikroba.....	92
12. Uji BNT daya hambat antimikroba.....	92
13. Hasil uji penurunan total <i>Eschericia coli</i> pada daging ayam (10^7 koloni/g).....	93
14. Uji kehomogenan ragam (<i>Barlett's test</i>) penurunan total <i>Eschericia coli</i> pada daging ayam.....	93
15. Analisis ragam penurunan total <i>Eschericia coli</i> pada daging ayam	94
16. Uji BNT penurunan total <i>Eschericia coli</i> pada daging ayam	94

17. Hasil uji aplikasi aktivitas antimikroba.....	95
18. Tabel standar asam galat	95
19. Kadar total fenol daging ayam (ppm GAE)	96
20. Uji kehomogenan ragam (<i>Barlett's test</i>) total fenol daging ayam	96
21. Analisis ragam total pada daging ayam	97
22. Uji BNT total fenol pada daging ayam	97
23. Hasil uji derajat keasaman (pH) daging ayam	98
24. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (<i>Bartlett's test</i>) derajat keasaman (pH) daging ayam.....	98
25. Analisis ragam derajat keasaman (pH) daging ayam.....	99
26. Uji BNT derajat keasaman (pH) daging ayam.....	99
27. Data pengelompokan parameter warna daging ayam	100
28. Data pengelompokan parameter penampakan daging ayam.....	101

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bentuk bakteri <i>Echerichia coli</i> pada mikroskop elektron.....	23
2. Struktur kimia saponin.....	27
3. Struktur kimia flavonoid.....	27
4. Struktur kimia tanin.....	28
5. Tanaman waru (<i>Hibiscus tiliaceus L.</i>).....	32
6. Tanaman jati (<i>Tectona grandis</i>).....	34
7. Mekanisme reaksi senyawa fenol dengan reagen FC.....	36
8. Diagram alir pembuatan serbuk daun waru dan daun jati.....	41
9. Pembuatan ekstrak campuran daun.....	42
10. Peremajaan bakteri <i>Eschericia coli</i>	44
11. Uji total <i>Eschericia coli</i> pada daging ayam.....	47
12. Uji daya hambat antimikroba.....	48
13. Uji penurunan total <i>Eschericia Coli</i> pada daging ayam.....	49
14. Uji kadar fenol.....	51
15. Uji aplikasi aktivitas antimikroba.....	53
16. Kuisisioner uji skoring daging ayam.....	54
17. (a) Daun waru, (b) Daun jati, (c) Serbuk daun waru dan daun jati.....	55
18. A) Ekstrak W1J1, (B) Ekstrak W2J2, (C) Ekstrak W3J3, (D) Ekstrak W4J4, (E) Ekstrak W5J5, (F) Ekstrak W6J6.....	56

19. Pengaruh pencampuran ekstrak daun waru dan daun jati terhadap daya hambat bakteri <i>Eschericia coli</i>	58
20. Pengaruh pencampuran ekstrak daun waru dan daun jati terhadap penurunan total bakteri <i>Eschericia coli</i> daging ayam.....	62
21. Pengaruh pencampuran ekstrak daun waru dan daun jati terhadap total fenol daging ayam.....	66
22. Pengaruh pencampuran ekstrak daun waru dan daun jati terhadap derajat keasaman (pH) daging ayam.....	69
23. Hasil visual daging a) sebelum perendaman dan b) setelah perendaman pada ekstrak W1J1 (25% daun waru dan 0% daun jati)....	71
24. Pengaruh perlakuan W1J1 (25% daun waru dan 0% daun jati) terhadap warna daging ayam.....	72
25. Pengaruh perlakuan W1J1 (25% daun waru dan 0% daun jati) terhadap penampakan daging ayam	74
26. Grafik kurva asam galat	95
27. Grafik uji sensori (warna) daging ayam.....	100
28. Grafik uji sensori (penampakan) daging ayam	101
29. Daun waru	102
30. Daun jati.....	102
31. Potongan kecil-kecil daun waru	102
32. Potongan kecil-kecil daun jati.....	102
33. Daun waru setelah pengovenan	102
34. Daun jati setelah pengovenan	102
35. Penggilingan daun kering menggunakan blender	102
36. Pengayakan serbuk daun kering.....	103
37. Hasil penyaringan serbuk daun kering.....	103
38. Serbuk daun waru dan daun jati.....	103
39. Penimbangan serbuk	103

40. Maserasi ekstrak.....	103
41. Penyaringan ekstrak	103
42. Ekstrak campuran daun waru dan daun jati	104
43. Sampel daging ayam	104
44. Media EMB.....	104
45. Proses homogenisasi daging ayam + BPW.....	104
46. Proses pengenceran	104
47. Penuangan hasil pengenceran ke cawan petri	104
48. Penuangan media EMB.....	105
49. Inkubasi.....	105
50. Hasil total plate count (TPC) <i>Eschericia coli</i> daging ayam.....	105
51. Perendaman kertas cakram pada ekstrak	105
52. Inokulasi <i>Eschericia coli</i> pada media NA	105
53. Peletakkan kertas cakram pada media NA	106
54. Inkubasi.....	106
55. Pengukuran zona hambat antimikroba	106
56. Media EMB.....	107
57. Pengenceran	107
58. Penuangan hasil pengenceran ke cawan petri	107
59. Penuangan media EMB.....	107
60. Inkubasi.....	107
61. Perendaman daging ayam pada ekstrak W1J1 (perlakuan terbaik)	108
62. Penambahan <i>Eschericia coli</i>	108
63. Pengenceran	108

64. Penuangan media EMB.....	108
65. Hasil uji aplikasi aktivitas antimikroba perlakuan terbaik	108
66. Na ₂ CO ₃ dan reagen follin-ciocalteu	109
67. Pembuatan konsentrasi asam galat.....	109
68. Penambahan aquades pada standar asam galat	109
69. Penambahan folin-ciocalteu pada standar asam galat	109
70. Penambahan Na ₂ CO ₃ pada standar asam galat.....	109
71. Perendaman daging ayam pada masing-masing ekstrak.....	109
72. Pengambilan cairan daging ayam setelah perendaman pada ekstrak...	110
73. Cairan daging ayam setelah perendaman pada ekstrak.....	110
74. Penambahan aquades pada cairan daging	110
75. Penambahan folin-ciocalteu pada cairan daging ayam.....	110
76. Penambahan Na ₂ CO ₃ dan divortex	110
77. Setelah penambahan Na ₂ CO ₃	110
78. Penempatan larutan pada kuvet.....	111
79. Proses absorbansi	111
80. Penimbangan daging ayam	111
81. Perendaman daging ayam pada ekstrak	111
82. Penambahan aquades	111
83. Pengukuran pH.....	111
84. Perendaman daging ayam	112
85. Uji sensori	112
86. Daging ayam sebelum direndam pada ekstrak.....	112
87. Daging ayam setelah direndam pada ekstrak	112

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Daging ayam merupakan salah satu bahan pangan bergizi tinggi, memiliki rasa dan aroma enak, tekstur lunak, serta memiliki harga yang relatif murah, sehingga banyak masyarakat yang menyukai daging ayam untuk dikonsumsi. Hal tersebut dapat dilihat dari tingkat produksinya yang tergolong tinggi. Tingkat produksi daging ayam berdasarkan akumulasi data produksi nasional pada tahun 2017 mencapai 1.848.061 ton/tahun. Produksi daging ayam pada tahun 2017 tersebut lebih tinggi jika dibandingkan dengan rata-rata produksi daging ayam pada tahun 2013-2016 yaitu 1.644.014 ton/tahun. Selain itu, produksi daging ayam selama tahun 2013-2016 juga lebih tinggi jika dibandingkan dengan produksi daging hewan lain seperti sapi, kerbau, kambing, babi, itik, dan sebagainya pada tahun yang sama (Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, 2018).

Daging ayam termasuk bahan hasil pertanian yang mempunyai sifat mudah rusak (*perishable*). Kerusakan pada daging ayam sebagian besar disebabkan oleh penanganannya yang kurang tepat sehingga memberikan peluang bagi pertumbuhan mikroorganisme (Risjanati, 2010). Menurut Mulya *et al.*

(2014) mikroorganisme yang sering mencemari daging ayam yaitu *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* Pernyataan tersebut didukung oleh Utari *et al.* (2016) yang menyebutkan bahwa kerusakan mikrobiologis pada daging ayam banyak disebabkan oleh cemaran bakteri patogen seperti *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* Bakteri patogen yang mencemari daging ayam dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti diare, demam, tipus, dan sebagainya atau sering disebut dengan *foodborne disease*. Menurut Djafaar dan Rahayu (2007), bakteri patogen seperti *Escherichia coli* dapat menyebabkan daging ayam menjadi busuk bahkan dapat menghasilkan senyawa-senyawa toksin seperti enterotoksin, limfotoksin, sitotoksin, dan verotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare (Jawetz *et al.*, 1995).

Escherichia coli merupakan mikroba yang digunakan sebagai indikator sanitasi produk olahan yang berasal dari daging maupun minuman (Sasmita *et al.*, 2014). Batas cemaran *Escherichia coli* pada daging ayam berdasarkan SNI 7388:2009 adalah 1×10^1 koloni/gram. Berdasarkan penelitian Marliena (2016), cemaran *Escherichia coli* pada daging ayam di pasar tradisional dan modern Kota Bandar Lampung sebanyak 1×10^2 koloni/gram. Mulya *et al.* (2017) juga melaporkan bahwa cemaran *Escherichia coli* pada daging ayam di pasar kota Padang mencapai 2×10^2 koloni/gram hingga $5,6 \times 10^2$ koloni/gram. Hal tersebut menunjukkan bahwa cemaran *Escherichia coli* pada daging ayam yang dijual di pasaran masih riskan diatas batas cemaran yang telah ditetapkan oleh SNI. Cemaran *Escherichia coli* pada daging ayam banyak terjadi pada saat pemotongan, pengepakan, pendistribusian, dan pengolahan produk asal hewan. Kontaminasi juga dapat terjadi karena kondisi peternakan, tempat pemotongan, dan pengolahan daging

ayam yang kurang baik (Dewantoro, 2011). Jadi segala sesuatu yang kontak langsung maupun tidak langsung dengan daging ayam berpotensi sebagai sumber kontaminasi mikroorganisme (Soeparno, 2009). Cemaran *Escherichia coli* pada daging ayam perlu dihambat guna menurunkan jumlah cemaran bakteri patogen.

Cemaran *Escherichia coli* pada daging ayam pada umumnya dapat dihambat dengan perlakuan pendinginan. Perlakuan lainnya yaitu dengan penambahan garam, gula, asam, dan pengawetan dengan pengawet sintetis atau kimia (Usmiati, 2010). Namun cara penghambatan *Escherichia coli* dengan metode-metode tersebut dapat menyebabkan dampak serius kepada konsumen. Windiyartono *et al.* (2016) menjelaskan bahwa penambahan pengawet sintetis seperti nitrat dan nitrit dapat menghasilkan residu bersifat karsinogenik yang menjadi penyebab penyakit kanker. Penambahan pengawet sintetis lain seperti formalin dan boraks juga tidak direkomendasikan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM), karena diduga dapat menyebabkan penyakit kanker (*carcinogen agent*). Oleh karena itu, perlu adanya pengembangan antimikroba yang lebih efektif seperti antimikroba alami dalam menghambat *Escherichia coli* pada daging ayam. Antimikroba alami disarankan karena lebih aman dan tidak menyebabkan dampak serius kepada konsumen. Antimikroba alami termasuk diantaranya dapat diperoleh dari daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) dan daun jati (*Tectona grandis*) yang selama ini belum dimanfaatkan secara optimal.

Antimikroba pada daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) dan daun jati (*Tectona grandis*) berupa senyawa kimia tertentu. Senyawa kimia tertentu antara lain saponin, flavonoid, tanin, terpenoid, dan fenol. Berdasarkan penelitian Lusiana *et*

al. (2013), pada daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) terdapat kandungan senyawa golongan saponin, flavonoid, tanin, dan polifenol. Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa aktif yang memiliki peran sebagai antimikroba. Kemudian hasil penelitian Afiyah (2013) menunjukkan ekstrak daun jati (*Tectona grandis*) memiliki aktivitas antimikroba karena kemampuannya dalam menghambat *Bacillus cereus*, *Streptococcus thermophilus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. Hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol daun jati menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid, saponin, tanin galat, tanin katekat, kuinon, dan steroid/triterpenoid (Hartati *et al.*, 2007).

Kandungan senyawa aktif pada daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) dan daun jati (*Tectona grandis*) yang berfungsi sebagai antimikroba dapat diisolasi dengan cara ekstraksi. Ada beberapa macam ekstraksi seperti maserasi, soxhletasi, refluks, perkolasi, dan sebagainya. Maserasi adalah metode ekstraksi yang cukup sederhana, mudah dilakukan, dan tidak membutuhkan biaya yang mahal. Selain itu rendemen ekstrak yang dihasilkan juga lebih banyak. Berbeda dengan metode lain seperti soxhletasi dan refluks, dimana untuk mendapatkan ekstrak yang cukup, diperlukan bahan dengan jumlah yang banyak sehingga tidak sesuai dan sulit diterapkan. Ekstrak daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) dan daun jati (*Tectona grandis*) yang diekstrak dengan metode maserasi diduga dapat menurunkan cemaran *Eschericia coli* pada daging ayam. Selain itu, campuran ekstrak kedua daun tersebut juga diduga dapat mempengaruhi tingkat keefektivannya dalam menurunkan *Eschericia coli*. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk memanfaatkan ekstrak campuran daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) dan daun jati

(*Tectona grandis*) sebagai antimikroba alami guna menurunkan cemaran *Eschericia coli* pada daging ayam.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu :

1. Mengetahui apakah aktivitas antimikroba ekstrak campuran daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) dan daun jati (*Tectona grandis*) tergantung pada proporsi masing-masing dalam campuran.
2. Mengetahui proporsi terbaik ekstrak campuran daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) dan daun jati (*Tectona grandis*) dalam menurunkan cemaran *Eschericia coli*.
3. Menguji efektivitas ekstrak proporsi terbaik dalam menurunkan cemaran *Eschericia coli* pada daging ayam.

1.3 Kerangka Pemikiran

Kerusakan mikrobiologis pada daging ayam pada umumnya disebabkan oleh kontaminasi bakteri *Eschericia coli*. Kontaminasi *Eschericia coli* dapat terjadi pada saat pemotongan, pengepakan, pengolahan, dan pendistribusian.

Kontaminasi juga dapat berasal dari lingkungan dan peralatan yang digunakan dalam proses pengolahan daging ayam. Daging ayam menjadi media pertumbuhan yang baik bagi *Eschericia coli* karena adanya kandungan protein dan lemak yang tinggi (Raharjo dan Santoso, 2005). Protein dan lemak digunakan *Eschericia coli* sebagai sumber nutrisi bagi pertumbuhannya. Metabolisme bakteri *Eschericia coli* mampu menyebabkan pembusukan daging ayam dan menghasilkan senyawa

toksin penyebab penyakit pada manusia (Cox, 2005). Cemaran *Eschericia coli* pada daging ayam perlu dihambat yaitu salah satunya dengan penggunaan antimikroba alami.

Berdasarkan penelitian Syamsuhidayat dan Hutapea (1991), daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) mengandung senyawa saponin dan lima senyawa fenol. Dalimarta (2006) juga melaporkan bahwa pada daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) terdapat senyawa tanin dan flavonoid. Kemudian hasil isolasi senyawa baru dari daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.), yaitu : n-trans-feruloytyramine, hibiscusamide, dan n-cis-feruloytyramine (Chen, 2006). Adanya senyawa-senyawa antimikroba pada daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) akan menghambat atau bahkan dapat mematikan sel bakteri *Eschericia coli*. Hasil penelitian Lusiana *et al.* (2013) menunjukkan bahwa ekstrak daun waru terbukti memiliki daya hambat terhadap bakteri *Eschericia coli* dengan rata-rata diameter daya hambat tiap konsentrasi sebesar 0% (0 ± 0), 5% ($6,35\pm 0,13$), 7,5% ($6,75\pm 0,11$), 10% ($7,36\pm 0,13$), 12,5% ($7,85\pm 0,13$), 15% ($8,44\pm 0,16$), 17,5% ($8,76\pm 0,13$) dan 20% ($9,78\pm 0,08$) mm. Berdasarkan hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri tertinggi pada konsentrasi 20%. Ekstrak daun waru pada konsentrasi 5-20% tersebut memiliki efek antimikroba tergolong sedang (5-10 mm) terhadap bakteri *Eschericia coli*.

