

PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK PICUNG (*Pangium edule*) DENGAN AIR DAN ETANOL TERHADAP RECOVERY *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus sp* SERTA TOTAL MIKROBIA PADA DAGING SAPI GILING

**Datyo Prishandono¹, Lilik Eka Radiati² dan Djalal Rosyidi²
Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya
Malang**

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek penambahan dari ekstrak picung (*Pangium edule*) terhadap recovery *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan jumlah total mikrobial daging sapi giling. Metode penelitian yang digunakan yaitu menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan menggunakan lima konfigurasi penambahan ekstrak air dan etanol picung yaitu 0% (P0), 2% (P1), 4% (P2), 6% (P3), 8% (P4) dan penyimpanan yaitu 0 hari (P0), 2 hari (P1), 4 hari (P2) dan 6 hari (P3). Data yang diperoleh kemudian dianalisa menggunakan ANOVA dan dilanjutkan menggunakan Uji Jarak Berganda Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol picung memiliki aktivitas antimikroba yang lebih tinggi dibandingkan air pada recovery *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penyimpanan memberikan efek berbeda sangat nyata ($P > 0,01$) pada jumlah total mikrobial daging sapi giling dari ekstrak air picung. Perlakuan dari level penambahan ekstrak memberikan efek berbeda sangat nyata ($P > 0,01$) pada jumlah total mikrobial daging sapi giling dari ekstrak etanol picung. Jumlah total mikrobial dari daging sapi memiliki perbedaan yang sangat nyata ($P > 0,01$) oleh perbedaan penambahan konsentrasi ekstrak picung dan lama penyimpanan. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu, bahwa ekstrak etanol picung memiliki kemampuan lebih tinggi untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* jika dibandingkan dengan ekstrak air picung. Penambahan dari ekstrak picung tidak mampu menurunkan jumlah total mikrobial dari daging sapi giling.

Kata kunci: ekstrak picung, total mikrobial daging sapi giling, ekstrak air, ekstrak etanol

**EFFECT OF PICUNG EXTRACT (*Pangium edule*) WITH WATER AND ETANOL
SOLVENT ADDITION ON RECOVERY OF *Escherichia coli* AND *Staphylococcus aureus*
AND GROUND BEEF TOTAL MICROBIA**

Datyo Prishandono¹, Lilik Eka Radiati² and Djalal Rosyidi²
*Faculty of Animal Husbandry. University of Brawijaya
Malang*

ABSTRACT

*The aim of this research was to know the effect of addition the picung extract (*Pangium edule*) on recovery of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and microbial meat number. The research method was completely randomized design by using five of picung water and ethanol extract configurating 0%(P0), 2%(P1), 4%(P2), 6%(P3) and 8%(P4) and storage of 0 day (P0), 2 day (P1), 4 day(P2) and 6 day (P3). The obtain data was analyzed by using analysis of variance and continued by Duncan's Multiple Range Test. The research result showed that picung ethanol extract gave higher antimicrobial activity than water extract for recovery of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The treatment of storage gave high different effect ($P < 0,01$) on microbial ground beef number of picung water extract. The treatment of configurating extract gave high different effect ($P < 0,01$) on microbial ground beef number of picung ethanol extract. The microbial ground beef number was high significant different ($P < 0,01$) among different picung extract and during storage. The conclusion of this analysis picung extract with etanol solvent able to inhibit the relatively higher compared with the solvent water in the bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Addition of extracts picung not able to reduce the number of total microbes ground beef.*

Keywords : picung extract, ground beef total microbial, water extract, etanol extract

A. PENDAHULUAN

Daging merupakan salah satu bahan pangan yang memiliki nilai gizi tinggi. Selain sebagai sumber protein hewani, daging juga merupakan sumber lemak, vitamin B kompleks dan mineral khususnya zat besi yang sangat diperlukan dalam pertumbuhan dan perkembangan tubuh manusia. Salah satu bentuk diversifikasi olahan daging adalah daging giling dan penyimpanan daging giling pada suhu dingin. Selama proses penyimpanan dilakukan, dapat terjadi kontaminasi oleh mikroba yang berasal dari karkas, peralatan pengolahan, pekerja dan air. Beberapa peralatan yang sukar dibersihkan seperti konveyor, penggiling daging (*grinder*) dan mesin pengiris, bisa menjadi sumber kontaminasi mikroba. Mikroba yang umumnya menjadi kontaminan adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus sp*.

Masalah utama dalam pengolahan bahan pangan adalah terjadinya kebusukan atau penurunan mutu bahan pangan terutama bahan pangan yang memiliki kandungan air dan nutrisi yang cukup tinggi. Penanganan masalah tersebut dilakukan dengan penambahan bahan pengawet untuk mencegah atau mengurangi kerusakan kimiawi dan biologi dari bahan pangan tersebut. Pengawet untuk mencegah kerusakan mikrobiologi yang disebabkan mikroba disebut antimikroba.

Salah satu sumber bahan pengawet alami yang aman dikonsumsi adalah dari rempah-rempah. Salah satu jenis rempah-rempah yang memiliki potensi sebagai bahan pengawet adalah picung. Picung sudah dikenal luas di masyarakat sebagai bumbu penyedap dalam pengolahan daging.

Agar dihasilkan bahan pengawet alami yang baik, perlu adanya ekstraksi, agar didapatkan bahan pengawet yang berkualitas. Diharapkan bahwa ekstrak picung dapat dimanfaatkan sebagai pengawet daging sapi giling.

