

**PENGARUH WAKTU EKSTRAKSI SENYAWA ANTIMIKROBA PADA
BUNGA WARU (*Hibiscus tiliaceus L.*) MENGGUNAKAN METODE
ULTRASONIK**

(Tesis)

OLEH

RIA ISWANDARI



**PROGRAM STUDI MAGISTER TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2022**

ABSTRAK

PENGARUH WAKTU EKSTRAKSI SENYAWA ANTIMIKROBA PADA BUNGA WARU (*Hibiscus tiliaceus L.*) MENGGUNAKAN METODE ULTRASONIK

Oleh

RIA ISWANDARI

Kekayaan hayati memiliki banyak manfaat dengan berbagai kandungan senyawa aktif yang dimiliki, salahsatunya sebagai sumber antimikroba alami. Aktivitas antimikroba adalah kemampuan suatu senyawa untuk mempengaruhi dinding sel mikroba sehingga pertumbuhan mikroba terganggu dan menyebabkan kematian pada mikroba. Jenis tanaman yang diduga memiliki kemampuan sebagai antimikroba alami yang perlu dikembangkan lebih lanjut seperti jenis bunga-bunga dari marga *hibiscus* yang memiliki kandungan senyawa aktif sebagai antimikroba, salahsatunya pada bunga waru. Bunga waru mengandung zat kimia seperti fenol, saponin, dan flavonoid yang termasuk senyawa antioksidan. Senyawa aktif tersebut akan optimal dengan metode ekstraksi yang tepat. Metode ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik lebih tepat digunakan dalam mengekstrak senyawa aktif karena tidak menggunakan panas yang dapat merusak kandungan senyawa aktif pada bahan. Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi bunga waru menggunakan metode ultrasonic dengan 5 perlakuan waktu yaitu 20, 30, 40, 50, dan 60 menit. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan lama ekstraksi bunga waru menggunakan metode ultrasonic dengan waktu 20 menit, 30 menit, 40 menit, 50 menit, dan 60 menit. Perlakuan ekstraksi bunga waru menggunakan metode ultrasonic dengan diperoleh waktu perlakuan terbaik pada ekstraksi selama 50 menit dengan hasil zona hambat tertinggi. Diameter zona hambat terbaik yang terbentuk pada masing-masing perlakuan terhadap bakteri uji yaitu *Escherichia coli* 11,71mm, *Salmonella sp.* 15,42 mm, dan *Staphylococcus aureus* 24,26mm. Serta hasil uji aplikasi pada daging ayam ekstrak bunga waru pada perlakuan terbaik (50 menit) dapat memberikan penurunan total cemaran bakteri pada daging ayam sebesar 100%.

Kata kunci: Antimikroba, Bunga waru, Ultrasonic.

ABSTRACT

EFFECT OF EXTRACTION TIME OF ANTIMICROBIAL COMPOUNDS ON WARU FLOWERS (*Hibiscus tiliaceus L.*) USING ULTRASONIC METHOD

By

RIA ISWANDARI

Biodiversity has many benefits with various active compounds contained, one of which is as a source of natural antimicrobials. Antimicrobial activity is the ability of a compound to affect microbial cell walls so that microbial growth is disrupted and causes death of microbes. Types of plants that are thought to have the ability as natural antimicrobials that need to be developed further, such as the types of flowers from *hibiscus* which contain active compounds as antimicrobials, one of which is the waru flower. Waru flowers contain chemical substances such as phenols, saponins, and flavonoids which are antioxidant compounds. The active compound will be optimal with the right extraction method. The extraction method using ultrasonic waves is more appropriate to use in extracting the active compound because it does not use heat which can damage the content of the active compound in the material. In this study, hibiscus flower extraction was carried out using the ultrasonic method with 5 treatment times, namely 20, 30, 40, 50, and 60 minutes. The results showed that the length of treatment for hibiscus flower extraction using the ultrasonic method was 20 minutes, 30 minutes, 40 minutes, 50 minutes, and 60 minutes. The extraction treatment of hibiscus flower using ultrasonic method with obtained the best treatment time on extraction for 50 minutes with the highest inhibition zone results. The diameter of the best inhibition zone formed in each treatment of the test bacteria was *Escherichia coli* 11.71mm, *Salmonella sp.* 15.42 mm, and *Staphylococcus aureus* 24.26 mm. And the results of the application test on chicken meat with waru flower extract in the best treatment (50 minutes) can reduce the total bacterial contamination of chicken meat by 100%.

Keywords: *Antimicrobial, Waru flower, Ultrasonic.*

**OPTIMALISASI WAKTU EKSTRAKSI SENYAWA ANTIMIKROBA
PADA BUNGA WARU (*Hibiscus tiliaceus L.*) MENGGUNAKAN METODE
ULTRASONIK**

Oleh

Ria Iswandari

Tesis

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
MAGISTER TEKNOLOGI PERTANIAN**

Pada

**Jurusan Teknologi Industri Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

Judul Tesis : **PENGARUH WAKTU EKSTRAKSI SENYAWA
ANTIMIKROBA PADA BUNGA WARU
(*Hibiscus tiliaceus L.*) MENGGUNAKAN
METODE ULTRASONIK**

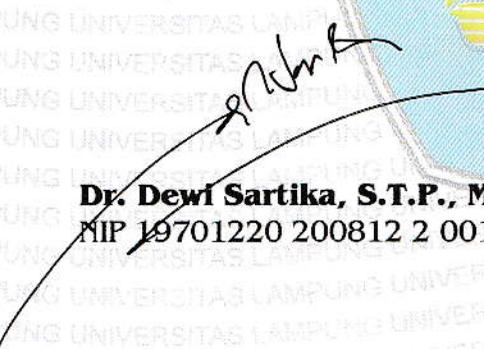
Nama Mahasiswa : **Ria Iswandari**

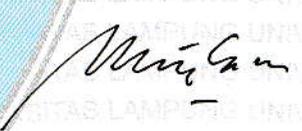
Nomor Pokok Mahasiswa : 2024051008

Program Studi : Magister Teknologi Industri Pertanian

Fakultas : Pertanian




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


Dr. Dra. Maria Erna K, M. Sc.
NIP 19611291987032 002

2. Ketua Program Studi Teknologi Industri Pertanian

Dr. Sri Hidayati, S.T.P., M.P
NIP 1971093019951220 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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

Sekretaris : Dr. Ir. Maria Erna K., M.Sc

**Penguji 1
Bukan Pembimbing : Dr. Ir. Tanto P. Utomo, M.S.**

**Penguji 2
Bukan Pembimbing : Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A.**

2. Dekan Fakultas Pertanian



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

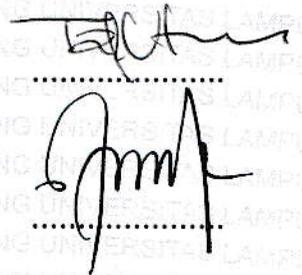
3. Direktur Program Pasca Sarjana



Prof. Dr. Ir. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T.
NIP. 19710415 199803 1 005

Tanggal Lulus Ujian Tesis: 09 November 2022


.....


.....

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya adalah Ria Iswandari NPM 2024051008.

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

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

Bandar Lampung, November 2022
Yang membuat pernyataan



Ria Iswandari
NPM. 2024051008

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Negara Ratu, Lampung Timur pada 20 Mei 1995, sebagai anak pertama dari dua bersaudara, dari pasangan Bapak Ngadiyo dan Ibu Siti Munawaroh. Penulis berstatus istri dari Ahmad Syarif Fathur Rohman dan memiliki 1 orang anak bernama Muhammad Adib Alfarizi.

Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SD Negeri 2 Negara Ratu pada tahun 2007, kemudian melanjutkan pendidikan menengah pertama di SMP Negeri 2 Purbolinggo dan lulus pada tahun 2010. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di SMA Negeri 1 Purbolinggo dan lulus pada tahun 2013. Pada tahun 2018 penulis menyelesaikan pendidikan Sarjana pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

Selama menjadi mahasiswa penulis aktif dalam program hibah penelitian dosen dan hibah pengabdian masyarakat yang dipromotori oleh Dr. Dewi Sartika, S.T.P., M.Si. Pada saat menjadi mahasiswa Sarjana Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Bandar Sakti, Kecamatan Terusan Nunyai, Kabupaten Lampung Tengah. Pada bulan Juli s.d. Agustus 2017, penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di CV. Bumi Waras, Kecamatan Way Lunik Kabupaten

Teluk Betung Selatan Provinsi Lampung dan menyelesaikan laporan PU yang berjudul “Mempelajari Proses Analisa Mutu Produk Minyak Goreng Kemasan Di CV Bumi Waras”.

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

SANWANCANA

Alhamdulillah, Segala puji bagi Allah yang dengan nikmat-Nya, petunjuk serta ridho-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan tesis ini yang berjudul “Pengaruh Waktu Ekstraksi Senyawa Antimikroba Pada Bunga Waru (*Hibiscus tiliaceus L.*) Menggunakan Metode Ultrasonik”. Dalam penulisan tesis ini, penulis banyak mendapatkan bantuan, bimbingan, dan dorongan baik itu langsung maupun tidak langsung dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Ibu Dr. Sri Hidayati, S.TP., M.Si., selaku Ketua Prodi Magister Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
3. Ibu Dr. Dewi Sartika, S.T.P., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik sekaligus sebagai Dosen Pembimbing pertama tesis, terimakasih atas izin penelitian yang diberikan, arahan, saran, bantuan, motivasi, dan bimbingan yang telah diberikan selama menjalani perkuliahaan dan selama proses penelitian hingga penyelesaian tesis Penulis.
4. Ibu Dr. Ir. Maria Erna K., M.Sc, selaku Dosen Pembimbing dua tesis atas saran, motivasi, dan bimbingan dalam proses penelitian dan penyelesaian tesis Penulis.
5. Bapak Dr. Ir. Tanto P. Utomo, M.S., selaku Dosen Pembahas atas saran, bimbingan, dan evaluasinya terhadap karya tesis Penulis.
6. Bapak Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A., selaku Dosen Pembahas atas saran, bimbingan, dan evaluasinya terhadap karya tesis Penulis.
7. Seluruh Bapak dan Ibu dosen pengajar, staff administrasi dan laboratorium di Prodi Magister Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

8. Anak tercinta Muhammad Adib Alfarizi dan Suami Ahmad Syarif Fathur Rohman terimakasih atas segala cinta, dukungan, semangat, canda tawa, dan kebersamaannya menemani Ibu sampai tahap ini.
9. Kedua Orang Tua dan adik tercinta, terimakasih atas kasih sayang yang tercurah kepada Penulis yang tiada hentinya, serta semangat, motivasi, nasihat, dan doa yang selalu menyertai Penulis.
10. Serta seluruh rekan-rekan MTIP angkatan 2020 terimakasih atas dukungan dan bantuannya selama ini.