Menurut penelitian Armisman dan Afianti (2009), ekstraksi dan fraksinasi senyawa antibakteri daun jati (*Tectona grandis*) mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *streptococcus*

mutans. Penelitian lain yang dilakukan Fitriana (2010), ekstrak daun jati (*Tectona grandis*) yang diuji menggunakan metode difusi agar, terbukti mempunyai aktivitas antimikroba. Hasil pengujian aktivitas antimikroba ekstrak daun jati (*Tectona grandis*) menunjukkan rata-rata zona hambatan terbesar masing-masing konsentrasi (0,025%, 0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,4%, 0,8%, 1,6% dan 3,2%) dengan mikroba uji yaitu bakteri *Escherichia coli* pada metode maserasi yaitu 46 mm, soxhlet yaitu 47,4 mm, dan untuk refluks yaitu 46,1 mm. Hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol daun jati menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid, saponin, tanin galat, tanin katekat, kuinon, dan steroid/triterpenoid yang merupakan senyawa antimikroba (Hartati *et al.*, 2007). Flavonoid dan tanin termasuk senyawa golongan fenol (Lattanzio, 2016), sedangkan saponin merupakan senyawa glikosida triterpenoida atau glikosida steroida (Harbone, 1996).

Senyawa-senyawa seperti saponin, tanin, flavonoid, dan terpenoid merupakan senyawa antimikroba. Senyawa-senyawa tersebut dapat bersifat menghambat atau bahkan mematikan sel mikroba. Menurut Newall *et al.* (1996) senyawa tanin dan flavonoid memiliki sifat antimikroba karena dapat melawan pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Pernyataan tersebut didukung oleh hasil penelitian Reveny (2011) yang menyebutkan bahwa senyawa tanin dan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol 80%, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat daun sirih merah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan jamur *Candida albicans*. Mekanisme kerja senyawa-senyawa antimikroba dalam menghambat atau membunuh sel mikroba berbeda-beda. Saponin dapat membunuh sel bakteri dengan cara menghancurkan sifat

permeabilitas dinding sel melalui ikatan hidrogen dan akan mematikan sel (Priosoeryanto, 2006). Senyawa tanin berperan sebagai senyawa antimikroba karena dapat menginaktivasi adhesi sel mikroba (senyawa yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel. Tanin akan menghancurkan ikatan polipeptida pada dinding sel sehingga akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel tersebut (Sari *et al.*, 2011). Berbeda dengan tanin, mekanisme senyawa fenol sebagai senyawa antimikroba adalah dengan mendenaturasi protein sel bakteri sehingga metabolisme sel terganggu (Rakhmanda, 2008). Sementara itu, senyawa flavonoid dapat merusak membran sel bakteri dan mendenaturasi sel bakteri (Harborne, 1987).

Penelitian-penelitian mengenai antimikroba alami dari tumbuhan sudah banyak dilakukan. Pada umumnya penelitian antimikroba alami dilakukan dengan mengisolasi senyawa aktif yang terdapat pada tumbuhan terlebih dahulu, dan kemudian dilakukan uji daya hambat terhadap mikroba tertentu. Isolasi senyawa aktif tumbuhan dilakukan melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai. Hasil penelitian Maghfiro (2017), dari 4 kg kulit jeruk, 5 kg kulit nanas, dan 8 kg kulit buah naga yang diekstrak menggunakan metode soxhletasi menggunakan etanol 96% hanya didapatkan ekstrak sebanyak 100 ml pada masing-masing bahan. Hal ini menunjukkan bahwa pemanfaatan antimikroba alami dari tumbuhan sangat sulit diimplementasikan apabila diekstrak dengan metode sejenis dengan soxhletasi. Alternatif lain untuk memanfaatkan tumbuhan sebagai antimikroba alami adalah dengan membuatnya menjadi bentuk serbuk yang kemudian dilarutkan pada aquades steril, atau sering disebut dengan maserasi.

Penelitian mengenai antimikroba alami daun waru pernah dilakukan oleh Soetjipto (2013), dimana ekstrak daun waru yang diekstraksi dengan maserasi efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Eschericia coli* pada konsentrasi 5%-20%. Hasil penelitian tersebut menunjukkan semakin tinggi konsentrasi daun waru maka semakin besar daerah daya hambat yang dihasilkan, yang artinya aktivitas antimikroba semakin tinggi. Sama halnya dengan ekstrak daun waru, ekstrak daun jati juga memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Chastelyna, 2017). Adanya aktivitas penghambatan yang ditunjukkan ekstrak daun waru dan daun jati tersebut membuat adanya dugaan bahwa ekstrak campuran daun waru dan daun jati juga memiliki aktivitas antimikroba. Berdasarkan kerangka pemikiran diatas, dilakukan penelitian penurunan cemaran *Eschericia coli* pada daging ayam menggunakan antimikroba alami dari ekstrak campuran daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) dan daun jati (*Tectona grandis*) dimana jumlah proporsi kedua daun adalah 25%. Jumlah proporsi tersebut didasarkan pada penelitian pendahuluan yang sebelumnya dilakukan, proporsi 25% adalah jumlah proporsi yang optimal dalam ekstraksi maserasi campuran daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) dan daun jati (*Tectona grandis*). Pada jumlah proporsi lebih dari 25%, ekstrak sangat sulit didapatkan.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Aktivitas antimikroba ekstrak campuran daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) dan daun jati (*Tectona grandis*) tergantung pada masing-masing proporsi dalam campuran.
2. Terdapat proporsi terbaik ekstrak campuran daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) dan daun jati (*Tectona grandis*) dalam menurunkan cemaran *Eschericia coli*.
3. Proporsi terbaik ekstrak campuran daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) dan daun jati (*Tectona grandis*) efektif dalam menurunkan cemaran *Eschericia coli* pada daging ayam.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klasifikasi Ayam

Klasifikasi ayam menurut Rahayu (2011) adalah:

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Sub Kingdom	: <i>Metazoa</i>
Phylum	: <i>Chordata</i>
Subphylum	: <i>Vertebrata</i>
Class	: <i>Aves</i>
Ordo	: <i>Galliformes (Game birds)</i>
Family	: <i>Phasianidae (Peasants)</i>
Genus	: <i>Gallus</i>
Spesies	: <i>Gallus domesticus</i>

Ayam (*Gallus Domesticus*) merupakan hewan yang banyak dipelihara oleh masyarakat untuk dimanfaatkan daging dan juga telurnya. Ayam diklasifikasikan menjadi tiga jenis, yaitu ayam hutan, ayam kampung, dan ayam ras (ayam boiler). Saat ini, ayam kampung (buras) dan ayam ras (boiler) merupakan jenis ayam yang banyak dipelihara oleh masyarakat. Ayam kampung memiliki kelebihan pada daya adaptasi yang tinggi karena dapat menyesuaikan diri dengan berbagai kondisi lingkungan. Sehingga ayam kampung mudah untuk dipelihara bahkan dibudidayakan. Pada umumnya masyarakat memelihara ayam kampung secara

tradisional (Sarwono, 2005). Kemudian ayam ras (boiler) merupakan jenis ayam hasil persilangan dari ayam yang memiliki produktivitas tinggi. Ayam ras (boiler) yang selama ini dikenal adalah ayam ras (boiler) pedaging dan petelur. Ayam ras mempunyai kelebihan dapat dipanen dalam waktu yang relatif singkat dan menguntungkan. Pemanenan ayam ras (boiler) dapat dilakukan 5-6 minggu apabila dipelihara secara intensif. Oleh karena itu peternakan ayam ini berkembang pesat disetiap negara. Di Indonesia usaha peternakan ayam ras juga sudah dijumpai hampir disetiap provinsi (Tim Karya Tani Mandiri, 2009).

2.2 Daging Ayam

2.2.1 Karakteristik Daging Ayam

Ayam kampung dan ayam ras (boiler) adalah jenis ayam yang sering dimanfaatkan dagingnya untuk konsumsi masyarakat. Namun tingkat konsumsi daging ayam ras (boiler) lebih tinggi dibandingkan dengan ayam kampung. Hal ini disebabkan ayam ras (boiler) memiliki harga yang relatif lebih murah. Selain itu juga ayam ras (boiler) memiliki kemampuan dalam menghasilkan daging dengan tingkat pertumbuhan yang cepat (Muladno *et al.*, 2008). Berbeda dengan ayam kampung yang memiliki harga yang relatif lebih mahal, tingkat pertumbuhan yang lambat, dan memiliki kerangka tubuh yang kecil sehingga menghasilkan daging dengan tingkat pertumbuhan yang relatif lama (Hardjosworo dan Rukminasih, 2000). Akan tetapi menurut Rashaf (2000) ayam kampung dapat menghasilkan daging yang lebih enak daripada daging ayam ras (boiler). Hal ini dikarenakan kemampuan genetik yang membedakan kedua jenis ayam tersebut.

Daging ayam didefinisikan sebagai semua jaringan hewan yang dikonsumsi namun tidak menimbulkan efek samping terhadap kesehatan bagi yang mengonsumsinya (Soeparno, 1994). Menurut BSN (2009) dalam SNI 3924:2009 daging ayam adalah otot skeletal dari karkas ayam yang aman, layak, dan lazim dikonsumsi manusia. Karkas ayam merupakan bagian ayam yang telah dipotong, dicabuti bulunya, dikeluarkan jeroan dan lemak abdominalnya, dipotong kepala dan leher serta kedua kakinya. Persentase bagian yang dipisahkan sebelum menjadi karkas adalah hati dan jantung 1.50%, paru-paru 0.90%, tembolok 1.50%, usus 8%, leher atau kepala 5.60%, kaki 3.90%, bulu 6%, darah 3.50%, karkas 60.10%, serta air 9%. Karkas yang telah dipisahkan dari bulu, kaki, leher atau kepala, organ dalam, ekor (kelenjar minyak) memiliki bobot sekitar 75% dari bobot hidup ayam (Abubakar, 2003).

Daging ayam berdasarkan kualifikasi karkasnya dapat dibedakan menjadi 2 jenis, yaitu karkas berdaging empuk (lunak, empuk, dan kulitnya halus) dan karkas berdaging keras (keras, kulitnya kasar, dan umurnya relatif tua) (Soeparno, 1994). Sementara karkas daging ayam berdasarkan cara pemotongannya dibedakan menjadi karkas utuh, potongan separuh (*halves*), potongan seperempat (*quarters*), potongan bagian-bagian badan (*chicken part* atau *cut put*), dan *deboned* yaitu karkas ayam pedaging tanpa tulang atau tanpa kulit. Dalam penanganannya, karkas ayam diklasifikasikan menjadi karkas segar, karkas dingin, dan karkas beku. Karkas segar adalah karkas yang diperoleh tidak lebih dari 4 jam setelah pemotongan dan tidak ada proses lebih lanjut. Karkas dingin adalah karkas yang segera didinginkan dalam temperatur antara 0⁰ C sampai 4⁰ C. Kemudian karkas

beku adalah karkas segar yang telah mengalami pembekuan dalam *blast freezer* dengan suhu bagian dalam daging -12°C (BSN, 2009).

Karkas ayam dapat dengan mudah mengalami kerusakan apabila tidak dilakukan penanganan secara baik dan benar. Abubakar (1992) menyebutkan bahwa kerusakan karkas ayam dapat terjadi pada proses pemotongan (10%-20%) dan kerusakan akibat memar serta tulang patah (90%). Beberapa faktor lain yang menentukan mutu karkas ayam yaitu, perlakuan selama transportasi, pemotongan (perlakuan kasar, penirisan darah kurang sempurna, pencabutan bulu dan pencucian kurang bersih), dan faktor genetik. Kerusakan pada karkas ayam tentunya dapat menurunkan kualitas atau mutu dari karkas tersebut. Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-3924-2009 mengenai Mutu Karkas dan Daging Ayam, kualitas karkas ayam dibedakan menjadi 3 tingkatan. Tingkatan mutu karkas ayam dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Tingkatan mutu karkas ayam berdasarkan SNI 01-3924-2009

No	Faktor Mutu	Tingkatan Mutu		
		Mutu I	Mutu II	Mutu III
1	Konformasi	Sempurna	Ada sedikit kelainan pada bagian tulang dada atau paha	Ada kelainan pada bagian tulang dada dan paha
2	Perdagangan	Tebal	Sedang	Tipis
3	Perlemakkan	Banyak	Banyak	Sedikit
4	Keutuhan	Utuh	Tulang utuh, kulit sobek sedikit, tetapi tidak pada bagian dada	Tulang ada yang patah, ujung sayap terlepas. Ada kulityang sobek dibagian dada
5	Perubahan Warna	Bebas dari memar dan atau “Freeze Burn”	Ada memar sedikit tetapi tidak pada bagian dada dan tidak “Freeze Burn”	Ada memar sedikit tetapi tidak ada “Freeze Burn”
6	Kebersihan	Bebas dari bulu tunas (<i>pin feather</i>)	Ada bulu tunas sedikit yang menyebar, tetapi tidak pada bagian dada	Ada bulu tunas

Sumber: Badan Standarisasi Nasional (2009)

Daging ayam adalah bahan hasil peternakan unggas yang memiliki peran penting dalam pemenuhan kebutuhan pangan. Daging ayam mempunyai kandungan protein yang tinggi, rendah lemak, serta tidak membutuhkan waktu yang lama dalam pengolahannya. Menurut Lukman *et al.* (2009) komposisi daging ayam terdiri dari protein yang cukup tinggi khususnya bagian dada 23,3%, kandungan air 74,4%, lemak 1,2%, dan abu 1,1%. Daging ayam setelah 24 jam pasca pemotongan memiliki pH 5,5-5,9 dimana pH ini berpengaruh terhadap kualitas

daging ayam (warna, keempukan, dan daya ikat air). Kandungan mineral pada daging ayam sekitar 4% yang terdiri dari potassium, sodium, magnesium, kalsium, besi, fosfat, sulfur, klorida, dan yodium (Forrest *et al.*, 1975). Menurut Murtidjo (2003), kualitas daging ayam dipengaruhi oleh beberapa faktor, baik pada saat ayam masih hidup maupun setelah ayam dipotong. Pada waktu ayam masih hidup, faktor penentu kualitas daging adalah cara pemeliharaannya yang meliputi pemberian pakan, tata cara pemeliharaan, dan pemeliharaan kesehatan. Faktor penentu kualitas daging setelah pemotongan adalah perdarahan pada saat pemotongan dan kontaminasi mikroba.

2.2.2 Aspek Mikrobiologis Daging ayam

Menurut Raharjo dan Santoso (2005), kerusakan daging ayam secara biologi terjadi akibat kontaminasi mikroba yang kemungkinan berasal dari ternak dan pencemaran lingkungan baik pada saat proses pemotongan, penyimpanan, maupun pemasaran. Awal kontaminasi mikroba pada saat pemotongan terjadi ketika mikroba masuk kedalam peredaran darah ayam. Ketika alat-alat pemotongan ayam yang digunakan tidak steril, atau bahkan orang yang memotong ayam tersebut tidak higienis maka hal tersebut dapat menjadi sumber kontaminasi mikroba (Frazier and Westhoof, 1988). Kontaminasi selanjutnya dapat terjadi pada saat operasi penyiapan daging yang meliputi proses pembelahan karkas, pendinginan, pembekuan, penyegaran daging beku, pemotongan karkas atau daging, pembuatan daging proses preservasi, pengepakan, penyimpanan dan distribusi. Jadi segala sesuatu yang kontak langsung maupun tidak langsung

dengan daging ayam pada saat proses pengolahan dapat menjadi sumber kontaminasi mikroba (Buckle *et al.*, 1987).

Pada umumnya terdapat dua faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba pada daging ayam, yaitu faktor intrinsik dan ekstrinsik. Faktor intrinsik meliputi komposisi nutrisi daging, pH daging, keadaan air, potensi oksidasi-reduksi, dan ada atau tidaknya substansi penghambat. Faktor ekstrinsik meliputi temperatur, kelembaban relatif, ada tidaknya oksigen, dan kondisi daging (Fardiaz, 1992). Temperatur merupakan faktor penting yang harus diperhatikan untuk mengatur pertumbuhan bakteri. Bakteri umumnya dapat tumbuh optimal pada suhu 37⁰C. Apabila temperatur mencapai suhu tersebut maka pertumbuhan bakteri akan terjadi secara cepat. DEPKES RI (1996) menyarankan bahwa penyimpanan daging ayam seharusnya tidak dilakukan pada suhu ruang selama lebih 3 jam karena daging memiliki kandungan air dan protein yang tinggi sehingga dapat menjadi media yang baik bagi pertumbuhan bakteri. Derajat keasamaan (pH) juga berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri. Bakteri dapat tumbuh optimal pada pH netral yaitu 7 dan tidak akan tumbuh pada pH di bawah 4 dan di atas 9. Setelah pemotongan, daging ayam akan mengalami penurunan pH sampai 5,6-5,8. Pada pH tersebut bakteri asam laktat akan dapat tumbuh secara optimal (Ramli, 2001).