Dari paparan di atas maka dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak picung (*pangium edule*) dengan ekstraksi air dan etanol terhadap recovery *Escherichia coli* dan *Staphylococcus sp* pada daging sapi giling serta jumlah total mikrobial daging giling.

B. METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Bahan dan Peralatan

Bahan percobaan yang digunakan adalah biji picung (*Pangium edule*), daging sapi giling, biakan murni *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, aquades, etanol 96 %, pepton 0,1%, Nutrient Broth (NB), Iodium, Amilum, dan Media Agar NA.

Alat-alat yang digunakan yaitu timbangan analitik, *colony counter*, penangas air, pH meter, oven, *hot plate stirrer*, *autoclave*, lemari es, inkubator, gelas kimia dengan ukuran 250 ml dan 2 liter, erlenmeyer, pipet volum, tabung reaksi, cawan petri, pipet tetes, gelas ukur, pengaduk, mortar, termometer, botol timbang, eksikator, penjepit, kertas kraf, tali kasur dan bunsen.

2.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan percobaan yang menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Faktor pertama adalah tingkat konsentrasi penambahan ekstrak picung yaitu penambahan konsentrasi ekstrak picung 0% (P0),

konsentrasi ekstrak picung 2% (P1), konsentrasi ekstrak picung 4% (P2), konsentrasi ekstrak picung 6% (P3) dan ekstrak picung 8% (P4). Faktor kedua adalah lama penyimpanan pada suhu dingin dengan penyimpanan 0 hari (R1) lama penyimpanan 2 hari (R2), lama penyimpanan 4 hari (R3), dan lama penyimpanan 6 hari (R4). Ulangan dilakukan sebanyak 3 kali pada masing – masing perlakuan. Data yang diperoleh dibedakan berdasarkan jenis pelarut, dimana pelarut yang digunakan yaitu air dan etano

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Ekstraksi Picung dengan Air

Proses ekstraksi meliputi penambahan air dengan perbandingan bahan dan air 1:2 (b/v). Ekstraksi diawali dengan perebusan bubuk biji picung dalam *waterbath* pada suhu 70 °C selama 2 jam, lalu disaring dengan kain saring dan kertas Whatman no 42 sehingga dihasilkan filtrat dan residu (1a)

Residu 1a diekstraksi kembali dengan akuades dengan maserasi di atas *shaker* dengan kecepatan putar 250 rpm selama 6 jam. Setelah itu disaring dengan kain saring dan kertas Whatman no 42 sehingga dihasilkan filtrat dan residu (1b). Selanjutnya yaitu filtrat 1a dan filtrat 1b digabung sehingga diperoleh ekstrak picung yang dilarutkan dengan pelarut air. Apabila ekstrak yang dihasilkan memiliki konsentrasi yang rendah maka dilakukan pemekatan dengan menggunakan *rotary evaporator*.

2.3.2 Ekstraksi Picung dengan Etanol

Proses ekstraksi meliputi penambahan etil asetat dengan perbandingan bahan dan etil asetat 1:2 (b/v). Picung yang telah ditambahkan etanol tersebut

dimaserasi di atas *shaker* dengan kecepatan putar 250 rpm selama 6 jam. Setelah itu disaring dengan kain saring dan kertas Whatman no 42 sehingga dihasilkan filtrat (2a) dan residu (2a). Selanjutnya yaitu residu (2a) dimaserasi kembali dengan perbandingan tetap yaitu 1:2 antara residu picung dan etanol selama 6 jam sehingga dihasilkan residu (2b) dan filtrat (2b). Filtrat 2a dan filtrat 2b digabung sehingga diperoleh ekstrak picung yang dilarutkan dengan pelarut etanol. Setelah dilakukan pencampuran, maka langkah selanjutnya yaitu ekstrak picung dilakukan pemekatan menggunakan *rotary evaporator*.

2.3.3 Uji Fitokimia

Pada ekstrak picung dilakukan uji fitokimia yang meliputi uji kadar air, kadar lemak, kadar protein, serat kasar, tanin, pH, vitamin C, total karoten dan total fenol.

2.3.4 Uji Aktivitas Antimikroba

2.3.4.1 Metode Difusi Agar

2.3.4.1.1 Pembuatan Stok Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan untuk perbanyak stok, dengan cara menginokulasikan 1 ose biakan murni ke dalam 50 ml Nutrient Broth (NB), kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam di dalam inkubator.

2.3.4.1.2 Tahap Pengujian

Cawan petri diisi media NA sebanyak kurang lebih 19 ml yang mengandung suspensi bakteri sebanyak 2 ml (5×10^5 cfu/ ml), selanjutnya dibuat beberapa sumur pada agar dengan diameter 5 mm. Pada tiap – tiap sumur ditetesi 50 µl ekstrak picung (konsentrasi 90 mg ekstrak/ ml). Tiap – tiap sampel dibuat secara duplo dan diulang 4 kali. Setelah ditetesi dengan

ekstrak picung, cawan diinkubasi pada suhu 4°C selama 2 jam agar terjadi pre-difusi. Selanjutnya cawan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam dan setelah waktu inkubasi kemudian diukur diameter zona penghambatan atau zona terang (*clear zone*) dengan menggunakan penggaris (milimeter) (Radiati, 2009).

Menurut Radiati (2009), zona penghambatan adalah radius penghambatan (r') berupa areal bening di sekeliling lubang, setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Nilai diameter zona hambat hasil pengamatan langsung adalah 2x nilai r . Selanjutnya untuk menghitung nilai aktivitas bakteri yang dikonversi kedalam satuan per mg ekstrak, dapat dinyatakan sebagai nilai diameter zona hambat konversi (d') dengan perhitungan sebagai berikut

$$d' = 2 \times r' \text{ dimana } r' = (r_p^2 + 2 \cdot r_p \cdot r_s) \times F_k + r_s^2 - r_s$$

Keterangan:

r_p = jari-jari (mm) zona hambat hasil pengujian (pengukuran langsung)

r_s = jari-jari sumur uji (5 mm) + jari-jari zona hambat pengencer terhadap bakteri penguji.