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

Bandar Lampung, November 2022

Penulis,

Ria Iswandari

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan	5
1.3. Kerangka Pemikiran	5
1.4. Hipotesis	7
II. TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1. Tanaman Waru (<i>Hisbicus tiliaceus L.</i>).....	9
2.1.1. Bunga Waru	11
2.2. Prinsip Dasar Ekstraksi	11
2.2.1. Maserasi	12
2.2.2. Gelombang Ultrasonic	13
2.3. Senyawa Antioksidan	14
2.4. Aktivitas Antimikroba	14
2.5. Bakteri patogen pada Bahan Pangan	15
2.6. Nilai tambah	18
III. METODE PENELITIAN	21
3.1. Tempat dan Waktu	21
3.2. Bahan dan Alat	21
3.3. Metode penelitian	22
3.4. Pelaksanaan penelitian	23
3.4.1. Preparasi kultur bakteri dan sampel	23
3.4.2. Pembuatan serbuk bunga waru	24
3.4.3. Pembuatan ekstrak	25
3.5. Pengamatan	25
3.5.1. Uji aktivitas antimikroba	26
3.5.1.1. Peremajaan Bakteri Uji.....	26
3.5.1.2. Peremajaan standar turbiditas 0,5 Mc Farland	26
3.5.1.3. Pembuatan suspense bakteri	27
3.5.1.4. Uji daya hambat antimikroba.....	27
3.5.2. Uji aplikasi penurunan mikroba pada daging ayam aktivitas	28

3.5.2.1. Uji total mikroba pada daging ayam.....	28
3.5.2.2. Uji penurunan total mikroba pada daging ayam...	29
3.6. Uji kadar antioksidan	30
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1. Hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak bunga waru	31
4.1.1. Diameter zona hambat aktivitas antimikroba ekstrak bunga waru	31
4.2.2. hasil uji lanjut ducan ekstrak bunga waru pada bakteri uji .	36
4.2.3. hasil peremajaan bakteri uji.....	41
4.2.3. hasil pembuatan standar 0,5 Mc Farland.....	41
4.2. Hasil aplikasi uji penurunan mikroba pada daging ayam	43
4.3. Hasil uji senyawa aktif ekstrak bunga waru	45
4.4. Analisa nilai tambah ekstrak bunga waru.....	47
V. KESIMPULAN DAN SARAN	49
5.1. Kesimpulan	49
5.2. Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	58

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri	17
2. Syarat mutu mikrobiologis daging ayam	21
3. Perhitungan nilai tambah menggunakan metode Hayami <i>et al.</i> (1987).	23
4. Rancangan percobaan uji daya hambat bunga waru	22
5. Diameter zona hambat aktivitas antimikroba ekstrak bunga waru	32
6. Uji lanjut Duncan pada taraf 5%	36
7. Hasil uji penurunan mikroba pada daging ayam	43
8. Analisa nilai tambah ekstrak bunga waru	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bunga waru.	11
2. Rancangan pelaksanaan penelitian	22
3. Diagram alir pembuatan serbuk bunga waru	24
4. <i>Diagram alir ekstraksi bunga waru</i>	25
5. Peremajaan bakteri uji.....	26
6. Uji daya hambat antimikroba.....	28
7. Uji total bakteri pada daging ayam	29
8. Uji aplikasi aktivitas antimikroba.....	30
9. (a) zona hambat terhadap <i>E coli</i> , (b) zona hambat terhadap <i>salmonellasp</i> , dan (c) zona hambat terhadap <i>staphylococcus aureus</i> , dan (d) control positif	34
10. Grafik Uji lanjut Duncan ekstrak bunga waru terhadap <i>Eschericia coli</i>	38
11. Grafik Uji lanjut Duncan ekstrak bunga waru terhadap <i>salmonella sp</i>	39
12. Grafik Uji lanjut Duncan ekstrak bunga waru terhadap <i>staphylococcus aureus</i>	40
13. (a) kultur <i>E. coli</i> , (b) kultur <i>salmonella sp</i> , dan (c) kultur <i>staphylococcus aureus</i>	41
14. Hasil pembuatan standar 0,5 Mc Farland.....	42
15. (a) total koloni daging ayam tanpa perlakuan, (b) total koloni daging ayam dengan ekstrak bunga waru.....	47
16. Grafik gelombang spektro-IR	45
17. Gambar 17. Kurva regresi linear kadar antioksidan ekstrak bunga waru .	45

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kekayaan hayati memiliki banyak manfaat salahsatunya sebagai sumber antimikroba alami seperti daun jeruk, singkong, buah naga, daun waru, mengkudu, dan tanaman lainnya (Sartika *dkk*, 2020). Tanaman lain juga diduga memiliki kemampuan sebagai antimikroba alami yang perlu diekslore seperti jenis bunga-bunga dari marga *hisbiscus*, yang memiliki kandungan senyawa aktif sebagai antimikroba pada bunga waru. Antimikroba alami termasuk diantaranya dapat diperoleh dari bunga waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) yang selama ini belum dimanfaatkan secara optimal.

Antimikroba pada tanaman waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) berupa senyawa kimia tertentu. Senyawa kimia tertentu antara lain saponin, flavonoid, tanin, terpenoid, dan fenol. Berdasarkan penelitian Lusiana *dkk.* (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 *dkk.*, 2007).

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa daun waru merupakan tanaman herbal yang bersifat anti-inflamasi, antiracun, mencegah pendarahan, dan mengobati luka (Lutina, 2013). Kembang waru mengandung zat kimia seperti flavonoid yang termasuk senyawa antioksidan. Sedangkan pada daun waru mengandung

saponin dan polifenol. Bunga waru memiliki kandungan senyawa kimia yaitu saponin, terpen, tanin, flobatanin, antraquinon dan alkaloid yang digunakan sebagai bahan obat-obatan (Fenglin, 2003).

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. Metode ekstraksi dingin yang sering digunakan yaitu dengan metode maserasi, lalu untuk metode lainnya bias menggunakan ultrasonic. Masing-masing metode ekstraksi tersebut memiliki kelebihan dan kekurangan tergantung tujuan dan bahan yang akan diekstraksi. Pemilihan metode ekstraksi mempengaruhi hasil dari produk yang akan dihasilkan. Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Mukhriani, 2014).

Metode ultrasonik digunakan untuk memperoleh kandungan antioksidan yang lebih tinggi dengan waktu yang relatif singkat. Ultrasonik bersifat *non-destructive* dan *non-invasive* sehingga dapat dengan mudah diadaptasikan ke berbagai aplikasi (McClements 1995). Dengan bantuan ultrasonik, proses ekstraksi senyawa organik pada tanaman dan biji-bijian dengan menggunakan pelarut organik dapat berlangsung lebih cepat. Dinding sel dari bahan dipecah dengan getaran ultrasonik sehingga kandungan yang ada di dalamnya dapat keluar dengan mudah (Mason, 1990). Studi UAE untuk peningkatan rendemen dan efektivitas ekstraksi sudah banyak dilakukan. Balachandran *et al.* (2006) melakukan ekstraksi berbantu ultrasonik pada jahe yang dapat meningkatkan 30% rendemen dan mengurangi waktu ekstraksi. Xia *et al.* (2006) telah membuktikan bahwa ekstraksi berbantu ultrasonik pada polifenol, asam amino dan kafein dari teh hijau dapat meningkatkan rendemen pada suhu 65C.

Metode ultrasonic yang sering digunakan yaitu metode sonikasi tidak langsung menggunakan medium air atau dikenal dengan *ultrasonic water bath*. Metode sonikasi tidak langsung adalah metode sonikasi dengan sensor ultrasonik yang tidak bersentuhan langsung dengan larutan yang akan diekstraksi. Penelitian menggunakan metode sonikasi langsung telah dilakukan oleh Golmohamadi *et al.* (2013) yang meneliti pengaruh frekuensi ultrasonic pada *puree* raspberry merah dan Gonzalezcenteno *et al.* (2015) mengenai pengaruh daya ultrasonik terhadap ekstraksi senyawa fenolik dari *grape pomace*. Metode sonikasi langsung perlu dikembangkan dalam ekstraksi senyawa-senyawa aktif antimikroba. .

Menurut penelitian Setiowati *dkk.* (2011), persentase sampel daging ayam dari pasar tradisional di Indonesia yang positif tercemar *Salmonella sp.* dan *E. coli* adalah 10,06%. Penelitian Sartika *et al.* (2016), menunjukkan tingginya cemaran *Salmonella sp.* yang teridentifikasi pada daging ayam di pasar tradisional dan pasar modern di Bandar Lampung dengan tingkat cemaran tinggi melebihi batas yang ditetapkan berdasarkan SNI-7388 (BSN, 2009) $3,30 \times 10^8$ cfu/g di pasar tradisional dan $3,27 \times 10^8$ cfu/g di pasar modern. Mengacu pada SNI-7388 (2009) bahwa batas maksimum cemaran *Salmonella sp* pada daging ayam harus negatif, data menunjukkan bahwa daging ayam di pasar tradisional dan modern tersebut tidak memenuhi standar mutu. Infeksi bakteri ini pada hewan atau manusia dapat mengakibatkan penyakit yang disebut salmonellosis (Serbeniuk, 2002). Wabah *salmonellosis* di dunia menyebabkan gastroenteritis akut atau diare (1,3 milyar jiwa) dan kematian (13 juta jiwa) (Portillo, 2000). Lebih dari 50% penyebab wabah diare di dunia diakibatkan dari makanan yang tercemar *Salmonella sp.* (Milliotis dan Bier, 2003).

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

mikroorganisme (Yulistiani, 2010). Proses pengolahan daging ayam secara sederhana dan tradisional juga sangat memungkinkan terjadinya cemaran bakteri patogen (Raza *et al.*, 2012). Oleh karena itu, diperlukan upaya untuk menurunkan cemaran mikroba tersebut guna memenuhi tingkat keamanan pangan pada daging ayam.

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

Bunga waru terdapat dalam jumlah melimpah di berbagai daerah di Indonesia, termasuk di Lampung. Selama ini bunga waru belum dimanfaatkan secara maksimal oleh masyarakat, padahal bunga waru dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan antimikroba alami. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh waktu ekstraksi menggunakan metode ultrasonic pada bunga waru terhadap aktivitas senyawa aktif antioksidan dan aplikasi ekstrak terbaik yang diperoleh terhadap penurunan cemaran bakteri patogen daging ayam.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu:

1. Menganalisa pengaruh waktu ekstraksi menggunakan metode ultrasonic terhadap aktivitas senyawa antimikroba bunga waru
2. Menganalisa profil zona hambat ekstrak bunga waru sebagai antimikroba alami

1.3. Kerangka Pemikiran

Zat aktif yang terkandung dalam berbagai jenis ekstrak tumbuhan diketahui dapat menghambat beberapa mikroba patogen maupun perusak makanan. Zat aktif tersebut berasal dari bagian tumbuhan seperti biji, buah, rimpang, batang, kulit, daun, dan umbi. Dalam penelitian sebelumnya dikatakan suweg merupakan tanaman

herbal yang bersifat anti-inflamasi, antiracun, mencegah pendarahan, dan mengobati luka. Bunga waru mengandung zat kimia seperti flavonoid yang termasuk senyawa antioksidan (Lutina, 2013).

Metabolit Sekunder adalah senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk yang unik atau berbeda-beda antara spesies yang satu dan yang lainnya fungsi metabolit sekunder adalah untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, misalnya untuk mengatasi hama dan penyakit, menarik polinator, dan sebagai molekul sinyal.(Rasyid,2012). Beberapa senyawa metabolit sekunder memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh. Daun waru kaya kandungan kimia seperti flavonoid dan saponin pada umbi. Sementara batang dan daun mengandung saponin dan polifenol. Anggota famili Araceae itu bersifat antiinflamasi, antiracun, mencegah pendarahan, dan mengobati luka (Hariana, 2006).

Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu. Beberapa target ekstraksi, diantaranya (Sarker SD, dkk., 2006):

1. Senyawa bioaktif yang tidak diketahui
2. Senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme
3. Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural.

Semua senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh suatu sumber tetapi tidak dihasilkan oleh sumber lain dengan kontrol yang berbeda, misalnya dua

jenis dalam marga yang sama atau jenis yang sama tetapi berada dalam kondisi yang ber- beda. Identifikasi seluruh metabolit sekunder yang ada pada suatu organisme untuk studi sidik jari kimiawi dan studi metabolomik.

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

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

kapang (bakteristatik atau fungistatik) atau membunuh bakteri atau kapang (Fadhilla, 2010).

1.4. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah :

1. Diperoleh waktu terbaik ekstraksi bunga waru menggunakan metode ultrasonic sebagai antimikroba alami.
2. Diperoleh profil zona hambat terbaik ekstrak bunga waru terhadap mikroba patogen.