Mikroba penyebab kerusakan pada daging ayam yang disimpan pada lemari es untuk karkas ayam antara lain: *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Acinetobacter*, dan *Moraxella* (Lukman, 2010). Menurut Usmiati (2010) mikroba yang tergolong patogen yang dapat mencemari daging ayam yaitu *Eschericia coli* dan *staphylococcus sp.* Kemudian Adiningsih (2009) menyebutkan bahwa

mikroba patogen yang banyak mengkontaminasi produk pangan seperti daging, telur, dan susu adalah *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, dan *Campylobacter sp*. Hargis (2001) juga menyatakan bahwa mikroba yang mengkontaminasi daging ayam (unggas) dapat berupa *Aeromonas sp.*, *Campylobacter sp.*, *Clostridium perfringens*, *Listeria*, *Salmonella*, *Shigella*, *Streptococcus*, *S. aureus*, *Yersinia enterocolitica*, dan *Escherichia coli*. Berdasarkan pernyataan-pernyataan tersebut, sebagian besar mikroba yang mengkontaminasi daging ayam adalah mikroba patogen yang dapat menyebabkan *foodborne diseases*.

Foodborne diseases merupakan penyakit yang ditularkan melalui makanan yang berupa gangguan pada saluran pencernaan dengan gejala umum seperti sakit perut, diare, dan/atau muntah. Salah satu penyebab terjadinya *foodborne diseases* adalah bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli* (Fardiaz, 1992). Menurut Quinn *et al.* (2002) *foodborne diseases* yang disebabkan oleh mikroorganisme dapat dibagi menjadi dua kelompok besar yaitu, infeksi makanan dan keracunan makanan (intoksikasi). Infeksi makanan terjadi karena mengonsumsi makanan yang terkontaminasi mikroba dan dapat menimbulkan penyakit, sedangkan keracunan makanan terjadi karena mengonsumsi makanan yang terdapat toksik dari sekresi mikroba. Melihat dampak penting cemaran mikroba patogen terhadap keamanan pangan, maka suatu produk pangan harus memenuhi persyaratan kualitas yang telah ditetapkan untuk menjamin keamanannya. Persyaratan batas maksimum cemaran mikroba pada daging ayam berdasarkan SNI dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Spesifikasi persyaratan mutu batas maksimum cemaran mikroba pada daging ayam

Jenis Cemaran Mikroba	Batas Maksimum Cemaran Mikroba (cfu/g)	
	Daging Ayam Segar/ Beku	Daging Ayam Tanpa Tulang
a. Jumlah total kuman (Total Plate Count)	1x10 ⁶	1x10 ⁶
b. <i>Coliform</i>	1x10 ²	1x10 ²
c. <i>Echerichia coli</i>	1x10 ¹	1x10 ¹
d. <i>Enterococci</i>	1x10 ²	1x10 ²
e. <i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ²	1x10 ²
f. <i>Clostridium sp.</i>	0	0
g. <i>Salmonella sp.</i>	0	0
h. <i>Camphylobacter sp.</i>	0	0
i. <i>Listeria sp.</i>	0	0

Sumber: SNI 01-7388-2009

2.3 Bakteri *Escherichia Coli*

Escherichia coli merupakan jenis bakteri gram negatif yang termasuk dalam kelompok *Enterobacteriaceae*. Karakteristik bakteri ini yaitu bentuk batang, memiliki ukuran 2.4 mikro hingga 0.4 mikro, bergerak, tidak berspora, positif pada tes indol, glukosa, laktosa, sukrosa (Greenwood *et al.*, 2007). Dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks dibandingkan dengan bakteri gram positif karena tersusun atas membran dalam, peptidoglikan, dan membran luar. Peptidoglikan mempunyai peran yang sangat penting untuk mencegah sel lisis, menyebabkan sel kaku, dan memberikan bentuk pada sel. Membran luar tersusun atas lipid, liposakarida, dan protein (Purwoko, 2007).

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

Divisio : *Protophyta*
Subdivisio : *Schizomycetea*
Kelas : *Schizomycetes*
Ordo : *Eubacteriales*
Familia : *Enterobacteriaceae*
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli*

Escherichia coli dapat tumbuh pada suhu -2°C sampai dengan 50°C dan tumbuh optimum pada suhu 37°C . Selain itu *Escherichia coli* tumbuh baik pada media yang mengandung 1% pepton sebagai sumber karbon dan nitrogen (Ganiswara, 1995). Selama waktu 12-16 jam pada suhu 37°C bakteri ini mampu membentuk koloni pada media *nutrient agar* (NA) (Jay *et al.*, 2005). Maloha (2002) menambahkan bahwa *Escherichia coli* tumbuh optimum pada pH maksimum 8,5. *Escherichia coli* tergolong dalam bakteri heterotrof yang memperoleh makanan zat organik dari lingkungannya karena tidak mampu membuat sendiri zat organik yang dibutuhkan. Zat organik yang digunakan dalam metabolisme diuraikan oleh *Escherichia coli* menjadi zat anorganik seperti CO_2 , H_2O , energi, dan mineral (Ganiswara, 1995).

Escherichia coli memiliki tiga antigen diantaranya antigen O (somatik), antigen H (flagella), dan antigen K (kapsula) (Win *et al.*, 2006). *Escherichia coli* mampu membentuk asam dan gas pada media *Mac Conkey* dengan cara meragikan glukosa, laktosa, sukrosa, manitol, dan maltosa. Kemudian pada media *eosine methylene blue* (EMB) koloni yang terbentuk berwarna merah muda sampai

merah tua dengan kilatan logam yang spesifik, dan menampilkan permukaan yang halus. (Ismail, 2011). Bakteri ini menunjukkan hasil positif ketika diuji pada uji *indol* dan *methyl red*, sedangkan pada pada uji *voges proskauer* menunjukkan hasil negatif. *Escherichia coli* tidak mampu menghidrolisa urea dan tidak membentuk H₂S (Maloha, 2002).

Escherichia coli secara normal terdapat pada alat-alat pencernaan manusia dan hewan. Bakteri jenis ini bersifat fakultatif anaerob dan mempunyai tipe metabolisme fermentasi dan respirasi, akan tetapi *Escherichia coli* paling banyak pertumbuhannya dibawah kondisi anaerob meskipun bakteri ini juga dapat tumbuh dengan baik pada kondisi aerob (Melliawati, 2009). *Escherichia coli* dapat bersifat patogen terutama akibat toksin yang dihasilkan. Bakteri ini tidak menyebabkan penyakit apabila terdapat pada saluran usus, akan tetapi dapat menyebabkan penyakit apabila terdapat pada saluran kencing, saluran empedu, saluran otak, dan paru-paru (Jawetz *et al.*, 2001). Jenis toksin yang dihasilkan oleh *Escherichia coli* adalah enterotoksin, sitotoksin, verotoksin, dan sebagainya yang menjadi penyebab kasus diare. *Escherichia coli* akan menjadi patogen ketika jumlahnya terlalu banyak dan di luar usus (Jawetz, 1995).

Escherichia coli menjadi indikasi dari kontaminasi fekal pada air minum, air untuk MKCK, dan makanan. Sanitasi yang buruk diduga menjadi penyebab kontaminasi *Escherichia coli* pada air bersih yang dikonsumsi masyarakat (Adisasmito, 2007). Dari air yang tercemar tersebut, *Escherichia coli* dapat berpindah dan mengkontaminasi bahan pangan seperti daging, sayur, telur, maupun ikan yang kontak secara langsung. *Escherichia coli* ini dilaporkan dapat

menjadi penyebab penyakit diare, infeksi saluran kemih, pneumonia, meningitis pada bayi yang baru lahir dan infeksi luka (Karsinah *et al.*, 1994). Pada tahun 1982 pernah terjadi wabah diare yang menyerang 20.000 orang dan 250 orang diantaranya mengalami kematian di daerah Amerika Serikat. Penyakit diare tersebut disebabkan oleh *Escherichia coli* 0157:07 akibat mengonsumsi hamburger setengah matang di restoran cepat saji (Riley *et al.*, 1983).

Menurut Jawetz *et al.* (1995), berdasarkan sifat dan karakteristik virulensinya, *Escherichia coli* dapat dibedakan menjadi 5 kelompok yaitu :

1. *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC)

Merupakan penyebab penyakit yang mirip dengan *shigellosis* dengan cara menyerang sel epitel mukosa usus.

2. *Enteroadgregative Escherichia coli* (EAEC)

Penyebab penyakit diare akut dan kronis (dalam jangka waktu lebih dari 14 hari) dengan menyerang pada mukosa intestinal, menghasilkan enterotoksin dan sitotoksin, sehingga menyebabkan kerusakan mukosa, mengeluarkan mukus dan terjadi diare.

3. *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC)

Penyebab diare pada anak kecil dengan menempel pada usus kecil, dapat menyebabkan diare cair yang sulit diatasi dan kronis. Infeksi EPEC banyak terjadi di negara berkembang.

4. *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC)

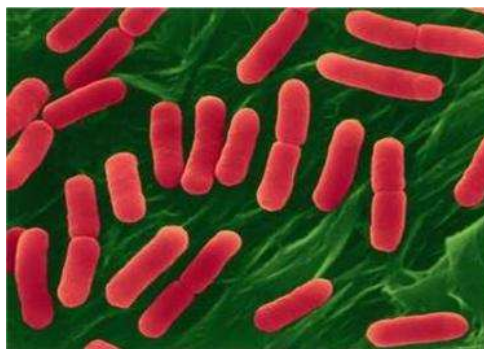
Beberapa strain dari ETEC dapat menghasilkan eksotoksin yang sifatnya labil terhadap panas (LT) dan toksin yang stabil terhadap panas (ST). Infeksi ETEC dapat menyebabkan diare, muntah, kadang demam, dan feses ditemui darah.

5. *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC)

Serotipe *Escherichia coli* yang memproduksi verotoksin yaitu EHEC O157:H7.

EHEC memproduksi toksin yang sifatnya hampir sama dengan toksin Shiga yang diproduksi oleh strain *Shigella dysenteriae*. Verotoksin yang dihasilkan menghancurkan dinding mukosa menyebabkan pendarahan.

Escherichia coli merupakan mikroorganisme indikator yang paling spesifik untuk menilai cemaran fekal dan merupakan golongan *Coliform* yang paling sering mencemari unggas (Mead, 2003). *Escherichia coli* yang mencemari daging ayam dapat dibedakan menjadi dua, yaitu patogen dan non patogen. Golongan patogen adalah yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia, sedangkan non patogen dapat menyebabkan pembusukan pada makanan. Toksin yang dihasilkan dari bakteri *Escherichia coli* patogen pada daging ayam yaitu *verocytotoxin* (VTEC), yang dapat menyebabkan diare dan *hemorrhagic colitis* dan kadang-kadang menyebabkan *hemolytic uremic syndrome* (HUS) pada manusia. Salah satu VTEC yang menyebabkan wabah penyakit yang ditularkan melalui makanan adalah serogrup O157:H7 (Cox, 2005). Gambar *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Bentuk bakteri *Echerichia coli* pada mikroskop elektron
Sumber: Stevens (2009), dalam Marliena (2016)

2.4 Antimikroba

Antimikroba merupakan substansi zat-zat kimia yang mempunyai kemampuan membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroba dalam konsentrasi rendah. Antimikroba dapat dibedakan menjadi antimikroba kimia sintetik dan antimikroba alami. Antimikroba kimia sintetik dihasilkan dengan membuat suatu senyawa yang sifatnya mirip dengan aslinya, sedangkan antimikroba alami langsung dari organisme yang menghasilkan senyawa antimikroba melalui pengekstrakan (Setyaningsih, 2004). Menurut Suwandi (2012), zat atau agen antimikroba yang digunakan sebelumnya ditentukan harus bersifat toksisitas selektif, yaitu zat yang berbahaya bagi bakteri maupun parasit namun tidak merusak inangnya. Selain itu konsentrasi antimikroba dalam penambahannya pada pangan digunakan dalam konsentrasi yang dapat ditoleransi.

Menurut Pelezer dan Chan (1988) mekanisme kerja antimikroba dapat dibedakan menjadi dua, yaitu bakteristatik (menghambat) dan bakterisidal (membunuh). Bakteristatik dikenal sebagai kadar hambat minimal, sedangkan bakterisidal dikenal dengan kadar bunuh minimal antibakteri. Kadar bunuh minimal antibakteri diantaranya adalah pH lingkungan, komponen perbenihan bakteri, stabilitas zat aktif, besarnya inokulum, lamanya inkubasi dan aktifitas metabolic bakteri (Suwandi, 2012). Antimikroba memiliki aktivitas tertentu dan dapat meningkat dari bakteristatik menjadi bakterisidal apabila jumlah antimikroba meningkat (Ganiswarna, 1995). Mekanisme kerja antimikroba dapat dibedakan menjadi 5 cara, antara lain:

1. Merusak dinding sel

Dinding sel merupakan struktur kaku yang terdiri dari kompleks polimer mukopeptida. Dinding sel berfungsi menjaga tekanan osmotik bakteri sehingga mampu mencegah gangguan proses sintesis. Antimikroba merusak struktur dinding sel mikroba dengan cara menghambat pembentukannya atau dapat juga mengubah strukturnya setelah selesai dibentuk. Contoh antimikroba yang bekerja dengan mekanisme merusak dinding sel diantaranya penisilin, fosfomisin, sikloserin, ristosetin, vankomisin dan basitrasin.

2. Merusak membran sel

Membran sel sebagai pembatas osmotik bagi difusi antara lingkungan luar dan dalam sel. Kerusakan pada membran sel akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel sehingga menyebabkan kematian sel. Contoh antimikroba yang bekerja dengan prinsip merusak membran sel antara lain: antibiotik jenis polimiksin B dan amfoterisin.

3. Mengganggu sintesis protein sel mikroba

Kehidupan sel mikroba bergantung pada molekul protein dan asam nukleat. Antimikroba tertentu dapat menyebabkan terjadinya denaturasi protein dan koagulasi bahan-bahan sel yang penting. Jenis antimikroba yang mengganggu sintesis protein mikroba antara lain : antibiotik jenis tetrasiklin dan streptomisin.

4. Menghambat metabolisme sel mikroba

Penghambatan metabolisme sel mikroba dapat mengakibatkan terjadinya kematian sel. Mekanisme penghambatan metabolisme adalah dengan merusak enzim-enzim yang berfungsi sebagai katalis proses metabolisme sel. Contoh: antibiotik jenis kloramfenikol dan metafen.

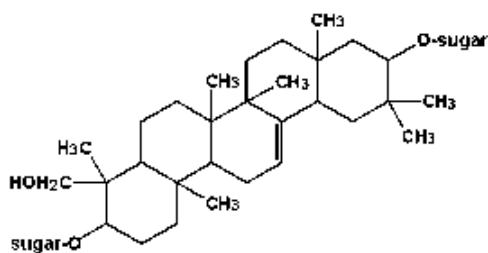
5. Mengganggu fungsi DNA

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

Senyawa-senyawa yang bersifat antimikroba banyak terkandung pada tumbuhan. Beberapa senyawa antimikroba antara lain yaitu, saponin, tanin, flavonoid, xantol, terpenoid, alkaloid, dan sebagainya (Suerni *et al.*,2013). Selain dari tumbuhan, adapula senyawa antimikroba buatan, seperti amoxilin. Senyawa-senyawa antimikroba yang berasal dari tumbuhan antara lain:

a) Saponin

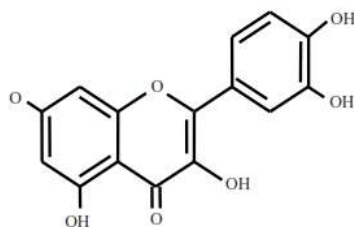
Saponin merupakan glikosida triterpenoid dan sterol. Saponin termasuk dalam senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, serta mempunyai kemampuan membentuk busa dan menghemolisis sel darah. Saponin memiliki kegunaan dalam pengobatan, terutama karena sifatnya yang mempengaruhi absorpsi zat aktif secara farmalogi. Beberapa jenis dapat bekerja sebagai antimikroba (Masroh, 2010). Saponin disebut senyawa antimikroba karena dapat membuat dinding sel mikroba rusak dan menyebabkan sel menjadi lisis. Saponin yang diujikan langsung pada mikroba dapat meningkatkan permeabilitas membran sel, sehingga struktur dan fungsi membran sel berubah. Hal tersebut mengganggu kestabilan permukaan dinding sel, memudahkan senyawa antimikroba masuk ke dalam sel dan mengganggu metabolisme sel yang mengakibatkan terjadinya denaturasi protein sel mikroba. Struktur kimia saponin dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur kimia saponin

b) Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa golongan fenol yang bersifat polar dengan struktur kimia C₆-C₃-C₆. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin itu dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub kelompoknya (Cook dalam Abdi, 2010). Flavonoid dapat berperan sebagai antimikroba karena dengan mudah menembus lapisan peptidoglikan yang juga bersifat polar. Flavonoid efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Flavonoid mempunyai mekanisme kerja yang sama dengan saponin dalam hal menghambat pertumbuhan mikroba, yaitu dengan mendenaturasi protein bakteri. Hal ini mengakibatkan metabolisme sel bakteri terhenti dan akan menyebabkan kematian sel. Struktur kimia flavonoid dapat dilihat pada Gambar 3.