F_k = adalah faktor koreksi (kelipatan) untuk mengubah satuan dari pengukuran langsung (r_p) ke dalam satuan per mg ekstrak.

d' = diameter (mm) zona hambat hasil konversi = $2 \times r'$, dimana r' dihasilkan dari perhitungan menggunakan persamaan di atas.

2.3.4.2 Metode Pengenceran

2.3.4.2.1 Persiapan Kultur Uji

Satu mata ose kultur bakteri dipindahkan ke dalam medium cair NB sebanyak 10 ml yang telah disterilisasi.

Setelah dikocok, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

2.3.4.2.2 Pengujian Aktivitas Antimikroba dengan Metode Kontak.

Kultur bakteri diencerkan dalam NB (Nutrient Broth) dengan perbandingan konsentrasi 1 ml kultur bakteri dan 99 ml Nutrient Broth. Konsentrasi awal mikroba yaitu 10^6 cfu/ml, setelah diencerkan maka konsentrasi mikroba menjadi 10^4 cfu/ml. Setelah itu dicari konsentrasi yang sesuai untuk MIC.

Selanjutnya yaitu dipipet 1 ml kultur untuk masing – masing bakteri ke dalam tabung reaksi, lalu pada masing – masing ekstrak dipipet sebanyak 240 µl (ekstrak picung dengan pelarut ethanol dan etil asetat) dan 200 µl (ekstrak picung dengan pelarut aquades) ke dalam tabung reaksi tadi, dan yang terakhir yaitu pepton dipipet sebanyak 1,67 ml untuk masing – masing tabung yang berisi ekstrak picung dengan pelarut etanol; dan dipipet sebanyak 1,8 ml pepton untuk masing – masing tabung reaksi yang berisi ekstrak picung dengan pelarut aquades. Prosedur tersebut akan menghasilkan volume akhir untuk masing – masing tabung reaksi sebanyak 3 ml.

Masing – masing tabung reaksi tadi diinkubasi dengan perlakuan waktu inkubasi 0, 6, 12, dan 24 jam. Setelah waktu inkubasi tercapai maka sebanyak 1 ml ditanam dalam media Plate Count Agar dan 1 ml konsentrasi campuran tadi diencerkan dengan 3 kali tingkat pengenceran. Pada 2 tingkat pengenceran terakhir ditanam pada media Plate Count Agar sebanyak 1 ml dan diulang sebanyak 2 kali pada masing – masing tingkat pengenceran. Setelah dilakukan penanaman lalu diinkubasi selama

24 jam dan dihitung jumlah koloni yang tumbuh.

2.3.4.3 Uji Kualitas Mikrobiologis (*Total Plate Count*).

Media yang digunakan adalah PCA dengan konsentrasi 17,5 g/liter. Sampel disiapkan untuk dilakukan pengenceran. Konsentrasi ekstrak yang digunakan berdasarkan data yang diperoleh MIC yaitu 2,5%. Dari data MIC tersebut maka dilakukan variasi konsentrasi menjadi 0; 2; 4; dan 6 %. Daging giling sebanyak 10 gram dibalur dengan masing – masing konsentrasi ekstrak, lalu disimpan pada suhu refrigerator yaitu sekitar 4 – 6° C. Pengenceran dilakukan dengan menggunakan pepton dengan konsentasi 1%. Pengenceran dilakukan hingga 10^{-6} dengan cara sampel dihaluskan terlebih dahulu sebanyak 5 gram sampel daging giling dan dicampur dengan 45 ml pepton dan diberi label 10^{-1} , kemudian dari campuran daging dan pepton diambil 1 ml dimasukkan ke tabung 2 dan diberi label 10^{-2} begitu seterusnya sampai pada tabung ke 5, setelah inkubasi dengan waktu 18-24 jam, kemudian dari hasil pengenceran yang telah di inkubasi selama 18-24 jam diambil 10^{-4} - 10^{-6} untuk dilakukan penanaman. Penanaman ini dilakukan dengan metode *pour plate* yaitu masing-masing tiga konsentrasi terakhir dari pengenceran diinokulasikan 1 ml ke dalam cawan petri, kemudian PCA dimasukan sebanyak 10-15 ml dan digoyang dengan model angka 8, kemudian ditunggu hingga padat.

2.4 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan metode analisa sidik ragam (ANOVA = *Analysis of Variance*)

yang mengikuti model dari Yitnosumarto, (1991) yaitu: $Y = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \epsilon_{ij}$

Keterangan:

Y = nilai pengamatan

μ = nilai data harapan

α = pengaruh faktor perlakuan I

β = pengaruh faktor perlakuan II

$\alpha\beta$ = pengaruh interaksi faktor I dan II

ϵ = kesalahan percobaan

i = banyaknya perlakuan

j = ulangan percobaan

Apabila dari hasil uji menunjukkan adanya pengaruh maka dilakukan uji lanjutan yaitu uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Khusus untuk uji dengan metode difusi agar data yang diperoleh ditabulasi dan ditransformasikan ke bentuk logaritma (satuan log cfu/gram) sebelum dianalisa dalam bentuk analisis sidik ragam (ANOVA) dan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT).