II. TINJAUAN PUSTAKA

1.1 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 di atas 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. 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).

2.1.1 Bunga Waru

Bunga waru dapat dijadikan zat warna alami, karena pada bunga waru, terdapat pigmen warna yaitu antosianin. Antosianin dari berbagai tanaman semakin banyak digunakan dalam industri makanan dan obat-obatan karena warnanya menarik dan aman bagi kesehatan (Maganha, dkk, 2010). Warna antosianin sangat dipengaruhi oleh struktur antosianin serta derajat keasamaan (pH). Antosianin cenderung tidak berwarna di daerah pH netral, di dalam larutan yang pHnya sangat asam (pH<3) memberikan warna merah yang maksimum, sedangkan di dalam larutan alkali (pH 10,5) pigmen antosianin mengalami perubahan warna menjadi biru (Torskangerspoll & Anderson, 2005; Einbond, dkk, 2004; Chen, dkk, 2003).



Gambar 1. Bunga waru
Sumber: Dokumentasi penulis

Bunga *H. sabdariffa* berkhasiat sebagai antiseptik, *demulcent* (menetralkan asam lambung), *digestif* (melancarkan pencernaan diuretik, *onthemintic* (anti cacing), *refrigerant* (efek pendinginan), serta mengobati kanker, batuk, sakit maag, kembung perut, dan mencegah penyakit hati. Namun, uji klinis yang memanfaatkan *H. sabdariffa* untuk mencegah dan mengobati penyakit-penyakit infeksi *S. typhimurium* belum pernah dilakukan. Tumbuhan waru merupakan salah satu jenis tumbuhan dalam Usada Taru Permana yang mengandung khasiat obat. Tumbuhan waru yang termasuk dalam suku Malvaceae dengan marga *Hibiscus* (Lawrence, 1964; Backer, 1968), digunakan dalam berbagai pengobatan. Daun waru dapat digunakan untuk mengobati Tuberkulosis paru-paru, batuk, sesak napas, radang amandel (tonsillitis), demam, disentri pada anak, muntah darah, radang usus, bisul, abses, dan rambut rontok (Indah dan Darwati, 2013). Daun waru mengandung senyawa polifenol, saponin dan flavonoid. Akar waru mengandung senyawa tanin, saponin, dan flavonoid. Kulit batang waru mengandung senyawa hibiscusamide, N-transferuloyltiramine, dan N-cisferuloyltiramine, dan bersifat toksik pada sel kanker kolon HT-29 dengan $LC_{50} < 4 \mu\text{g/mL}$ (Chen *et al*, 2006). Daun waru diduga dapat memiliki aktivitas sebagai antikanker karena secara kemotaksonomi senyawa turunan dapat terdistribusi keseluruhan bagian tumbuhan. Hasil uji toksisitas ekstrak etanol daun waru menghasilkan nilai LC_{50} 79,43ppm.

Kandungan yang terdapat dalam tanaman ini dapat untuk menghindari efek samping obat menjadi resisten. Tanaman spesies Hibiscus memiliki senyawa metabolit sekunder yang secara tidak langsung tumbuh normal, berkembang, dan memiliki peranan penting dalam pertahanan tanaman. Senyawa organik tersebut alkaloid, glikosida, terpenoid, fenol, tannin, flavonoid, dan saponin. Beberapa spesies Hibiscus salah satunya *Hibiscus tiliaceus* L. memiliki bioaktivitas sebagai antimikroba dan antioksidan (Salem et al, 2014).

2.2 Prinsip Dasar Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhriani, 2014). Pada umumnya tanaman tersebut mengandung zat fitokimia berkonsentrasi tinggi dengan sifat antioksidan, seperti vitamin C, vitamin E, betakaroten (diubah tubuh menjadi vitamin A), dan polifenol. Ekstraksi fitokimia bahan tanaman merupakan langkah penting sebelum dilakukan proses selanjutnya (Novak *et al.*, 2008). Firdaus *et al.*, (2010) menyelidiki bahwa teknik ekstraksi konvensional yang digunakan selama bertahun-tahun yang lalu membutuhkan banyak waktu dan pelarut, sehingga memiliki tingkat efisiensi yang rendah (Soni *dkk.*, 2010). Kebanyakan produk alam yang tidak stabil secara thermal akan terdegradasi dengan menggunakan teknik ini, karena berdasarkan pada pemilihan jenis pelarut yang tepat serta penggunaan sejumlah panas dan/atau agitasi untuk meningkatkan kelarutan dan laju perpindahan massanya. Teknik yang biasa digunakan adalah maserasi, perkolasi, hydrodistilasi dan soxhlet (Péres *et al.*, 2006).

Sejumlah hasil penelitian menunjukkan bahwa penerapan teknik intensitas ultrasonik mampu mengekstrak senyawa fitokimia, seperti alkaloid, flavonoid, polisakarida, protein dan minyak esensial dari berbagai bagian tanaman dan bibit tanaman (Firdaus *dkk.*, 2010). Ekstraksi ultrasonik dapat menyebabkan gangguan fisik baik pada dinding maupun membran sel biologis serta penurunan ukuran partikel. Efek tersebut berdampak pada penetrasi pelarut yang lebih baik terhadap material sel yang pada akhirnya akan meningkatkan laju perpindahan massa pada jaringan serta memfasilitasi perpindahan senyawa aktif dari sel ke pelarut (Novak et al., 2008). Hal ini dapat terjadi apabila sebelumnya didahului oleh fenomena runtuhnya gelembung yang dihasilkan oleh kavitasi (Rodrigues and Pinto, 2006).

2.2.1. Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. (Agoes, 2007). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil.

2.2.2. Gelombang Ultrasonic

Merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantuan *ultrasound* (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah *ultra-sonic* dan *ultrasound*. Hal ini dilakukan untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut

dan meningkatkan hasil ekstraksi. Metode ekstraksi ini digunakan untuk memperoleh kandungan antioksidan yang lebih tinggi dengan waktu yang relatif singkat.

Ultrasonik bersifat non-destructive dan non-invasive sehingga dapat dengan mudah diadaptasikan ke berbagai aplikasi (McClements 1995). Dengan bantuan ultrasonik, proses ekstraksi senyawa organik pada tanaman dan biji-bijian dengan menggunakan pelarut organik dapat berlangsung lebih cepat. Dinding sel dari bahan dipecah dengan getaran ultrasonik sehingga kandungan yang ada di dalamnya dapat keluar dengan mudah (Mason, 1990).

Studi UAE untuk peningkatan rendemen dan efektivitas ekstraksi sudah banyak dilakukan. Balachandran *et al.*, (2006) melakukan ekstraksi berbantu ultrasonik pada jahe yang dapat meningkatkan 30% rendemen dan mengurangi waktu ekstraksi. Xia *et al.* (2006) telah membuktikan bahwa ekstraksi berbantu ultrasonik pada polifenol, asam amino dan kafein dari teh hijau dapat meningkatkan rendemen pada suhu 65oC. Di Indonesia, aplikasi ultrasonik telah dilakukan Supardan *dkk* (2011) untuk me-recovery minyak dari limbah pabrik kelapa sawit dengan rendemen yang berbeda nyata terhadap ekstraksi tanpa bantuan ultrasonik. Kebanyakan penelitian di Indonesia dilakukan dengan metode sonikasi tidak langsung menggunakan medium air atau dikenal dengan ultrasonic water bath. Metode sonikasi tidak langsung adalah metode sonikasi dengan sensor ultrasonik yang tidak bersentuhan langsung dengan larutan yang akan diekstraksi

2.3. Senyawa antioksidan

Antioksidan adalah unsur kimia atau biologi yang dapat menetralisasi potensi kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas tadi. Beberapa antioksidan endogen (seperti enzim superoxide-dismutase dan katalase) dihasilkan oleh tubuh, sedangkan yang lain seperti vitamin A, C, dan E merupakan antioksidan eksogen yang harus didapat dari luar tubuh seperti buah-buahan dan sayur-sayuran (Iorio, 2007).

Antioksidan bekerja dengan melindungi lipid dari proses peroksidasi oleh radikal

bebas. Ketika radikal bebas mendapat elektron dari antioksidan, maka radikal bebas tersebut tidak lagi perlu menyerang sel dan reaksi rantai oksidasi akan terputus. Setelah memberikan elektron, antioksidan menjadi radikal bebas secara definisi. Antioksidan pada keadaan ini berbahaya karena mereka mempunyai kemampuan untuk melakukan perubahan elektron tanpa menjadi reaktif. Tubuh manusia mempunyai pertahanan sistem antioksidan. Antioksidan yang dibentuk di dalam tubuh dan juga didapat dari makanan seperti buah-buahan, sayur-sayuran, biji-bijian, kacang-kacangan, daging, dan minyak. Ada dua garis pertahanan antioksidan di dalam sel. Garis pertahanan pertama, terdapat di membran sel larut lemak yang mengandung vitamin A (betakaroten) E, dan koensim Q (Clarkson dan Thompson, 2000). Tubuh dalam keadaan normal akan memproduksi radikal bebas yang berhubungan dengan metabolisme sel fisiologis. Contohnya, sintesis beberapa hormon akan menghasilkan radikal bebas, juga lekosit polimorfonukleus akan membentuk radikal bebas untuk membunuh bakteri yang membantu tubuh memerangi infeksi (Iorio, 2007).

2.4. Aktivitas Antimikroba

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

Metode *disk diffusion* (tes Kirby & Baur) menggunakan piringan yang berisi agen antimikroba, kemudian diletakkan pada media agar yang sebelumnya telah ditanami

mikroorganismenya sehingga agen antimikroba dapat berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganismenya oleh agen antimikroba pada permukaan media agar. Dari hasil yang ditunjukkan, dilakukan pengukuran menggunakan jangka sorong. Semakin besar zona hambat yang dihasilkan, semakin besar pula aktivitas suatu zat antimikroba. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri oleh Suryawiria (1978) dalam Pradana (2013) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri

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

Sumber : Pradana ,2013.

2.5. Bakteri Patogen pada Bahan Pangan

Daging adalah semua bagian tubuh ternak yang secara umum dapat dimakan termasuk jaringan-jaringan dan organ tubuh bagian dalam seperti hati, ginjal, dan lain-lain. Menurut Soeparno (1994) daging adalah semua jaringan hewan dan semua produk hasil pengolahan jaringan tersebut yang dapat dimakan dan tidak menimbulkan gangguan kesehatan bagi konsumen. Berdasarkan definisi tersebut maka organ-organ dalam (jeroan) dan produk olahan seperti corned termasuk dalam kategori daging. Dalam kehidupan sehari-hari yang disebut daging adalah jaringan otot, meskipun komponen utama penyusun daging adalah otot, tetapi otot tidak sama dengan daging. Daging ayam merupakan salah satu sumber protein hewani yang berkualitas tinggi yang banyak dikonsumsi karena mudah dicerna, dengan harga yang relatif terjangkau. Dari aspek mikrobiologi suatu produk pangan aman dikonsumsi jika tidak mengandung mikroba patogen, yaitu mikroba yang dapat menyebabkan

gangguan kesehatan pada manusia yang mengkonsumsi (Saptarini, 2009). Salah satu mikroorganisme patogen yang penting dari aspek kesehatan masyarakat dan keamanan pangan adalah bakteri *Salmonella sp.* dan *E.coli* (Purnawijayanti, 2001).

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 *Escherichia 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*.