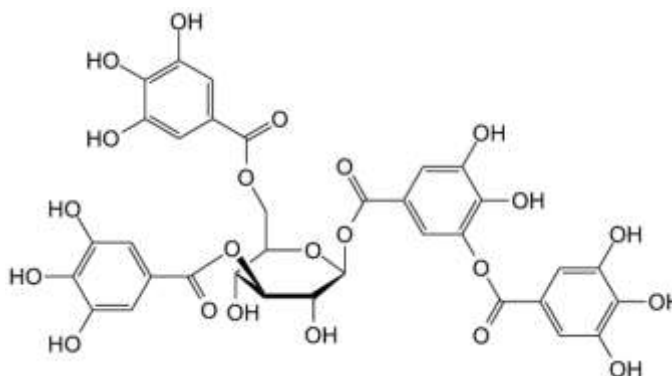


Gambar 3. Struktur kimia flavonoid

c) Tanin

Tanin merupakan suatu senyawa fenol yang memiliki berat molekul besar yang terdiri dari gugus hidroksi yang berikatan dengan gugus seperti karboksil untuk

membentuk kompleks yang kuat dengan protein dan beberapa makromolekul. Tanin dapat disebut sebagai senyawa antimikroba karena kemampuannya dalam merusak dinding sel dengan meracuni polipeptida dinding sel yang menyebabkan terjadinya tekanan osmotik dan fisik sel mikroba, menghambat sintesis asam nukleat dengan menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel mikroba tidak terbentuk, menghambat transpor protein sel, dan mengaktifasi adhesi sel dan enzim. Struktur kimia tanin dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur kimia tanin

d. Terpenoid

Terpenoid merupakan hidrokarbon yang merupakan penyusun dari minyak atsiri. Mekanisme kerja terpenoid dalam menghambat pertumbuhan mikroba yaitu dengan mengiritasi dinding sel dan menggumpalkan protein sel. Sehingga menyebabkan terjadinya hidrolisis dan difusi cairan sel karena adanya perbedaan tekanan osmosis.

e) Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, umumnya adalah asam amino. Alkaloid disebut senyawa antimikroba

karena dapat menghambat sintesis dinding sel, mengubah permeabilitas membran melalui transpor aktif dan menghambat sintesis protein.

2.5 Metode Uji Antimikroba

Menurut Pratiwi (2008), uji antimikroba pada umumnya dapat dilakukan dua metode, yaitu metode difusi dan metode dilusi.

1. Metode Difusi

Uji antimikroba dengan metode difusi dilakukan dengan pengukuran daya hambat senyawa antimikroba yang terkandung pada ekstrak. Metode difusi dapat dibagi menjadi 2 cara, antara lain:

a) Metode Sumuran (perforasi)

Bakteri uji yang berumur 18-24 jam disuspensikan pada media agar pada suhu sekitar 45⁰C. Suspensi bakteri kemudian dituangkan pada cawan petri steril. Setelah padat, selanjutnya dibuat lubang-lubang dengan 6-8 mm. Lubang-lubang tersebut kemudian dimasukkan zat yang akan diuji aktivitas antimikrobanya sebanyak 20 µL. Setelah itu dilakukan proses inkubasi pada suhu 37⁰ C selama 18-24 jam. Aktivitas antimikroba dapat dilihat dari daerah bening yang mengelilingi lubang perforasi.

b) Metode Cakram Kertas

Zat uji diserapkan pada cakram kertas dengan meneteskan pada cakram kertas kosong larutan mikroba dengan sejumlah dan kadar tertentu. Cakram kertas diletakkan diatas permukaan media agar yang telah diolesi bakteri. Setelah itu dilakukan proses inkubasi pada suhu 37⁰ C selama 18-24 jam. Aktivitas

antimikroba dapat dilihat dari daerah hambat disekililing cakram kertas.

Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri oleh Suryawiria

(1978) dalam Pradana (2013) disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. 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

2. Metode Dilusi

a) Metode Pengenceran Tabung

Antimikroba disuspensikan dalam agar *Tryptic Soy Broth* (TSB) dengan pH 7,2-7,4 , kemudian dilakukan pengenceran pada beberapa tabung reaksi. Selanjutnya bakteri uji yang telah disuspensikan dengan NaCl fisiologis diinokulasikan yang tiap mililiternya mengandung 10⁵-10⁶ bakteri. Setelah itu dilakukan proses inkubasi pada suhu 37⁰C selama 18-24 jam. Tabung yang keruh menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan tabung yang bening menunjukkan zat antibakteri yang bekerja.

b) Metode Pengenceran Agar

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

2.6 Tanaman Waru (*Hibiscus tiliaceus L.*)

Tanaman waru adalah tanaman yang memiliki tinggi 5-15 meter, tumbuh dengan baik pada tanah yang subur dengan kayu lurus, berbulu halus, daun tunggal, bertangkai dengan panjang 5-8 cm, helaian daun besar, bercangap menjari 3-5 , ujung runcing, pangkal berlekuk, tepi bergerigi, panjang daun 10-20 cm, lebar 9-22 cm, kedua permukaan daun dilapisi rambut halus. Tanaman waru biasanya ditanam pada ladang atau perkebunan dan banyak ditemukan di daerah yang mempunyai ketinggian 1-900 meter diatas permukaan laut (Dalimarta, 2004).

Menurut Heyne (1987) klasifikasi tanaman waru adalah sebagai berikut:

Kerajaan : *Plantae*
 Divisi : *Spermatophyta*
 Anak divisi : *Angiospermae*
 Kelas : *Dicotyledoneae*
 Anak kelas : *Sympetalae*
 Bangsa : *Malvales*
 Suku : *Malvaceae*
 Marga : *Hibiscus*
 Jenis : *Hibiscus tiliaceus L.*

Di Indonesia tanaman ini mempunyai nama yang berbeda-beda seperti : baru (Gayo, Belitung, Madura, Makassar, Sumba, Halmahera); baru dowongi (Ternate, Tidore); waru (Sunda, Jawa, Bali, Bugis, Flores); haru, halu, faru, fanu (aneka bahasa di Maluku) (Heyne, 1987).

Dalam pengobatan tradisional, akar waru digunakan sebagai pendingin bagi penderita demam. Daun waru berkhasiat sebagai penumbuh rambut, obat batuk, obat anti diare, dan anti amandel. Sementara itu bunga waru berkhasiat sebagai obat anti masuk angin. Tanaman waru mempunyai komponen-komponen kimia yaitu : saponin dan flavonoid pada akar dan daun. Daun waru juga paling sedikit mengandung lima senyawa fenol, sedang akar waru mengandung tanin (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991). Kemudian menurut Dalimarta (2006), daun waru i mengandung tanin dan fenolik. Pada bunga mengandung antosianin, 3 isokuersitrin, hiperin, hiperosida, rutin, kuersetin-4-glukosida, spiraeoside, kuersimeritrin, sianidin 3,5-diglukosida, sianidin 3-rutinosida-5-glukosida. Hasil isolasi senyawa baru dari waru (*Hibiscus tiliaceus L.*), yaitu : n-trans-feruloytyramine, hibiscusamide, dan n-cis-feruloytyramine (Chen, 2006). Berdasarkan komponen kimia yang dikandungnya, tanaman waru mempunyai berbagai kegunaan seperti antimikroba, antiradang, membersihkan darah, antibengkak, menghentikan pendarahan, antikanker esofagus, lambung, paru-paru, payudara, dan kulit (Dalimarta, 2006). Gambar tanaman waru dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Tanaman waru (*Hibiscus tiliaceus L.*)
Sumber : Dokumentasi Pribadi

Berdasarkan penelitian Poeloengan *et al.* (2016), daun waru terbukti memiliki aktivitas antimikroba *S. aureus* dan *S. epidermidis*. Hasil penapisan fitokimia daun waru menunjukkan adanya kandungan senyawa alkaloid, saponin, dan tanin. Kumar *et al.* (2008) juga melaporkan bahwa pada daun waru mengandung senyawa saponin dan flavonoid. Sementara Kinho *et al.* (2011) menyebutkan bahwa daun waru mengandung senyawa saponin, flavonoid, polifenol, dan tanin.

2.7 Tanaman Jati (*Tectona grandis*)

Tanaman jati (*Tectona grandis*) merupakan jenis tanaman pepohonan yang mempunyai tinggi mencapai 40 meter dan berakar tunggang. Tanaman jati memiliki daun yang berbentuk oval, kasap, dan mengandung pigmen berwarna merah pada daun yang masih muda. Karang bunga tersusun dari anak payung menggarpu, di ujung, berambut serupa tepung, ditutupi dengan kelenjar.

Tanaman jati banyak ditanam di perkebunan atau ladang dengan tingkat adaptasi yang tinggi yaitu dapat tumbuh pada berbagai kondisi lingkungan. Musim berbunga biasanya terjadi pada musim penghujan. Di Indonesia tanaman jati (*Tectona grandis*) memiliki nama yang berbeda-beda di setiap daerahnya. Nama-nama daerah tanaman jati yaitu, dodolan (Sunda), jati, jatos, deleg (Jawa), jati (Bugis, Enrekang, dan Makassar) (Heyne, 1987).

Klasifikasi tanaman jati menurut Pitojo dan Zumiati (2009) adalah sebagai berikut:

Divisi : *Spermatophyta*
Subdivisi : *Angiospermae*
Kelas : *Dicotyledonae*

Bangsa : *Verbenales*
Suku : *Verbenaceae*
Marga : *Tectona*
Jenis : *Tectona grandis*

Tanaman jati (*Tectona grandis*) memiliki komponen-komponen kimia pada setiap bagiannya. Menurut Khare (2007) batang tanaman jati mengandung antrakuinon, senyawa naptalian, triterpenoid, dan hemiterpen, daun jati mengandung quinon dan kayunya tannin 7,14%, dan minyak bunganya mengandung asam linoleat (54%) dengan laurit, maristat, palmitat, steroid, oleat, linoleat, asam asaridik dan 44,5% minyak lemak. Kemudian menurut Haryati *et al.* (2007) menyebutkan bahwa berdasarkan hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol daun jati menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid, saponin, tanin, galat, tanin katekat, kuinon, dan steroid/triterpenoid. Golongan senyawa flavonoid yaitu antosianin, antoxantin, katekin, dan leuoantosianin. (Pitojo dan Zumiati, 2009). Daun jati dilaporkan mengandung karbohidrat, alkaloid, tanin, sterol, saponin, protein, kalsium, fosfor, serat mentah, dan mengandung pewarna (cokelat kekuningan atau kemerahan)(Nidavani *et al.*, 2014). Daun jati terbukti menjadi anti inflamasi, lepra, penyakit kulit, stomatitis, pendarahan, dan hemoptysis.

Gambar tanaman jati dapat dilihat pada Gambar 6.



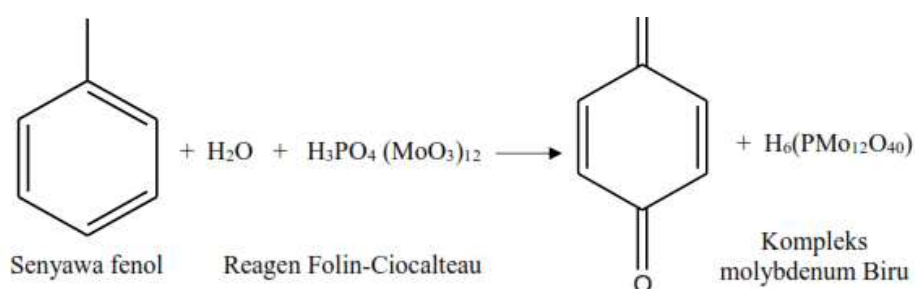
Gambar 6. Tanaman jati (*Tectona grandis*)
Sumber : Dokumentasi Pribadi

Purushotham *et al.* (2010) melaporkan bahwa pada daun jati mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, antrakuinon, dan napa kuinon. Senyawa-senyawa tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhimurium*, *Eschericia coli*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter friondii*, *Pichia pastoris* dan *Streptococcus sp.* Afiyah (2013) juga melaporkan bahwa Ekstrak daun jati memiliki aktivitas antimikroba karena kemampuannya dalam menghambat *Bacillus cereus*, *Streptococcus thermophillus*, *Pseudomonas aeroginosa*, *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. Ekstrak daun jati dengan konsentrasi 0,01%, 0,02%, dan 0,03% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* dengan diameter daerah hambat 15 mm, 17 mm, dan 19 mm (Chasteylena, 2016).

2.8 Uji Fenol Metode Folin-ciocalteu

Metode folin-ciocalteu merupakan metode yang sering digunakan dalam penetapan kadar fenol. Kadar fenol ditetapkan dengan massa ekuivalen asam galat (Jasson, 2005). Pereaksi folin-ciocalteu merupakan suatu larutan kompleks yang terbentuk dari asam fosfomolibdat dan asam heteropoli fosfotungstat. Pereaksi ini terbuat dari air natrium tungstat, natrium molibdat, asam fosfat, asam klorida, litium, sulfat, dan bromin (Nurhayati, *et al.*, 2012). Prinsip dasar dari pengujian kadar fenol metode folin-ciocalteu adalah oksidasi gugus fenolik-hidroksil. Pereaksi folin-ciocalteu mengoksidasi fenolat serta mereduksi asam heteropoli menjadi suatu kompleks *molybdeum-tungsten (Mo-W)*. Selama reaksi berlangsung, gugus fenolik hidroksil akan bereaksi dengan folin-ciocalteu

membentuk kompleks fosfotungstat-fosfolibdat berwarna biru (Jasson, 2005). Warna biru yang terbentuk akan semakin pekat setara dengan konsentrasi senyawa fenolik yang terdapat pada larutan uji dan memiliki serapan kuat pada panjang gelombang 760 nm (Blainski *et al.*, 2013). Metode folin-ciocalteu adalah metode yang teliti, sederhana, dan sensitif. Metode ini terjadi pada kondisi basa sehingga dalam penetapan kadar fenolik dengan folin-ciocalteu digunakan natrium karbonat yang bertujuan untuk membuat suasana basa (Prior *et al.*, 2005).



Gambar 7. Mekanisme reaksi senyawa fenol dengan reagen FC (Agbor dkk., 2014)

2.9 Uji Sensori

Pengujian sensori merupakan suatu proses identifikasi, pengukuran ilmiah, analisis, dan interpretasi atribut-atribut produk melalui lima panca indera manusia yaitu pengelihatn, penciuman, pencicipan, peraba, dan pendengaran (Dwi *et al.*, 2010). Pengujian sensori adalah metode yang sangat komprehensif, fleksibel, dan mudah digunakan. Metode ini melibatkan karakterisasi atribut dan intensitas masing-masing atribut (Lawless dan Heyman, 2010). Intensitas yang merupakan aspek kuantifikasi dari analisis deskriptif menunjukkan tingkatan dari tiap karakteristik dengan skala kuat, sedang, dan lemah. Kemudian dikonversikan dalam skala angka, dan dihitung nilai rata-rata dari seluruh panelis dan ditransformasikan menjadi grafik (Koswara, 2006). Tujuan uji sensori adalah

mengetahui respon yang diperoleh panca indera manusia terhadap rangsangan yang akibatkan dari suatu produk. Analisis sensori pada umumnya digunakan untuk menjawab pertanyaan mengenai kualitas suatu produk dan yang berhubungan dengan perbedaan, deskripsi dan kesukaan atau penerimaan (Dewi *et al.*, 2010). Pengujian sensori mempunyai peranan penting dalam penetapan mutu.