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Karakteristik Kimiawi Picung

Pada penelitian ini dilakukan pengujian terhadap kandungan senyawa kimiawi yang terdapat pada ekstrak picung untuk dapat mengetahui zat aktif yang terdapat dalam ekstrak picung, yang memiliki kemampuan sebagai senyawa antimikrobia. Hasil analisa terhadap komponen yang terdapat pada ekstrak picung dibedakan berdasarkan jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi yaitu air dan etanol. Data karakteristik kimiawi ekstrak picung dari uji laboratorium dapat dilihat dalam Tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Rataan karakteristik kimiawi bubuk Picung, Ekstrak etanol picung dan ekstrak air picung

Karakteristik Kimiawi	Picung		
	Picung bubuk	Ekstrak air	Ekstrak etanol
Air (%)	8,775	--	--
Lemak (%)	0,050	0,050	0,895
Protein (%)	0,007	0,020	0,011
Tannin (%)	0,841	1,587	2,733
Vitamin C(mg/100gr)	7,818	TT	TT
pH	5,350	4,850	5,200
Total Fenol (%)	0,855	0,707	1,723
Total Karoten (ug/g)	TT	TT	2,315

Keterangan: TT=tidak terdeteksi

Berdasarkan data yang didapatkan pada tabel 1 di atas, penggunaan ekstrak yang berbeda memberikan hasil yang berbeda terhadap karakteristik senyawa kimiawi yang diperoleh. Ekstraksi picung dengan senyawa etanol memberikan hasil uji kadar lemak, tannin, dan total fenol yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak picung dengan menggunakan air sebagai pelarutnya. Hal ini dikarenakan kedua bahan ekstrak memiliki karakteristik yang berlainan. Etanol memiliki sifat non-polar, sehingga mampu melarutnya senyawa yang bersifat non-polar yang terdapat dalam picung seperti senyawa glikosida, kurkumin, kumarin, atrakinson, flavonoid, steroid, damar dan klorofil. Sedangkan aquadest bersifat polar, sehingga hanya mampu melarutkan senyawa yang bersifat polar juga, seperti vitamin C, (indraswari, 2008).

Dari perhitungan terhadap karakteristik kimiawi picung, didapatkan hasil bahwa pelarut etanol memiliki kemampuan yang lebih baik daripada aquadest dalam mengekstraksi senyawa kimiawi yang terdapat dalam picung. Hal ini dapat disimpulkan dari lebih banyaknya

komponen kimiawi yang terkandung dalam ekstrak picung dengan pelarut etanol, jika dibandingkan dengan ekstrak picung dengan pelarut aquadest. Andarwulan, Fardiaz, Wattimena dan Shetty (1999) menyatakan bahwa pelarut etanol merupakan pelarut yang baik untuk menarik senyawa golongan polifenol (tannin), fenol, glikosida, dan flavonoid dari tumbuhan

3.2 Aktivitas Antimikroba Picung

3.2.1 Aktivitas Antimikroba Picung Dengan Metode Difusi Agar

Aktivitas antimikroba ekstrak etanol dan aquadest dari picung terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode difusi agar menggunakan media NA disajikan dalam tabel 2. Secara umum, ekstrak etanol dari picung memiliki aktivitas antimikroba yang lebih besar jika dibandingkan dengan ekstrak aquadest picung terhadap kedua bakteri uji.

Tabel 2. Luas penghambatan (mm²) dari 50 µl ekstrak picung (konsentrasi 90 mg ekstrak/ml)

Bakteri Uji	Jenis ekstrak	
	Aquadest ±SD	Etanol± SD
<i>Staphylococcus aureus</i>	150,63 ±7,61*	12,45±4,67
<i>Escherichia coli</i>	133,13 ±17,56*	6,78±3,54

SD=Standar Deviasi

*Penghambatan Parsial

Dari data Tabel 2, dapat dilihat luas penghambatan ekstrak aquadest dan etanol picung terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Semakin besar luas penghambatan, semakin tinggi aktivitas antimikrobia dari ekstrak picung tersebut. Pada ekstrak aquadest picung, hanya dihasilkan penghambatan parsial terhadap bakteri uji. Penghambatan parsial hanya menunjukkan adanya menghambat secara lemah terhadap bakteri dan tidak menghasilkan zona bening (*clear zone*) pada media NA. Sedangkan pada ekstrak etanol picung, didapatkan zona bening dengan luas 6,78±3,54 pada bakteri uji *Escherichia coli* dan zona bening dengan luas 12,45±4,67 pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol picung memiliki kemampuan antimikroba yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak aquadest picung.

Indriyati (1987) melaporkan bahwa senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri dalam buah picung adalah glikosida sianogenik, tannin serta asam hidnokarpat, asam khaulmograt dan asam garlat. Dari semua senyawa tersebut, senyawa tannin dan ketiga jenis asam lemak memiliki peran yang paling besar sebagai senyawa antimikrobia dari picung. Menurut

Scalbert (1991), tannin merupakan senyawa polifenol yang mempunyai sifat antimikrobia terhadap khamir, kapang dan bakteri. Tanin dapat menghambat perumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, dan *Bacillus stearothermophilus* melalui mekanisme pengubahan permeabilitas membran sitoplasma. Yuniarti (1991) menambahkan, Tannin juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hal senada juga diungkapkan oleh Nuraida, Andarwulan dan Kristikasari (2000) dan Ismaini (2007) yang menjelaskan bahwa senyawa yang bekerja sebagai antimikrobia pada picung adalah tannin. Tannin merupakan senyawa golongan fenol polimer yang mampu mempresipitasi gelatin dari larutannya. Tannin bersifat toksik terhadap jamur, khamir, dan bakteri. Tannin dilaporkan bersifat bakteriostatik atau bakterisida terhadap *Staphylococcus aureus* (Cowan, 1999; Akiyama, Fuji, Yamasaki, Oon dan Iwatsuji, 2001).