Kualitas daging ayam dipengaruhi oleh beberapa faktor, baik pada waktu hewan masih hidup maupun setelah dipotong. Pada waktu hewan hidup faktor penentu kualitas daging adalah cara pemeliharaan, meliputi pemberian pakan, tata laksana pemeliharaan, dan perawatan kesehatan, sedangkan setelah hewan dipotong kualitas daging dipengaruhi oleh perdarahan pada waktu hewan dipotong dan kontaminasi mikroba (Murtidjo, 2003). Daging ayam harus memenuhi kualitas mikrobiologis yang telah ditetapkan oleh SNI 7388 (2009) dengan ambang batas cemaran total mikroba maksimal 106 CFU/g. Ditinjau dari segi mutu, daging ayam memiliki nilai gizi yang lebih tinggi dibandingkan hewan ternak lainnya. Daging ayam mempunyai kandungan protein yang lebih tinggi, komposisi protein ini sangat baik karena mengandung semua asam amino esensial yang mudah dicerna dan diserap oleh tubuh,

akan tetapi daging ayam juga mempunyai kadar lemak yang cukup tinggi dibandingkan hewan ternak lainnya (Surisdiarto dan Koentjoko, 1990). Tabel syarat mutu mikrobiologis daging ayam berdasarkan SNI 7388:2009 dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Syarat mutu mikrobiologis daging ayam

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

Sumber : SNI 7388:2009

Menurut Jay *et al.* (2005), banyaknya kejadian kontaminasi bakteri pada daging ayam terjadi pada saat pemotongan, pengepakan, pendistribusian dan pengolahan produk asal hewan. Kontaminasi juga dapat terjadi akibat sanitasi yang kurang baik di peternakan, tempat pemotongan maupun tempat pengolahan daging ayam. Pemakaian air dari sanitasi yang kurang baik dalam proses pemotongan, pengolahan, dan penyimpanan dapat meningkatkan jumlah cemaran mikroba di dalam daging ayam. Menurut Rahardjo dan Santoso (2005), mikroorganisme yang mengkontaminasi bahan pangan dapat menyebabkan kerusakan bahan pangan tersebut. Kerusakan daging ayam secara biologis banyak berakibat oleh adanya pertumbuhan mikroorganisme yang berasal dari ternak. Pencemaran dari lingkungan baik pada saat proses pemotongan, penyimpanan, maupun pemasaran. Pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme di pengaruhi oleh faktor suhu penyimpanan, waktu, tersedianya oksigen, dan kadar air pada daging (haryanto, 2009).

2.6. Nilai Tambah

Suatau produk disebut memiliki nilai tambah apabila pengolahan lebih lanjut menghasilkan nilai lebih tinggi daripada sebelum mengalami pengolahan. Tujuan dari analisis nilai tambah untuk melihat tingkat kenaikan nilai tambah yang terdapat pada satu kilogram produk pertanian yang diolah menjadi produk olahan.

Keuntungan yang diperoleh pengrajin dari nilai tambah adalah keuntungan dari satu kilogram bahan baku yang diolah setelah dikurangi total biaya yang dikeluarkan pengusaha dalam satu kali proses produksi (Arianti dan Waluyati, 2019).

Definisi dari nilai tambah adalah pertambahan nilai suatu komoditas karena adanya input fungsional yang diberlakukan pada komoditi yang bersangkutan. Input fungsional tersebut berupa proses perubahan bentuk (*form utility*), pemindahan tempat (*place utility*), maupun penyimpanan (*time utility*) Hayami *et al.* (1987).

Faktor-faktor yang mempengaruhi nilai tambah dapat dikelompokkan menjadidua yaitu faktor teknis dan faktor pasar. Faktor teknis adalah kapasitas produk, jumlah bahan baku yang digunakan dan tenaga kerja. Faktor pasar adalah harga output, upah tenaga kerja, harga bahan baku dan nilai input lain selain bahan baku dan tenaga kerja (Santosa dan Kusumawati, 2014). Perhitungan nilai tambah yang sederhana yaitu menggunakan metode yang digunakan Hayami *et al.* (1987) yang tersaji pada Tabel 3.

Tabel 3. Perhitungan nilai tambah menggunakan metode Hayami *et al.* (1987)

No.	Variabel	
Output, Input, dan Harga		
1	Output (Kg/hari)	A
2	Bahan baku (Kg/hari)	B
3	Tenaga Kerja	C
4	Faktor konversi	$D=A/B$
5	Koefisien tenaga kerja	$E=C/B$
6	Harga output (Rp/Kg)	F
7	Upah tenaga kerja (Rp/HOK)	G
Pendapatan dan Nilai Tambah		
8	Harga bahan baku (Rp/Kg)	H
9	Sumbangan Input lain (Rp/Kg bahan baku)	I
10	Nilai output	$J=D \times F$
11	a. Nilai tambah	$K=J-H-I$
	b. Rasio nilai tambah (%)	$L=K/J$
12	a. Imbalan tenaga kerja	$M=E \times G$
	b. Bagian tenaga kerja (%)	$N=M/K$
13	a. Keuntungan	$O=K-M$
	b. Tingkat keuntungan	$P=O/K$
Balas Jasa untuk Faktor Produksi		
14	Margin (%)	$Q=J-H$
	a. Keuntungan (%)	$R=O/Q(\%)$
	b. Tenaga kerja (%)	$S=M/Q(\%)$
	c. Input lain (%)	$T=I/Q(\%)$

III. BAHAN DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini sudah selesai dilaksanakan di Laboratorium Terpadu, Fakultas Matematika dan Ilmu Pendidikan Universitas Lampung dan Laboratorium Bakteri Balai Veteriner Lampung, pada bulan April 2022 s.d. Agustus 2022.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bunga waru, alkohol 70%, aquades, aluminium foil, kapas, H₂SO₄, BaCl₂, etanol 96%, Na₂CO₃, reagen folin-ciocalteu, NaCl fisiologis, kultur *Escherichia coli*, kultur *Salmonella sp.*, kultur *Staphylococcus aureus*, *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) nonfaktorial dengan tiga kali ulangan. Dengan 5 perlakuan lama ekstraksi ultrasonic 20 menit (H1), 30 menit (H2), 40 menit (H3), 50 menit (H4), dan 60 menit (H5). Rancangan percobaan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 4.

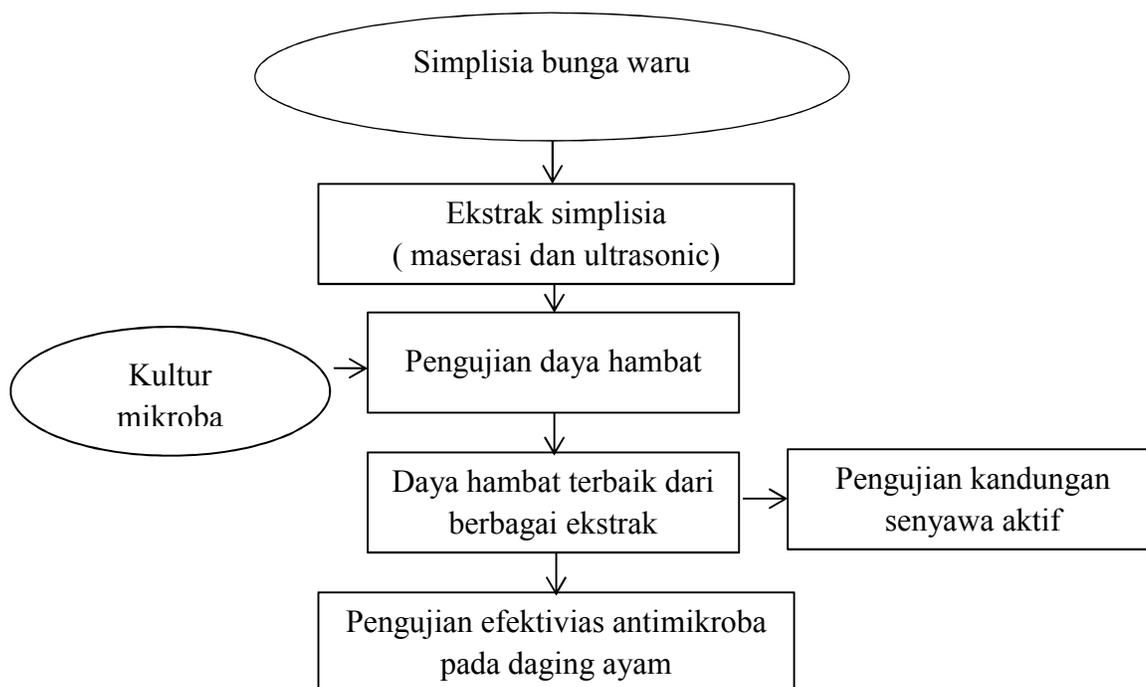
Table 4. Rancangan percobaan uji daya hambat bunga waru

Perlakuan	Ulangan				total	Rata-rata
	Ekstrak (H)	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
<i>Salmonella sp.</i> (K1)	K1H1					
	K1H2					
	K1H3					
	K1H4					
	K1H5					
<i>Eschericia coli</i> (K2)	K2H1					
	K2H2					
	K2H3					
	K2H4					
	K2H5					
<i>Staphylococcus</i> (K3)	K3H1					
	K3H2					
	K3H3					
	K3H4					
	K3H5					

3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Preparasi Kultur Bakteri dan Sampel

Sampel daging ayam fillet diperoleh dari Pasar Untung, Bandar Lampung, diambil secara acak dan diletakkan pada *cooler box*. Kultur bakteri diperoleh dari koleksi Balai Besar Penelitian Veteriner Bandar Lampung. Sementara sampel bunga waru diperoleh dari Desa Negara Ratu, Kecamatan Batanghari Nuban, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung. Sampel kembang sepatu dipilih dengan kriteria sudah siap panen, sehat, serta tidak berjamur. Diagram alir pelaksanaan penelitian dapat dilihat pada gambar 2.

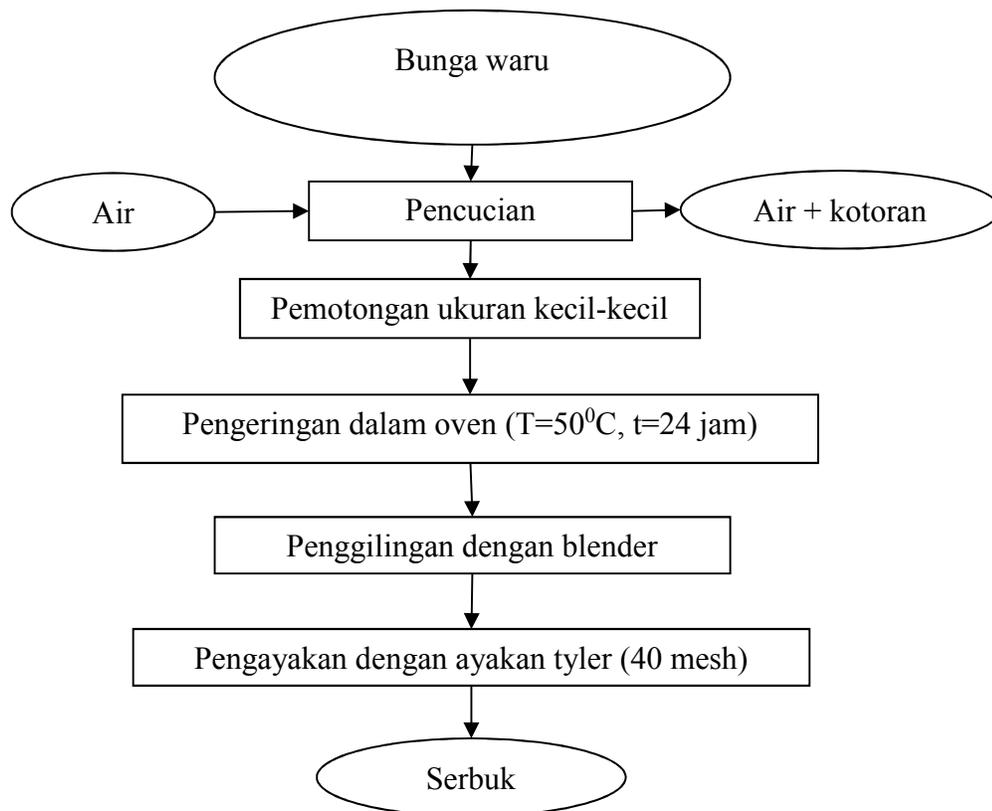


Gambar 2. Diagram alir pelaksanaan penelitian

3.4.2 Pembuatan Serbuk bunga waru

Pembuatan serbuk kembang sepatu dan bunga waru 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, simplisia kemudian digiling menggunakan blender hingga didapatkan serbuk. Serbuk tersebut kemudian diayak menggunakan ayakan 40