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian dan Laboratorium Jaminan Mutu Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, serta Balai Besar Penelitian Veteriner Bandar Lampung pada bulan Desember 2018 sampai dengan Februari 2019.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun waru, daun jati, alkohol 70%, aquades, aluminium foil, kapas, H₂SO₄, BaCl₂, etanol 96%, Na₂CO₃, reagen folin-ciocalteu, NaCl fisiologis, kultur *Escherichia coli*, *Eosin Methylene Blue* (EMB), *Nutrient Agar* (Oxoid), *Buffer Pepton Water* (Oxoid), kertas saring, kertas cakram, dan *Nutrient Broth* (Merck).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan analitik (*Shimadzu AY220*), oven (*Memmert*), jangka sorong (Mitutoyo), cawan petri (Normax), pH meter (*Lovibond*), spektrofotometer, vortex, autoklaf (*Hirayama*), inkubator (*Hirasawa work*), erlenmeyer (Pyrex), dan peralatan laboratorium lainnya.

3.3 Metode Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) non faktorial dengan tiga kali ulangan. Konsentrasi pada setiap perlakuan yang digunakan adalah 25% (b/v) terhadap pelarut. Rancangan percobaan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rancangan percobaan

No	Perlakuan Serbuk Daun	Konsentrasi (%)	
		Daun Waru (W)	Daun Jati (J)
1	W0J0	0 (kontrol)	0 (kontrol)
2	W1J1	25	0
3	W2J2	20	5
4	W3J3	15	10
5	W4J4	10	15
6	W5J5	5	20
7	W6J6	0	25

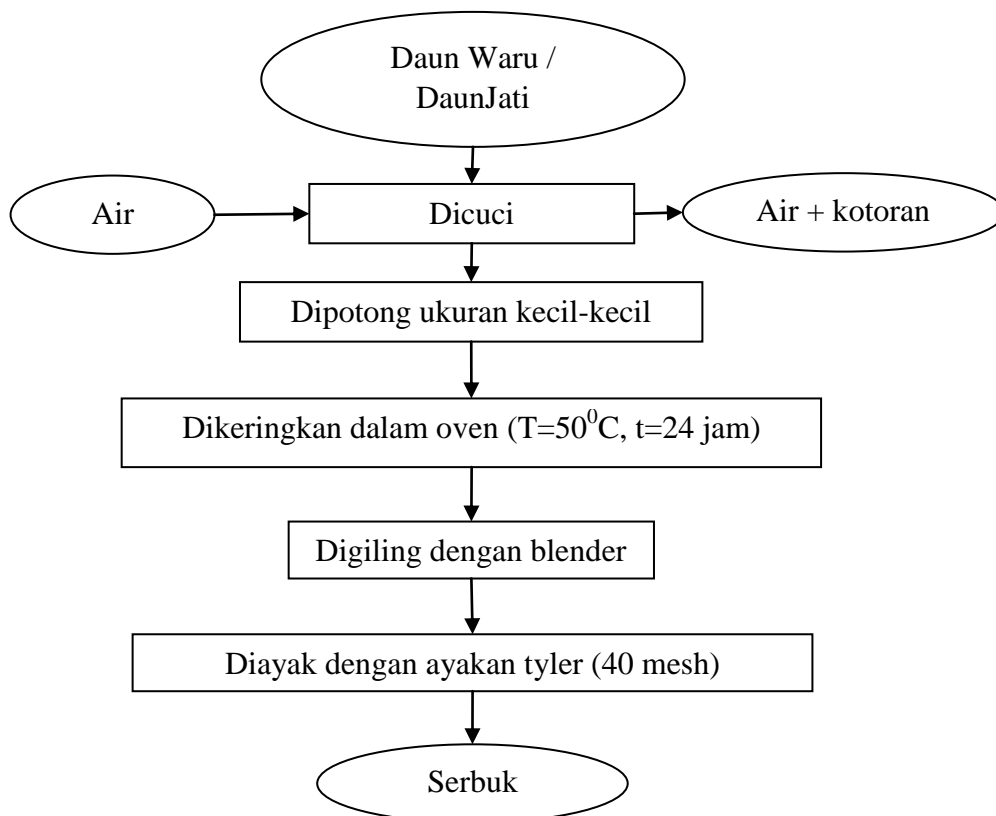
3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Preparasi Kultur Bakteri dan Sampel

Sampel daging ayam fillet diperoleh dari Pasar Tempel, Rajabasa Raya, Bandar Lampung, diambil secara acak dan diletakkan pada *cooler box*. Kultur bakteri *Echerichia coli* diperoleh dari koleksi Balai Besar Penelitian Veteriner Bandar Lampung. Sementara sampel daun waru dan daun jati diperoleh dari Desa Sribhawono, Kecamatan Bandar Sribhawono, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung. Sampel daun waru dan daun jati dipilih dengan kriteria tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda (daun keempat sampai kelima dari pangkal batang), sehat, serta tidak berjamur.

3.4.2 Pembuatan Serbuk Daun

Pembuatan serbuk daun waru dan daun jati dilakukan dengan beberapa tahapan. Pertama daun dicuci menggunakan air bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun. Selanjutnya daun yang sudah bersih dipotong menjadi ukuran kecil-kecil dan kemudian dilakukan pengeringan menggunakan oven ($T=50^{\circ}\text{C}$, $t=24$ jam). Penggunaan suhu dan waktu pengovenan tersebut dimaksudkan agar senyawa aktif pada daun tidak mengalami kerusakan (Putri *et al.*, 2014). Selain itu juga untuk memaksimalkan rendemen daun setelah pengeringan. Penggunaan suhu yang tinggi dan waktu pengovenan yang lama akan menyebabkan rendemen daun kering yang dihasilkan rendah (Sudarmaji *et al.*, 2007). Tujuan utama pengeringan adalah mengurangi kadar air pada daun sehingga serbuk daun yang dihasilkan tidak mudah rusak dan mempunyai umur simpan yang lama (Prasetyo *et al.*, 2010). Setelah pengeringan, daun kemudian digiling menggunakan blender hingga didapatkan serbuk daun. Serbuk daun tersebut kemudian diayak menggunakan ayakan 40 mesh untuk mendapatkan serbuk daun yang seragam. Serbuk dengan ukuran 40 mesh dapat menghasilkan rendemen zat aktif yang tinggi setelah proses ekstraksi (Sembiring *et al.*, 2006). Prosedur pembuatan serbuk daun waru dan daun jati dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Diagram alir pembuatan serbuk daun waru dan daun jati, dimodifikasi dari Ningsih *et al.* (2013)

3.4.3 Pembuatan Ekstrak

Konsentrasi ekstrak yang digunakan pada setiap perlakuan adalah 25% (b/v).

Perlakuan kontrol (W0J0) dibuat dari 12,5 ml aquades tanpa penambahan serbuk

daun waru dan daun jati. Perlakuan 25% serbuk daun waru dan 0% daun jati

(W1J1) dibuat dari 3,125 gram serbuk daun waru direndam dalam 12,5 ml

aquades mendidih. Perlakuan 20% serbuk daun waru dan 5% daun jati (W2J2)

dibuat dari 2,5 gram serbuk daun waru ditambahkan 0,625 gram serbuk daun jati

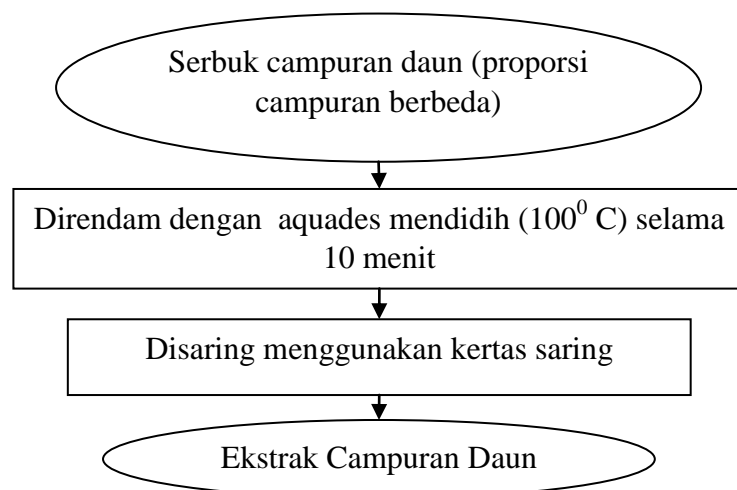
dan direndam dalam 12,5 ml aquades mendidih. Perlakuan 15% serbuk daun waru

dan 10% daun jati (W3J3) dibuat dari 1,875 gram serbuk daun waru ditambahkan

1,25 gram serbuk daun jati dan direndam dalam 12,5 ml aquades mendidih.

Perlakuan 10% serbuk daun waru dan 15% daun jati (W4J4) dibuat dari 1,25

gram serbuk daun waru ditambahkan 1,875 gram serbuk daun jati dan direndam dalam 12,5 ml aquades mendidih. Perlakuan 5% serbuk daun waru dan 20% daun jati (W5J5) dibuat dari 0,625 gram serbuk daun waru ditambahkan 2,5 gram serbuk daun jati dan direndam dalam 12,5 ml aquades mendidih. Perlakuan 0% serbuk daun waru dan 25% daun jati (W6J6) dibuat dari 3,125 gram serbuk daun jati yang direndam dalam 12,5 ml aquades mendidih. Penambahan aquades mendidih pada masing-masing campuran serbuk dilakukan dengan menggunakan tabung injeksi. Aquades mendidih digunakan sebagai pelarut dengan tujuan memaksimalkan rendemen zat aktif dan ekstrak daun. Senyawa aktif seperti fenolik mudah larut pada pelarut polar seperti aquades (Houghton dan Raman, 1998.). Sementara perlakuan pemanasan akan memperbaiki kelarutan ekstrak (Pambayun *et al.*, 2007). Proses ekstraksi dilakukan selama 10 menit pada *beaker glass*. Diagram alir pembuatan ekstrak campuran daun dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Pembuatan ekstrak campuran daun

3.5 Pengamatan

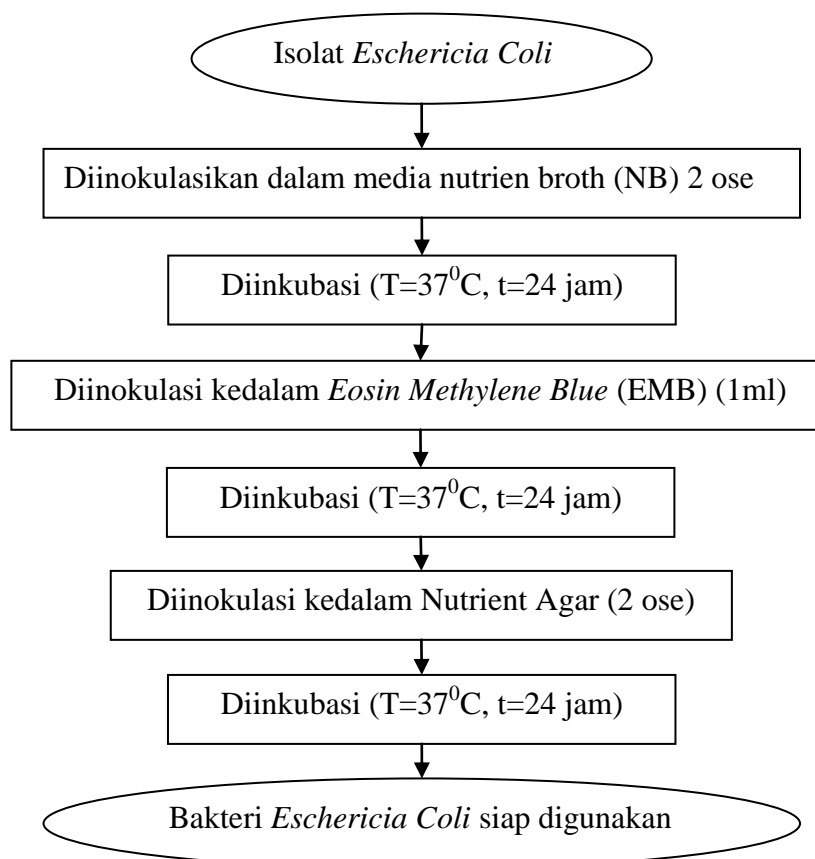
Pengamatan penurunan total mikroba dilakukan terhadap total *Escherichia coli* daging ayam (Lay, 1994 dalam Marliena, 2016), daya hambat antimikroba (Suwandi, 2012), dan penurunan total *Escherichia coli* pada daging ayam (Fardiaz, 1989). Pengamatan juga dilakukan terhadap kadar fenol daging ayam (Hulya, 2007), dan pH (derajat keasaman) daging ayam (SNI, 1992). Selanjutnya terhadap perlakuan terbaik, dilakukan uji aplikasi perlakuan terbaik tersebut dalam menurunkan total *Escherichia coli* daging ayam (Juniawati *et al.*, 2017) dan uji sensori yang meliputi warna dan penampakan daging ayam (Afrianti, 2013).

3.5.1 Uji Penurunan Total Mikroba

3.5.1.1 Peremajaan Bakteri Uji

Peremajaan bakteri *Echerichia coli* dilakukan dalam tiga tahap, yaitu peremajaan menggunakan media *Nutrient Broth* (NB), media *Eosin Methylene Blue* (EMB), dan media *Nutrient Agar* miring. Tujuan peremajaan bakteri ini adalah untuk mendapatkan stok bakteri yang masih baru dan kemungkinan terkontaminasi cukup kecil. 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 *Echerichia coli* dari biakan NB dan ditanam pada media *Eosin Methylene Blue* (EMB) dengan metode *pour plate*, dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Peremajaan pada media EMB dimaksudkan untuk memastikan bahwa hanya bakteri *Echerichia coli* saja yang ditanam. Koloni

Escherichia coli yang tumbuh pada media EMB akan menghasilkan warna ungu kehitaman dengan kilap hijau logam (Brooks, 2012). Selanjutnya diambil *Escherichia coli* sebanyak 2 ose dari biakan EMB dan digores pada medium *Nutrient Agar* (NA) kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Koloni *Escherichia coli* pada media NA akan membentuk warna putih kekuningan (Muani, 2013). Proses peremajaan bakteri uji dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Peremajaan bakteri *Escherichia coli*
Sumber : Dimodifikasi dari Suwandi (2012).

3.5.1.2 Pembuatan Standar Turbiditas 0,5 Mc Farland (Sutton, 2011)

Standar turbiditas Mc Farland merupakan penyetaraan konsentrasi mikroba dengan menggunakan H₂SO₄ 1 % dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambah BaCl₂ 1% kemudian dihomogenkan dengan vortex. Standar kekeruhan

Mc Farland dimaksudkan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan dalam prosedur pengujian antimikroba. Untuk menilai tingkat kekeruhannya dapat digunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Dalam penelitian ini digunakan standar turbiditas 0,5 Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml). Standar kekeruhan Mc Farland adalah sebagai berikut :

Tabel 5. Standar turbiditas Mc Farland

Skala Mc Farland	CFU (10^8 /ml)	1% BaCl ₂ /1% H ₂ SO ₄ (mL)	Absorbansi
0,5	1,5	0,05/9,95	0,132
1	3	0,1/9,9	0,257
2	6	0,2/9,8	0,451
3	9	0,3/9,7	0,582

Sumber :Sutton (2011)

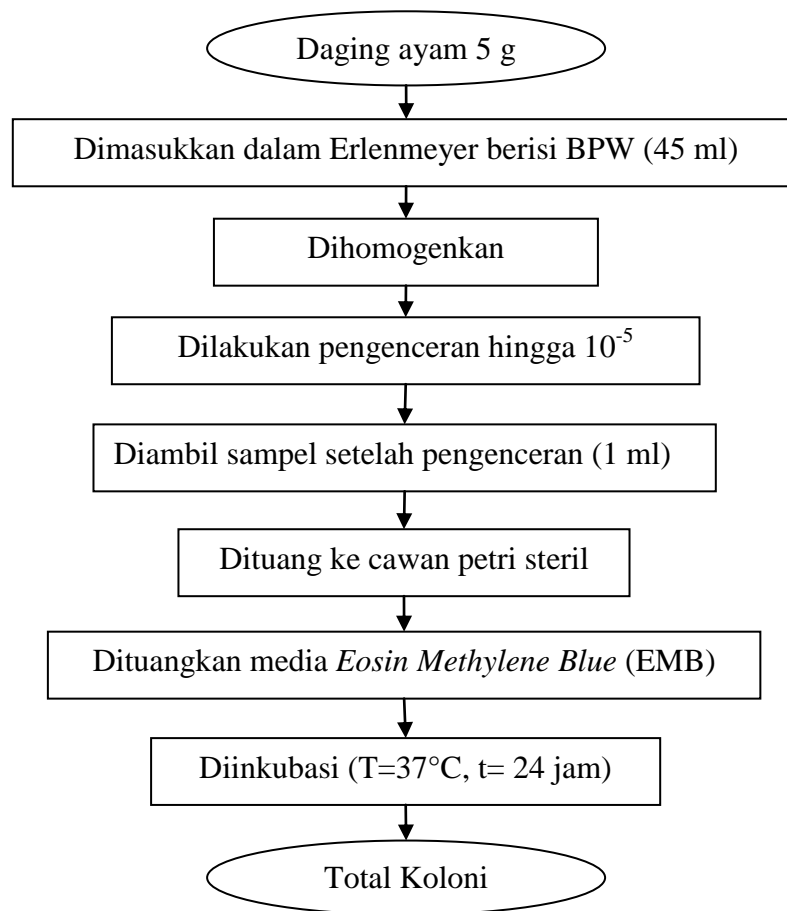
3.5.1.3 Pembuatan Suspensi Bakteri

Koloni bakteri *Eschericia coli* yang sudah diremajakan pada biakan NA umur 24 jam diambil sebanyak 2 ose kemudian disuspensikan dalam 2 ml NaCl fisiologis 0,9% dalam tabung reaksi steril dan dihomogenkan dengan vortex selama 15 detik. Spektrofotometer disiapkan dengan pengaturan panjang gelombang 600 nm (Standard Mc Farland). Blanko (medium) dan Sampel kultur (biakan cair) disiapkan masing-masing sebanyak 2 ml ke dalam kuvet steril, hidupkan spektrofotometer dan catat hasil absorbansi dan setarakan dengan nilai absorbansi pada konsentrasi 0,5 Mc Farland. Jika suspensi bakteri uji terlalu keruh, maka dilakukan penambahan larutan NaCl fisiologis 0,9%. 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 penurunan total *Eschericia Coli* pada daging ayam dan uji daya hambat antimikroba.