Semakin tinggi kandungan tannin yang ada dalam ekstrak picung, maka semakin tinggi pula kemampuan ekstrak tersebut dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Hal ini menjelaskan

kenapa ekstrak etanol picung memiliki kemampuan antimikrobia yang lebih tinggi daripada ekstrak aquadest picung. Hal ini dikarenakan etanol mampu mengekstraksi lebih banyak senyawa tannin, yang merupakan senyawa antimikrobia pada picung, jika dibandingkan dengan aquadest.

3.2.2 Aktivitas Antimikroba Picung dengan Metode Kontak

Pengujian selanjutnya yaitu dengan menggunakan metode kontak, untuk menentukan nilai MIC terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil pengujian MIC terhadap dari ekstrak etanol dan aquadest picung dapat dilihat dalam Tabel 3 berikut ini.

Tabel 3. Pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada media NB yang mengandung ekstrak picung.

Jenis bakteri	Jenis ekstrak	Konsentrasi ekstrak (ppm)	Jumlah bakteri (CFU/ml)				% penghambatan relative terhadap bakteri awal
			Inkubasi 0 jam	Inkubasi 6 jam	Inkubasi 12 jam	Inkubasi 24 jam	
<i>E.coli</i>	Air	50	$2,3 \times 10^4$	$>10^6$	$>10^6$	$>10^6$	-
		100	$0,9 \times 10^4$	$>10^6$	$>10^6$	$>10^6$	-
		200	$1,7 \times 10^4$	$>10^6$	$>10^6$	$>10^6$	-
	Etanol	50	$1,5 \times 10^4$	$>10^6$	$>10^6$	$>10^6$	-
		100	$2,1 \times 10^4$	$2,3 \times 10^4$	$4,2 \times 10^4$	$>10^6$	-
		200*	$1,4 \times 10^4$	$3,4 \times 10^3$	$2,7 \times 10^3$	$1,8 \times 10^2$	92%
<i>S.aureus</i>	Air	50	$0,8 \times 10^4$	$>10^6$	$>10^6$	$>10^6$	-
		100	$1,9 \times 10^4$	$>10^6$	$>10^6$	$>10^6$	-
		200*	$1,1 \times 10^4$	$0,9 \times 10^4$	$2,1 \times 10^3$	$2,4 \times 10^3$	78,18%
	Etanol	50	$1,7 \times 10^4$	$4,7 \times 10^5$	$>10^6$	$>10^6$	-
		100	$1,6 \times 10^4$	$3,5 \times 10^4$	$5,6 \times 10^4$	$>10^6$	-
		200*	$1,3 \times 10^4$	$2,4 \times 10^3$	$1,2 \times 10^3$	$1,1 \times 10^2$	93%

- = tidak terdapat penghambatan

*= nilai MIC ekstrak picung

Berdasarkan tabel 3, didapatkan hasil MIC dari ekstrak aquadest dan etanol picung dengan perlakuan penambahan ekstrak 50µl-200 µl. Pada pengujian terhadap bakteri *Escherichia coli*, hanya didapatkan nilai MIC dari ekstrak etanol picung pada level konsentrasi ekstrak 200 µl yaitu dengan penghambatan relative sebesar 92%. Sedangkan pengujian dengan menggunakan bakteri uji *Staphylococcus aureus*, didapatkan nilai MIC dari ekstrak air dan etanol picung. Nilai MIC ekstrak air picung

yaitu pada level konsentrasi ekstrak 200 µl yaitu dengan penghambatan relative sebesar 78,18%. Sedangkan nilai MIC dari ekstrak etanol picung yaitu pada level konsentrasi ekstrak 200 µl yaitu dengan penghambatan relative sebesar 93%.

Dari hasil MIC tersebut, diketahui bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* lebih rentan terhadap senyawa anti mikrobia yaitu ekstrak picung, jika dibandingkan dengan bakteri *Escherichia coli*. Secara umum, baik bakteri *Staphylococcus aureus* maupun

Escherichia coli tetap mampu untuk tumbuh dan berkembang biak apabila konsentrasi ekstrak yang ditambahkan dibawah 200 µl. Pada bakteri *Escherichia coli*, penambahan ekstrak air hingga konsentrasi 200 µl tidak mampu menghambat pertumbuhan dari bakteri tersebut. Sedangkan ekstrak etanol, aktifitas penghambatan sudah mulai terlihat dengan penambahan ekstrak 100 µl. Pada bakteri *Staphylococcus aureus*, aktifitas penghambatan dari ekstrak etanol picung sudah mulai terlihat pada konsentrasi 50 µl, dan pada konsentrasi 200 µl menunjukkan nilai MIC baik pada bakteri *Staphylococcus aureus* maupun *Escherichia coli* dengan penghambatan mencapai 92 % pada *Escherichia coli* dan 93% pada *Staphylococcus aureus*

Adanya aktifitas penghambatan mikroorganisme oleh ekstrak etanol picung yang lebih tinggi dari ekstrak aquades picung antara lain disebabkan karena ekstrak etanol picung memiliki kandungan senyawa antimikrobia yaitu tannin, lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak aquades picung (Tabel 1). Semakin tinggi kandungan senyawa antimikrobia yang ada dalam ekstrak, semakin besar kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan mikrobia.