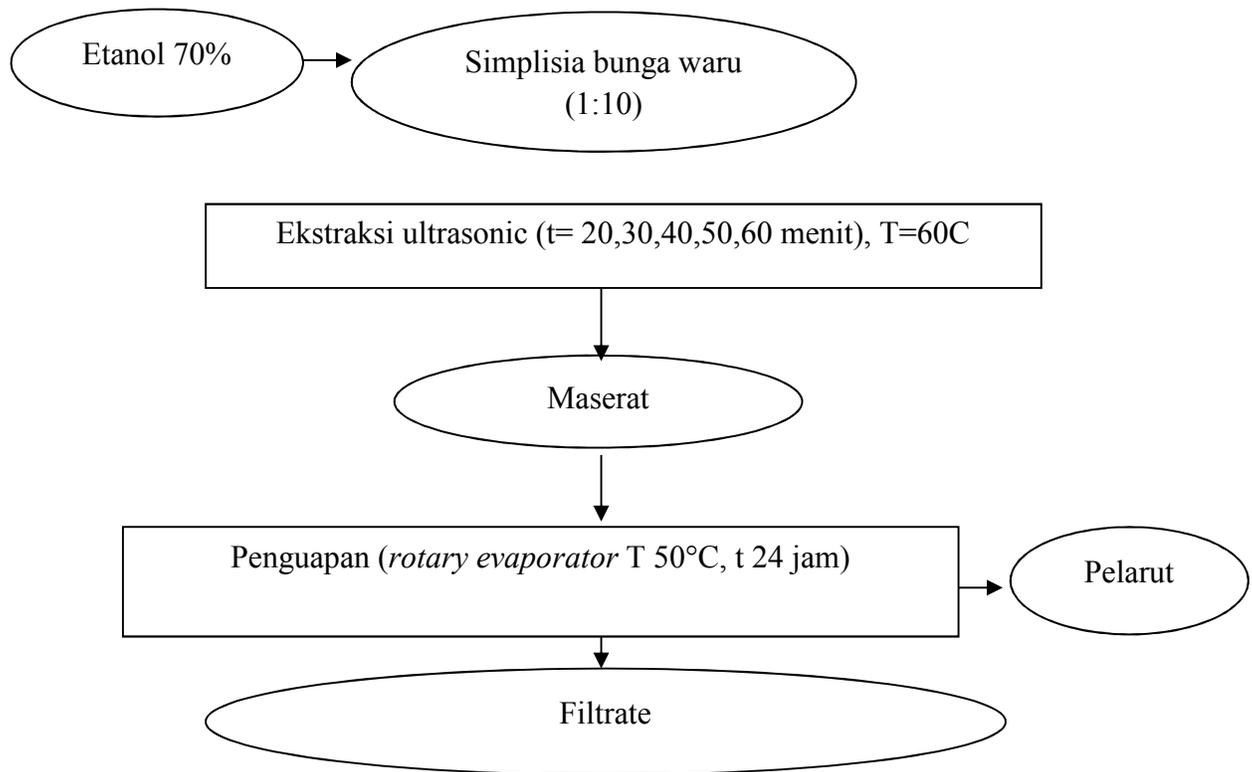
mesh untuk mendapatkan serbuk yang seragam. Serbuk dengan ukuran 40 mesh dapat menghasilkan rendemen zat aktif yang tinggi setelah proses ekstraksi (Sembiring *et al.*, 2006). Prosedur pembuatan serbuk bunga waru dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Diagram alir pembuatan serbuk bunga waru, (dimodifikasi Ningsih *dkk.* 2013)

3.4.3 Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi bunga waru dilakukan dengan metode ultrasonic, yaitu simplisia bunga waru dilarutkan dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:10. Kemudian diekstraksi dengan gelombang ultrasonic pada suhu ($T=60^{\circ}\text{C}$), dengan perlakuan waktu ($t=20,30,40,50$, dan 60 menit). Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C selama 24 jam. Diagram ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram alir ekstraksi bunga waru,(dimodifikasi Ningsih *dkk*, 2013)

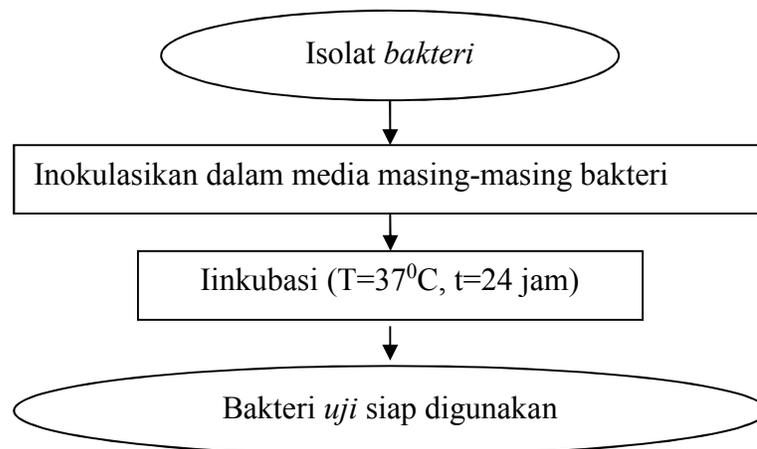
3.5. Pengamatan

Pengamatan penurunan total mikroba dilakukan terhadap total *bakteri* daging ayam (Lay, 1994 dalam Marliena, 2016), daya hambat antimikroba (Suwandi, 2012), dan penurunan total *bakteri* 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 *bakteri* daging ayam (Juniawati *et al.*, 2017).

3.5.1 Uji Penurunan Total Mikroba

3.5.2.1 Peremajaan Bakteri Uji

Bakteri yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari koleksi laboratorium bakteri balai veteriner Lampung yang kemudian diremajakan. Media yang digunakan untuk isolasi adalah MCA (*Mac Conkey Agar*) untuk *E. Coli*, media EMB (*Eosin Methylene Blue Agar*) untuk *Salmonella sp*, dan media BPA (*Baird Parker Agar*) untuk *Staphylococcus Aureus*. Kemudian diinkubasi di incubator selama 24 jam pada suhu 37°C. Proses peremajaan bakteri uji dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Peremajaan bakteri uji
Sumber : Dimodifikasi dari Suwandi (2012).

3.5.2.2 Pembuatan Standar Turbiditas 0,5 Mc Farland

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 x 10⁸ CFU/ml).

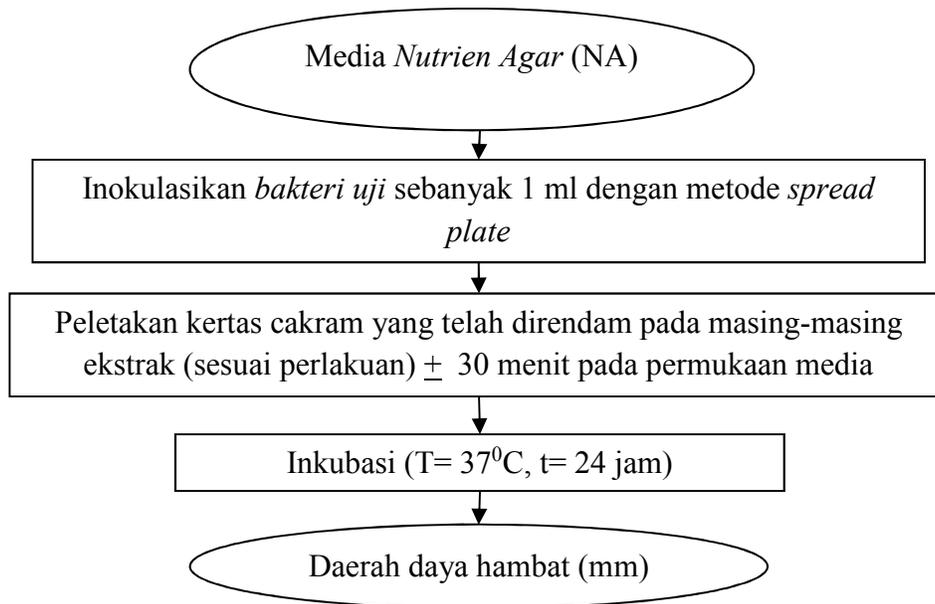
3.5.2.3 Pembuatan Suspensi Bakteri

Koloni bakteri uji 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 daya hambat antimikroba.

3.5.2.4 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. Setelah itu, suspensi *bakteri* 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 37°C dan diukur daerah hambat yang terbentuk menggunakan jangka sorong. Diagram alir uji daya hambat antimikroba dapat dilihat pada Gambar 6.

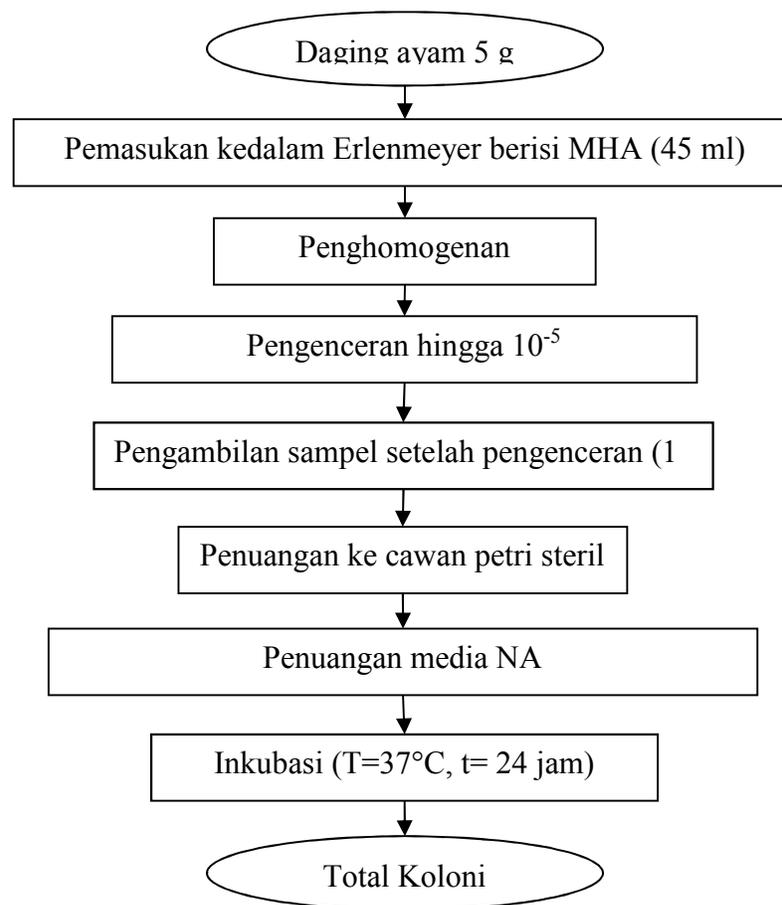


Gambar 6. Uji daya hambat antimikroba, (dimodifikasi dari Suwandi, 2012)

3.5.3 Uji Aplikasi Perlakuan Dalam Menurunkan Total Mikroba Daging Ayam

3.5.3.1. Uji Total Mikroba Pada Daging Ayam

Pengujian total bakteri daging ayam dilakukan melalui beberapa tahapan. Pertama dilakukan pengenceran dengan mencelupkan sampel daging ayam dalam MHA dengan perbandingan 1:9 (b/v). Dalam penelitian ini digunakan daging ayam sebanyak 5 gram dan dimasukkan dalam erlenmeyer yang berisi 45 ml MHA 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 NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi selesai, dilakukan perhitungan *total bakteri* yang tumbuh pada media. Diagram alir pengujian total *bakteri* dapat dilihat pada Gambar 7.