3.5.1.4 Uji Total *Eschericia Coli* Pada Daging Ayam

Pengujian total *Eschericia coli* daging ayam dilakukan melalui beberapa tahapan. Pertama dilakukan pengenceran dengan mencelupkan sampel daging ayam dalam *Buffer Pepton Water* (BPW) dengan perbandingan 1:9 (b/v). Dalam penelitian ini digunakan daging ayam sebanyak 5 gram dan dimasukkan dalam erlenmeyer yang berisi 45 ml *Buffer Pepton Water* (BPW) sebagai pengenceran 10^{-1} . Kemudian dihomogenkan dan dilakukan pengenceran hingga 10^{-5} . Setelah itu, diambil sampel setelah pengenceran sebanyak 1 ml dan dituangkan dalam cawan petri steril. Selanjutnya dituangkan media *Eosin Methylene Blue* (EMB) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi selesai, dilakukan perhitungan *Eschericia coli* yang tumbuh pada media. Diagram alir pengujian total *Eschericia coli* dapat dilihat pada Gambar 11.

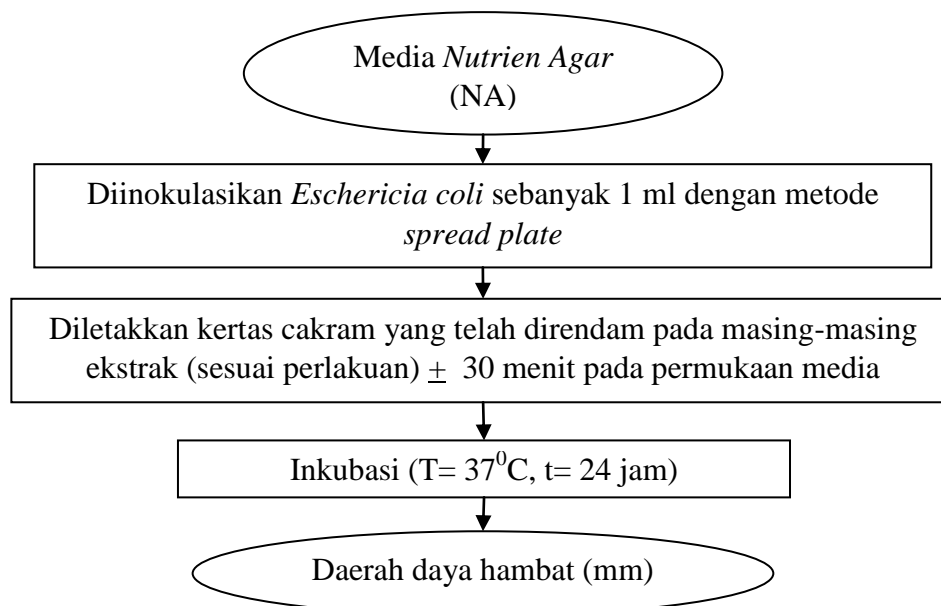


Gambar 11. Uji total *Escherichia coli* pada daging ayam (Lay, 1994 dalam Marliena, 2016)

3.5.1.5 Uji Daya Hambat Antimikroba

Uji daya hambat antimikroba dalam penelitian ini dilakukan dengan metode Difusi Kertas Cakram. Tahap pertama pengujian ini yaitu dengan membuat media *Nutrien Agar* (NA) terlebih dahulu. Media NA digunakan sebagai tempat untuk membiakkan bakteri *Escherichia coli*. Setelah itu, suspensi *Escherichia coli* sebanyak 1 ml diinokulasikan pada permukaan media NA dengan metode *spread plate* dan diratakan dengan menggunakan jarum ose L. Selanjutnya diletakkan kertas cakram yang telah direndam pada masing-masing ekstrak (sesuai perlakuan) selama ± 30 menit dipermukaan media. Kemudian diinkubasi selama

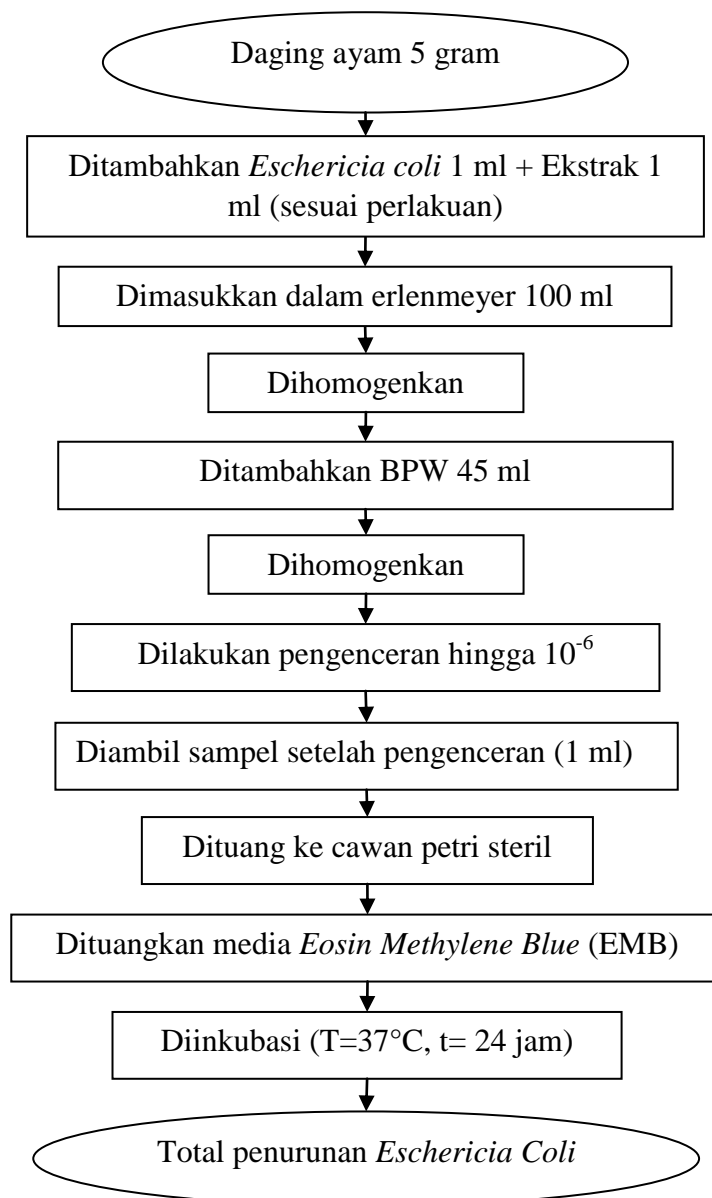
24 jam pada inkubator pada suhu 37⁰C dan diukur daerah hambat yang terbentuk menggunakan jangka sorong. Diagram alir uji daya hambat antimikroba dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Uji daya hambat antimikroba, dimodifikasi dari Suwandi (2012)

3.5.1.6 Uji Penurunan Total *Eschericia coli* Pada Daging Ayam

Daging ayam sebanyak 5 gram ditambahkan *Eschericia coli* 1 ml dan ekstrak 1 ml (sesuai perlakuan) kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer 100 ml. Selanjutnya dihomogenkan dan ditambahkan *Buffer Pepton Water* (BPW) sebanyak 45 ml. Setelah itu dihomogenkan kembali dan dilakukan pengenceran hingga 10⁻⁶. Diambil 1 ml setelah pengenceran dan dituangkan dalam cawan petri steril. Selanjutnya dituangkan media *Eosin Methylene Blue* (EMB) dan diinkubasi pada inkubator suhu 37⁰C selama 24 jam. Setelah itu dihitung total bakteri *Eschericia coli* yang tumbuh. Prosedur uji penurunan total *Eschericia coli* pada daging ayam dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Uji penurunan total *Escherichia coli* pada daging ayam, dimodifikasi dari Fardiaz (1989)

Rumus perhitungan total penurunan *Escherichia coli* =

$$\frac{\text{Total bakteri kontrol} - \text{Total bakteri perlakuan}}{\text{Total bakteri kontrol}} \times 100\%$$

3.5.2 Uji Kadar Fenol Daging Ayam

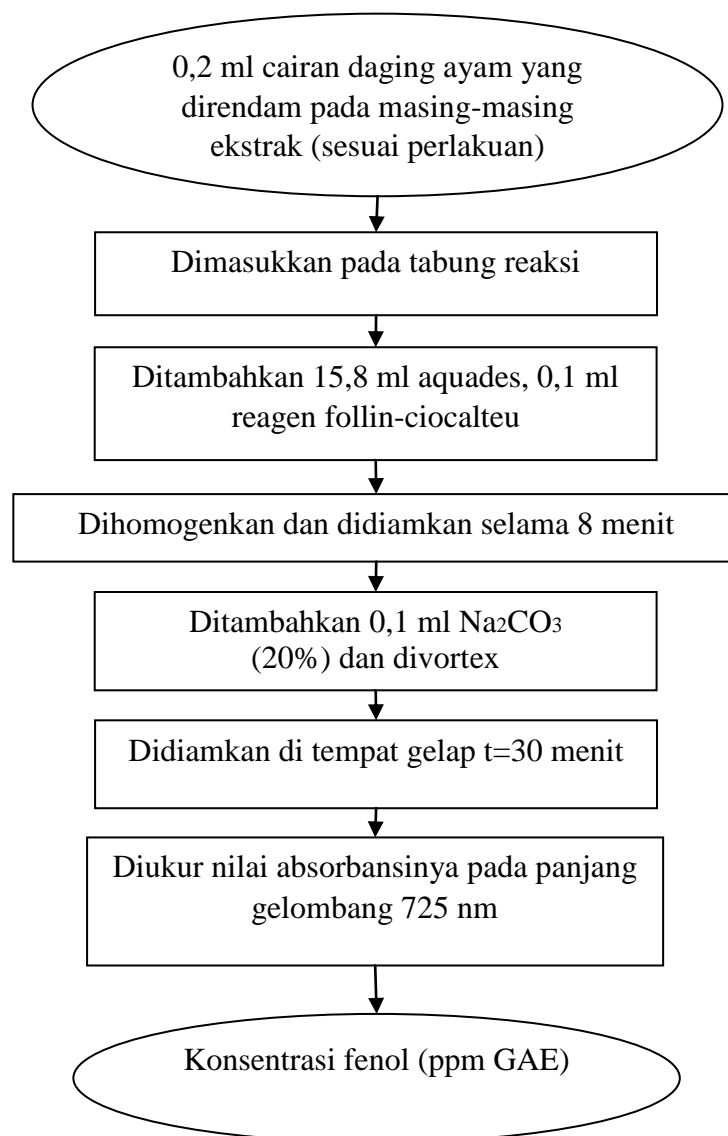
3.5.2.1 Pembuatan Kurva Standar Asam Galat dengan Reagen *Follin-Ciocalteu*

Larutan asam galat dibuat dengan melarutkan 1 mg asam galat dalam 100 ml aquades (10 ppm sebagai larutan induk). Dari larutan induk tersebut dibuat berbagai konsentrasi yaitu, 2, 4, 6,8, dan 10 ppm. Kemudian dari masing-masing konsentrasi tersebut, diambil sebanyak 0,2 ml dan ditambahkan 15,8 ml aquades serta reagen *follin-ciocalteu* 0,1 ml. Selanjutnya dikocok hingga homogen dan akan membentuk larutan berwarna jernih kekuningan. Larutan didiamkan selama 8 menit lalu ditambahkan larutan Na_2CO_3 20% sebanyak 0,1 ml dan dihomogenkan. Larutan kembali didiamkan selama 30 menit pada kondisi gelap dan setelah itu diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer (765 nm). Lalu dibuat kurva standar asam galat hubungan konsentrasi asam galat dengan absorbansi.

3.5.2.2 Penetapan Konsentrasi Fenol (ppm GAE)

Daging ayam direndam pada masing-masing ekstrak (sesuai perlakuan) selama 10 menit dan kemudian dihaluskan menggunakan mortar. Setelah itu dilakukan filtrasi yang kemudian didapatkan cairan dari daging ayam tersebut . Dari cairan daging ayam tersebut diambil 0,2 ml dan ditambahkan 15,8 ml aquades serta reagen *follin-ciocalteu* 0,1 ml. Selanjutnya dikocok hingga homogen dan akan membentuk larutan berwarna jernih kekuningan. Larutan didiamkan selama 8 menit lalu ditambahkan larutan Na_2CO_3 20% sebanyak 0,1 ml dan dihomogenkan. Larutan kembali didiamkan selama 30 menit pada kondisi gelap

dan setelah itu diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer (765 nm). Konsentrasi fenol yang didapatkan dinyatakan dalam ppm GAE. Diagram alir uji konsentrasi fenol dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Uji kadar fenol, dimodifikasi dari Hulya (2007)

3.5.3 Uji Derajat Keasaman (pH) Daging Ayam

Uji derajat keasaman (pH) dilakukan dengan cara sebanyak 5 g sampel daging ayam direndam pada 12,5 ml ekstrak sesuai dengan perlakuan masing-masing

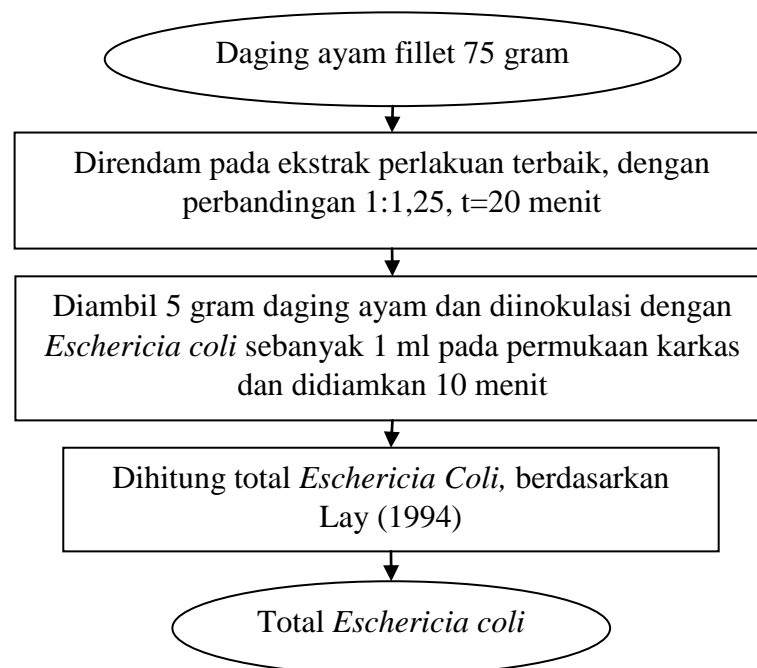
selama 10 menit. Kemudian diambil sampel daging ayam tersebut dan dihaluskan menggunakan mortar. Kemudian dilakukan penambahan 25 ml akuades sebagai pengenceran. Nilai pH ditentukan dengan menggunakan pH meter (SNI, 1992).

3.5.4 Uji Aplikasi Perlakuan Terbaik Dalam Menurunkan Total *Eschericia coli* Daging Ayam

Daging ayam (fillet) sebanyak 75 gram dibersihkan terlebih dahulu dan direndam pada ekstrak perlakuan terbaik pada uji penurunan total *Eschericia coli*.