Konsentrasi kandungan senyawa antimikrobia juga berpengaruh terhadap kemampuan menghambat pertumbuhan mikrobia yang ada. Semakin tinggi konsentrasi antimikrobia, semakin tinggi pula kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan mikrobia (Mangunwardoyo, Ismaini dan Herawati, 2008). Hal tersebut tampak jelas dalam pengujian yang telah dilakukan. Pada tabel 4, semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang ditambahkan,

semakin besar daya hambat yang dimunculkan. Hal ini tampak jelas pada ekstrak etanol picung, yang diujikan pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pada ekstrak aquades picung yang diujikan pada bakteri *Escherichia coli*, tidak tampak adanya aktifitas penghambatan hingga konsentrasi ekstrak 200 µl. Menurut Cowan (1999), hal ini terjadi karena ekstrak tersebut konsentrasinya masih tergolong rendah dan belum bersifat toksik terhadap bakteri, sehingga tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

Kemungkinan lainnya yaitu adanya penurunan efektivitas dari senyawa antimikrobia yang ada. Siswadi (2002) menjelaskan, faktor-faktor yang mempengaruhi penurunan afektivitas senyawa antimikrobia meliputi jenis, umur dan keadaan mikroba, konsentrasi zat antimikroba, suhu dan waktu kontak, serta sifat fisiokimia substrat seperti pH, kadar air dan tegangan permukaan, serta jumlah komponen yang ada. Menurut Naufalin (2005), faktor-faktor tersebut dapat mempengaruhi secara sendiri-sendiri apabila dalam kondisi yang homogen atau secara bersamaan apabila lingkungannya heterogen. Kemampuan senyawa antimikroba untuk menghambat pertumbuhan mikroba akan semakin efektif jika melibatkan beberapa faktor yang saling bersinergis antara yang satu dengan yang lainnya.

3.3 Pengaruh Penambahan Ekstrak Picung Terhadap Jumlah Total Mikrobia Daging Giling

Pengujian terhadap aktivitas antimikrobia ekstrak picung dilakukan dengan perlakuan penambahan ekstrak air

dan etanol dari picung ke dalam daging giling. Jumlah ekstrak yang ditambahkan didasarkan dari nilai MIC yang diperoleh yaitu 2%. Selanjutnya dilakukan variasi terhadap konsentrasi ekstrak yang picung yang ditambahkan yaitu 0%, 2%, 4%, 6% dan 8%. Setelah dilakukan penambahan ekstrak picung, daging giling disimpan dalam suhu refrigerator dengan lama penyimpanan 0, 2, 4, dan 6 hari.

3.3.1 Pengaruh Penambahan Ekstrak Air Picung Terhadap Jumlah Total Mikrobial Daging Giling.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa kelompok dan peningkatan level konsentrasi ekstrak yang ditambahkan tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah mikrobial ($P > 0,05$), akan tetapi lama penyimpanan terhadap jumlah mikrobial memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$), terhadap jumlah total mikrobial. Hal ini dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Jumlah mikroba (satuan log cfu/gram) daging giling setelah dilakukan penambahan ekstrak air picung

konsentrasi	Lama penyimpanan				Rata-rata
	R1(0)	R2(2)	R3(4)	R4(6)	
P0 (0%)	5,525	6,503	6,652	6,331	6,185 ^P
P1 (2%)	6,732	6,670	6,595	6,281	6,570 ^P
P2 (4%)	5,782	6,551	6,967	7,019	6,580 ^P
P3 (6%)	6,028	6,454	6,809	7,049	6,585 ^P
P4 (8%)	6,378	6,667	6,942	6,718	6,676 ^P
Rata-rata	6,089 ^a	6,569 ^b	6,793 ^c	6,680 ^b	6,533

Keterangan: - subskrip p menunjukkan bahwa penambahan ekstrak air picung tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap total mikrobial daging giling. Subskrip a, b dan c menunjukkan bahwa penyimpanan, memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap total mikrobial daging giling.

Dari hasil uji jarak berganda Duncan, didapatkan hasil bahwa perlakuan lama penyimpanan memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap total mikrobial daging sapi giling. Jumlah total mikrobial yang tumbuh terus mengalami peningkatan selama masa penyimpanan dan baru mengalami penurunan pada penyimpanan hari ke 6 (R4). Perbedaan lama penyimpanan memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah total mikrobial dari daging sapi giling.

Penyimpanan daging sapi giling hingga hari ke 4 menunjukkan adanya

pengaruh yang nyata terhadap peningkatan dari total mikrobial daging sapi giling. Hal ini disebabkan karena penyimpanan daging pada suhu rendah dapat menghambat terjadinya penurunan dari pH daging yang mempengaruhi pertumbuhan dari mikrobial yang ada pada daging. Penambahan ekstrak air picung pada daging sapi giling menyebabkan daging sapi giling memiliki pH yg asam, yaitu 5,4 sampai 5,6. Dengan pH yang rendah tersebut, daging sapi giling akan mengalami perubahan struktur menjadi terbuka dan memudahkan bagi komponen kimiawi tertentu termasuk senyawa anti

mikrobia untuk dapat masuk kedalam daging (Komariah, 2004). Mikroba yang biasa hidup pada bahan pangan dengan pH yang rendah dapat dikendalikan dengan suhu yang lebih rendah dan dalam waktu yang lebih singkat, jika dibandingkan dengan mikroba yang sama pada kondisi basa (Pelzar, 1986). Namun, pH yang rendah menyebabkan senyawa antimikrobia yang ada yaitu tannin tidak dapat bekerja secara optimal. Tannin bekerja dengan membentuk ikatan dengan senyawa protein yang lain, sehingga terbentuk kompleks ikatan tannin-protein yang memiliki kemampuan sebagai senyawa antimikrobia. Interaksi tannin-protein ini sangat dipengaruhi oleh pH lingkungan. Interaksi yang optimal terjadi pada pH isoelektrik protein. Nilai pH yang rendah akan menyebabkan menurunnya ikatan tannin-protein sebagai akibat adanya efek elektrostatik dari protein yang saling berikatan. (Akiyama dkk ,2001).