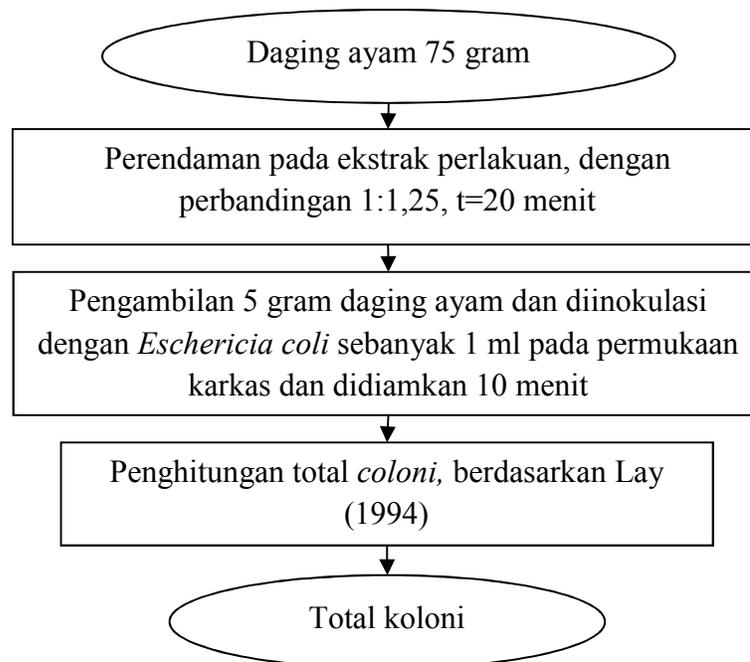


Gambar 7. Uji total *bakteri* pada daging ayam (Lay, 1994 dalam Marliena, 2016)

3.5.3.2. Uji Penurunan Total Mikroba pada Daging Ayam

Daging ayam (fillet) sebanyak 75 gram dibersihkan terlebih dahulu dan direndam pada ekstrak perlakuan terbaik pada uji penurunan total *bakteri*. 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 *bakteri* 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 *bakteri* digunakan sebagai kontrol. Kemudian dihitung jumlah bakteri *bakteri* berdasarkan Lay, (1994). Aplikasi antimikroba alami

ekstrak perlakuan terbaik disebut efektif apabila dapat menurunkan total *bakteri* lebih dari 50% (Mawaddah, 2008). Uji aplikasi aktivitas senyawa antimikroba dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Uji aplikasi aktivitas antimikroba, Dimodifikasi dari Juniawati *dkk* (2017).

3.6. Uji Kadar Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan penangkap radikal pada ekstrak bunga waru dilakukan dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometri berdasarkan Leu et al. (2006). Ekstrak bung waru 1g diencerkan kembali pada pelarut ethanol 100ml). Pembuatan larutan seri (200ppm, 400 ppm, 600ppm, 800ppm, 1000ppm). Pipet 0,5ml, 1ml, 1,5ml, 2ml, dan 2,5ml larutan stok 1000ppm kedalam tabung reaksi, ditambah larutan etanol hingga total volume 2,5ml kemudian divorteks dan didiamkan selama 30 menit pada ruangan gelap. Penyerapan sinar oleh larutan diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometri. Larutan DPPH tanpa sampel dan tanpa standar digunakan sebagai kontrol. Asam askorbat digunakan untuk membuat kurva standar. Aktivitas penangkapan radikal DPPH dinyatakan sebagai % penghambatan

terhadap radikal DPPH. Persentase penghambatan dihitung dengan persamaan berikut.

$$\text{Penghambatan (\%)} = (A-B) / A \times 100\%$$

Keterangan: A = absorbans tanpa penambahan sampel/standar (DPPH dan ethanol)

B = absorbans dengan penambahan sampel/ standar (DPPH, ethanol dan sampel/standar)

Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC50. Nilai IC50 merupakan konsentrasi suatu larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat DPPH sebesar 50% (Molyneux, 2004). IC50 dihitung dari kurva regresi linear antara ekstrak bunga waru dan pembanding vitamin C pada berbagai konsentrasi uji versus aktivitas antioksidan (%).

Berdasarkan Tabel 6 diketahui bahwa ekstrak bunga waru dengan metode gelombang ultrasonik memiliki daya hambat pada masing-masing bakteri uji. Zona hambat yang diperoleh dari masing-masing bakteri uji memiliki kategori zona hambat yang berbeda, berdasarkan Pradana (2013), zona hambat terhadap *E coli* dengan perlakuan ekstrak gelombang ultrasonik selama 20 menit (H1) dengan diameter zona hambat 5,94mm termasuk dalam kategori sedang, perlakuan 30 menit (H2) dengan diameter zona hambat 8,83mm termasuk kategori sedang, perlakuan 40menit (H3) juga termasuk kategori sedang. Sedangkan pada perlakuan ekstrak 50 menit (H5) dengan diameter zona hambat 11,71 termasuk dalam kategori memiliki daya hambat yang kuat terhadap aktivitas antimikroba. Sementara perlakuan dengan waktu 60 menit (H5) dengan diameter zona hambat 6,31 memiliki aktivitas zona kategori hambat sedang terhadap pertumbuhan *E coli*.

Zona hambat yang terbentuk pada bakteri uji *salmonella sp* dengan perlakuan ekstrak gelombang ultrasonik selama 20 menit dengan diameter zona hambat 6,74mm termasuk dalam kategori sedang, perlakuan 30 menit dengan diameter zona hambat 7,20mm termasuk kategori sedang. Pada perlakuan 40menit dengan diameter zona hambat 12,77mm, dan perlakuan 50menit dengan diameter zona hambat 15,42mm termasuk dalam kategori daya hambat yang kuat terhadap aktivitas antimikroba pada *salmonella sp*. Sedangkan pada perlakuan ekstrak 60 menit dengan diameter zona hambat 8,37mm memiliki kategori antimikroba sedang .

Sedangkan pada *Staphylococcus aureus* ekstrak bunga waru memiliki daya hambat yang lebih tinggi dibanding dengan daya hambat pada *e coli* dan *salmonella sp*.. Pada perlakuan H2, H3, dan H4 ekstrak bunga waru memiliki zona hambat dengan kategori sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan *staphylococcus aureus*, dengan masing-masing diameter zona hambat yang terbentuk yaitu 20,47mm (H2), 21,84mm (H3), dan 24,26mm (H4). Kategori sedang pada perlakuan H1 dengan diameter yang terbentuk 9,40mm dan kategori kuat dengan diameter yang terbentuk 19,88mm pada perlakuan H5. Zona hambat yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 9.

diguakan antimikroba komersil oxytetracycline dan ciprofloxacin menghasilkan zona hambat dengan diameter 23,59mm dan 24,63mm.

Perlakuan terbaik diperoleh pada perlakuan 50 menit, hal ini sejalan dengan hasil penelitian Audah *et al.*, 2018 yang melakukan penelitian dengan membandingkan metode maserasi dan ultrasonic (15, 30, 45, dan 60 menit) pada ekstraksi daun mangrove terhadap senyawa antioksidan. Hasil penelitian Audah *et al.*, 2018 menunjukkan bahwa metode ultrasonic menghasilkan rendemen dan kadar antioksidan lebih tinggi dibanding ekstraksi daun mangrove dengan metode maserasi. Sedangkan perlakuan terbaik ultrasonic pada Audah *et al.*, 2018 diperoleh pada waktu 45 menit dibanding ekstraksi ultrasonic lebih lama yaitu pada waktu 60 menit.

Bakteri Gram negatif seperti *Salmonella sp.* dan *E.coli* umumnya lebih tahan terhadap senyawa antimikroba dibandingkan bakteri Gram positif (Fadhila, 2010). Hal tersebut berkaitan dengan struktur dinding sel bakteri Gram negatif yang berlapis-lapis, tersusun dari beberapa lapisan yaitu lipopolisakarida, peptidoglikan, dan lipoprotein (Fadhila, 2010). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram negatif yang lebih sensitif terhadap aktivitas senyawa antimikroba. Struktur dinding sel bakteri Gram positif terdiri atas peptidoglikan yang tebal yang memberikan kekakuan untuk mempertahankan keutuhan sel. Ketika ada kerusakan pada dinding sel atau ada hambatan dalam pembentukannya dapat terjadi lisis pada sel bakteri sehingga bakteri segera kehilangan kemampuan membentuk koloni dan diikuti dengan kematian sel bakteri (Morin dan Goman, 1995). Pengaruh ekstrak bunga waru diduga menghambat perakitan dinding sel dan mengganggu penggabungan rantai glikan sehingga tidak terhubung atau terikat sempurna pada peptidoglikan dinding sel sehingga menyebabkan struktur yang lemah dan menyebabkan kematian bakteri.

Aktivitas antimikroba adalah kemampuan suatu senyawa untuk mempengaruhi

Tabel 6. Uji lanjut Duncan pada taraf 5%

Perlakuan		Diameter zona hambat ± sd	Sig 5 %
Mikroba (K)	Ekstrak (H)		
<i>Eschericia coli</i> (K1)	H1	5,94 ± 0,73	C
	H2	8,83 ± 0,64	B
	H3	9,34 ± 0,1,17	B
	H4	11,71 ± 0,61	A
	H5	6,31 ± 0,69	C
<i>Salmonella sp</i> (K2)	H1	6,74 ± 0,37	B
	H2	7,20 ± 0,12	B
	H3	12,77 ± 1,78	A
	H4	15,42 ± 0,61	A
	H5	8,37 ± 0,69	B
<i>Staphylococcus aureus</i> (K3)	H1	9,40 ± 1,05	D
	H2	20,47 ± 0,19	C
	H3	21,84 ± 0,12	B
	H4	24,26 ± 0,46	A
	H5	19,88 ± 0,28	C