Perendaman dilakukan selama 20 menit dengan perbandingan daging ayam dan filtrat yaitu 1:1,25 (b/v). Dari 75 gram daging ayam, kemudian diambil 5 gram dan diinokulasi dengan *Eschericia coli* sebanyak 1 ml pada permukaan karkas dan didiamkan selama 10 menit untuk proses absorpsi bakteri uji ke dalam karkas.

Karkas ayam yang direndam dalam akuades dan diinokulasi dengan *Eschericia coli* digunakan sebagai kontrol. Kemudian dihitung jumlah bakteri *Eschericia coli* berdasarkan Lay, (1994). Aplikasi antimikroba alami ekstrak perlakuan terbaik disebut efektif apabila dapat menurunkan total *Eschericia coli* lebih dari 50% (Mawaddah, 2008). Uji aplikasi aktivitas senyawa antimikroba dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Uji aplikasi aktivitas antimikroba, dimodifikasi dari Juniawati *et al.* (2017).

Rumus perhitungan total penurunan *Eschericia coli*:

$$\frac{\text{Total bakteri kontrol} - \text{Total bakteri perlakuan}}{\text{Total bakteri kontrol}} \times 100\%$$

3.5.5 Pengujian Sensori (Warna dan Penampakan)

Pengujian sensori yang meliputi warna dan penampakan dilakukan hanya pada perlakuan yang menunjukkan penurunan total *Eschericia coli* paling tinggi.

Pengujian sensori yang digunakan adalah uji skoring dengan melibatkan 15 panelis yang merupakan mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian,

Universitas Lampung. Tahap awal dalam pegujian sensori ini adalah daging ayam bagian fillet direndam pada ekstrak perlakuan terbaik selama 10 menit. Kemudian dilakukan penirisan selama 5 menit dan dilakukan pengamatan sensorinya

(Afrianti, 2013). Kuisisioner uji skoring daging ayam dapat dilihat pada Gambar 16.

Kuisisioner Uji Skoring Daging Ayam		
Nama :		Tanggal Pengujian :
Dihadapan saudara terdapat 2 sampel daging ayam. Saudara diminta untuk memberikan penilaian warna dan penampakan dengan memberikan skor dari skala 1-5 pada masing-masing sampel tersebut.		
Parameter	Kode Sampel	
	347	589
Warna		
Penampakan		
Parameter		
Warna :	Penampakan :	
1. Sangat Gelap	1. Sangat Tidak Baik	
2. Gelap	2. Kurang Baik	
3. Agak Terang	3. Agak Baik	
4. Terang	4. Baik	
5. Sangat Terang	5. Sangat Baik	

Gambar 16. Kuisisioner uji skoring daging ayam

3.6 Analisis Data

Data uji daya hambat antimikroba, uji penurunan total *Eschericia coli* daging ayam, uji kadar fenol daging ayam, dan uji derajat keasamaan (pH) diuji lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%. Kemudian data uji aplikasi aktivitas antimikroba dan uji sensori di uji lanjut menggunakan aplikasi *microsoft excel* untuk mengetahui standar deviasinya. Standar deviasi yang tidak bersinggungan menunjukkan hasil yang berbeda nyata, sedangkan apabila bersinggungan menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka kesimpulan yang dapat diambil adalah sebagai berikut :

1. Aktivitas antimikroba ekstrak daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) dan daun jati (*Tectona grandis*) tergantung pada masing-masing proporsi dalam campuran. Semakin banyak proporsi daun waru dalam campuran, maka aktivitas antimikrobanya akan semakin besar. Penambahan proporsi daun waru sebanyak 25% dapat meningkatkan zona hambat sebesar 2,76 mm terhadap bakteri *Eschericia coli*.
2. Proporsi terbaik campuran daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) dan daun jati (*Tectona grandis*) dalam menurunkan cemaran *Eschericia coli* adalah perlakuan W1J1 (25% daun waru dan 0% daun jati) dengan zona hambat sebesar 4,487 mm.
3. Proporsi terbaik campuran daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) dan daun jati (*Tectona grandis*) yaitu W1J1 (25% daun waru dan 0% daun jati) efektif dalam menurunkan cemaran *Eschericia coli* pada daging ayam dengan persentase penurunan sebesar 56,26%.

5.2 Saran

Penggunaan antimikroba alami dari daun waru tanpa campuran daun jati lebih disarankan karena dapat menurunkan cemaran *Escherichia coli* dengan persentase yang lebih besar. Selain itu diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) masing-masing ekstrak daun untuk mengetahui konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdi, R. 2010. *Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis*. Jurusan Teknologi Pertanian Politeknik Negeri Pontianak. Vol. 9. No 2 September 2010 : 196-202.
- Abubakar. 1992. Grading Karkas Broiler. Prosiding. *Seminar Ikatan Sarjana Peternakan Indonesia (ISPI)*. Bogor. hal. 12-14.
- Abubakar. 2003. Mutu Karkas Ayam Hasil Pematangan Tradisional dan Penerapan Sistem Hazard Analysis Critical Control Point. *Jurnal Litbang Pertanian*. 22: 33- 39.
- Achmad, S.A. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam*. Karkunika. Jakarta. 39 hlm.
- Adiningsih, M.Y. 2009. Aspek Mikrobiologis Daging Ayam Beku yang Dilalulintaskan Melalui Pelabuhan Penyeberangan Merak. (Disertasi). Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 90 pp.
- Adisasmito, W. 2007. *Sistem Kesehatan*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Afiyah, D.N. 2013. Sifat Mikrobiologis Sosis Daging Sapi dengan Penambahan Ekstrak Daun Jati (*Tectona Grandis*) Selama Penyimpanan Dingin (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 27 pp.
- Afrianti, M. Bambang, D. dan Bhakti, E.S. 2013. Perubahan Warna, Profil Protein, dan Mutu Organoleptik Daging Ayam Boiler Setelah Direndam dengan Ekstrak Daun Senduduk. *Jurnal Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Diponegoro*. Semarang. 2:117-119.
- Agbor, G.A. Joe, A.V. dan Patrick, E.D. 2014. Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics (IJFS)*. 3(8):147-156.
- Ahadi, M. R. 2003. Kandungan Tanin Terkondensasi dan Laju Dekomposisi pada Serasah Daun *Rhizospora Mucronata* Lamk pada Ekosistem Tambak Tumpangsari. Purwakarta, Jawa Barat. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor, Bogor. 33 pp.

- Andarwulan, N. Fardiaz, D. Watimena, G.A. Shetty, K. 1999. Antioxidant Activity Associated with Lipid and Phenolic Mobilization during Seed Germination of *Pangium Edule* Reinw. *J. Agric. Food Chem.* 47:3158-3163
- Arief II, Suryati, T. Afyah, D.N. Wardhani, D.P. 2014. Physicochemical and Organoleptic of Beef Sausages with Teak Leaf Extract (*Tectona grandis*) Addition as Preservative and Natural Dye. *International Food Research Journal.* 21(5) : 2024-2033.
- Arisman dan Afianti, N. 2009. *Buku Ajar Ilmu Gizi Keracunan Makanan.* Penerbit EGC.Jakarta. 93 hlm.
- Badan Standardisasi Nasional. 2009. SNI 7388-2009. *Batas Minimum Cemaran Mikroba Pada Daging.* Standar Nasional Indonesia.Jakarta. 37 hlm.
- Blainski, A. Cristiny G. dan De Mello, J. 2013. Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of The Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense* L. *J. Mdpi Molecules.*18:6855.
- Brooks, G. F. Carroll, K.C. Butel, J.S. Morse, S.A. Mietzner, T.A. 2012. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology. 25th Edition.* Terjemahan Penerbit Buku Kedokteran EGC.2010. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg. Edisi 25.* Penerbit Kedokteran EGC. Jakarta. pp: 151-236.
- BSN (Badan Standardisasi Nasional). 2008. *Mutu karkas dan daging ayam.(SNI 3924:2009).* Badan Standar Nasional. Jakarta. 7 pp.
- Buckle, K.A. Edwards, R. A. Fleet, G.H. dan Wootton, M. 1987. *Ilmu Pangan.* Diterjemahkan Oleh Hari Purnomo dan Adiono. UIP. Jakarta.
- Chastalya, A.J. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jati (*Tectona grandis*). (Skripsi).Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang. Semarang. 76 pp.
- Chen, J.J. 2006. *A New Cytotoxic Amide from the Stem Wood of Hibiscus tiliaceus.* *Planta Med.* New York. 72(10): 935-938.
- Connie, R. 2015. *Textbook of Diagnostic Microbiology 5th Edition.* Philadelphia. Saunders Elsevier. 181-420 hlm.
- Cox, N.A. 2005. Bacterial Contamination of Poultry as a Risk to Human Health. di dalam: Mead GC, editor. *Food Safety Control in the Poultry Industry.* Boca Raton: CRC Pr. 21-43 hlm.
- Dalimarta, S. 2006. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid II.* Trubus Agriwidya. Jakarta. 73 hlm.

- Dalimarta, S. 2004. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Trobus Agriwidy. Bogor. v-vi hlm.
- Dalimartha, S. 2000. *Atlas Tumbuhan Indonesia. (Jilid II)*. Trubus Agriwidya. Jakarta. 214 hlm.
- Departemen Kesehatan RI. 1996. *Pedoman Praktis Pemantauan Gizi Orang Dewasa*. Depkes. Jakarta.
- Depertemen Kesehatan RI. 1996. *Kandungan Gizi Daging Ayam Segar*. Depkes. Jakarta.
- Dewantoro, G.I. 2011. Tingkat Prevalensi Escherichia coli Dalam Daging Ayam Beku yang Dilalulintaskan Melalui Pelabuhan Penyeberangan Merak. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 211-216 pp.
- Dewi, Kurnia Harlina. Hidayat, K. dan Meizul, Z. 2010. Analisis Sistem Penunjang Keputusan Pada Agroindustri Berbasis Kopi di Provinsi Bengkulu. *Proseding Seminar nasional BKSPNTN*. Universitas Sultan Agung Tirtayasa. Banten. Vol. 06 No. 02.
- Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2018. *Statisitik Peternakan dan Kesehatan Hewan 2017*. Kementerian Pertanian. Jakarta. 91 hlm.
- Djaafar, T.F. S. Rahayu. 2007. Cemaran Mikroba Pada Produk Pertanian, Penyakit yang ditimbulkan dan Pencegahannya. *Jurnal Litbang Pertanian*. 26(2): 67-75.
- Duna, A.A., D.J. Kilpatrick dan N.F.S. Gault. 1993. Effect of Postmortem Temperatur on Chiken in Pectorales Major : Muscle Shortening and Cooked Meat Tenderness. *J. British Poultry Sci.* 34:689-697.
- Dwi. Apriyanto, A. dan Maya, P.S. 2010. Analisis Sensori untuk Industri Pangan dan Agro. IPB Press. Bogor.
- Faradisa, M. 2008. Uji Efektivitas Antimikroba Senyawa Saponin dari Tanaman Blimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi L.*). (Skripsi). Universitas Islam Negeri. Malang. 99 pp.
- Fardiaz, S. 1992. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 308 hlm.
- Fardiaz, S. 1989. *Analisa Mikrobiologi Pangan*. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 308 hlm.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pengelolaan Pangan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 308 hlm.

- Fitriana. 2010. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Daun Jati (*Tectona grandis* L.F) (Skripsi). Universitas Islam Negeri Alauddin. Makassar. 84 pp.
- Foegeding, E.A. T.C. Lanier dan H.O. Hultin. 1996. *Characteristics of Edible Muscle Tissues*. Food Chemistry. Ed. O.R. Fennema. Marcel Dekker, Inc., New York. 879-942 hlm.
- Forrest, J.C. E.B. Aberle, H.B. Hedrick, M.D. Judge, dan R.A. Merkel. 1975. *Principles of Meat Science*. W.H. Freeman and Co., San Fransisco.
- Frazier, W. O. dan D.C. Westhoff. 1988. *Food Microbiology, 4 th Ed*. Mc Graw Hill. International Edition, New York. Vol. 4. No. 12.
- Ganiswara, S.G. 1995. *Farmakologi dan Terapi, Edisi 4*. Gaya Baru. Jakarta. 862 hlm.
- Greenwood. 2007. Prospektif Survey of the Outcome of Pregnancy in Rural Area of Gambia. *Bulletin of the World Health Organization GS (5)* : 635-643.
- Gross, J. 1991. *Pigments in Vegetables Chlorophylls and Carotenoids*. An Avi Book. New York.
- Hajrawati, Fadliah M. Wahyuni. I. I. Arief. 2016. Kualitas Fisik, Mikrobiologis, dan Organoleptik Daging Ayam Broiler pada Pasar Tradisional di Bogor. IPB. Bogor. 386-389 hlm.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Terbitan Kedua*. Institut Teknologi Bandung. Bandung. 354 p.
- Harborne, J.B. 1984. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Technique of Plant Analysis*. (2nd edn). Chapman and Hall. London. 19. 37-168 p.
- Hardjosworo dan Rukminasih. 2000. *Peningkatan Produksi Ternak Unggas*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Hargis, B. M. D. J. Caldwell dan J. A. Bird. 2001. *Microbiological Pathogen: Live Poultry Consideration*. In: A. R. Sams (Editor). *Poultry Meat Processing*. CRC Press. New York.
- Hartati, R.S.A. Gana dan K., Ruslan. 2007. *Telaah flavonoid dan Asam Fenolat Daun Jati (Tectona grandis L. f., verbenaceae)*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid III. Cetakan ke-1*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Jakarta. 1698-1699 hlm.

- Houghton, P.J. dan Raman, A. 1998. *Laboratory Handbook for The Fractionation of Natural Extracts*. Thomson Science. London. 199 p.
- Hülya, Orak. 2007. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. *Scientia Horticulturae* <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2006.10.019>. 111, 3 235-241.
- Ismail, A. F. H. Samah, O. A. & Sule, A. 2011. A Preliminary Study on Antimicrobial Activity Of *Imperata cylindrica*, Borneo. *J. Resour. Sci. Tech*, 1:63-66.
- Januarti, I.B. 2014. Ekstraksi Senyawa Flavonoid Daun Jati (*Tectona grandis* L.) dengan Metode Ultrasonik (Kajian Rasio Bahan : Pelarut Dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Media Farmasi Indonesia Semarang*. 1260-1270.
- Jasson, N. 2005. The Determination of Total Phenolic Compounds in Green Tea, <http://folincioalceu/method/colorimetric>, diakses pada 24 Januari 2014.
- Jawetz, E. J. L. Melnick, E. A. Adelberg, G. F. Brooks, J. S. Butel, L. N. Ornston. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran ed. 20*. University of California. San Francisco.
- Jawetz, E. J. L. Melnick, E. A. Adelberg, G. F. Brooks, J. S. Butel, L. N. Ornsto. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran, Buku I, Edisi I, Alih bahasa: Bagian Mikrobiologi*. FKU Unair, Salemba Medika Jakarta. Indonesia.
- Jay, J.M. Loessner, M.J. Golden, D.A. 2005. *Modern Food Microbiology Ed 9th*. Springer Science and Business Media, LLC. USA.
- Juniawati, Miskiyah, Widaningrum. 2017. Aplikasi Vinegar Sebagai Biopresentatif Untuk Menghambat Pertumbuhan *Salmonella typhimurium* Pada Daging Ayam Segar. Balai Besar Pasca Panen Pertanian. Bogor. 53-66 pp.
- Karsinah, Lucky. Soehanto dan H.W. Mardiasuti. 1994. *Kokus Positif Gram dan Batang Negatif Gram dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran, Edisi Revisi*. Bina Aksara. Jakarta. 163-165 pp.
- Katalinic, V. Milos, M. Kulisic, T. and Jukic, M. 2006. *Screening of 70 Medicinal Plants Extracts for Antioxidant Capacity and Total Phenolics*. *Food Chemistry* 94:550-557.
- Katno, Sari Haryanti, Agus, Triyono, 2009. Uji Daya Hambat Etanol Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) terhadap Pertumbuhan Mikroba *E. Coli*, *S. Aureus* dan *C. Albicans*. *Jurnal Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional*. Depkes RI. Vol. 2