Selain adanya pH rendah, faktor lain yang menjadi penyebab meningkatnya secara signifikan jumlah total mikrobia selama penyimpanan dan tidak adanya pengaruh penambahan ekstrak aquades picung adalah konsentrasi senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak aquadest picung. Menurut Cowan (1999), jika konsentrasi antimikrobia yang ada pada ekstrak tergolong rendah, tidak akan bersifat toksik terhadap bakteri, sehingga tidak

mampu menghambat pertumbuhan dari bakteri tersebut. Widyasari (2005) menjelaskan bahwa jika ekstrak hanya mengandung senyawa antibakteri dengan konsentrasi yang rendah, dan tidak bersifat toksik, tidak akan mampu merusak dinding sel, menghambat kerja enzim hidrolitik pada proses biosintesis peptidoglikan bakteri gram positif, dan pada lapisan polisakarida, dan lapisan fosfolipid pada bakteri gram negatif. Hal tersebut menyebabkan penambahan ekstrak aquadest picung picung tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah total mikrobia, karena rendahnya konsentrasi senyawa antimikrobia yang terkandung dalam ekstrak aquadest picung.

3.3.2 Pengaruh Penambahan Ekstrak Etanol Picung Terhadap Jumlah Total Mikrobia Daging Giling

Berdasarkan dari data analisis ragam yang telah dilakukan, didapatkan hasil bahwa kelompok dan penggunaan level konsentrasi ekstrak etanol dari picung memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap jumlah total mikrobia. Sedangkan lama penyimpanan tidak memberikan pengaruh yang nyata ($P > 0,05$) terhadap jumlah total mikrobia. Jumlah mikrobia dari setiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 5

Tabel 5. Jumlah mikroba (satuan log cfu/gram) daging giling setelah dilakukan penambahan ekstrak etanol picung

Konsentrasi	Lama penyimpanan				Rata-rata
	R1(0)	R2(2)	R3(4)	R4(6)	
P0 (0%)	9,327	10,024	10,104	9,695	9,787 ^p
P1 (2%)	9,064	9,044	9,162	9,010	9,070 ^q
P2 (4%)	8,440	8,690	8,994	9,022	8,786 ^r
P3 (6%)	8,085	8,730	8,804	8,314	8,483 ^r
P4 (8%)	9,090	9,284	8,998	9,181	9,138 ^q
Rata-rata	8,801 ^a	9,154 ^a	9,212 ^a	9,044 ^a	9,053

Keterangan; subskrip p, q dan r menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi ekstrak etanol picung memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap jumlah total mikrobia daging giling. Subskrip a menunjukkan bahwa lama penyimpanan tidak memberikan pengaruh yg nyata ($P > 0,05$) terhadap jumlah total mikrobia daging giling.

Dari hasil uji jarak berganda Duncan, didapatkan hasil bahwa perlakuan penambahan konsentrasi ekstrak etanol picung memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap total mikrobia daging sapi giling. Jumlah total mikrobia yang tumbuh terus mengalami penurunan seiring meningkatnya jumlah konsentrasi ekstrak yang ditambahkan. Hal ini sesuai dengan keterangan Widyasari (2005) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi antimikrobia yang ditambahkan, semakin tinggi pula aktivitas antimikrobia yang ditunjukkan.

Aktifitas antimikrobia yang tinggi dari ekstrak etanol picung disebabkan oleh tingginya kandungan tannin dan fenol yang terekstraksi oleh etanol, yang merupakan senyawa antimikrobia yang terdapat dalam picung. Hal ini sesuai dengan penjelasan dari Andarwulan (1999) yang menyatakan bahwa etanol merupakan pelarut yang baik untuk menarik senyawa golongan polifenol (tannin), fenol, glikosida, dan flavonoid dari tumbuhan. Komala (2003) menyatakan bahwa senyawa fenol dapat menyebabkan lisis pada sel mikroba sehingga

mengakibatkan bocornya metabolit esensial yang dibutuhkan oleh mikroba. Setelah berada di dalam sel, senyawa fenol yang memiliki berat molekul yang lebih tinggi merusak sistem kerja enzim dengan cara menginaktivasi enzim esensial dalam sel. Enzim yang terganggu aktifitasnya oleh zat antimikroba akan berusaha mempertahankan aktifitasnya dengan cara memakai energi untuk pertumbuhan dalam jumlah besar, sehingga pertumbuhan mikroba menjadi terhambat dan apabila kondisi ini berlangsung lama, maka pertumbuhan mikroba akan terhenti (inaktif). (Akiyama *et al*, 2001)

Ekstrak etanol picung terbukti memberikan daya hambat yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak aquadest picung. Hal ini kemungkinan disebabkan karena ekstrak etanol lebih memberikan polaritas optimum daripada ekstrak aquades. Hal ini dijelaskan oleh Naufalin (2005) bahwa suatu senyawa yang memiliki polaritas optimum akan mempunyai aktivitas antimikroba maksimum, karena untuk interaksi suatu senyawa antibakteri dengan bakteri diperlukan keseimbangan

hidrofilik-lipofilik. Sifat hidrofilik diperlukan untuk menjamin senyawa larut dalam fase air yang merupakan tempat hidup mikroba, tetapi senyawa yang bekerja pada membran sel hidrofobik memerlukan pula sifat lipofilik, sehingga senyawa antibakteri memerlukan keseimbangan hidrofilik-hidrofobik untuk mencapai aktivitas yang optimal.