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf α 5%

H₁ = Ekstrak bunga waru dengan lama ekstraksi ultrasonic 20 menit

H₂ = Ekstrak bunga waru dengan lama ekstraksi ultrasonic 30 menit

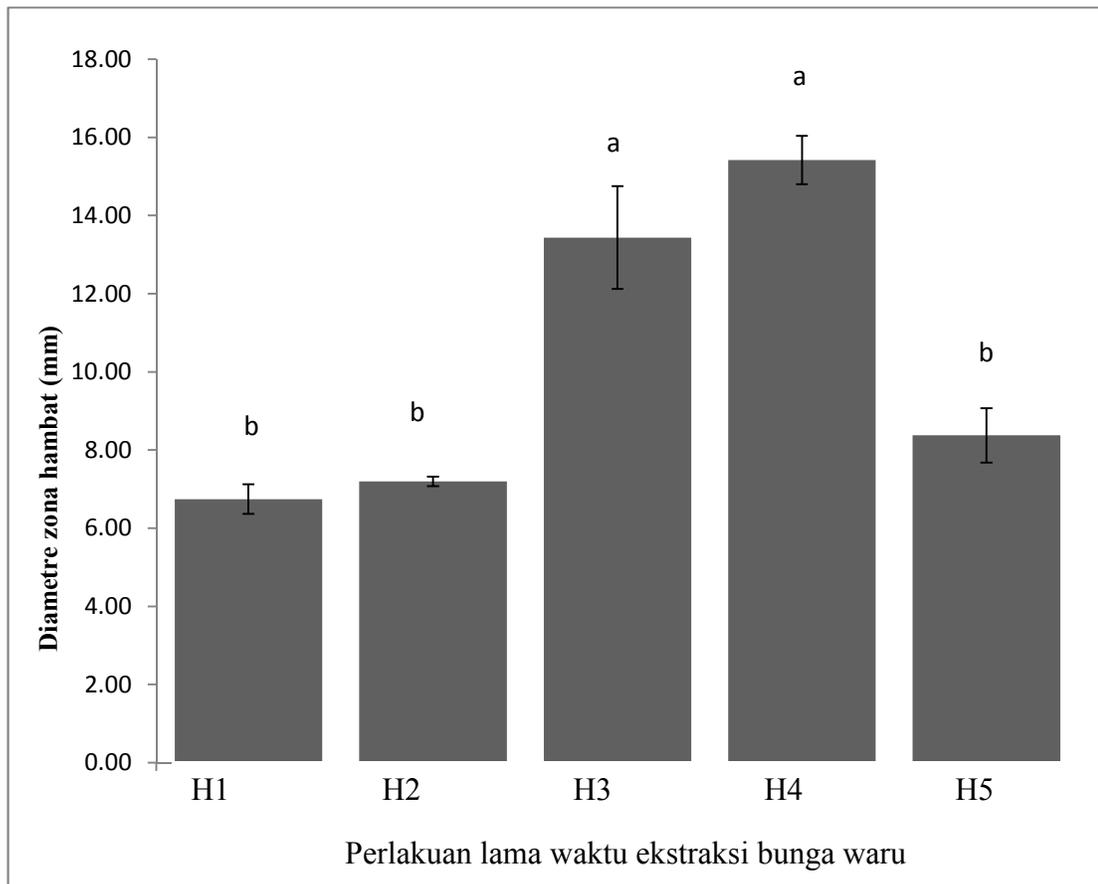
H₃ = Ekstrak bunga waru dengan lama ekstraksi ultrasonic 40 menit

H₄ = Ekstrak bunga waru dengan lama ekstraksi ultrasonic 50 menit

H₅ = Ekstrak bunga waru dengan lama ekstraksi ultrasonic 60 menit

Pada Tabel 6 ekstrak bunga waru pada perlakuan ekstraksi 50 menit (H4) memiliki diameter daya hambat paling besar terhadap pertumbuhan *E.coli* dan *Salmonella sp.*, dan *Staphylococcus aureus*. Menurut Pradana (2013) dalam Saraswati (2015), berdasarkan diameter daya hambat yang terbentuk aktivitas antibakteri digolongkan menjadi empat golongan yaitu lemah (diameter daya hambat < 5 mm), sedang (diameter daya hambat antara 5-10 mm), kuat (diameter daya hambat antara 10-20 mm), dan sangat kuat (diameter daya hambat > 20 mm).

Pada uji lanjut Duncan taraf 5% penambahan ekstrak bunga waru membentuk zona hambat pada bakteri *Eschericia coli*, *Salmonella sp.*, dan *Staphylococcus aureus*



Gambar 11. Grafik Uji lanjut Duncan aktivitas senyawa antimikroba ekstrak bunga waru terhadap penghambatan pertumbuhan *Salmonella sp.*

Keterangan : H₁ = Ektrak bunga waru dengan lama ekstraksi ultrasonic 20 menit
 H₂ = Ektrak bunga waru dengan lama ekstraksi ultrasonic 30 menit
 H₃ = Ektrak bunga waru dengan lama ekstraksi ultrasonic 40 menit
 H₄ = Ektrak bunga waru dengan lama ekstraksi ultrasonic 50 menit
 H₅ = Ektrak bunga waru dengan lama ekstraksi ultrasonic 60 menit

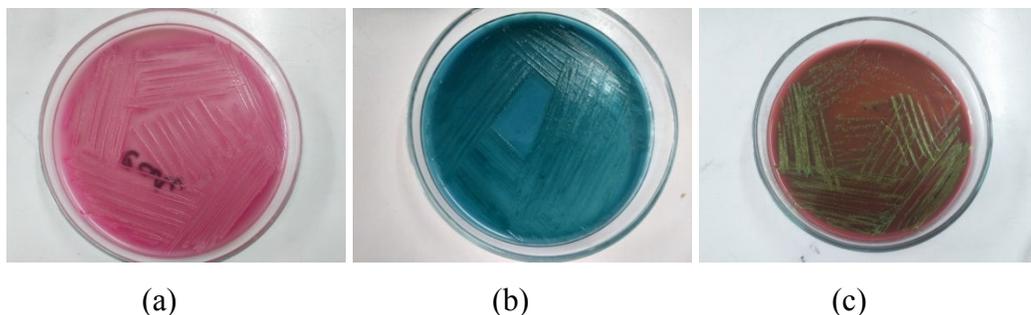
Hasil uji lanjut Duncan pada taraf 5% menunjukkan bahwa waktu ekstraksi bunga waru berbeda nyata dari perlakuan lainnya pada bakteri *salmonella sp.*. Perlakuan lama ekstraksi 20 menit tidak berbeda nyata dengan perlakuan 30 dan 60 menit pada bakteri uji, tetapi berbeda nyata dengan dengan perlakuan 40 dan 50 menit. Sedangkan perlakuan 40 dan 50 menit berbeda nyata dengan semua perlakuan lainnya.

Menurut Prescott (2005), perbedaan besar diameter daya hambat yang terbentuk disebabkan oleh tingkat sensitifitas dari organisme uji, perbedaan kecepatan difusi dari senyawa antibakteri dan konsentrasi senyawa antibakteri. Hal ini menyebabkan adanya perbedaan besar diameter daya hambat yang terbentuk terhadap kedua bakteri. Bakteri *Staphylococcus aureus* lebih sensitif terhadap senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak bunga waru dibanding bakteri *E coli* dan *Salmonella sp*. Namun demikian, ekstrak bunga waru memberikan efek baik dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *Salmonella sp*. dan *Staphylococcus aureus*.

4.2. Bakteri Uji

4.2.1. Hasil peremajaan bakteri uji

Bakteri yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari koleksi laboratorium bakteri balai veteriner Lampung yang kemudian diremajakan. Media yang digunakan untuk isolasi adalah MCA (*Mac Conkey Agar*) untuk *E. Coli*, media EMB (*Eosin Methylene Blue Agar*) untuk *Salmonella sp*, media BPA (*Baird Parker Agar*) untuk *Staphylococcus Aureus*. Kemudian diinkubasi di incubator selama 24 jam pada suhu 37⁰C, yaitu waktu dan suhu yang optimum untuk pertumbuhan bakteri pathogen tersebut. Keesokannya bakteri dapat dipanen untuk digunakan penelitian. Apabila digunakan kembali dapat diremajakan kembali. Berikut dapat dilihat proses isolasi bakteri pada Gambar 13.



Gambar 13. (a) kultur *E. coli*, (b) kultur *salmonella sp*, dan (c) kultur *staphylococcus aureus*.

4.3. Hasil Aplikasi Uji Penurunan Mikroba Pada Daging Ayam

Berdasarkan hasil uji Total plate count pada daging ayam yang diberikan perlakuan perendaman dengan ekstrak terbaik bunga waru dan dibandingkan dengan hasil TPC daging ayam yang tanpa diberi perlakuan ekstrak bunga waru, maka diperoleh data sebagai berikut yang ditampilkan pada Tabel 7 dan Gambar 15.

Tabel 7. Hasil uji penurunan mikroba pada daging ayam

Daging ayam tanpa perlakuan (CFU/g)	Daging ayam dengan ekstrak (CFU/g)	Total penurunan (%)
$1,42 \times 10^6$	0×10^6	100%

Hasil uji penurunan total *bakteri* pada daging ayam menggunakan ekstrak bunga waru terbaik (50 menit) menunjukkan bahwa rata-rata total *bakteri* sebelum penambahan ekstrak bunga waru yaitu 142×10^6 CFU/g, setelah penambahan ekstrak bunga waru menjadi 0×10^6 CFU/g. Ekstrak bunga waru dapat menurunkan cemaran *bakteri patogen*. Penurunan cemaran bakteri patogen pada daging ayam disebabkan adanya kandungan senyawa antimikroba pada ekstrak bunga waru yang menghalangi proses sintesis peptidoglikan sehingga ikatan dinding sel bakteri menjadi lemah sehingga menyebabkan lisis. Akibat sel bakteri mengalami lisis, dinding sel tidak berfungsi mempertahankan bentuk dan melindungi bakteri yang memiliki tekanan osmotik yang lebih tinggi (Jawetz *et al.*, 2001).

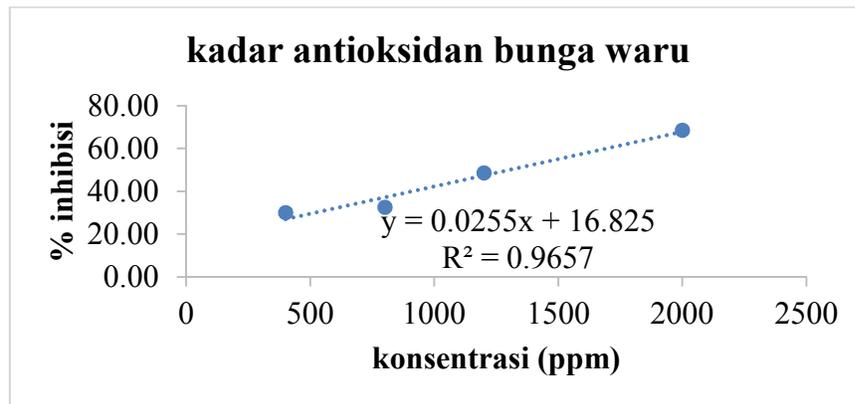


(a)

(b)

Gambar 15. (a) total koloni daging ayam tanpa perlakuan, (b) total koloni daging ayam dengan ekstrak bunga waru.

Hasil pengukuran spektro IR pada ekstrak terbaik bunga waru (perlakuan 50 menit) diperoleh hasil gelombang 3265, 2117, 1640, dan 1018. Gelombang-gelombang tersebut merupakan gugus fungsi dari fenol, c-o, c=c (aromatic), dan c-o-c (eter).



Gambar 17. Kurva regresi linear kadar antioksidan ekstrak bunga waru

Hasil uji kadar antioksidan ekstrak terbaik bunga waru (50 menit), kurva regresi linear $Y = 0,0255x + 16,825$ nilai $R^2 = 0,9657$ dengan nilai IC₅₀ sebesar 1300ppm. Menurut Molyneux (2004), suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC₅₀ kurang dari 50 µg/mL, kuat apabila nilai IC₅₀ antara 50-100 µg/mL, sedang apabila nilai IC₅₀ berkisar antara 100-150 µg/mL, dan lemah apabila nilai IC₅₀ berkisar antara 150-200 µg/mL.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak bunga waru dengan perlakuan terbaik (50 menit) yang memiliki aktivitas antioksidan lemah karena nilai IC₅₀ diatas 200ppm. Menurut Hema dkk. (2011) beberapa senyawa yang umumnya terdapat pada tumbuhan dan bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan tumbuhan antara lain adalah asam heksadekanoat, trans-skualen, senyawa phytol, dan senyawa tokoferol (vitamin E). Charalampos dkk. (2008) menambahkan senyawa kimia lainnya yang tergolong antioksidan dan berasal dari tumbuhan adalah golongan flavonoid dan polifenol.

termasuk tenaga kerja (Widiastuti *et al.*, 2020). Perhitungan nilai tambah pada produk mie kering tepung labu kuning menggunakan metode yang digunakan oleh Sinaga *et al.* (2019), dengan kapasitas produksi 100Kg/hari. Nilai tambah ekstrak bunga waru dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Analisis nilai tambah ekstrak bunga waru

No.	Variabel		Notasi
Output, Input, dan Harga			
1	Output (ml/hari)	A	20000
2	Bahan baku (kg/hari)	B	100
3	Tenaga Kerja	C	3
4	Faktor konversi	$D=A/B$	200
5	Koefisien tenaga kerja	$E=C/B$	0,03
6	Harga output (Rp/100ml)	F	100000
7	Upah tenaga kerja (Rp/HOK)	G	100000
Pendapatan dan Nilai Tambah			
8	Harga bahan baku (Rp/Kg)	H	11000000
9	Sumbangan Input lain (Rp/Kg bahan baku)	I	350000
10	Nilai output	$J=D \times F$	20000000
11	a. Nilai tambah	$K=J-H-I$	8650000
	b. Rasio nilai tambah (%)	$L=K/J$	43,25%
12	a. Imbalan tenaga kerja	$M=E \times G$	3000
	b. Bagian tenaga kerja (%)	$N=M/K$	0,03%
13	a. Keuntungan	$O=K-M$	8647000
	b. Tingkat keuntungan	$P=O/K$	99,97%
Balas Jasa untuk Faktor Produksi			
14	Margin	$Q=J-H$	9000000
	Keuntungan	$R=O/Q(\%)$	96,08%
	Tenaga kerja	$S=M/Q(\%)$	0,03%
	Input lain	$T=I/Q(\%)$	3,89%

Sumber: data pribadi

Agroindustri sederhana pembuatan ekstrak bunga waru ini memerlukan bahan baku bunga waru sebanyak 100kg dan pelarut etanol sebanyak 170.000ml. bunga waru basah akan menghasilkan rendemen simplisia sebesar 17,1%, sehingga dari 100kg bahan baku akan menghasilkan 17.000g sehingga pelarut yang dibutuhkan sebanyak

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

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

1. Pengaruh waktu ekstraksi bunga waru menggunakan metode ultrasonic dengan perlakuan waktu 20 menit, 30 menit, 40 menit, 50 menit, dan 60 menit, diperoleh zona hambat pada bakteri uji *Escherichia coil* masing-masing sebesar 5,94mm, 8,83mm, 9,34mm, 71mm, dan 6,31mm. Zona hambat pada *Salmonella sp* masing-masing sebesar 6,74mm, 7,20mm, 12,77mm, 15,42mm, dan 8,37mm. Zona hambat pada *Staphylococcus aureus* sebesar 9,40mm, 20,47mm, 21,84mm, 24,26mm, dan 19,88mm. Waktu terbaik dengan membentuk zona hambat paling tinggi yaitu pada perlakuan ekstraksi 50 menit.
2. Diameter zona hambat tertinggi diperoleh pada bakteri Gram positif yaitu pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* sebesar 24,26mm dibanding dengan bakteri Gram Negatif *Escherichia coli* (11,71mm) dan *Salmonella sp.* (15,42 mm). Serta hasil uji aplikasi pada daging ayam ekstrak bunga waru pada perlakuan terbaik (50 menit) dapat memberikan penurunan total cemaran bakteri pada daging ayam sebesar 100%.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut Uji GCMS dan HPLC untuk mengetahui kadar senyawa antimikroba lainnya yang terkandung dalam bunga waru yang diekstraksi dengan metode ultrasonic dalam waktu 50 menit.

Serta ekstrak bunga waru ini dapat dikembangkan menjadi produk jadi seperti sabun, sampo atau pengawet makanan alami yang sebelumnya dilakukan uji secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- 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.
- Arianti, Y. S. dan Waluyati, L. R. 2019. Analisis nilai tambah dan strategi pengembangan agroindustri gula merah di Kabupaten Madiun. *Jurnal Ekonomi Pertanian dan Agribisnis*. 3(2): 256-266.
- Audah K.A, Manuella K, Amsyir J, Hapsari A.M, Sutanto H. 2018. Ultrasound-Assisted Extraction As Efficient Method For Obtaining Optimum Antioxidant From Mangrove Leaves Of *Rhizophora Mucronata*. *Int J Pharm Bio Sci*; International Scientific Event Symposium. 47-55.
- Badan Standardisasi Nasional. 2009. SNI 7388-2009. *Batas Minimum Cemaran Mikroba Pada Daging*. Standar Nasional Indonesia. Jakarta. Bahan (P3IB)-Batan. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Ilmu Peng E Tahuan Dan Teknologi Bahan*. 37 hlm.
- Berdy, J. 2005. Bioactive Microbial Metabolites. *J Antibiotics Research Association*. 58(1):1-26.
- 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. 364 hlm.
- Charalampos, P. 2008. Natural Antioxidant Constituents from Selected Aromatic Plants and Their Antimicrobial Activity Against Selected Pathogenic Microorganism. *Food Technology And Biotechnology* 46(2):151-156.
- Chen, J.J. 2006. *A New Cytotoxic Amide from the Stem Wood of Hibiscus tiliaceus*. *Planta Med*. New York. 72(10): 935-938.
- Fardiaz, S. 1989. *Analisa Mikrobiologi Pangan*. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 308 hlm.
- Fardiaz, S. 1992. *Analisis 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.
- Fenglin, 2003. Free Radical Scavenging Activities of Fresh Leaf Extract Processed from Selected Chinese Medicinal Plants. *Phytotherapy*. 75(1):1-7.
- Firdaus, M.T., A. Izam, and R.P. Rosli. "Ultrasonic-assisted Extraction of Triterpenoid Saponins from Mangrove Leaves." The 13th Asia Pacific Confederation of Chemical Engineering Congress. Taipei, 2010. 1–8.
- 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. 417 hlm.
- Frazier, W. O. dan D.C. Westhoff. 1988. *Food Microbiology, 4 th Ed*. Mc Graw Hill. International Edition, New York. Vol. 4.. 1-12.
- 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.
- 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. 268 hlm.
- 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.
- Hayami Y, Kawagoe T, Morooka Y, Siregar M. 1987. *Agricultural Marketing and Processing in Upland Java. A Perspective from a Sunda Village*. Bogor: The CPGRT Centre. 75 hlm.
- Hema, R., Kumaravel, and Alagusundaram. 2011. GC-MS Study on the Bioactive Components and Anti-cancer Activities of *Solanum surattense*. *Cancer Biology* 1(1): 13-17.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid III. Cetakan ke-1*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Jakarta. 1698-1699 hlm.

- 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.
- 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. 753 hlm.
- 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. 790 hlm.
- 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.
- 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. 98-103pp.
- 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.
- Lusiana K, Soetjipto H, Hastuti Dewi kA Antibacterial activity and phytochemical content of leaf extract of waru Lengis (*Hibiscus tiliaceus* L.) as a basic ingredient for making shampoo. Satya Wacana Christian University. 631-8.
- 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.
- 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.

- 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.
- Mead GC,. *Poultry Meat Processing and Quality*. Boca Raton: CRC Pr. 232-257.
- Melliawati, R. 2009. Escherichia coli dalam Kehidupan Manusia. *J. Bio Trends*. 4(1): 10-14.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif..
Jurnal Kesehatan, 7 (2).
- Murtidjo, B.A. 2003. *Pedoman Beternak Ayam Broiler*. Kasinius. Jakarta.
- 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.
- Novak, I., P. Janeiro, M. Seruga, dan A.M. Oliveira-Brett. —Ultrasound Extracted Flavonoids from Four Varieties of Portuguese Red Grape Skins Determined by Reverse-phase High-performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection. *Analytica Chimica Acta* 630 (2008): 107–115.
- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jilid 1*. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 997 hlm.
- 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.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga. Yogyakarta. 176 hlm.
- Prescott, L. M. 2005. *Microbiology*. Mc. Grow-Hill: New York
- 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.

- Qomariyah, R. dan Kuntadi, E. B. 2018. Analisis nilai tambah dan strategi pengembangan produk mie ubi jalar ungu pada agroindustri UD. Nula Abadi. *Seminar Nasional Program Studi Agribisnis Fakultas Pertanian Universitas Jember*. Pp. 108-119.
- 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.
- Razak, A., A. Djamali, dan G. Revila. 2013. Uji Daya Hambat Air Perasan Buah Jeruk Nipis (*Cirus aurantifolia*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *S.aureus* secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2(1):1-4.
- Rusdi. 1990. *Tetumbuhan sebagai Sumber Bahan Obat*. Pusat Penelitian Universitas Andalas. Padang.
- Salim, E. 2011. *Pemanfaatan Kulit Singkong Menjadi Tepung Mocaf sebagai Alternatif Pengganti Terigu*. Lily Publisher. Yogyakarta.
- Santosa, P. B. dan Kusumawati, A. 2014. Nilai tambah usaha agroindustri labu menjadi kuaci dan pia. *Jurnal Dinamika Ekonomi dan Bisnis*. 11(2): 107-119
- Sartika, D., Susilawati, and A. Gusman. 2016. Identification of *Salmonella Sp. Contaminants*. on Chicken with Quantification Methods in Three Traditional Markets and Two Modern Markets in Bandar Lampung City. *Journal of Industrial Technology & Agricultural Products*. 21(2):89-96.
- Sartika D., Sussi A., Ria I. 2020. Inhibitory Study Of Cassava Leather Ethanol Extract As A Natural Antimicrobial In Reducing *Salmonella Sp.* And *Escherichia Coli* Contamination On Chicken Meat (*Gallus Domesticus*) . *Icasm: journal of physics*. IOP Publishing. 11pp.
- 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.
- 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.
- Setianto, MS 2009. *The Effect of Nutmeg Concentration and Cold Storage Time on the Number of Coliform Bacteria and Beef Texture*. <http://sonyaza.blogspot.com/2009/01/unjuk-konsentrasi-pala-danlama.html> . Access Date: June 15, 2022.

- Setyaningsih, I. 2004. Resistensi Bakteri dan Antibiotik Alami dari Laut. *Makalah Falsafah Sains*. IPB. Bogor.
- Soeparno. 1994. *Ilmu dan Teknologi Daging*. UGM Press. Yogyakarta. 346 hlm.
- Soeparno. 2005. *Ilmu dan Teknologi Daging*. UGM Press. Yogyakarta. 346 hlm.
- Soni, M., K. Patidar, D. Jain, dan S. Jain. —Ultrasound Assisted Extraction (UAE): A Novel Extraction Technique for Extraction of Nutraceuticals from Plants. *Journal of Pharmacy Research* 3 (3) (2010): 636–638.
- 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.
- Suci, NK 2017. Study of Inhibitory Power of Muli Banana (*Musa Acuminata*) Skin and Heart Extract as Natural Antimicrobial in Reducing *Echerichia Coli* in Chicken (*Gallus Domesticus*). Lampung University. Lampung. 69pp.
- Sudarmadji, S. Haryono, B. dan Suhardi. (2007). *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta. 160 hlm.
- 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. Tepung Suweg dan *Stabilized Rice Bran* Menggunakan Metode Respon Permukaan. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 8 (2). (Bab 2. Tinjauan pustaka).
- Ultee, A., R.A. Slump, G. Steging, and E.J. Smid. 2000. Antimicrobial Activity of Carvacrol Toward *Bacillus cereus* on Rice. *J Food Protect.* (5):620524
- Usmiati, S. 2010. Pengawetan Daging Segar dan Olahan. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Bogor. *Jurnal Teknologi Sains*. 9(3):46-51.
- Wahyudi. 2019. Kajian Daya Hambat Ekstrak Campuran Daun Waru (*Hibiscus tiliaceus L*) dan Daun Jati (*Tectona grandis*) Sebagai Antimikroba Alami dalam Menurunkan Cemaran *Escherichia coli* Pada daging Ayam (*Gallus domesticus*). (Skripsi). Universitas lampung. Lampung. 144p.
- Wax, GR, K. Lewis, AA Salyer, and H. Taber. 2008. Bacterial Resistance to Antimicrobials Second Edition. CRC Press. London.