- Khare, C.P. 2007. *Indian medical plants, an illustrated dictionary*. Springer, Berlin 900 hlm.
- Kinho, J. et al. 2011. *Tumbuhan Obat Tradisional di Sulawesi Utara*. Balai Penelitian Kehutanan Manado. Manado.
- Kocaefe, D. S. Poncsak, G. Dore, dan R. Younsi. 2008. Effect of Heat Treatment on Wettability of White Ash and Soft Maple by Water. *Holz Roh Werkst* 66 : 355-361.
- Koswara. 2006. Pengujian Organoleptik (Evaluasi Sensori) dalam Industri Pangan. eBookPangan.com. <http://tekpan.unimus.ac.id/wp-content/uploads/2013/07/pengujian-organoleptik-dalam-industri-pangan.pdf> diakses 19/12/2016.
- Kumar, S., Kumar, D. dan Prakasih, O. 2008. Evaluation of Antioxidant Potential Phenolic and Flavonoid Contents of Hibiscus tiliaceus Flowers. *Electronic Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry*. 7(4): 2863-2871.
- Lattanzio, V. Veronica, M. Lattanzio, T. and Cardinali, A. 2016. "Role of Polyphenols in the Resistance Mechanisms of Plants against Fungal Pathogens and Insects. *Phytochemistry: Advances in Research*, hal. 23-67
- Lawless, H. and Heymann, H. 2010. *Sensory Evaluation of Food Principles and Practices Second Edition*. Springer, New York. 596 hlm.
- Lay, W.B. 1994. *Analisa Mikroba di Laboratorium, Edisi I*. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta. 110 hlm.
- Lukman, D.W. 2009. *Higiene Pangan, Bagian Kesehatan Masyarakat Veteriner*. Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesmavet, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 37-57 hlm.
- Lukman, D.W. 2010. *Pembusukan Daging, Bagian Kesehatan Masyarakat Veteriner*. Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesmavet, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Lusiana, K. 2013. Pemanfaatan Ekstrak Daun Waru Lengis (*Hibiscus tiliaceus*) Sebagai Antibakteri dan Alternatif Pembusa Alami dan Pada Sampo (Skripsi). Universitas Kristen Satya Wacana. Salatiga. 14 pp.
- Mashroh, L.F. 2010. *Isolasi Senyawa Aktif dan Toksisitas Ekstrak Heksana Daun Pecut Kuda (*Stachyharpeheta jamaicensis L.vahl*)*. Skripsi. Malang: UIN Maulan Malik Ibrahim Malang

- Mawaddah, Rosliana. 2010. Kajian Hasil Riset Antimikroba Alami dan Aplikasinya Dalam Bahan Pangan di Pusat Informasi Teknologi Pertanian FATETA IPB. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 114 pp.
- Maghfiro, S. R. 2017. Kajian Daya Hambat Ekstrak Beberapa Kulit Buah Sebagai Antimikroba Alami Dalam Menurunkan Cemaran E.Coli Pada Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*) (Skripsi). Universitas Lampung. Lampung. 80 pp.
- Maloha, M. 2002. Pemeriksaan Angka Kuman *Escherichia coli* Dengan Usap Alat Pada Restoran, Rumah Makan, dan Lokalisasi Makanan Jajanan Di Kota Jambi Tahun 2001. (Skripsi). Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Marliena, L. 2016. *Uji Bakteriologis dan Organoleptik Daging Ayam (Gallus domesticus) di Pasar Tradisional dan Pasar Modern Kota Bandar Lampung*. (Skripsi). Universitas Lampung. Lampung. 67 hlm.
- Mead, GC. 2003. Microbial Hazards in Production and Processing. Di dalam: Mead GC, editor. *Poultry Meat Processing and Quality*. Boca Raton: CRC Pr. hlm 232-257.
- Melliawati, R. 2009. *Escherichia coli* dalam Kehidupan Manusia. *J. Bio Trends*. 4(1): 10-14.
- Molita, A.G. 2017. Identifikasi bakteri *Escherichia coli* Pada Minuman Susu Kedelai Bermerek dan tidak Bermerek di Kota Bandar Lampung. (Skripsi). Fakultas Kedokteran UNILA, Lampung. 67 pp.
- Muani, A. 2013. Morfologi Koloni Bakteri. <https://anitamuina.wordpress.com/2013/02/13/morfologi-koloni-bakteri/>. Diakses pada 24 Februari 2017.
- Muladno, C. Sumantri, dan I.W.T. Wibawan. 2008. Association of TLR4 gene genotype and resistance against *Salmonella enteritidis* natural infection inkampung chicken. *Inter. J. Poult. Sci.* 12:445-450
- Mulya, D. Fifandy, M. Fitriani, V. 2014. Uji Bakteriologis Daging Ayam Boiler (*Gallus Gallus Domestica*) yang dijual Dipasar Modern Kota Padang. Universitas Negeri Padang. Sumatera Barat. 5 pp.
- Murtidjo, B.A. 2003. *Pedoman Beternak Ayam Broiler*. Kasinius. Jakarta.
- Naidu, A.S. 2000. *Natural Food Antimicroba System*. USA: CRC Press. Boca Raton, FL, 103-132.
- Naim, R. 2004. *Senyawa Antimikroba dari Tumbuhan*, Fkh dan Sekolah Pasca Sarjana IPB. Diakses 22 April 2009.

- Newall, C.A. Anderson, L.A. Phillipson, J.D. 1996. Herbal Medicines A Guide for Health-care Professionals. *Jurnal Pharmacology & Pharmacy*. The Pharmaceutical Press. London. Vol 4. No. 8.
- Nidavani, Ramesh B., Mahalakshmi AM. 2014. *Teak (Tectona grandis Linn.): A Renowned Timber Plant With Potential Medicinal Values*. Review Article. Vol 6, Issue 1, 2014. ISSN-0975-1491.
- Ningsih, A.P. dan Nurmiati, A. 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.
- Nugraheni, M. 2012. *Pengetahuan Bahan Pangan Hewani*. Graha Ilmu. Yogyakarta. 218 hlm.
- Nurhayati. Siadi, K. dan Herjono. 2012. Pengaruh Konsentrasi Natrium Benzoat dan Lama Penyimpanan pada Kadar Fenolat Total Pasta Tomat, *Indo. J.Chem. Sci.*, 1 (2), 158-163
- Oktavia. Sri, Ifora. dan Putri, A.D. 2018. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Daun Waru (*Hibiscus Tiliaceus L.*) Pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Farmasi Higea*. Padang. 41-48.
- Pambayun, R. Murdijati G. Slamet, S. dan Kapti, R. 2007. Kandungan Fenol Dan Sifat Antibakteri Dari Berbagai Jenis Ekstrak Produk Gambir (*Uncaria gambir Roxb*). *Majalah Farmasi Indonesia*. 8(3), 141-146.
- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jilid 1*. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 997 hlm.
- Pitojo S, dan Zumiaty. 2009. *Pewarna Nabati Makanan*. Kanisius. Yogyakarta. 200 hlm.
- Poeloengan, M., B. Logawa, T. Tresnowati, S. M, Noor, dan Supartono. 2016. Uji Antibakteri Ekstrak Daun Waru (*Hibiscus tiliaceus L.*) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan Penapisan Kandungan Kimia. *Jurnal Media Peternakan*. VOL. 24. No. 23.
- Pradana, D. 2013. Uji Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang *Rhizophora mucronata* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus Agalactiae*, dan Jamur *Saprolegnia sp.* Secara In Vitro. (Skripsi). FMIPA USU. Medan. 92 pp.
- Prasetyo. 2010. Pengolahan Budidaya Tanaman dan Obat-Obatan (Bahan Simplisia). *Jurnal Badan Penerbitan Fakultas Pertanian*. Universitas Bengkulu. Bengkulu. 16-19.

- Pratama, Y. 2013. Pemanfaatan Ekstrak Daun Jati (*Tectona grandis* Linn. F.) sebagai Indikator Titrasi Asam-Basa. (Skripsi). Jurusan Kimia FMIPA UNNES. Semarang. 73 pp.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga. Yogyakarta. 176 hlm.
- Prior, R. L. Wu, X. dan Schaich, K. 2005. Standarized Methods for Determination of Antioxidants Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J. Agric. Food Chem*, 55, 2698A-J.
- Priosoeryanto, B. P. H. Huminto, I. Wientarsih dan Estuningsih, S. 2006. *Aktifitas Getah Batang Pohon Pisang dalam Proses Persembuhan Luka dan Efek Kosmetikanya Pada Hewan*. <http://repository.ipb.ac.id>. Diakses pada 23 November 2016.
- Purushotham, K.G. Arun, P. Jayarani, J.J. Vasnthakumari, R. Sankar, L. And Reddy, B.R. 2010. Synergistic in vitro antibacterial activity of *Tectona grandis* leaves with tetracycline. *Int J of Phr Rsc*. 2(1): 519-523.
- Purwati. 2007. The Effectivity of Polypropylene Rigid Air Tight Films In Inhibiting Quality Changes of Chicken and Beef During Frozen Storage. (Skripsi). IPB. Bogor. 82 hlm.
- Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikroba*. PT. Bumi Aksara. Jakarta. 286 hlm.
- Puspita, S. 2012. *Pengawetan Suhu Rendah Pada Daging dan Ikan*. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Putri, D. D. Nurmagustiana, D. E. dan Chandra, A.A. 2014. Kandungan Total Fenol dan Aktivitas Antibakteri Kelopak Buah Rosela Merah dan Ungu Sebagai Kandidat Feed Additive Alami Pada Broiler. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. Vol. 14 (3): 174-180.
- Quinn, P. Markey, B. Carter, M. Donnelly, W. Leonard, F. 2002. Veterinary microbiology and microbial disease. *Black Well Science*, chapters 26-36.
- Rafi, M. Widyastuti, N. Elly, S. dan Latifah, D.K. 2012. Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenol, dan Flavonoid Total dari Enam Tumbuhan Obat Indonesia. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. Vol. 8 No. 3.
- Rahardjo, A.H.D. Santoso, B.S. 2005. Kajian terhadap Kualitas Karkas Broiler yang Disimpan pada Suhu Kamar Setelah Perlakuan Pengukusan. *Jurnal Administrasi Publik*. 7:1-5.
- Rahayu, H.S. Sudaryani, T. Santosa, H. 2011. *Panduan Lengkap Ayam*. Penebar Swadaya. Depok. 192 hlm.

- Rakhmanda, A.P. 2008. Perbandingan Efek Antibakteri Jus Nanas (*Ananas Cosmosus L. merr*) pada Berbagai Konsentrasi Terhadap *Streptococcus Mutans*. *Artikel Karya Tulis Ilmiah*. 18 hlm.
- Ramli, 2001. Perbandingan Jumlah Bakteri pada Ayam Buras Sebelum dan Setelah Penyembelihan (Skripsi). Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala.
- Rashaf, M. 2000. *Beternak Ayam Pedaging*. Penebar Swadaya. Jakarta. 184 hlm.
- Reveny, J. 2011. Daya Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih Merah (*Piper betle* Linn.). *Jurnal Ilmu Dasar*. Vol. 12 No. 1: 6-12
- Riley, L.W. Remis, R.S. Helgerson, S.D. Mc Gee, H.B. Wells, J.G. Davis, B.R. Hebert, R.J. Olcott, H.M. Johnson, L.M. Hargrett, N.T. Blake, P.A. and Cohen, M.L. 1983. Hemorrhagic Colitis Associated with a Rare *Escherichia Coli* Serotype. *N. Engl. J. Med.* 308: 681–685.
- Risnajati, D. 2010. Pengaruh Lama Penyimpanan Dalam Lemari Es Terhadap pH, Daya Ikat Air, dan Susut Masak Karkas Broiler Yang Dikemas Plastik Polyethylen. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan Mei 2010*. Vol.13(6)
- Robinson, T.1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi, diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinata*. ITB. Bandung. 47 pp.
- Safitri, D. 2010. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Lili Laut (*Comaster sp*). (Skripsi) dalam Agustina, D.S. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Ekstrak Bintang Laut (*Culcita Sp*). (Skripsi). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 66 hlm
- Salle, A. J. 1961. *Fundamental Principle of Bacteriologi 5th Edition*. MC Graw Hill Book Company Inc..New York, 414-418, 719-739.
- 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.K. 2011. Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha multifida linn*) Sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. Artikel Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro Semarang. <http://eprints.undip.ac.id/36728/1/18.Artikel1.pdf>. diakses pada 7 November 2016.
- Sari, S.H. 2017. Pengaruh Lama Perendaman dengan Larutan Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Sebagai Pengawet Terhadap Sifat Fisik Daging Broiler. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 48 hlm.

- Sarwono, B. 2005. *Beternak Ayam Buras Pedaging dan Petelur*. Edisi Revisi. Jakarta. 132 hlm.
- Sasmita, Y. Suarjana, I.J.K. dan Rudyanto, D. 2014. Cemaran Escherichia Coli pada Daging Broiler yang Disimpan di Showcase di Swalayan di Denpasar. *Indonesia Medicus Veterinus*. 3(1) : 68-72
- Sembiring, B. Br. Mamun, M. dan Ginting, E.I. 2006. Pengaruh Kehalusan Bahan dan Lama Ekstraksi Terhadap Mutu Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). *Jurnal Tanaman Rempah dan Obat*. Vol 17. No. 2.
- Setyaningsih, I. 2004. Resistensi Bakteri dan Antibiotik Alami dari Laut. *Makalah Falsafah Sains*. IPB. Bogor.
- Soeparno. Indratiningsih, S. Triatmojo dan Rihastuti. 2001. *Dasar Teknologi Hasil Ternak*. Fakultas Perternakan Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. 132 hlm.
- Soeparno. 2009. *Ilmu dan Teknologi Daging*. Edisi Ke-5. UGM Press. Yogyakarta. 346 hlm.
- Soeparno. 1994. *Ilmu dan Teknologi Daging*. UGM Press. Yogyakarta. 346 hlm.
- Soeparno. 2005. *Ilmu dan Teknologi Daging*. UGM Press. Yogyakarta. 346 hlm.
- Soetjipto, H. 2013. Aktivitas Antibakteri dan Fitokimia Ekstrak Daun Waru Lengis (*Hibiscus tiliaceus* L.) Sebagai Bahan Dasar Pembuatan Sampo. Fakultas Sains dan Matematika. (Skripsi). Universitas Sebelas Maret. Surakarta. 14 pp.
- Standar Nasional Indonesia (SNI). 1992. SNI 01-2891-1992. *Cara Pengujian Makanan dan Minuman*. Direktorat Pengolahan dan Pemasaran Hasil Peternakan. Departemen Pertanian. Jakarta. 35 hlm.
- Sudarmadji, S. Haryono, B. dan Suhardi. (2007). *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta. 160 hlm.
- Suerni Endang, Alwi Muhammad dan Guli Musjaya M. 2013. Uji Daya Hambat Ekstrak Buah Nanas (*Ananas comosus* L. Merr.), Salak (*Salacca edulis* Reinw.) dan Mangga Kweni (*Mangifera odorata* Griff.) terhadap Daya Hambat *Staphylococcus Aureus*. Universitas Tadulako Kampus Bumi Tadulako Tondo Palu. Sulawesi Tengah.
- Sugiyono, L. 2010. Gambaran Pengetahuan, Sikap, Praktik Serta Identifikasi Bakteri Escherichia Coli dan Staphylococcus Aureus Pada Penjamah dan Makanan Di PT PSA (Pelita Sejahtera Abadi). (Artikel Penelitian). Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.

- Sutton, S. 2011. Measurement of Microbial Cells by Optical Density. *J. Of Validation Technology*. XVII (I): 46-49.
- Suwandi, T. 2012. Pengembangan Potensi Antibakteri Kelopak Bunga Hibiscus Sabdariffa L. (Rosela) Terhadap Sterptococcus Sanguinis Penginduksi Gingivitis Menuju Obat Herbal Terstandar. (Disertasi). Program Doktor Ilmu Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. 170 pp.
- Syamsuhidayat, S.S. dan Hutapea, J.R. 1991. Inventaris Tanaman Obat Indonesia Balitbang Departemen Kesehatan. Jakarta.
- Tim Karya Tani Mandiri. 2009. *Pedoman Budidaya Beternak Ayam Broiler*. Nuansa Aulia. Bandung. 104 hlm.
- Usmiati, S. 2010. Pengawetan Daging Segar dan Olahan. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Bogor. *Jurnal Teknologi Sains*. 9(3):46-51.
- Utari, L.K. Riyanti, Rr. dan Santoso, P. E. 2016. Status Mikrobiologis Daging Broiler di Pasar Tradisional Kabupaten Pringsewu. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. Vol. 4 (1):63-66.
- Win, W. and Koneman, E.W .2006. *Konemen's color atlas and textbook of diagnostic microbiology sixth edition*, Lippincott Williams & Wilkins. 30 hlm.
- Windyartono, A. Rr. Rianti dan Veronica, W. 2016. Efektivitas Tepung Bunga Kecombrang (Nicolaia Speciosa Horan) Sebagai Pengawetan Terhadap Aspek Kimia Daging Ayam Broiler. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 4(1): 19-23