Secara umum, terjadi peningkatan daya hambat terhadap mikroorganisme seiring dengan semakin tingginya tingkat konsentrasi ekstrak etanol picung, walaupun bersifat fluktuatif. Siswadi (2002) berpendapat jika hal tersebut terjadi karena adanya penurunan efektivitas senyawa antimikrobia yang ada dalam ekstrak. Penurunan efektivitas senyawa antimikrobia ini dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain jenis, umur dan keadaan mikroba, konsentrasi zat antimikroba, suhu dan waktu kontak, serta sifat fisiokimia substrat seperti pH, kadar air dan tegangan permukaan, jumlah komponen yang ada dan faktor-faktor lainnya.

D. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa

1. Etanol lebih efektif digunakan sebagai bahan pelarut dalam ekstraksi picung dibandingkan dengan aquades karena memiliki kemampuan mengekstraksi komponen kimiawi antimikrobia picung lebih baik daripada aquades, sehingga memiliki aktivitas antimikroba yang lebih tinggi

2. Ekstrak etanol picung memiliki kemampuan sebagai senyawa antimikroba lebih baik daripada air jika dilihat dari kemampuan *recovery* dan penghambatan terhadap total mikrobial daging sapi giling.
3. Ekstrak etanol picung tidak mampu membunuh total mikrobial daging giling, namun mampu menghambat pertumbuhan total mikrobial dari daging giling.

4.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini disarankan agar menggunakan ekstrak etanol picung dengan penambahan 6% ekstrak (P3) untuk menghambat pertumbuhan mikroba pembusuk dalam daging sapi giling dan memperpanjang daya simpan daging sapi giling.

DAFTAR PUSTAKA

- Akiyama, H, Fuji, K., Yamasaki, O., Oon, T., and Iwatsuji, K. 2001. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* Lawrence. 48:487-491
- Andarwulan N, S Fardiaz, GA Watimena dan K Shetty.1999. Antioxidant activity associate with lipid and phenolic mobilization during seed germination of *Pangium edule*. Reinw. *Journal Agric. Food Chemistry* .47,3158-3163
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(4): 564-582.
- Indraswari, A. Optimasi Pembuatan Ekstrak Daun Dewadaru (*Eugenia uniflora*) Menggunakan Metode Maserasi Dengan Parameter Kadar Total

- Senyawa Fenolik dan Flavonoid. Skripsi Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta
- Indriyati.1987. Mempelajari Aktivitas Antibakterial Biji Picung (*Pangium edule*) Terhadap Beberapa Bakteri Pembusuk Ikan Secara Invitro. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. 61 pp.
- Ismaini, L.2007. Studi Aktivitas dan Analisis Kimia Senyawa Antibakteri dari Ekstrak Biji Picung (*Pangium edule* Reinw). Tesis. Program Pascasarjana Fakultas MIPA, Universitas Indonesia. 87pp
- Komala I. 2003. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper bettle* Linn) terhadap Bakteri Penyebab Mastisis. Skripsi. Bogor; Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor
- Komariah, I.I.Arief, dan Y. Wiguna. 2004. Kualitas Fisik dan Mikroba Daging Sapi yang ditambah Jahe (*Zingiber officinalis*) pada Konsentrasi dan Lama Penyimpanan yang Berbeda. Media Peternakan, Agustus 2004, hlm 46-54 Vol 27 N0 .2. ISSN 0126-0472
- Mangunwardoyo W, L Ismaini dan ES Herawati. 2008. Uji Antibakteri dari Fraksi Ekstrak Biji Picung (*Pangium edule* Reinw) Segar. Jurnal Bahan Alam Indonesia. 6(4). 163-168
- Naufalin, R. 2005. Kajian Sifat Antimikroba Ekstrak Bunga Kecombrang (*Niconia speciosa* Horan) Terhadap Berbagai Mikroba Patogen dan Perusak Pangan. Disertasi. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor
- Nuraida L, N Andarwulan dan E Kristikasari. 2000. Antimicrobial Activity of Fresh and Fermented Picung (*Pangium edule*) Seed Againsts Pathogenic and Food Spoilage Bacteria. Journal of Food Technology and Industry. 4(2), 18-26
- Pelczar, M.J., S. Chan. 1986. Dasar – dasar mikrobiologi I. UI Press. Jakarta
- Scalbert, 1991. . Antimicrobial properties of tanins. *Phytochem.* 30, 3875-3883
- Siswadi, I. 2002. Mempelajari Aktivitas Antimikroba Ekstrak Buah Andaliman (*Zanthoxilum acanthopodium* D.C) terhadap Mikroba Patogen dan Perusak Makanan. [Skripsi]. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Widyasari, R.A.H.E. 2005. Teknologi Pengawetan Ikan Kembung (*Rastreliger brachysoma*) Segar dengan Menggunakan Bahan Bioaktif Alami Biji Picung. (*Pangium edule* Reinw). Tesis. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor
- Yuniarti P., 1991, Pengaruh Antibakteri Dekok Daun Jambu Biji (*P. guajava* L.) Terhadap *Satphycoccus aureus* dan *Escherichia coli*, Fak. Farmasi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta