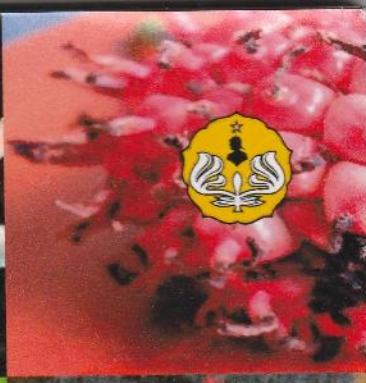




KECOMBRANG

*Antimikroba dan
Pemanfaatannya Sebagai
Pengawet Pangan*



Rifda Naufalin

KATA PENGANTAR

Buku Monograf

KECOMBRANG:

ANTIMIKROBA DAN PEMANFAATANNYA SEBAGAI PENGAWET PANGAN

RIFDA NAUFALIN

Penerbit
Universitas Jenderal Soedirman
Purwokerto
2017

Buku Monograf

KECOMBRANG:

Antimikroba dan Pemanfaatannya Sebagai Pengawet Pangan

© 2017 Universitas Jenderal Soedirman

Cetakan Pertama, Juli 2017

Hak Cipta dilindungi Undang-undang

All Right Reserved

Penulis:

Rifda Naufalin

Editor isi :

Dr. Ir. Hery Winarsi, M.S.

Editor Bahasa :

Drs. Subandi, M.Pd.

Diterbitkan oleh:

UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN

Jalan Prof. Dr. H.R. Boenyamin 708 Purwokerto

Kode Pos 53122 Kotak Pos 115

Telepon 635292 (Hunting) 638337, 638795

Faksimile 631802

www.unsoed.ac.id

Dicetak oleh:

BPU Unit Percetakan dan Penerbitan

Universitas Jenderal Soedirman

ix + 75 hal., 15,5 x 23 cm

ISBN : 978-602-1004-62-3

Dilarang mengutip dan memperbanyak tanpa izin tertulis dari penerbit, sebagian atau seluruhnya dalam bentuk apapun, baik cetak, photoprint, microfilm dan sebagainya.

KATA PENGANTAR

Industri pangan di Indonesia berkembang sangat pesat, baik dalam jenis produk, variasi produk pangan, volume dan mutu produksinya. Akan tetapi, perkembangan yang menggembirakan diikuti oleh penyalahgunaan bahan kimia yang tak terkendali dan dapat membahayakan kesehatan masyarakat. Beberapa bahan pengawet kimia sintetik berbahaya, dapat berpotensi meracuni tubuh secara akumulatif jika penggunaannya terus menerus dalam waktu lama. Juga terjadi kasus penggunaan bahan kimia yang membahayakan kesehatan diantaranya penggunaan formalin, boraks dan asam salisilat untuk pengawet pada produk pangan. Melihat fakta tersebut, perlu diupayakan alternatif pemecahan masalah tersebut, yaitu dengan memanfaatkan bahan alami yang secara empiris tradisional telah diterapkan dan tidak membahayakan atau aman digunakan. Bahan pengawet alami alternatif untuk produk pangan yang dapat membantu mengatasi masalah ini perlu diteliti, diantaranya kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan).

Dengan terwujudnya buku ini, disampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi melalui Penelitian skim Hibah Kompetensi Tahun 2015-2017 dan juga kepada semua pihak yang telah membantu mulai awal sampai akhir penulisan dan penerbitan buku ini.

Buku monograf “Kecombrang sebagai Antimikroba Alami” ini merupakan hasil penelitian tentang kecombrang sebagai pengawet alami, mulai dari tahun 2003 sampai 2017, tentang ekstraksi dan fraksinasi tanaman kecombrang dengan pelarut organik, pengujian aktivitas sebagai antimikroba, pengujian stabilitas ekstrak, dan aplikasi ekstrak kecombrang pada produk pangan. Berdasarkan kemampuannya sebagai antimikroba, ekstrak kecombrang dapat dimanfaatkan lebih lanjut sebagai pengawet alami pada produk pangan. Buku ini dipersiapkan dan disusun mengingat masih langkanya bahan bacaan mengenai pengawet alami terutama pengawet alami berbahan dasar kecombrang bagi mahasiswa yang mempelajari Ilmu dan Teknologi Pangan. Selain itu, buku ini juga diperuntukkan bagi masyarakat secara umum dan kalangan industri pangan yang berkonsentrasi dan mempunyai perhatian terhadap penggunaan pengawet pada makanan.

Pada kesempatan ini kami mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan maupun penerbitan buku monograf ini. Kami menyadari bahwa buku ini masih memiliki banyak kekurangan oleh karena itu saran maupun kritik membangun akan diterima dengan segala senang hati.

Purwokerto, Februari 2017
Penyusun

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	2
DAFTAR ISI	4
DAFTAR GAMBAR	6
DAFTAR TABEL	7
BAB 1. PENDAHULUAN	8
BAB 2. ANTIMIKROBA ALAMI	10
A. Mekanisme Antimikroba.....	12
B. Aktivitas Antimikroba	19
C. Analisis Aktivitas Antimikroba	22
D. Pengujian Aktivitas Antimikroba	23
E. Pengaruh Proses Pengolahan pada Aktivitas Antimikroba	27
BAB 3. KECOMBRANG (<i>Nicolaia speciosa</i>).....	37
A. Teknik Pembuatan Bubuk Kecombrang.....	38
B. Teknik Ekstraksi Kecombrang.....	40
C. Pengaruh Polaritas Ekstrak Kecombrang Terhadap Aktivitas Antibakteri...	41
D. Komponen Bioaktif dalam Kecombrang.....	45
E. Teknik Mikroenkapsulasi.....	50
F. Teknik Pengemasan Antimikroba Kecombrang.....	51
BAB 4. APLIKASI PENGAWET ALAMI KECOMBRANG.....	54
A. Aplikasi Pengawet Alami Kecombrang pada Daging Giling.....	54
B. Aplikasi Pengawet Alami Kecombrang pada Ikan.....	55
BAB 5. ANALISIS TEKNIS EKONOMIS ANTIMIKROBA KECOMBRANG....	57
A. Aspek Pasar dan Pemasaran.....	58
B. Aspek Teknis dan Teknologis	60
C. Aspek Manajemen Operasional	62
D. Aspek Yuridis.....	65
E. Aspek Finansial	65
BAB 6. KESIMPULAN	
DAFTAR PUSTAKA	67

DAFTAR GAMBAR

No	Halaman
2.1. Struktur dinding dan membran sel bakteri Gram negatif (A) terdiri atas membran plasma 8 nm (a), peptidoglikan (b) dan membran luar 8 nm (c); Gram positif (B) terdiri dari membran plasma 8 nm (a) dan peptidoglikan 15-80 nm (b) (Lovitt & Wright 2000).....	14
2.2. Pengaruh pH terhadap aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat bunga kecombrang.....	30
2.3. Pengaruh pH terhadap aktivitas antibakteri ekstrak etanol bunga kecombrang	30
2.4. Pengaruh konsentrasi NaCl terhadap aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat bunga kecombrang.....	33
2.5. Pengaruh pH terhadap aktivitas antibakteri ekstrak etanol bunga kecombrang.....	34
3.1. Tanaman kecombrang dan bagian tanaman kecombrang (Naufalin <i>et al.</i> , 2013).....	37
3.2. Bubuk bagian-bagian tanaman kecombrang (Naufalin <i>et al.</i> , 2013)....	39
3.3. Ekstrak heksana (a), etil asetat (b) dan etanol (c) bunga kecombrang	40
3.4. Pengaruh polaritas ekstrak bunga kecombrang terhadap aktivitas antibakteri.....	42
3.5. Nilai MIC ekstrak etil asetat dan etanol bunga kecombrang terhadap bakteri uji.....	44
3.6. Struktur kimia senyawa-senyawa alkaloid.....	48
3.7. Struktur kimia senyawa antosianin.....	49
3.8. Struktur kimia senyawa isoprena.....	49
3.9. Struktur kimia senyawa sterol.....	49
4.1 Pengaruh konsentrasi ekstrak etil asetat pada berbagai MIC terhadap penurunan total mikroba (log CFU/g) pada daging giling yang disimpan sampai hari ke-9.....	54
5.1. Kemasan pengawet alami kecombrang.....	59
5.2. Saluran distribusi langsung dan semi langsung.....	60
5.3. Matriks keputusan pemilihan alternatif lokasi.....	62

DAFTAR TABEL

No	Halaman
2.1 .Pengaruh suhu dan lama pemanasan terhadap aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat bunga kecombrang.....	36
2.2 Pengaruh suhu dan lama pemanasan terhadap aktivitas antibakteri ekstrak etanol bunga kecombrang.....	36
3.1. Rendemen dan sifat fisik bubuk kecombrang.....	39
3.2. Komponen penyusun fitokimia bubuk bagian-bagian kecombrang.....	40
3.3. Komponen penyusun ekstrak kecombrang.....	46
5.1. Perkiraan Perkiraan kebutuhan ruangan industri pengawet alami berbahan dasar kecombrang.....	63
5.2. Kualifikasi dan spesifikasi jabatan.....	64
5.3. Daftar rencana gaji pokok karyawan perusahaan.....	64
5.4. Hasil analisis kelayakan dan sensitivitas perkebunan kecombrang.....	66
5.5. Hasil analisis kelayakan dan sensitivitas industri pengolahan pengawet alami kecombrang.....	66

BAB 1. PENDAHULUAN

Industri pangan terus mengalami perkembangan baik pada industri kecil, industri rumah tangga, industri menengah maupun pada industri besar dengan teknologi tinggi. Namun demikian, perkembangan yang menggembirakan diikuti oleh penyalahgunaan bahan kimia yang tak terkendali dan dapat membahayakan kesehatan masyarakat. Penggunaan beberapa pengawet kimia sintetik masih dalam kontroversi dalam jenis maupun dosis yang digunakan, terutama oleh pelaku industri kecil, industri rumah tangga dan industri menengah pengolah pangan. Beberapa bahan pengawet kimia sintetik berbahaya, dapat berpotensi meracuni tubuh secara akumulatif jika penggunaannya terus menerus dalam waktu lama. Sementara itu, juga terjadi kasus penggunaan bahan kimia yang membahayakan kesehatan diantaranya penggunaan formalin, boraks dan asam salisilat untuk pengawet pada produk pangan.

Penggunaan bahan pengawet untuk memperpanjang umur simpan pangan sudah dikenal sejak jaman nenek moyang, yaitu dengan cara menambahkan garam, gula dan bumbu pada makanan atau dengan pengasapan menggunakan asap kayu. Bahan pengawet tersebut dapat menghambat pertumbuhan mikroba, sehingga dapat mengawetkan bahan pangan. Pada saat ini, berbagai bahan pengawet yang lebih kompleks dan bervariasi jenisnya telah banyak digunakan pada berbagai jenis makanan dan dengan berbagai tujuan penggunaan.

Bahan pengawet yang ditambahkan ke dalam pangan mempunyai fungsi, diantaranya untuk mencegah terjadinya kerusakan fisik pada pangan misalnya bahan penstabil dan pengemulsi, untuk mencegah terjadinya kerusakan kimia misalnya antioksidan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mencegah ketengikan, atau untuk mencegah kerusakan mikrobiologi yaitu dengan menggunakan senyawa-senyawa yang mempunyai sifat antimikroba.

Pemanfaatan bahan alami yang secara empiris tradisional telah diterapkan masyarakat dan tidak membahayakan atau aman digunakan merupakan alternatif mengatasi masalah tersebut. Bahan pengawet alami alternatif untuk produk pangan yang dapat membantu mengatasi masalah ini, diantaranya adalah tanaman kecombrang (*Nicolaia speciosa*). Pemilihan kecombrang sebagai sumber pengawet alami karena telah lama digunakan oleh masyarakat di daerah-daerah tertentu, diantaranya

Kabupaten Banyumas, Banjarnegara, Purbalingga, Cilacap, Kebumen, dan kabupaten lain di Sumatra. Tanaman ini telah banyak digunakan sebagai rempah-rempah dan pemberi citarasa makanan. Di Kabupaten Banyumas, empulur batang kecombrang biasa digunakan untuk meningkatkan cita rasa masakan ayam dan ikan, sementara bunga kecombrang banyak digunakan untuk pecel, urab, dan sayur (Naufalin *et al.*, 2005).

Adapun permasalahan yang dikaji dalam penelitian ini adalah bagaimana formula pengawet alami yang tepat untuk produk hasil laut (ikan dan udang) dan hasil olahannya?

- a Bagaimana pemilihan bahan formula pengawet alami berbahan dasar ekstrak tanaman kecombrang
- b Bagaimana aktivitas antimikroba ekstrak kecombrang dalam formula pengawet alami tersebut.
- c Bagaimana perbandingan ekstrak dan bahan pengisi formula pengawet alami yang terbaik yang cocok pada bahan pangan
 - a Bagaimana efektivitas pengawet alami kecombrang pada produk pangan sebagai pengganti pengawet sintetis
 - b Bagaimana aplikasi formula pengawet alami ekstrak kecombrang pada produk pangan
 - c Berapa umur simpan produk pangan yang diberi perlakuan formula ekstrak kecombrang terhadap mutu mikrobiologi, mutu kimia dan mutu organoleptik yang masih bisa diterima?
- d Bagaimana penerimaan konsumen yaitu pengguna pengawet alami di industri pangan terhadap produk pengawet alami berbahan dasar ekstrak kecombrang

Upaya Penyediaan pengawet alami yang aman sebagai pengganti pengawet sintetis berbahaya perlu dilaksanakan, antara lain penyediaan pengawet alami berbahan dasar ekstrak tanaman kecombrang, yang diperoleh dari tanaman kecombrang dan telah melalui rangkaian pengujian sebagai antimikroba. Buku monograf ini merupakan hasil penelitian tentang kecombrang sebagai pengawet alami, mulai dari tahun 2003 sampai 2017, tentang ekstraksi dan fraksinasi tanaman kecombrang dengan pelarut organik, pengujian aktivitas sebagai antimikroba, pengujian stabilitas ekstrak, dan aplikasi ekstrak kecombrang pada produk pangan.

Berdasarkan kemampuannya sebagai antimikroba, bubuk dan ekstrak kecombrang dapat dimanfaatkan lebih lanjut sebagai pengawet alami pada produk pangan.

BAB 2. ANTIMIKROBA ALAMI

Kerusakan bahan pangan terutama disebabkan oleh pertumbuhan mikroba. Hal ini disebabkan oleh tingginya kandungan air dan zat gizi bahan pangan. Salah satu cara mencegah kerusakan yang disebabkan oleh mikroba adalah dengan menambah *preservatif* atau bahan pengawet. Zat antimikroba didefinisikan sebagai senyawa biologis atau kimia yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroba. Antimikroba alami dari tanaman atau tumbuhan yaitu berupa senyawa fitoaleksin, fenolik dan asam organik (Harbone, 1987). Zat antimikroba menjadi salah satu alternatif dalam meningkatkan mutu bahan pangan, cita rasa, dan penampilan dengan penggunaan secara tepat. Antimikroba hanya dapat digunakan jika mempunyai sifat toksik selektif, artinya dapat membunuh mikroba yang menyebabkan penyakit tetapi tidak beracun bagi pengonsumsinya (Madigan, 2005).

Penggunaan antimikroba alami sekarang ini cenderung meningkat. Penelitian-penelitian mengenai aktivitas antibakteri dari tanaman, baik dalam bentuk ekstrak maupun minyak atsirinya menunjukkan bahwa banyak tanaman yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri, kapang, dan mikroba penyebab kerusakan pangan. Penggunaan senyawa antimikroba khususnya yang alami, secara umum meningkat dari tahun ke tahun. Senyawa antimikroba merupakan senyawa yang mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan mikroba. Tumbuhan yang digunakan oleh masyarakat secara tradisional dapat dijadikan sebuah alternatif pencarian senyawa antimikroba, karena pada umumnya mempunyai senyawa aktif yang berperan sebagai senyawa antimikroba seperti saponin, flavonoid, dan fenolik.

Senyawa antimikroba yang terkandung dalam berbagai jenis ekstrak tanaman diketahui dapat menghambat beberapa mikroba patogen maupun perusak pangan. Senyawa antimikroba tersebut dapat berasal dari bagian tanaman, seperti bunga, biji, buah, rimpang, batang, daun dan umbi.

Senyawa antimikroba yang berasal dari tanaman, sebagian besar diketahui merupakan metabolit sekunder tanaman, terutama dari golongan fenolik dan terpena dalam minyak atsiri. Sebagian besar metabolit sekunder disintesis dari banyak metabolit primer seperti dari asam-asam amino, asetil ko-A, asam mevalonat dan

metabolit antara (Herbert 1995). Ditambahkan oleh Nychas dan Tassou (2000), beberapa senyawa yang bersifat antimikroba alami berasal dari tanaman diantaranya adalah fitoaleksin, asam organik, minyak esensial (atsiri), fenolik dan beberapa kelompok pigmen tanaman atau senyawa sejenis.

Kemampuan suatu zat antimikroba dalam menghambat pertumbuhan dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain: (1) konsentrasi zat pengawet, (2) waktu penyimpanan, (3) suhu lingkungan, (4) sifat-sifat mikroba yang meliputi jenis, konsentrasi, umur dan keadaan mikroba, (5) sifat-sifat fisik dan kimia makanan termasuk kadar air, pH, jenis dan jumlah senyawa di dalamnya.

Penambahan antimikroba pada produk pangan merupakan salah satu upaya untuk memperpanjang umur simpan produk (Sudarmadji, 1989). Antibakteri termasuk ke dalam antimikroba yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan aktivitasnya zat antibakteri dibedakan menjadi dua jenis, yaitu bakteriostatik dan bakteriosidal. Bakteriostatik adalah zat antibakteri yang memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri (menghambat perbanyakan populasi bakteri), namun tidak mematikan. Bakteriosidal adalah zat antibakteri yang memiliki aktivitas membunuh bakteri. Namun ada beberapa zat antibakteri yang bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah dan bersifat bakteriosidal pada konsentrasi tinggi (Madigan, 2005).

Menurut Fardiaz (1992), kemampuan senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh: (1) konsentrasi zat antibakteri; (2) suhu lingkungan; (3) waktu penyimpanan; (4) sifat-sifat bakteri, meliputi jenis, jumlah, umur dan keadaan bakteri; dan (5) sifat-sifat fisik dan kimia makanan, termasuk kadar air, pH, jenis, dan jumlah senyawa di dalamnya.

Mekanisme senyawa fenolik sebagai zat antibakteri adalah dengan cara meracuni protoplasma, merusak dan menembus dinding sel, serta mengendapkan protein sel bakteri. Komponen fenolik juga dapat mendenaturasi enzim yang bertanggungjawab terhadap germinasi spora atau berpengaruh terhadap asam amino yang terlibat dalam proses germinasi. Senyawa fenolik bermolekul besar mampu menginaktifkan enzim esensial di dalam sel bakteri meskipun pada konsentrasi yang sangat rendah (Pelczar *et al.*, 1993).

Senyawa fenolik paling banyak digunakan karena senyawa tersebut tidak hanya terdapat pada antibiotik sintetik, tetapi juga pada senyawa alam yang dikenal

sebagai polifenol. Mekanisme kerja senyawa fenolik adalah dengan merusak membran sitoplasma secara total dengan mengendapkan protein sel. Penggunaan senyawa fenolik pada konsentrasi rendah dapat merusak membran sel yang menyebabkan kebocoran metabolit penting dan menginaktifkan bakteri (Madigan, 2005).

Mekanisme penghambatan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat dilakukan dengan cara: 1) merusak senyawa penyusun dinding sel; 2) peningkatan kelenturan selaput sel (membran sitoplasma) yang menyebabkan kehilangan komponen penyusun sel; 3) menonaktifkan enzim yang penting dalam metabolisme sel; 4) merusak fungsi bahan genetika atau DNA (Hadjioetomo *et al.*, 1998). Pengaruh komponen antibakteri terhadap sel bakteri dapat menyebabkan kerusakan sel yang berlanjut pada proses kematian.

Terkait dengan aktivitas antimikroba, MIC (Minimum Inhibitory Concentration) perlu diteliti untuk mengetahui konsentrasi ekstrak minimal yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan mikroba. Nilai MIC dapat digunakan untuk mengetahui besarnya nilai MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*), yaitu $MBC = 2 \times MIC$. Besarnya nilai MBC dapat dijadikan acuan jumlah (dosis) ekstrak yang tepat agar lebih efisien dan ekonomis dalam penggunaan ekstrak tersebut. Misalnya nilai MIC ekstrak buah kecombrang adalah 5%, maka pada konsentrasi 10% ($2 \times MBC$) sudah dapat berfungsi sebagai antimikroba. Diketahuinya nilai MBC dapat meminimalkan penggunaan ekstrak dengan dosis (konsentrasi) berlebihan, sehingga lebih efisien dan ekonomis. Disamping itu akan mempermudah aplikasi ekstrak tersebut sebagai pengawet dalam produk berbagai produk pangan, karena sudah diketahui secara pasti dosis atau takarannya.

A. Mekanisme Antimikroba

Reaksi antara senyawa antibakteri dan minyak atsiri dengan protein atau enzim-enzim dalam membran sel akan menyebabkan terjadinya disfungsi enzim. Perubahan tersebut akan menyebabkan rusaknya permeabilitas membran dan menyebabkan kebocoran komponen intraseluler seperti natrium glutamat, natrium hidrogen fosfat, nukleotida, glutamat, potasium dan fosfat organik (Nychas dan Tassou 2000), ion-ion ATP, asam nukleat dan asam-asam amino (Helander *et al.* 1998) serta disfungsi membran yang berhubungan dengan transport elektron, penyerapan nutrisi, sintesis asam nukleat dan aktivitas ATPase (Nychas dan Tassou 2000).

Kebocoran komponen intraseluler dapat diamati dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 260 dan 280 nm (Gilbert 1984; Park *et al.* 2003). Senyawa yang dapat diserap pada panjang gelombang 260 nm adalah RNA dan turunan RNA yaitu nukleotida dan pada panjang gelombang 280 nm diidentifikasi sebagai protein. Peningkatan absorbansi memperlihatkan peningkatan jumlah senyawa yang dikeluarkan oleh sel. Meningkatnya jumlah kandungan sel yang ditemukan pada permukaan luar sel menunjukkan terjadi kerusakan membran sel atau terjadi perubahan permeabilitas membran sel. Keluarnya cairan dari sel menandakan sel telah mengalami kebocoran.

Potensi bunga kecombrang sebagai antibakteri telah diteliti dengan mengekstrak bunga kecombrang secara bertingkat dengan berbagai pelarut dan ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antibakteri paling tinggi. Untuk mengetahui mekanisme kerja dari ekstrak etil asetat bunga kecombrang dilakukan dengan pengamatan kebocoran sel bakteri dan kerusakan sel bakteri dengan *scanning electron microscope* (SEM). Hal ini sesuai dengan penelitian Lambert *et al.* (2001); Burt dan Reinders, (2003), bahwa kerusakan dinding sel bakteri akibat interaksi dengan senyawa antibakteri dapat dipelajari dengan SEM.

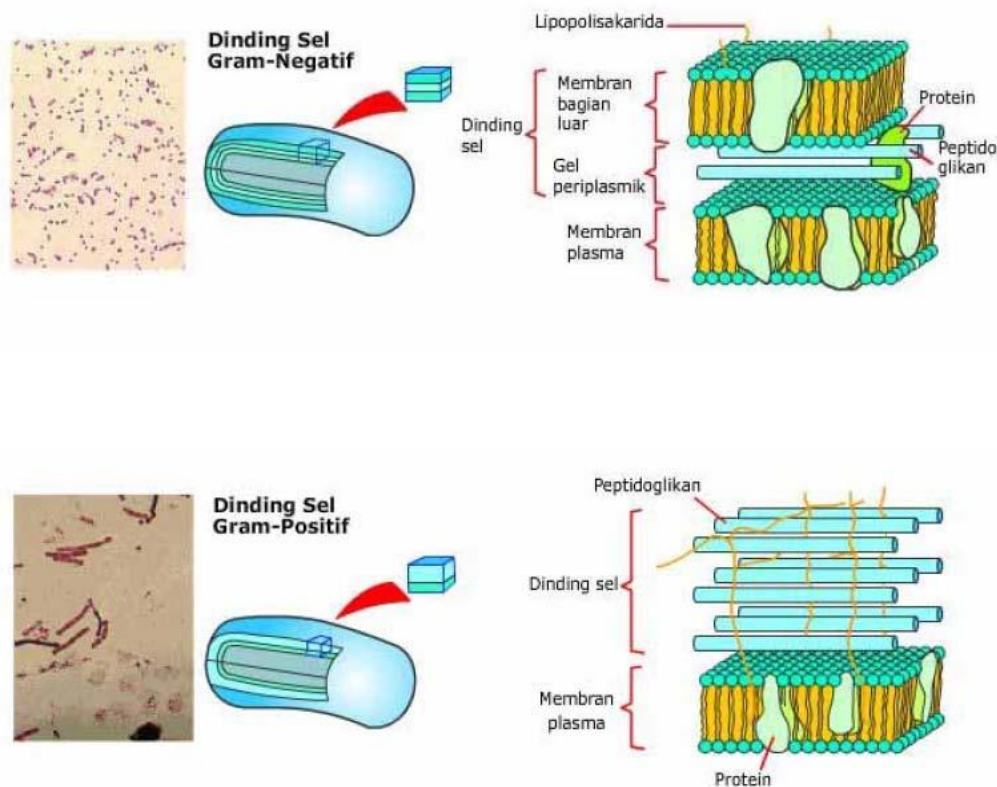
Mekanisme penghambatan dan kerusakan mikroba oleh senyawa antimikroba berbeda-beda. Penghambatan mikroba oleh senyawa antimikroba secara umum dapat disebabkan oleh: (1) gangguan pada komponen penyusun sel; terutama komponen penyusun dinding sel, (2) reaksi dengan membran sel yang dapat mengakibatkan perubahan permeabilitas dan kehilangan komponen penyusun sel, (3) penghambatan terhadap sintesis protein dan (4) gangguan fungsi material genetik (Davidson 2001). Menurut Kanazawa *et al.* (1995) terjadinya proses tersebut diatas disebabkan oleh adanya pelekatan senyawa antimikroba pada permukaan sel mikroba atau senyawa tersebut berdifusi ke dalam sel.

Gangguan pembentukan dinding sel

Dinding sel bakteri mengandung peptidoglikan yang terdiri dari turunan gula yaitu asam N-asetilglukosamin dan asam N-asetilmuramat serta asam amino L-alanin, D-alanin, D-glutamat, dan lisin (Fardiaz 1992). Bakteri gram positif mengandung 90% peptidoglikan serta lapisan tipis asam teikoat dan asam teikuronat yang bermuatan

negatif. Pada bakteri gram negatif, terdapat lapisan di luar dinding sel yang mengandung 5-20% peptidoglikan (Gambar 2.3). Lapisan ini merupakan lapisan lipid kedua yang disebut lapisan lipopolisakarida (LPS). Lapisan ini tersusun oleh fosfolipid, polisakarida dan protein (Madigan *et al.* 2000).

Dalam upaya mencapai sasaran, senyawa antimikroba dapat menembus lipopolisakarida dari dinding sel tersebut (Gambar 2.1).



Gambar 2.1. Struktur dinding dan membran sel bakteri Gram negatif (A) terdiri dari membran plasma 8 nm (a), peptidoglikan (b) dan membran luar 8 nm (c); Gram positif (B) terdiri dari membran plasma 8 nm (a) dan peptidoglikan 15-80 nm (b) (Lovitt & Wright 2000)

Molekul-molekul yang bersifat hidrofilik lebih mudah melewati lipopolisakarida dibandingkan dengan yang hidrofobik. Pada bakteri Gram positif, tidak ada lapisan lipopolisakarida, sehingga molekul senyawa antimikroba yang bersifat hidrofilik maupun yang hidrofobik dapat melewatinya (Best 1999). Penghambatan senyawa antimikroba adalah kemampuan suatu senyawa antimikroba

untuk mempengaruhi dinding sel mikroba (Ultee *et al.* 2000). Nychas dan Tassou (2000) menyatakan bahwa minyak atsiri dapat menghambat enzim yang terlibat pada produksi energi dan pembentukan komponen struktural, sehingga pembentukan dinding sel bakteri terganggu. Mekanisme kerusakan dinding sel dapat disebabkan oleh adanya akumulasi komponen lipofilik yang terdapat pada dinding sel atau membran sel, sehingga menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel. Mekanisme ini disebabkan karena adanya akumulasi komponen lipofilat yang terdapat pada dinding atau membran sel sehingga menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel. Terjadinya akumulasi senyawa antimikroba dipengaruhi oleh bentuk tak terdisosiasi. Pada konsentrasi rendah molekul-molekul fenol yang terdapat pada minyak *thyme* kebanyakan terbentuk tak terdisosiasi, lebih hidrofobik, dapat mengikat daerah hidrofobik membran protein, dan dapat melarut baik pada fase lipid dari membran bakteri.

Beberapa laporan menyebutkan bahwa efek penghambatan senyawa antimikroba lebih efektif terhadap bakteri gram positif daripada dengan bakteri gram negatif. Hal ini disebabkan perbedaan komponen penyusun dinding sel kedua kelompok bakteri tersebut. Pada bakteri gram positif 90 persen dinding selnya terdiri atas lapisan peptidoglikan, selebihnya adalah asam teikoat, sedangkan bakteri gram negatif komponen dinding selnya mengandung 5-20 persen peptidoglikan, selebihnya terdiri dari protein, lipopolisakarida, dan lipoprotein.

Bereaksi dengan Membran Sel

Membran sitoplasma yang berperan pada keutuhan sel dapat terganggu permeabilitasnya oleh beberapa senyawa antimikroba yang dapat menyebabkan kebocoran isi sel sehingga transfer isi sel tidak terkontrol. Bocornya membran sitoplasma bersifat dapat pulih, dan dapat dideteksi dengan adanya perubahan jumlah asam nukleat dan protein dalam medium seperti telah dibuktikan oleh Bunduki *et al.* (1995) pada *Listeria monocytogenes* yang mengalami kerusakan subletal panas (56 °C, 20 menit) atau pemanasan sanitaisir klorin (Antibakteri 100 ppm, 20 menit).

Senyawa antimikroba dapat menyerang membran sitoplasma dan mempengaruhi integritasnya. Kerusakan pada membran ini mengakibatkan

peningkatan permeabilitas dan terjadi kebocoran sel, yang diikuti dengan keluarnya materi intraseluler. Mekanisme antimikroba minyak atsiri (karvakrol, sitral dan geraniol) adalah mengganggu lapisan fosfolipid dari membran sel yang menyebabkan peningkatan permeabilitas sehingga kehilangan unsur penyusun sel (Kim *et al.* 1995).

Komponen bioaktif dapat mengganggu dan mempengaruhi integritas membran sitoplasma yang dapat mengakibatkan kebocoran materi intraseluler, seperti senyawa fenol dapat mengakibatkan lisis sel dan menyebabkan denaturasi protein, menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat, dan menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel.

Penghambatan sintesis protein

Sintesis protein adalah pembentukan rantai polipeptida dari asam-asam amino melalui ikatan peptida (Prindle 1983). Proses sintesis tersebut terdiri atas beberapa tahap yaitu inisiasi, penggabungan kompleks asam amino, pembentukan ikatan peptida, translokasi dan terminasi. Senyawa antimikroba dapat menghambat sintesis protein bakteri, yaitu senyawa tersebut bereaksi dengan komponen sel ribosom 50 S yang membentuk kompleks pada tahap inisiasi (tahap awal sintesis protein), sehingga menstimulasi translasi yang salah, selanjutnya terjadi penyimpangan dalam ribosom, yang mengakibatkan sintesis protein dilanjutkan dengan pasangan yang tidak tepat dan akhirnya mengganggu pembentukan protein (Nychas dan Tassou 2000).

Gangguan fungsi material genetik

Sintesis protein merupakan hasil akhir dari proses transkripsi (sintesis asam ribonukleat, tergantung DNA) dan proses translasi (sintesis protein tergantung RNA), jika senyawa antimikroba menghambat salah satu dari kedua proses tersebut maka sintesis protein akan terhambat (Best 1999).

Senyawa antimikroba dapat mengganggu pembentukan asam nukleat (DNA dan RNA), akibatnya transfer informasi genetik akan terganggu karena komponen ini menghambat aktivitas enzim RNA polimerase dan DNA polimerase, yang selanjutnya akan menginaktivasi atau merusak materi genetik sehingga mengganggu proses pembelahan sel (Kim *et al.* 1995).

Komponen bioaktif dapat mengganggu pembentukan asam nukleat (RNA dan

DNA), menyebabkan terganggunya transfer informasi genetik yang selanjutnya akan menginaktivasi atau merusak materi genetik sehingga terganggunya proses pembelahan sel untuk pembiakan.

Inaktivasi Enzim

Mekanisme yang terjadi menunjukkan bahwa kerja enzim akan terganggu dalam mempertahankan kelangsungan aktivitas mikroba, sehingga mengakibatkan enzim akan memerlukan energi dalam jumlah besar untuk mempertahankan kelangsungan aktivitasnya. Akibatnya energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan menjadi berkurang sehingga aktivitas mikroba menjadi terhambat atau jika kondisi ini berlangsung lama akan mengakibatkan pertumbuhan mikroba terhenti (inaktif).

Efek senyawa antimikroba dapat menghambat kerja enzim jika mempunyai spesifitas yang sama antara ikatan kompleks yang menyusun struktur enzim dengan komponen senyawa antimikroba. Corner (1995) melaporkan bahwa pada konsentrasi 0,005 M alisin (senyawa aktif dari bawang putih) dapat menghambat metabolisme enzim sulfhidril. Minyak oleoresin yang dihasilkan dari kayu manis, cengkeh, *thyme*, dan oregano dapat menghambat produksi etanol, proses respirasi sel, dan sporulasi khamir dan kapang.

Antimetabolit

Suatu senyawa antimikroba mungkin dapat menghambat biosintesis suatu komponen penting di dalam sel, sehingga menghambat metabolisme normal di dalam sel. Berbagai proses biosintesis di dalam sel dapat diganggu oleh komponen yang strukturnya hampir sama dengan metabolit alami. Komponen-komponen tersebut disebut analog metabolit atau antimetabolit.

Plasmolisis sel

Beberapa bahan yang terdapat pada pangan seperti gula dan garam mempunyai tekanan osmotik tinggi, sehingga dapat meningkatkan tekanan osmotik di sekeliling sel mikroorganisme yang terdapat di dalam pangan. Tekanan osmotik yang tinggi di luar sel akan menarik air dari dalam sel, akibatnya sel akan mengalami plasmolisis atau kehilangan air sehingga tidak dapat melakukan metabolisme secara normal.

Secara umum mekanisme aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat bunga

kecombrang dalam menghambat bakteri patogen dan perusak pangan adalah senyawa antimikroba merusak dinding sel dan masuk melewati dinding sel bakteri. Selanjutnya penetrasi dan merusak bagian membran sitoplasma. Kerusakan pada membran sitoplasma dapat menyebabkan terganggu permeabilitas, terjadi kebocoran isi sel dan mengganggu pembentukan asam nukleat. Bakteri yang sensitif terhadap ekstrak bunga kecombrang dapat terjadi kerusakan pada dinding sel dan membran sitoplasma, sedangkan bakteri yang resisten kerusakan terjadi pada dinding sel.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa mekanisme kerja ekstrak etil asetat bunga kecombrang terhadap *P. aeruginosa* adalah dengan merusak membran sel dan mengganggu fungsi materi genetik. Mekanisme terganggunya membran sel didukung oleh tingginya nilai absorbansi (0,445) dibanding dengan kontrol (0,001) pada panjang gelombang 260 nm. Hal ini menunjukkan *P. aeruginosa* mengalami kebocoran asam nukleat..

P. aeruginosa merupakan bakteri Gram negatif dengan membran luar sel berupa lipopolisakarida. Diduga senyawa antibakteri ekstrak etil asetat bunga kecombrang dapat menyebabkan kerusakan dinding sel, selanjutnya berdifusi melalui membran sitoplasma dan mempengaruhi materi genetik. Menurut Davidson dan Branen (1980) senyawa antimikroba dapat bereaksi dengan komponen fosfolipid dari membran sel, sehingga mengakibatkan lisis sel.

Hasil pengamatan menunjukkan mekanisme kerja ekstrak etil asetat bunga kecombrang terhadap *S. aureus* adalah dengan merusak dinding sel. Kerusakan yang terjadi pada dinding sel *S. aureus* yaitu terbentuknya tonjolan pada permukaan sel. Dijelaskan lebih lanjut bahwa tonjolan pada permukaan sel merupakan sistem pertahanan sel melawan antibakteri ekstrak etil asetat, seperti terjadinya penebalan dinding sel. Hal ini yang mengakibatkan *S. aureus* resisten terhadap ekstrak etil asetat bunga kecombrang. Menurut Gilbert (1984) terbentuknya tonjolan kecil pada permukaan sel *S. aureus* karena peptidoglikan menahan tekanan intraseluler yang tinggi. Tonjolan ini merupakan tanda terganggunya proses biosintesis dinding sel akibat aktivitas antimikroba.

Hasil pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 260 nm, menunjukkan sel *S. aureus* melepaskan senyawa asam nukleat lebih sedikit, yaitu nilai absorbansi (0,301) dibanding dengan bakteri lain (0,445 – 1,177). Hal ini menunjukkan ekstrak

etil asetat bunga kecombrang terhalang oleh dinding sel yang kuat dan tidak dapat mencapai dan bereaksi dengan sisi sensitif sel, yaitu DNA.

Hasil pengamatan pada *B. cereus* menunjukkan bahwa mekanisme kerja ekstrak etil asetat bunga kecombrang adalah merusak dinding sel bakteri dan selanjutnya merusak membran sitoplasma dan menghambat proses pembelahan sel yang ditunjukkan dengan terbentuknya sekat. Mekanisme kerusakan pada membran sel didukung oleh tingginya nilai absorbansi (0,484) dibandingkan dengan kontrol (0,006) pada panjang gelombang 260 nm.

Sensitivitas *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*, *E. coli* dan *A. hydrophila* terhadap ekstrak bunga kecombrang diteliti lebih lanjut dengan mengamati kebocoran protein (0,589 – 1,156) dan asam nukleat (0,471-1,177) dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang 280 dan 260 nm. Diduga mekanisme kerja ekstrak etil asetat bunga kecombrang terhadap keempat bakteri ini sama dengan *P. aeruginosa* dan *B. cereus* yaitu senyawa antimikroba merusak dinding sel dan merusak membran sitoplasma sehingga menyebabkan kebocoran protein dan asam nukleat.

B. Aktivitas Antimikroba

Aktivitas antimikroba adalah aktivitas suatu senyawa untuk menghambat atau membunuh mikroba. Antimikroba dapat berupa Untuk mempertimbangkan kemungkinan pemanfaatan bunga kecombrang dalam bentuk ekstrak maka dilakukan kajian aktivitas antibakteri ekstrak bubuk bunga kecombrang. Hasil ekstraksi bertahap pada bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) dengan menggunakan beberapa polaritas pelarut berturut-turut heksana (nonpolar), etil asetat (semipolar) dan etanol (polar) diperoleh rendemen ekstrak nonpolar 9,1%, semipolar 2,4% dan polar 2,92% (b/b) dari bubuk bunga kecombrang. Polaritas ekstrak bunga kecombrang mempengaruhi aktivitas antibakteri. Hal ini ditunjukkan oleh ekstrak heksana dengan rendemen lebih tinggi dari ekstrak etil asetat dan etanol ternyata tidak memiliki aktivitas antibakteri. Ekstrak heksana mengandung senyawa steroid, alkaloid dan glikosida serta minyak atsiri 17,04% (b/b) dari berat ekstrak, namun diduga kontak antara senyawa fitokimia dan minyak atsiri dengan sel bakteri terhalang oleh adanya minyak dan lemak yang terkandung dalam ekstrak heksana. Minyak dan lemak

lainnya yang mempunyai ukuran molekul besar, mengganggu proses difusi dan melindungi bakteri dari senyawa antibakteri, sehingga ekstrak heksana tidak cukup untuk berdifusi dan tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi sumur pada agar cawan, ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol memiliki aktivitas antibakteri terhadap 7 bakteri uji yaitu *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas hydrophila*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium, *Bacillus cereus* (spora dan sel vegetatif) dan *E. coli*. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak bunga kecombrang memiliki spektrum penghambatan luas meliputi bakteri Gram positif, negatif dan pembentuk spora. Satu bakteri uji yaitu *Lactobacillus plantarum* memperlihatkan resistensi terhadap ekstrak bunga kecombrang, hingga konsentrasi 30 mg/ml belum menunjukkan penghambatan, sementara untuk bakteri uji lain penghambatan pertumbuhan hanya memerlukan konsentrasi 3 - 13 mg/ml. Lavlinesia (2004) juga melaporkan bahwa *L. plantarum* merupakan bakteri yang paling resisten terhadap ekstrak etil asetat biji atung. Elgayyar *et al.* (2001) melaporkan bahwa *L. plantarum* memiliki resistensi terhadap minyak atsiri *coriander*, *oregano*, *rosemary*, *fennel* dan *cardamom* serta antibiotika standar (tetrasiklin, kloramfenikol, ampisilin, penisilin).

Ekstrak etil asetat memberikan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi daripada ekstrak etanol. Hal ini berkaitan dengan komponen-komponen yang terkandung dalam masing-masing ekstrak. Hasil analisis komponen fitokimia bunga kecombrang yang diekstraksi dengan etil asetat dapat mengekstraksi steroid, terpenoid, alkaloid, flavonoid dan glikosida, sedangkan ekstraksi dengan etanol dapat mengekstrak fenolik, steroid, terpenoid, alkaloid, dan glikosida. Perbedaan steroid hanya terekstrak dalam pelarut etil asetat dan fenolik hanya terekstrak dalam pelarut etanol. Steroid memiliki sifat nonpolar sampai semipolar (Robinson 1995; Bruneton 1993), sedangkan fenolik dalam ekstrak etanol bersifat lebih polar daripada steroid. Diduga sinergisme dari komponen fitokimia yang bersifat semipolar dalam ekstrak etil asetat menjadi lebih mudah berdifusi karena memiliki polaritas optimum dibandingkan ekstrak etanol. Senyawa dengan polaritas optimum memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kuat.

Menurut Kanazawa *et al.* (1995) suatu senyawa yang mempunyai polaritas optimum akan mempunyai aktivitas antimikroba maksimum, karena untuk interaksi

suatu senyawa antibakteri dengan sel bakteri diperlukan keseimbangan hidrofilik-lipofilik (HLB :*hydrophilic lipophilic balance*). Oleh karena itu polaritas senyawa antibakteri merupakan sifat fisik yang penting. Sifat hidrofilik diperlukan untuk menjamin senyawa antimikroba larut dalam fase air yang merupakan tempat hidup mikroba.

Akan tetapi senyawa yang bekerja pada membran sel yang sifatnya hidrofobik memerlukan pula sifat lipofilik. Ekstrak etil asetat dan etanol bunga kecombrang dapat menghambat bakteri patogen dan perusak pangan dengan nilai MIC 3 – 13 mg/ml. Tabel 10.1 menunjukkan nilai MIC ekstrak bunga kecombrang terhadap *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. Typhimurium*, *B. cereus* dan *L. monocytogenes* secara umum lebih rendah dibanding ekstrak jahe, ekstrak buah atung, ekstrak daun beluntas, ekstrak daun salam, ekstrak biji atung dan ekstrak lengkuas. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas ekstrak bunga kecombrang relatif lebih kuat sebagai antibakteri.

P. aeruginosa merupakan bakteri yang paling sensitif dibanding bakteri uji lainnya baik terhadap senyawa antibakteri ekstrak etil asetat maupun etanol bunga kecombrang. Sensitivitas *P. aeruginosa* ditunjukkan dengan nilai MIC yang rendah, yaitu 3 mg/ml. Apabila dibandingkan dengan ekstrak lengkuas (7,5 mg/ml), ekstrak buah atung (7 mg/g) menunjukkan aktivitas ekstrak bunga kecombrang relatif kuat digunakan sebagai antibakteri.

Ketahanan *S. aureus* ditunjukkan dengan nilai MIC yang tinggi yaitu 10 mg/ml (ekstrak etil asetat) dan 13 mg/ml (ekstrak etanol). *S. aureus* resisten terhadap ekstrak bunga kecombrang. Pengujian aktivitas antibakteri daun sirih (Sugiastuti 2002) dan antibakteri biji atung (Moniharapon 1998) juga menunjukkan bahwa *S. aureus* merupakan bakteri yang paling resisten.

C. Analisis Aktivitas Antimikroba

Teknik yang digunakan untuk pengujian aktivitas antimikroba diantaranya MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*), seleksi aktivitas antimikroba dengan difusi cakram dan difusi sumur, penentuan kerapatan aktivitas antimikroba dengan kurva kematian sel dan pengamatan efek fisik dari aktivitas antimikroba dengan *Scanning electron microscope* (Sara 2004).

Penghambatan mikroba oleh suatu senyawa antimikroba dinyatakan dengan nilai

MIC yaitu konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba sebanyak 90 % dari inokulum asal selama inkubasi 24 jam (Cosentino *et al.* 1999). Nilai MIC dan MBC senyawa antimikroba dari ekstrak rempah-rempah maupun tanaman berbeda-beda bergantung pada jenis mikroba dan senyawa antimikroba.

Komponen fenolik dalam ekstrak teh yaitu α -terpineol dan linalool, dapat membunuh *E. coli* masing-masing pada MIC 0,06 mg/ml (Carson & Riley 1995). Antibiotika siprofloksasin dan tobramisin masing-masing menghambat pertumbuhan *Pseudomonas cepacia* pada MIC 6,25 μ g/ml dan 50 μ g/ml (McKenney *et al.* 1994). Nilai MIC senyawa antimikroba yang lebih rendah menunjukkan bakteri lebih sensitif terhadap senyawa tersebut.

Fase pertumbuhan bakteri berpengaruh pada sensitifitas bakteri terhadap senyawa antimikroba. Menurut Thompson dan Hintom (1996) bakteri pada fase stasioner lebih sensitif terhadap antimikroba asam lemak rantai pendek daripada bakteri fase pertumbuhan. Hal ini disebabkan karena penambahan asam rantai pendek seperti propionat pada fase pertumbuhan *E. coli* dapat dimanfaatkan sebagai pembentuk asam lemak yang berinkorporasi dengan atom karbon yang lain ke dalam membran sitoplasma.

Seleksi aktivitas antimikroba dengan difusi sumur dan difusi cakram digunakan sebagai pengujian pendahuluan. Metode ini dipengaruhi oleh ketebalan lapisan agar dan volume minyak atsiri yang terserap dalam cakram, sehingga metode ini digunakan untuk seleksi awal bermacam-macam minyak atsiri atau bermacam-macam mikroba yang diuji (Dorman dan Deans, 2000).

Kerusakan dinding sel mikroba dan kebocoran kandungan sel mikroba akibat adanya interaksi dengan antimikroba dapat dipelajari dengan SEM (Lambert *et al.*, 2001; Burt dan Reinders, 2003). Preparasi sampel untuk analisis SEM perlu menjamin bahwa perbedaan pengamatan antara kontrol dengan perlakuan disebabkan oleh adanya perlakuan minyak atsiri dan bukan karena metode preparasi.

D. Pengujian Aktivitas Antimikroba

Mikroba yang dapat digunakan untuk menguji aktivitas antimikroba yang penerapannya terutama pada pangan meliputi bakteri, kapang dan khamir. Mikroba-mikroba tersebut dapat digolongkan dalam mikroba patogen dan/atau perusak yang

dapat dihambat pertumbuhannya dengan antimikroba baik alami maupun sintetis.

Kepekaan mikroba berbeda-beda tergantung komponen aktif yang terdapat dalam tanaman. Mikroba perusak pangan dan patogen yang digunakan pada penelitian umumnya adalah dari jenis bakteri pembentuk spora yaitu *Bacillus cereus*, bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Listeria monocytogenes*, bakteri Gram negatif yaitu *Salmonella Typhimurium* dan *Escherichia coli*, bakteri perusak *Pseudomonas aeruginosa*, dan kapang penyebab kerusakan yaitu *Penicillium funiculosum*, *Aspergillus flavus* dan *Rhizopus oligosporus* (Naufalin, 2005).

Bacillus cereus

Bacillus cereus mempunyai suhu optimum antara 28 – 35 °C dan maksimum 48 °C. Waktu generasinya antara 18 – 27 menit. *B. cereus* tumbuh pada range pH yang lebar yaitu dari 4,9 – 9,3 dan pada konsentrasi garam sampai 7,5%. Mempunyai spora yang relatif tahan panas, meskipun nilai D-nya bervariasi, nilai D100 berkisar dari 2,7 – 3,1 menit. Proses germinasinya cepat dan pada beberapa galur terjadi dalam waktu 30 menit. Germinasi membutuhkan sejumlah molekul kecil yaitu glisin atau alanin dan purin ribosida (Jay 1996).

Keberadaan bakteri ini perlu diwaspadai karena kebiasaan masyarakat Indonesia yang gemar menyimpan makanan matang tanpa perlakuan khusus atau memasak tanpa suhu pemanasan yang tinggi. Makanan tersebut potensial untuk tercemar oleh *B. cereus*. Bakteri ini menyebabkan keracunan yang terjadi di Eropa pada tahun 1906 (Jay 1996).

B. cereus galur CIP 51.27 dan Z 4234 merupakan bakteri yang paling sensitif diantara bakteri Gram positif terhadap ekstrak *rosemary* dengan konsentrasi 0,06% (Campo *et al.* 2000).

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus merupakan mikroba flora normal yang terdapat pada permukaan tubuh, seperti pada permukaan kulit, rambut, hidung, mulut dan tenggorokan. *S. aureus* banyak mencemari pangan karena tindakan yang tidak higienis dalam penanganan pangan (Adam dan Moss 1995).

Suhu optimum pertumbuhan *S. aureus* adalah 35 – 37°C, suhu minimum 6,7°C dan suhu maksimum 45,5°C. Bakteri ini dapat tumbuh pada pH 4,0 – 9,8 dengan pH optimum sekitar 7,0 – 7,8. Pertumbuhan pada pH mendekati 9,8 hanya mungkin bila substratnya mempunyai komponen yang baik untuk pertumbuhan (Fardiaz dan Jenie 1988).

Minyak esensial dari *thyme* dapat menghambat *S. aureus* dengan konsentrasi 0,12 mg/ml (Bruni *et al.* 2004). Ekstrak *rosemary* dengan konsentrasi 0,25% - 1,0% dapat bersifat bakterisidal terhadap *S. aureus* (Campo *et al.* 2000). Bakteri gram positif seperti *S. aureus* lebih sensitif terhadap 21 jenis minyak atsiri tumbuhan dibandingkan bakteri Gram negatif (Palmer *et al.* 1998).

Listeria monocytogenes

Listeria monocytogenes merupakan bakteri patogen dengan sifat-sifat sebagai berikut: berbentuk batang, ukuran panjang 0,5 – 2,0µm, diameter 0,4-0,5µm, mempunyai flagella (motilitas positif), katalase positif, anaerobik fakultatif, memproduksi asam dari dekstrosa atau maltosa (tanpa gas), tumbuh pada suhu 2,5-44°C dan bersifat fermentatif (Fardiaz 1985). Pernah dilaporkan bahwa *Listeria monocytogenes* dapat tumbuh pada suhu 0°C, juga dapat hidup pada suhu 37°C selama 15 hari dalam substrat yang mengandung NaCl 10,5% atau 10 hari (NaCl 13%) atau 5 hari (NaCl 20%) dan pada suhu 4°C dapat bertahan hidup sampai 100 hari dalam substrat yang mengandung NaCl 10,5%.

Keberadaan spesies *Listeria monocytogenes* dalam produk pangan menjadi perhatian penting terutama pada industri pengolahan pangan termasuk produk-produk olahan daging dan unggas (Ming *et al.* 1997). Jumlah *L. monocytogenes* dalam bahan pangan harus dikendalikan dan tidak boleh lebih dari satu sel per gram bahan. Hal lain yang harus diperhatikan adalah pengendalian keberadaan bakteri ini pada produk pangan yang disimpan dingin (dalam lemari pendingin), karena dapat berkembang biak pada suhu 0°C. Pada suhu 4,4°C, bakteri ini dapat tumbuh menjadi dua kali lipat setelah 24 jam.

L. monocytogenes sensitif terhadap 21 jenis minyak atsiri tumbuhan seperti minyak kayu putih, kayu manis, dan cengkeh (Palmer *et al.* 1998). *L.*

monocytogenes dapat dihambat dengan ekstrak cengkeh dan *oregano* nilai MIC 50-70 mg/ml, juga ekstrak *sage* dan *rosemary* dengan nilai MIC 70-100 mg/ml (Ting & Diebel 1992).

Salmonella Typhimurium

Salmonella spp merupakan bakteri patogen yang harus *negatif* pada produk makanan. *Salmonella* dapat tumbuh pada kisaran suhu 5 – 45 °C, dengan suhu optimum 37 °C, meskipun dapat tumbuh pada suhu di bawah 10 °C. pH optimum 6,5 – 7,5. Memiliki ketahanan panas yang tinggi pada pH 5,5 dan aw rendah. Viabilitas *Salmonella* menurun selama penyimpanan beku (Portillo 2000). *Salmonella* terbagi menjadi 3 spesies yaitu *S. Typhi*, *S. enterica* dan *S. enteritidis*. *Salmonella Typhimurium* merupakan spesies *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (D'Aost 2000).

Infeksi *Salmonella* pada bahan pangan banyak mendapat perhatian, karena bakteri ini seringkali menjadi penyebab *Food borne disease*. Diperkirakan lebih dari 1/3 kejadian luar biasa (KLB) yang terjadi disebabkan karena konsumsi makanan terinfeksi oleh *Salmonella spp*. Insiden ini terjadi dan cenderung semakin meningkat, terutama di negaranegara industri (Stock & Stolle 2001).

Salmonella dapat ditekan pertumbuhannya dengan minyak esensial dari bunga *crysan* dengan nilai MIC sebesar 6,25 mg/ml dan diameter zona hambat sebesar 19 mm (Shunying *et al.* 2005).

Escherichia coli

Escherichia coli merupakan flora normal yang terdapat pada saluran pencernaan manusia dan hewan. *E. coli* merupakan mikroba patogen Gram negatif yang banyak menimbulkan gangguan kesehatan pada manusia. (Doyle *et al.* 2001). Bakteri ini dapat tumbuh dalam kisaran suhu yang luas yaitu mulai dari 1 - 45 °C, sehingga kemungkinan pangan tercemar bakteri ini sangat besar bila penanganan bahan pangan kurang memadai (Fardiaz 1996).

Bakteri ini termasuk dalam gram negatif, berbentuk batang dengan ukuran 1,1 –

1,5 µm x 2 – 6 µm, bersifat motil karena adanya flagela. Aktivitas antimikroba minyak esensial dari bunga *chrysan* dapat menghambat *E. coli* pada konsentrasi 0,39 mg/ml dan diameter zona hambat sebesar 25 mm (Shunying *et al.* 2005).

Aeromonas hydrophila

A. hydrophila termasuk bakteri Gram negatif yang sering menyebabkan kejadian luar biasa karena mengakibatkan gastroenteritis. Suhu pertumbuhan bakteri ini 4 -5 °C sampai 42-43 °C, dengan suhu optimum pertumbuhan 28 °C dan pada kisaran pH 4,5–9. *A. hydrophila* dapat tumbuh pada media yang mengandung NaCl dengan konsentrasi 0 – 4%.

Minyak esensial dari cengkeh pada 500 µg/ml dapat menghambat pertumbuhan *A. hydrophila* dalam media mikrobiologi pada pengemasan vakum (Davidson 2001).

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas sp. merupakan salah satu bakteri yang sering menimbulkan kebusukan pada makanan seperti pada susu, daging dan ikan; diantaranya terdiri dari spesies *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens*, dan *P. putida*. *Pseudomonas* merupakan bakteri gram negatif, bersifat aerob dan dapat tumbuh pada media sederhana, bentuk sel bervariasi dari batang, koma dan kadang-kadang bulat, oksidase dan katalase positif (Doyle *et al.* 2001).

Pseudomonas sp. mudah tumbuh dan menyebabkan kerusakan pada beragam produk pangan dikarenakan kemampuannya untuk menggunakan berbagai sumber karbon bukan karbohidrat dan komponen nitrogen sederhana sebagai sumber energi, mampu mensintesis sendiri vitamin dan faktor-faktor pertumbuhan lainnya, bersifat lipolitik, proteolitik dan pektinolitik, tumbuh baik pada suhu dingin (dalam lemari pendingin) dan menghasilkan senyawa-senyawa penyebab bau busuk pada pangan (Frazier & Westhoff 1988).

P. aeruginosa dapat dihambat oleh ekstrak *Syzygium* dengan konsentrasi 1000 µg/ml (Djipa *et al.* 2000) dan dilaporkan oleh Messenger *et al.* (2005) aktivitas *tea tree oil* dapat menurunkan 4 log sel *P. aeruginosa* selama waktu kontak 5 menit.

Kapang

Kapang adalah kelompok mikroba yang tergolong dalam fungi yang mempunyai filamen. Beberapa jenis kapang yang dipelajari yaitu : (1) *Rhizopus* sp. yang sering disebut juga kapang roti karena sering tumbuh dan menyebabkan kerusakan pada roti. Selain itu kapang ini juga sering tumbuh pada sayuran dan buah-buahan, (2) *Aspergillus* sp. yang tersebar luas di alam dan kebanyakan spesies menyebabkan kerusakan makanan. *Aspergillus* sp. tumbuh baik pada substrat dengan konsentrasi gula dan garam tinggi, oleh karena itu dapat tumbuh pada makanan dengan kadar air rendah. Grup ini mempunyai konidia berwarna hijau dan membentuk askospora yang terdapat di dalam aski dan (3) *Penicillium* sp. banyak tersebar di alam dan menyebabkan kerusakan pada sayuran, buah-buahan dan sereal (Fardiaz 1992).

Beberapa penelitian telah membuktikan adanya aktivitas antikapang dari ekstrak tanaman, antara lain dilakukan oleh Fitzgerald *et al.* (2005) menggunakan vanilin dengan konsentrasi 3 mM untuk menghambat *P. funiculosum*. Kordali *et al.* (2005) menggunakan *Artemisia* dengan konsentrasi 10 – 40 µl untuk menghambat pertumbuhan miselia *Penicillium* sp. Vági *et al.* (2005) telah membuktikan efek penghambatan ekstrak etanol *origanum* terhadap *Aspergillus* sp. dengan konsentrasi 2,5 % b/v. López *et al.* (2005) menggunakan *carvacrol*, *citral*, *eugenol*, *thymol* dan *vanilin* untuk menghambat diameter pertumbuhan koloni *A. flavus*.

E. Pengaruh Proses Pengolahan pada Aktivitas Antimikroba

Kemampuan senyawa antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh kestabilannya pada saat proses pengolahan produk pangan, diantaranya adalah tingkat keasaman (pH), penambahan sukrosa dan garam, suhu dan waktu pengolahan.

Tingkat keasaman (pH) merupakan faktor yang sangat mempengaruhi efektivitas senyawa antimikroba. Sebagian besar senyawa antimikroba pangan merupakan asam-asam lemah yang efektif dalam bentuk tidak terdisosiasi karena dalam bentuk ini senyawa antimikroba tersebut dapat masuk dalam membran sitoplasma mikroorganisme (Davidson 1997).

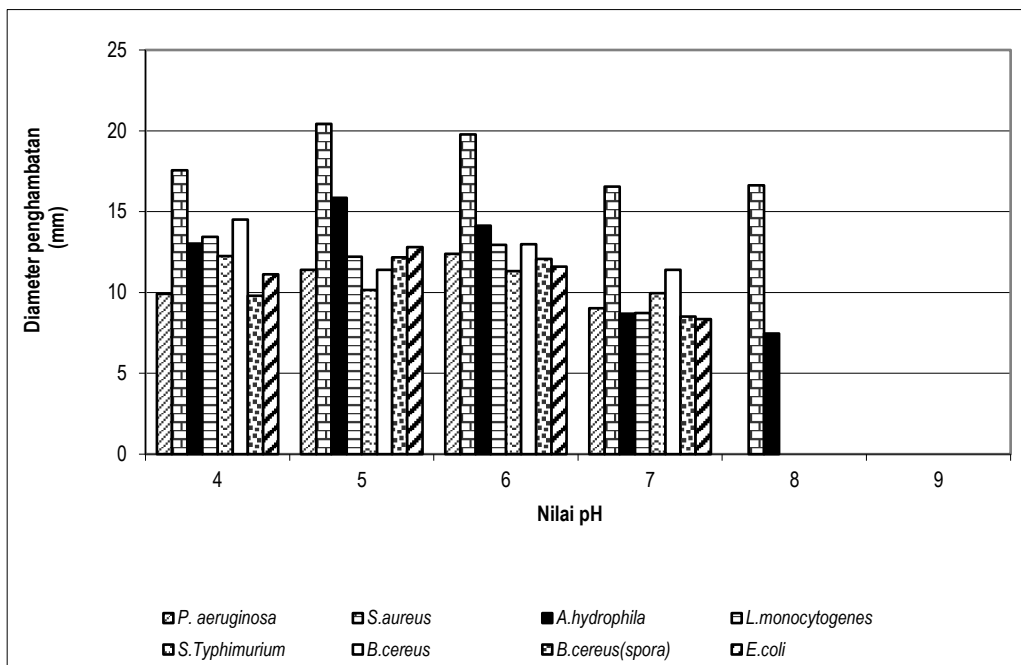
Asam lemah dapat menurunkan pH sitoplasma, mempengaruhi struktur membran dan fluiditasnya serta mengkelat ion-ion dalam dinding sel bakteri (Stratford 2000). Penurunan pH sitoplasma akan mempengaruhi protein struktural sel, enzim-enzim, asam nukleat dan fosfolipid membran (Davidson 1997). Asam laktat dan asam klorida dilaporkan dapat mempengaruhi struktur membran dan fluiditas bakteri Gram negatif dengan melepaskan LPS dari *outer membrane* dan menyebabkan membran menjadi permeabel terhadap senyawa hidrofobik (Alakomi *et al* 2000), sedangkan asam sitrat, asam malat dan asam tartarat mengganggu permeabilitas membran dengan mengkelat kation-kation pada dinding sel bakteri (Stratford 2000).

Nilai pH bahan pangan dan pangan olahan secara umum berkisar antara 4-7. Studi stabilitas aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat bunga kecombrang menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dan etanol bunga kecombrang yang dihasilkan masih stabil pada kondisi pH 7, akan tetapi efektivitas antibakteri lebih baik pada pH 4. Sedangkan pada pH 9, ekstrak etil asetat tidak memberikan penghambatan pada semua bakteri uji. Pengaruh ekstrak etil asetat pada pH rendah terhadap bakteri uji menunjukkan adanya peningkatan efek penghambatan dibanding pH tinggi. Kemampuan ekstrak etil asetat sebagai antibakteri lebih aktif pada pH rendah, diduga terjadi sinergisme antara komponen antibakteri dengan komponen pengatur keasaman. Substitusi antara bagian komponen antibakteri dengan asam klorida sebagai halogen menyebabkan kerusakan membran sel lebih efektif. Hal ini disebabkan karena reaksinya dengan adanya ion Cl yang mengharuskan sel mengeluarkan energi ekstra (Shelef dan Seiter 1993).

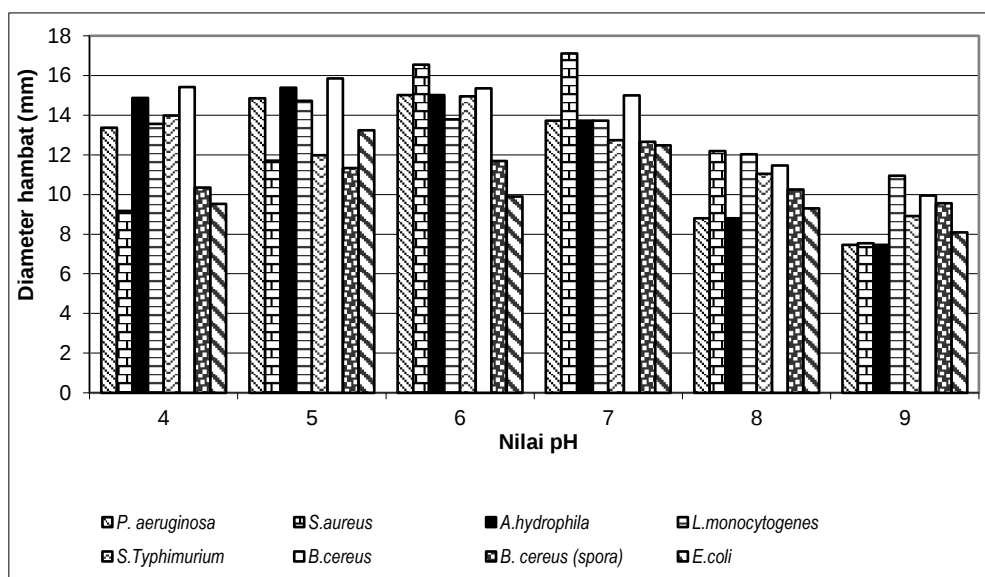
Data hasil pengujian pengaruh pH terhadap aktivitas antibakteri terdapat pada Lampiran 4a dan dijelaskan pada Gambar 5.1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas ekstrak etil asetat bunga kecombrang terhadap bakteri uji dipengaruhi oleh pH. Pengaruh pH dan ekstrak etil asetat bunga kecombrang terhadap *S. aureus*, *E. coli*, *A. hydrophila*, *B. cereus* (spora) dan *P. aeruginosa* aktivitasnya meningkat pada pH 5-6, sedangkan terhadap *Salmonella* Typhimurium, *L. monocytogenes* dan *B. cereus* (sel vegetatif) aktivitas paling tinggi pada pH 4. Namun pada pH 8 aktivitas ekstrak etil asetat hanya memberikan penghambatan pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *A. hydrophila*. Sedangkan pada pH 9, ekstrak etil asetat tidak memberikan penghambatan pada semua bakteri uji.

Pengaruh ekstrak etil asetat pada pH rendah terhadap bakteri uji menunjukkan adanya peningkatan efek penghambatan dibanding pH tinggi. Kemampuan ekstrak etil asetat sebagai antibakteri lebih aktif pada pH rendah, diduga terjadi sinergisme antara komponen antibakteri dengan komponen pengatur keasaman. Substitusi antara bagian komponen antibakteri dengan asam klorida sebagai halogen menyebabkan kerusakan membran sel lebih efektif. Hal ini disebabkan karena reaksinya dengan enzim atau karena adanya ion Cl yang mengharuskan sel mengeluarkan energi ekstra (Shelef & Seiter 1993).

Mekanisme penghambatan pada pH rendah disebabkan pada kondisi tersebut sel mempertahankan pH konstan di dalam sel. Jika pH diturunkan maka proton yang terdapat dalam jumlah tinggi dalam medium akan masuk ke dalam sitoplasma sel. Proton (ion H^+) dari asam masuk dalam sel melalui gradien proton trans membran (Ray 2001). Hal ini menyebabkan pH sitoplasma menurun. Penurunan pH sitoplasma menyebabkan enzim-enzim akan bekerja untuk mengembalikan pH internal sel menjadi pH normal (Booth 1985). Proton ini harus dikeluarkan untuk mencegah terjadinya pengasaman dan denaturasi komponen-komponen sel. Aktivitas mengembalikan pH internal sel menjadi pH normal menggunakan banyak energi. Bila energi yang dibutuhkan dalam jumlah tinggi, akan mengganggu metabolisme sel, sehingga lama kelamaan sel akan mengalami kematian (Fardiaz 1992).



Gambar 2.2 Pengaruh pH terhadap aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat bunga kecombrang



Gambar 2.3 Pengaruh pH terhadap aktivitas antibakteri ekstrak etanol bunga kecombrang

Pada ekstrak etanol bunga kecombrang (Gambar 2.3) aktivitas antibakteri secara umum tetap stabil pada pH 4-7. Pada pH basa (8-9), aktivitas antibakteri menurun, tetapi masih menunjukkan penghambatan (data selengkapnya disajikan pada Lampiran 4b). Hal ini didukung oleh Campo *et al.* (2000) yang menyatakan bahwa aktivitas antimikroba *rosemary* meningkat dengan menurunnya pH karena sel-sel yang mengalami stres pada pH rendah akan lebih sensitif terhadap ekstrak *rosemary*. Pengaruh pH dan minyak atsiri juga telah dibuktikan dimana pada pH rendah diperoleh daya antibakteri terbesar (Nychas & Tassou 2000).

Berdasarkan analisis fitokimia terhadap ekstrak etanol bunga kecombrang, senyawa yang terdapat dalam ekstrak tersebut adalah fenolik, triterpenoid, alkaloid, flavonoid dan glikosida. Dilaporkan pula bahwa kelopak bunga kecombrang mengandung senyawa flavonoid berupa antosianin yang tersusun dari gugus fenol (Tampubolon *et al.* 1983) sebesar 71,7 ppm (Kardono & Dewi 1998). Senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak tanaman semakin efektif pada pH rendah. Struktur gugus hidroksil senyawa flavonoid memegang peranan penting dalam aktivitas antibakteri dimana pada pH rendah terjadi reaksi alkilasi dan hidroksilasi sehingga akan meningkatkan distribusi gugus fenol pada fase air dan fase lipid pada membran sel bakteri (Dorman & Deans 2000; Puupponen-Pimia 2001).

Penggunaan senyawa antibakteri pada produk pangan tidak lepas dari adanya bahan tambahan lainnya, diantaranya gula atau sukrosa dan garam. Sukrosa merupakan disakarida berasa manis yang sering pula digunakan sebagai bahan pengawet khususnya komoditas yang telah mengalami perlakuan panas. Perendaman dalam larutan gula secara bertahap pada konsentrasi yang semakin tinggi merupakan salah satu cara pengawetan pangan dengan gula. Gula seperti halnya garam juga menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri penyebab pembusukan, kapang, dan khamir. Adanya sukrosa pada produk makanan yang diberi antimikroba akan mempengaruhi aktivitas antibakteri tersebut serta mempengaruhi kestabilan antibakteri dalam bahan pangan tersebut. Menurut Gaman dan Sherington (1981) penambahan sukrosa dalam pembuatan produk pangan berfungsi untuk memberikan

rasa manis dan dapat pula sebagai pengawet bila pada konsentrasi tinggi, yaitu dapat menghambat pertumbuhan mikroba dengan cara menurunkan aktivitas air dari bahan pangan.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa garam dapat meningkatkan daya hambat senyawa fenolik atau minyak atsiri. Bagamboula *et al* (2003) melaporkan bahwa penghambatan thyme dan kemangi terhadap *Shigella sonnei* semakin besar dengan meningkatnya konsentrasi garam. Pengaruh yang sama dari garam terhadap daya hambat senyawa fenolik juga dilaporkan oleh Campo *et al.* (2000) dimana daya hambat terbesar ekstrak rosemary terhadap *Leuconostoc mesenteroides*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* dan *B. cereus* ditemukan pada kandungan garam yang tertinggi. Pengaruh penghambatan sage terhadap *B. cereus* dalam nasi juga meningkat dengan penambahan garam (Nychas dan Tassou 2000). Garam juga memberikan pengaruh sinergisme terhadap senyawa fenolik BHA. Peningkatan konsentrasi garam dari 3% menjadi 7% akan menurunkan jumlah BHA yang dibutuhkan untuk menghambat *S. aureus* sebesar dua kali (Stern *et al.* 1979).

Penambahan NaCl sampai 4% pada ekstrak akan menyebabkan peningkatan aktivitas antibakteri, namun pada konsentrasi 5% terjadi penurunan aktivitas. Hal ini disebabkan karena NaCl sendiri dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan menurunkan aktivitas air, merusak membran sel dan menyebabkan osmolisis (Brewer, 2000).

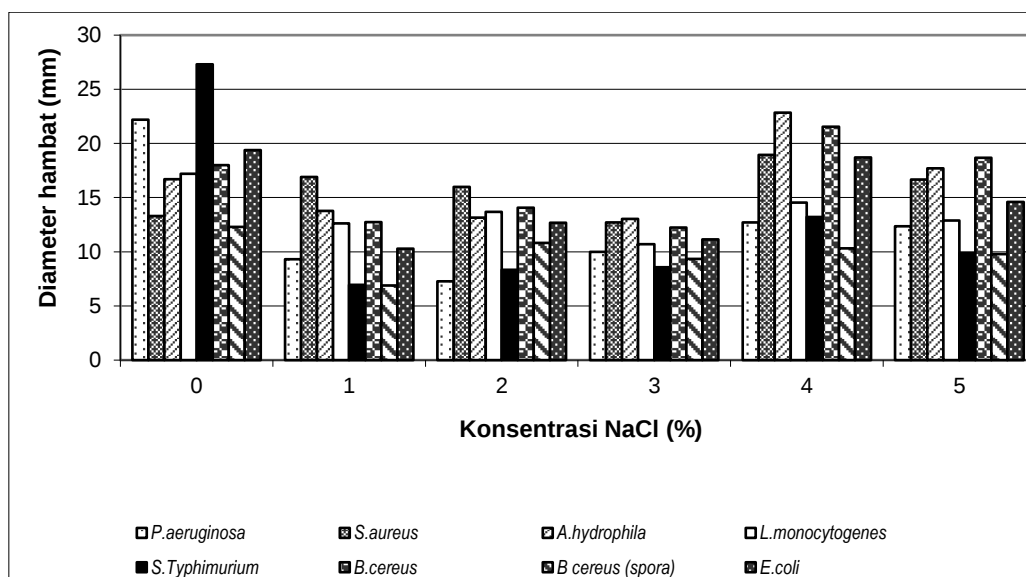
Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat bunga kecombrang dalam berbagai konsentrasi garam NaCl (1-5%) disajikan pada Gambar 5.3 dan data selengkapnya disajikan pada Lampiran 5a. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi NaCl pada ekstrak etil asetat berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *Salmonella* Typhimurium, *E. coli*, *A. hydrophila* dan *P. aeruginosa*. Penambahan NaCl sampai 4% pada ekstrak akan menyebabkan peningkatan aktivitas antibakteri, namun pada konsentrasi 5% terjadi penurunan aktivitas. Hal ini disebabkan karena NaCl sendiri dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan menurunkan aktivitas air, merusak membran sel dan menyebabkan osmolisis (Brewer, 2000).

Peningkatan aktivitas antibakteri beberapa senyawa antimikroba bila digunakan

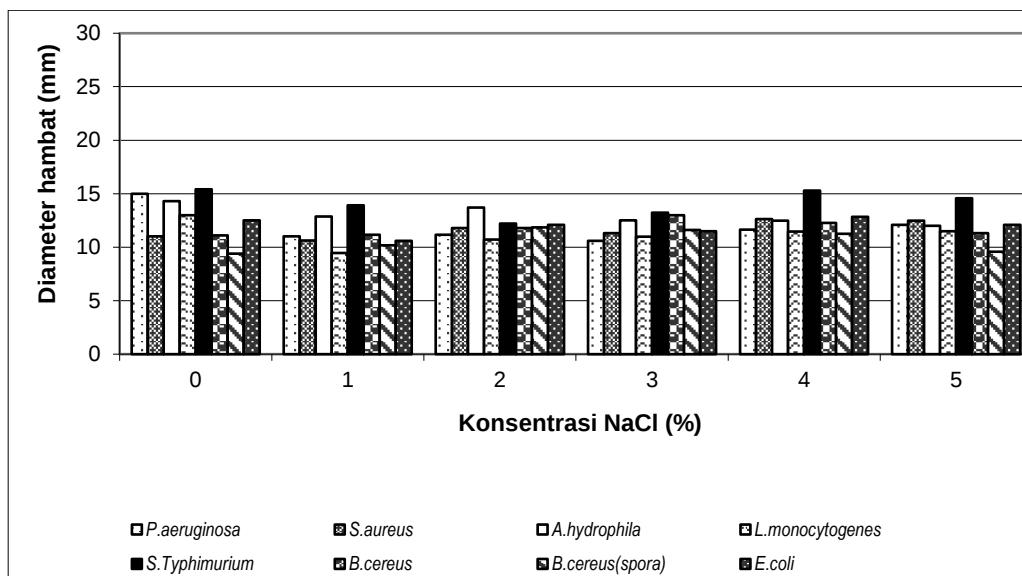
bersama-sama dengan NaCl telah dibuktikan oleh Campo *et al.* (2000) yang melaporkan bahwa sel bakteri yang mengalami stres dengan konsentrasi NaCl 10 % akan lebih sensitif terhadap ekstrak *rosemary*.

NaCl dengan konsentrasi 4 % meningkatkan aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat terhadap *S. aureus* dan *A. hydrophila* yaitu masing-masing dari 13,3 mm menjadi 18,9 mm dan dari 16,7 mm menjadi 22,3 mm (Gambar 5.3). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilaporkan oleh Stern *et al.* (1979) bahwa pemberian NaCl dari 3% menjadi 7% akan menurunkan jumlah BHA yang diperlukan untuk menghambat *Staphylococcus aureus* sebesar dua kali.

Pada *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *Salmonella* Typhimurium, *E. coli* dan *P. aeruginosa*, pengaruh NaCl menyebabkan penurunan aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat (Gambar 2.4). Pada *L. monocytogenes*, ekstrak etil asetat 30 mg/ml menghasilkan penghambatan sebesar 17,2 mm, tetapi penambahan NaCl 5% menurunkan penghambatan menjadi 12,9 mm. Hal ini sesuai dengan penelitian yang menunjukkan bahwa pengaruh garam akan menurunkan aktivitas antimikroba beberapa senyawa antimikroba (Beuchat *et al.* 1994).



Gambar 2.4 Pengaruh konsentrasi NaCl terhadap aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat bunga kecombrang



Gambar 2.5 Pengaruh konsentrasi NaCl terhadap aktivitas antibakteriekstrak etanol bunga kecombrang

Beuchat *et al* (1994), melaporkan bahwa NaCl pada konsentrasi 5% dapat memberikan efek perlindungan pada proses inaktivasi *L. monocytogenes* pada ekstrak jus wortel. Lebih lanjut dijelaskan bahwa efek perlindungan ini disebabkan oleh terhambatnya pembentukan senyawa antimikroba yang dapat menyebabkan kematian *L. monocytogenes*.

Pengaruh NaCl terhadap ekstrak etanol bunga kecombrang menunjukkan bahwa NaCl 1-5 % merupakan konsentrasi yang dapat memberikan efek antibakteri pada semua bakteri uji (Gambar 2.5) dan data selengkapnya disajikan pada Lampiran 5b. Berbeda dengan ekstrak etil asetat dimana aktivitasnya semakin meningkat dengan adanya konsentrasi NaCl yang semakin meningkat (1-4%), pengaruh konsentrasi NaCl (1-5%) pada ekstrak etanol cenderung tidak merubah aktivitas antibakteri.

Gambar 2.5 menunjukkan pengaruh garam pada ekstrak etanol terhadap bakteri uji dibandingkan dengan kontrol (tanpa penambahan garam). Resistansi *E. coli* terhadap ekstrak etanol bunga kecombrang dan garam, lebih rendah dibandingkan kontrol. Hal ini sesuai dengan penelitian Glass *et al.* (1992) dimana *E. coli* 0157:H7

dilaporkan mampu tumbuh pada konsentrasi garam 6,5% dan menurut McClure dan Hall (2000), *E. coli* dapat bertahan hidup selama 60 hari pada kombinasi NaCl 12% dan asam laktat 0,2%.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol yang ditambahkan garam terhadap spora dan sel vegetatif *B. cereus*, menghasilkan areal penghambatan terhadap sel vegetatif yang lebih besar bila dibandingkan dengan spora. Hal ini menunjukkan bahwa spora mempunyai ketahanan yang lebih tinggi dibandingkan dengan sel vegetatifnya. Perbedaan ketahanan ini diduga karena perbedaan struktur fisik dan kimia antara spora dan sel vegetatifnya (Cano & Colome 1986).

Suhu dan waktu pemanasan juga mempengaruhi stabilitas senyawa antimikroba. Senyawa antimikroba yang bersifat volatil akan menguap dan hilang jika dipanaskan (Brannen 1993). Ewald *et al.* (1999) melaporkan bahwa aktivitas antibakteri kuersetin dan kaempferol dari golongan flavonoid menurun sebesar 48 dan 68 % dengan adanya pemanasan pada suhu 60°C selama 2 jam.

Pemanasan ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol pada suhu 80 dan 100°C selama 10, 20 dan 30 menit serta 121°C selama 10 menit masih stabil aktivitas antibakterinya. Ekstrak bunga kecombrang setelah pemanasan 121°C selama 10 menit masih menunjukkan aktivitas antibakteri, hal ini berarti ekstrak bunga kecombrang stabil pada pemanasan. Hurst dan Hoover (1993) melaporkan bahwa antibakteri nisin tidak kehilangan aktivitasnya setelah pemanasan dengan otoklaf pada suhu 121°C. Nisin ditambahkan sebagai pengawet pada produk kaleng, karena nisin dapat menginaktivkan spora bakteri, dengan merusak protein spora.

Studi stabilitas aktivitas antibakteri ekstrak bunga kecombrang menunjukkan bahwa ekstrak yang dihasilkan efektif sebagai antibakteri pada pH 4, untuk itu dalam aplikasinya sebagai bumbu masakan sekaligus pengawet pangan akan menjadi lebih efektif apabila dikombinasikan dengan asam dan NaCl. Aplikasi pada daging giling sebagai model sistem pangan yaitu pada konsentrasi ekstrak etil asetat bunga kecombrang 5 MIC (15 mg/g daging giling) yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba sampai hari ke-9 bila disimpan pada suhu 5°C.

Tabel 2.1 Pengaruh suhu dan lama pemanasan terhadap aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat bunga kecombrang

Jenis bakteri	Diameter penghambatan (mm) pada pemanasan (°C/menit)						
	80/10	80/20	80/30	100/10	100/20	100/30	121/10
<i>B.cereus</i>	17,65	18,35	14,75	14,65	14,82	19,50	16,58
<i>B. cereus</i> (spora)	12,38	11,97	11,00	12,85	12,25	11,45	14,10
<i>L.monocytogenes</i>	11,65	13,83	13,25	13,68	16,97	14,07	16,45
<i>S.aureus</i>	15,87	20,52	18,00	14,02	11,73	13,58	15,58
<i>S.Typhimurium</i>	14,68	16,38	16,97	11,30	10,77	10,57	16,67
<i>P.aeruginosa</i>	14,92	15,22	15,28	11,97	13,42	13,13	16,72
<i>E.coli</i>	15,10	16,25	12,70	12,33	13,80	13,07	12,33
<i>A.hydrophila</i>	16,07	16,47	17,57	18,28	18,58	16,02	13,65

Tabel 2.2 Pengaruh suhu dan lama pemanasan terhadap aktivitas antibakteri ekstrak etanol bunga kecombrang

Jenis bakteri	Diameter penghambatan (mm) pada pemanasan (°C/menit)						
	80/10	80/20	80/30	100/10	100/20	100/30	121/10
<i>B.cereus</i>	15,37	18,47	17,57	16,70	18,93	16,67	13,88
<i>B. cereus</i> (spora)	13,43	12,82	11,53	13,27	12,47	11,02	12,53
<i>L.monocytogenes</i>	15,28	19,65	23,48	21,27	17,52	16,25	10,28
<i>S.aureus</i>	23,95	24,52	20,83	24,98	24,28	20,83	24,03
<i>S.Typhimurium</i>	15,05	15,30	20,72	15,85	15,45	14,22	12,73
<i>P.aeruginosa</i>	11,05	18,05	19,52	24,60	24,15	21,25	14,88
<i>E.coli</i>	13,10	17,72	20,77	17,15	17,30	15,18	12,33
<i>A.hydrophila</i>	24,30	24,88	24,90	17,15	11,35	13,82	12,58

BAB 3. KECOMBRANG (*Nicolaia speciosa*)

Kecombrang memiliki beberapa nama latin, seperti *Nicolaia speciosa*, *Nicolaia elatior*, *Etlingera elatior*, *Phaeomeria magnifica*, *Phaeomeria speciosa*, *P. intermedia* Valet (Tampubolon *et al.* 1983). Nama-nama lain daerah tempat tanaman ini tumbuh yaitu *kalo* (Gayo), *puwa kijung* (Minangkabau), *katinbung* (Makasar), *salahawa* (Seram), *petikala* (Ternate) (Hidayat dan Hutapea 1991), sedangkan di luar negeri dikenal dengan nama *ginger bud* (Inggris), *xiang bao jiang* (Cina), *gingembre aromatique* (Perancis), *kantan* (Malaysia), *boca de dragon* (Spanyol) dan *kaa laa* (Thailand). Kecombrang (*Nicolaia speciosa*) merupakan tanaman yang hidupnya tahunan dengan ketinggian 1 – 3 meter. Tanaman ini banyak ditemukan di daerah pegunungan atau daerah-daerah rindang dekat air dengan ketinggian 800 di atas permukaan air laut (Naufalin dan Herastuti, 2012). Gambar 1 menunjukkan tanaman kecombrang, bagian tanaman.



Bunga



Batang



Daun



Rimpang

Gambar 3.1. Tanaman kecombrang dan bagian tanaman kecombrang (Naufalin *et al.*, 2013)

Klasifikasi kecombrang menurut Hidayat dan Hutapea (1991) adalah sebagai berikut:

Divisio : Spermatophyta

Sub divisio : Angiospermae

Class : Monocotyledonae

Ordo : Zingiberales

Famili : Zingiberaceae

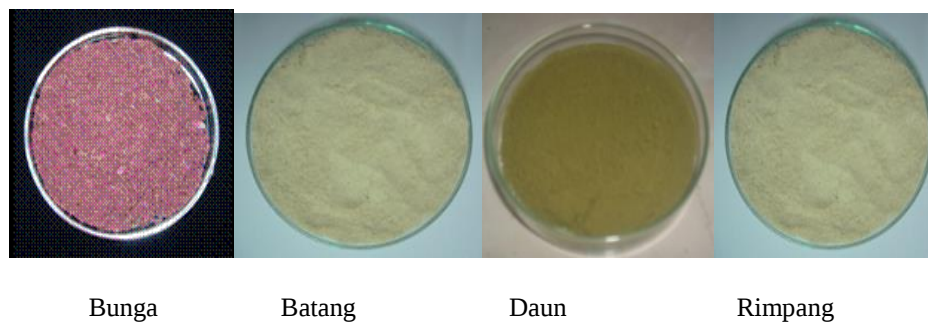
Genus : *Nicolaia*

Species : *Nicolaia speciosa* Horan

Kecombrang termasuk dalam golongan Zingiberaceae, satu famili dengan tanaman laos. Kecombrang merupakan salah satu jenis tanaman rempah-rempah yang sejak lama dikenal dan dimanfaatkan oleh manusia sebagai bahan masakan. Bagian tanaman yang umum digunakan adalah bunga dan batangnya. Pemanfaatannya adalah sebagai pemberi citarasa pada masakan, seperti urab, pecal, sambal dan masakan lain. Batangnya dipakai sebagai pemberi citarasa pada masakan daging. Kecombrang juga dimanfaatkan sebagai obat-obatan berkaitan dengan khasiatnya, yaitu sebagai penghilang bau badan dan bau mulut (Hidayat dan Hutapea 1991).

A. Teknik Pembuatan Bubuk Kecombrang

Dalam pembuatan bubuk kecombrang, mula-mula bagian kecombrang diseleksi, dibersihkan dengan air, kemudian dikeringkan dalam pengering pada suhu 50°C hingga kadar air 8-10% ($\pm$ 20 jam). Selanjutnya bahan kering digiling sampai diperoleh bubuk yang homogen (Gambar 3.2). Maksud pembuatan bubuk kecombrang adalah untuk memperkecil dan menyeragamkan ukuran partikelnya agar mempermudah kontak antara bahan dengan pelarutnya, sehingga ekstraksi dapat berlangsung dengan baik (Naufalin *et al.*, 2004). Rendemen bubuk dan sifat fisik bagian tanaman kecombrang disajikan pada Tabel 3.1.



Gambar 3.2. Bubuk bagian-bagian tanaman kecombrang (Naufalin *et al.*, 2013).

Tabel 3.1. Rendemen dan sifat fisik bubuk kecombrang

Sifat fisik	Bunga	Batang	Daun	Rimpang
Warna	Merah muda	Kuning kecoklatan	Hijau tua	Coklat kekuningan
Aroma	Khas kecombrang	Khas kecombrang	Khas kecombrang	Khas kecombrang
Rendemen	10,89 %	13,86 %	20,51 %	18,00 %

Sumber :Naufalin dan Herastuti, 2010.

Rendemen bubuk kering bagian tanaman kecombrang dihitung berdasarkan berat bubuk dibagi dengan berat segarnya dikalikan 100 persen. Nilai rendemen bubuk kering bunga kecombrang menunjukkan nilai yang paling rendah (10,89 persen) dibandingkan dengan bubuk kering daun, batang dan rimpang kecombrang berturut-turut 20,51 persen, 13,86 persen dan 18,00 persen (Naufalin dan Herastuti, 2010). Hal ini menunjukkan bahwa kadar air bunga kecombrang lebih tinggi dibandingkan dengan bagian tanaman kecombrang yang lain. Nilai rendemen bubuk kering digunakan untuk membandingkan jumlah relatif senyawa aktif yang ada pada kecombrang segar dan bubuk keringnya.

Bubuk kecombrang dilakukan pengujian fitokimia, hal ini bertujuan untuk mengetahui komponen bioaktif yang terdapat dalam bagian-bagian tanaman kecombrang.

Tabel 3.2. Komponen penyusun fitokimia bubuk bagian-bagian kecombrang

Fitokimia	Bunga	Batang	Daun	Rimpang
Triterpenoid	+++	++	+++	+++
Steroid	++	+	++	—
Fenolik	+	+	+	+
Flavonoid	+	++++	+++	+++
Tanin	-	-	++++	-
Alkaloid	+++	++++	++++	++++
Glikosida	+	++++	++++	++++

Keterangan : -: negatif; +: positif lemah; ++: positif; +++: positif kuat; ++++: positif kuat sekali

Sumber :Naufalinet *al.*, 2009

B.Teknik Ekstraksi Kecombrang

Metode yang dipergunakan untuk pembuatan ekstrak kecombrang adalah dengan ekstraksi menggunakan pelarut organik. Naufalin *et al.*,(2006) melakukan ekstraksi maserasi dilakukan secara bertingkat dengan heksana, etil asetat dan etanol dan menghasilkan ekstrak heksana, etil asetat dan etanol (Gambar 3.3). Penggunaan heksana dapat mengekstrak komponen non polar seperti lilin dan lemak. Ekstraksi dengan etil asetat dapat mengekstrak komponen semi polar dan ekstraksi dengan etanol untuk memperoleh komponen polar (Naufalin, 2005). Pemakaian suhu 37°C pada proses ekstraksi bubuk kecombrang memberikan rendemen yang lebih besar dibanding pada suhu 25°C, karena pada penggunaan suhu yang lebih tinggi proses kontak antar bahan dengan pelarut berjalan dengan lebih baik. Akibatnya kemampuan pelarut untuk melarutkan lebih tinggi pada saat pelarut panas dan lebih rendah pada saat pelarut dingin.



Gambar 3.3. Ekstrak heksana (a), etil asetat (b) dan etanol (c) bunga kecombrang
Sumber : Naufalin, 2005

Ekstrak non polar yang merupakan ekstrak heksan memberikan rendemen yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak semi polar (etil asetat) dan ekstrak polar (etanol). Tingginya rendemen ekstrak non polar dapat disebabkan keberadaan komponen non polar yang dapat terekstrak dalam heksana lebih banyak.

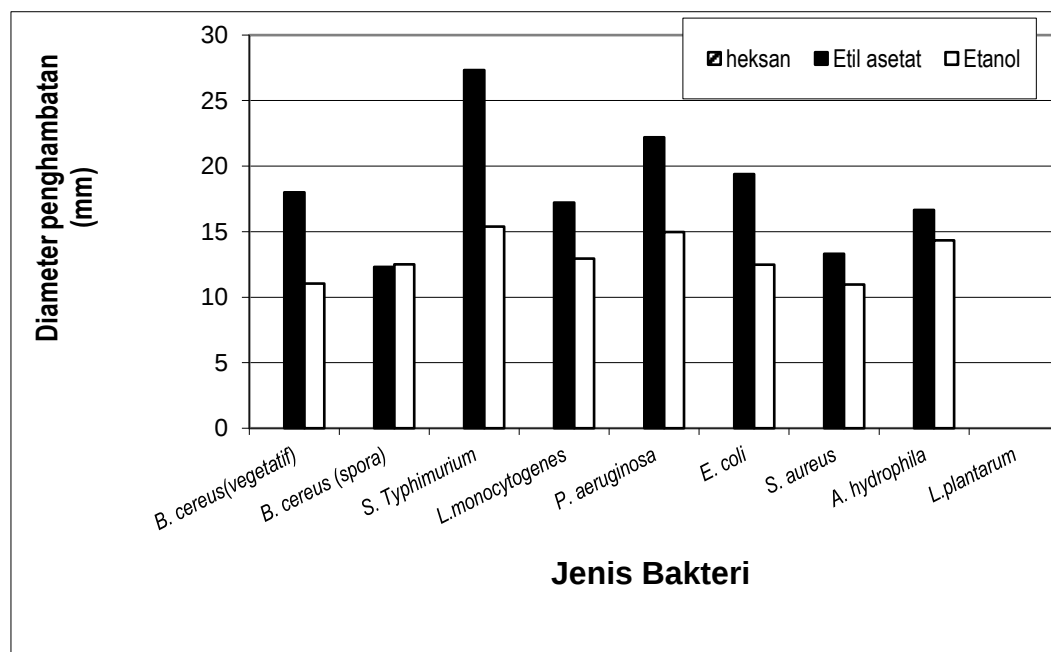
C. Pengaruh Polaritas Ekstrak Kecombrang Terhadap Aktivitas Antibakteri

Ekstrak heksana ternyata tidak memperlihatkan efek penghambatan terhadap semua bakteri uji. Tabel 3.2 menunjukkan bahwa komponen fitokimia ekstrak heksana mengandung komponen steroid, triterpenoid, alkaloid dan glikosida. Ekstrak heksana juga mengandung minyak atsiri, namun kontak antara senyawa antimikroba dan minyak atsiri dengan sel bakteri terhalang oleh adanya minyak dan lemak dalam ekstrak heksana. Minyak dan lemak lainnya mengganggu proses difusi dan melindungi bakteri dari senyawa antibakteri, sehingga ekstrak heksana tidak cukup untuk berdifusi dan tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Ekstrak nonpolar hasil ekstraksi dari akar tanaman *Terminalia sericea* juga menunjukkan tidak ada penghambatan terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *B. anthracis*, *Salmonella Typhi* dan *P. aeruginosa* (Moshi dan Mbwambo 2005).

Analisis aktivitas antibakteri ekstrak kecombrang terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *Salmonella Typhimurium*, *E. coli*, *A. hydrophila*, *P. aeruginosa* menunjukkan adanya penghambatan oleh ekstrak etil asetat dan etanol bunga kecombrang, kecuali terhadap bakteri asam laktat yaitu *L. plantarum*. Hal ini berarti bahwa *L. plantarum* resisten terhadap ekstrak bunga kecombrang, baik ekstrak heksana, etil asetat maupun etanol. Resistensi *L. plantarum* disebabkan karena permukaan dinding selnya terdapat asam teikoat yang terdiri dari satu polimer glukosilgliserol fosfat dan dua polimer diglukosilgliserol fosfat dengan gugus alkil berupa alanin sehingga bersifat nonpolar (Moat *et al.* 2002). Lavlinesia (2004) juga melaporkan bahwa *L. plantarum* merupakan bakteri yang paling resisten terhadap ekstrak etil asetat biji atung. Elgayyar *et al.* (2001) melaporkan bahwa *L. plantarum* memiliki resistensi terhadap minyak atsiri *coriander*, *oregano*, *rosemary*,

fennel dan *cardamom* serta antibiotika standar (tetrasiklin, klorampenikol, ampicilin, penicilin).

Penghambatan ekstrak etil asetat bunga kecombrang terhadap 7 bakteri uji berkisar antara 12,3-27,2 mm dan ekstrak etanol sebesar 11,0-15,4 mm pada konsentrasi 30 mg/ml (Gambar 3.4) dan data selengkapnya disajikan pada Lampiran 2. Ekstrak etil asetat memberikan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi daripada ekstrak etanol. Hasil analisis komponen fitokimia bunga kecombrang yang diekstraksi dengan etil asetat dapat mengekstraksi komponen steroid, terpenoid, alkaloid, flavonoid dan glikosida, sedangkan ekstraksi dengan etanol dapat mengekstrak komponen fenolik, steroid, terpenoid, alkaloid, dan glikosida. Perbedaannya steroid hanya terekstrak dalam pelarut etil asetat dan fenolik hanya terekstrak dalam pelarut etanol. Steroid memiliki sifat nonpolar sampai semipolar (Robinson 1995; Bruneton 1993), sedangkan fenolik dalam ekstrak etanol bersifat lebih polar daripada steroid. Sinergisme dari komponen fitokimia dalam ekstrak etil asetat diduga lebih mudah berdifusi dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri, karena memiliki polaritas optimum.



Gambar 3.4. Pengaruh polaritas ekstrak bunga kecombrang terhadap aktivitas antibakteri

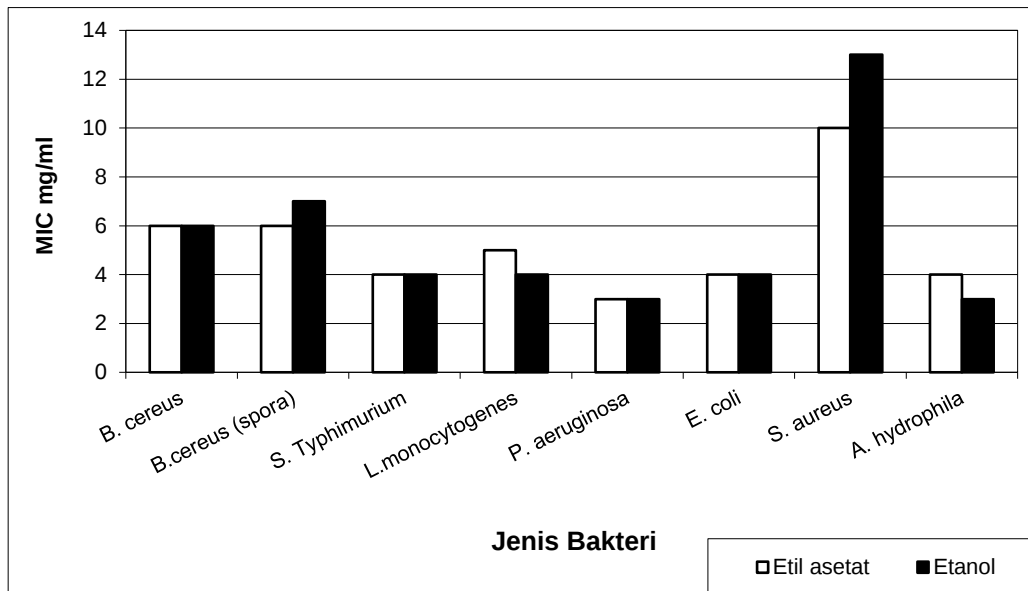
Menurut Kanazawa *et al.* (1995) suatu senyawa yang mempunyai polaritas optimum akan mempunyai aktivitas antimikroba maksimum, karena untuk interaksi suatu senyawa antibakteri dengan bakteri diperlukan keseimbangan hidrofilik-lipofilik (HLB : *hydrophilic lipophilic balance*). Polaritas senyawa merupakan sifat fisik senyawa antimikroba yang penting. Sifat hidrofilik diperlukan untuk menjamin senyawa antimikroba 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-lipofilik untuk mencapai aktivitas yang optimal (Branen & Davidson 1993).

Ekstrak etanol memiliki aktivitas lebih rendah daripada ekstrak etil asetat. Hal ini sesuai dengan penelitian Moshi dan Mbwambo (2005) bahwa ekstrak semipolar (etil asetat) mampu menghambat bakteri *E. coli* dan *B. anthracis* dengan diameter hambat lebih besar daripada ekstrak polar (etanol). Demikian juga penelitian Springfield *et al.* (2003) ekstrak etil asetat dari tanaman *Carpobrotus muirii* dan *C. quadrididus* lebih berpotensi dalam menghambat *S. aureus* dan *Mycobacterium smegmatis* daripada ekstrak air.

Penentuan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Pengujian lebih lanjut terhadap ekstrak etil asetat dan etanol dilakukan untuk menentukan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *Salmonella* Typhimurium, *E. coli*, *A. hydrophila* dan *P. aeruginosa* dengan metode kontak pada media NB. Dalam penelitian ini MIC dinyatakan sebagai konsentrasi terendah ekstrak bunga kecombrang yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba sebanyak 90 % selama inkubasi 24 jam (Cosentino *et al.* 1999 di dalam Sara 2004).

Nilai MIC ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol bunga kecombrang berkisar antara 3-13 mg/ml tergantung jenis bakteri uji (data selengkapnya disajikan pada Lampiran 3a dan 3b). Nilai MIC tertinggi 10 mg/ml (ekstrak etil asetat) dan 13 mg/ml (ekstrak etanol) adalah untuk *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri yang paling resisten. Nilai MIC terendah pada ekstrak etil asetat (3 mg/ml) adalah untuk *P. aeruginosa*, sedangkan pada ekstrak etanol (3 mg/ml) adalah untuk *P. aeruginosa* dan *A. hydrophila* sebagai bakteri yang paling sensitif (Gambar 3.5).



Gambar 3. Nilai MIC ekstrak etil asetat dan etanol bunga kecombrang terhadap bakteri uji

Berdasarkan nilai MIC, ternyata *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang paling resisten, sedangkan *P. aeruginosa* dan *A. hydrophila* merupakan bakteri yang lebih sensitif daripada bakteri lainnya. *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif dengan dinding sel disusun oleh rantai tetrapeptida yang terdiri dari (L-alanil-D-isoglutaminil-L-lisil-D-alanin) dan jembatan interpeptida yang terdiri dari lima unit glisin. Unit asam muramat disubstitusi oleh tetrapeptida yang dihubungkan oleh jembatan interpeptida dengan ikatan kovalen, yang akan menghasilkan struktur yang kuat. Struktur ini sangat resisten terhadap kerusakan (Thorpe 1995). Struktur tersebut yang menyebabkan *S. aureus* lebih resisten terhadap ekstrak etil asetat dan etanol bunga kecombrang yang bersifat semipolar. Pengujian aktivitas antibakteri daun sirih terhadap beberapa bakteri uji (Sugiastuti 2002) dan antibakteri biji atung (Moniharapon 1998) juga menunjukkan bahwa *S. aureus* merupakan bakteri yang paling resisten.

P. aeruginosa merupakan bakteri Gram negatif, sangat sensitif terhadap ekstrak etil asetat dan etanol bunga kecombrang. Hal ini disebabkan ekstrak etil asetat dan etanol dapat masuk ke dalam membran plasma bakteri Gram negatif melalui protein porin (Helender *et al.* 1998). Protein porin PAO1 pada *P. aeruginosa* memiliki

diameter 2 nm, lebih besar dibanding protein porin OmpF dan OmpC dengan diameter 1,2 nm pada *E. coli* K-12 (Nikaido & Vaara 1985).

Pada *B. cereus*, sel vegetatif lebih sensitif daripada bentuk spora. Hal ini disebabkan spora memiliki resistensi lebih tinggi terhadap senyawa antibakteri. Berdasarkan hidrofobisitasnya, spora *B. cereus* lebih hidrofobik dibanding sel vegetatifnya (Chaibi *et al.* 1997).

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumur dan metode kontak memberikan hasil konsentrasi ekstrak yang berbeda. Hal ini karena perbedaan laju difusi antibakteri pada jenis media yang berbeda. Radiati (2002) telah melaporkan bahwa pengujian aktivitas antibakteri ekstrak diklorometan jahe dengan difusi sumur memerlukan konsentrasi lebih tinggi (90 mg/ml) dibandingkan dengan pengujian metode kontak (5-20 mg/ml) terhadap bakteri uji *E. coli*, *S. Typhi* dan *V. cholera*. Tabak *et al.* (1996) telah membandingkan pengukuran menggunakan medium padat dan medium cair untuk melihat pengaruh ekstrak *thyme* pada bakteri *Helicobacter pylori*. Dikemukakan bahwa penghambatan timol lebih efektif pada medium cair dibandingkan dengan medium padat, pada konsentrasi timol 3,5 mg/ml penghambatannya pada medium padat masih dapat teramati, sedangkan pada medium cair sudah membunuh semua bakteri yang ada. Demikian juga yang telah dilakukan oleh Wan *et al.* (1998), minyak *esensial basil* tidak memberikan pengaruh penghambatan terhadap *P. fluorescens* dengan metode difusi agar, sedangkan bila menggunakan medium cair, pengaruh penghambatan dapat teramati. Pada media padat, difusi antimikroba akan tertahan dengan adanya agar pada medium.

D. Komponen Bioaktif dalam Kecombrang

Komponen bioaktif yang terdapat dalam kecombrang merupakan metabolit sekunder. Komponen penyusun ekstrak kecombrang disajikan pada Tabel 3.3. 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 lainnya. Fungsi dari metabolit sekunder adalah untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, misalnya

untuk mengatasi hama dan penyakit, menarik polinator, dan sebagai molekul sinyal (Verpoorte dan Alfermann, 2000). Sebagian besar tanaman penghasil senyawa metabolit sekunder memanfaatkan senyawa tersebut untuk mempertahankan diri dan berkompetisi dengan makhlukhidup lain di sekitarnya.

Tabel 3.3. Komponen penyusun ekstrak kecombrang

Fitokimia	Bunga	Batang	Daun	Rimpang
Triterpenoid	++	+	++	++
Steroid	++	+	+	-
Fenolik	+	+	+	+
Flavonoid	+	++	++	++
Tanin	-	-	+	-
Alkaloid	++	+++	+	+
Glikosida	+	+++	++	++

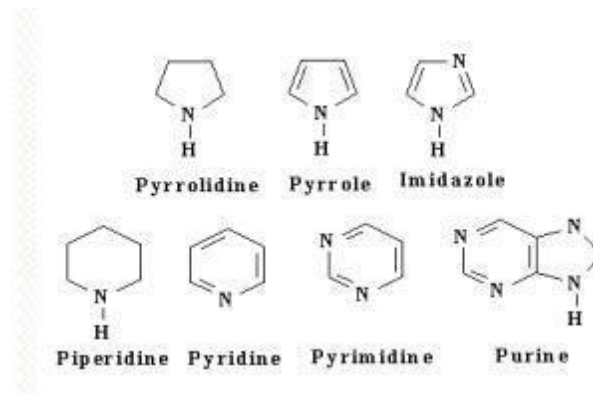
Keterangan : -: negatif; +: positif lemah; ++: positif; +++: positif kuat; ++++: positif kuat sekali.

Sumber : Naufalin *et al.*, 2012.

Tanaman dapat menghasilkan metabolit sekunder (seperti:quinon, flavonoid dan tanin) yang membuat tanaman lain tidak dapat tumbuh disekitarnya. Hal ini disebut sebagai alelopati.Berbagai senyawa metabolit sekundertelah digunakan sebagai obat. Manfaat lain dari metabolit sekunder adalah sebagaipestisida dan insektisida (Rizvi dan Rizvi, 2008).Senyawa metabolit sekunder diklasifikasikan menjadi 3 kelompok utama,yaitu: 1) Terpenoid, yang sebagian besar senyawanya mengandung karbon danhidrogen serta disintesis melalui jalur metabolisme asam mevalonat, contohnya adalahmonoterpena, seskuiterepena, diterpena, triterpena dan polimer terpena; 2) Fenolik,yaitu senyawa yang terbuat dari gula sederhana dan memiliki cincin benzena,hidrogen, dan oksigen dalam struktur kimianya, sebagai contoh adalah asam fenolat,kumarina, lignin, flavonoid dan tannin; 3) Senyawa yang mengandung nitrogen (Rizvidan Rizvi, 2008). Alkaloid adalah senyawa yangmemiliki basa nitrogen yang secarafisiologis aktif dalam tubuh makhluk hidup, khususnya untuk stimulan, anestesi danantidepresan.Senyawa ini banyak diproduksi oleh tumbuhan.

Pada tanaman tingkat tinggi, berbagai metabolit sekunder aromatik, terutama alkaloid dan flavonoiddibentuk dari asam-asam aromatik L-fenilalanin atau L-

tirosin(Herbert, 1995).Alkaloid adalah metabolit basa yang mengandung nitrogen yang diisolasi dari tanaman.Jenis dan struktur alkaloid sangat beragam.Alkaloid dibagi menjadi beberapa golongan, yaitu alkaloid piperidin, pirolin, isokuinon, mesembrin, indol dan ipekak.Contoh senyawa alkaloid diantaranya adalah nikotin, kokain, morfin dan dioskorin (Herbert, 1995).Struktur kimia senyawa-senyawa alkaloid dapat dilihat pada Gambar 3.6.



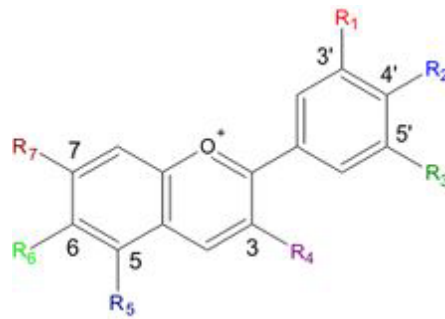
Gambar 3.6.Struktur kimia senyawa-senyawa alkaloid.

Sumber : Hesse, 2002

Flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon, terdiri dari 2 cincin benzena yang dihubungkan menjadi 1 rantai linier yang terdiri dari 3 atom karbon (Manitto, 1992). Flavonoid terdapat secara umum pada tanaman sebagai kelompok tunggal senyawa cincin oksigen terbesar.Senyawa ini terdapat dalam berbagai warna pada jaringan tanaman (Herbert, 1995).Salah satu contoh flavonoid yang paling umum (banyak) ditemukan adalah flavon.Senyawa flavon mempunyai cincin C dengan tingkat oksidasi paling rendah dan dianggap sebagai struktur induk dalam nomenklatur kelompok flavonoid.Senyawa flavon kemungkinan besar merupakan produk sekunder tumbuhan yang melalui senyawa flavanol menjadi pigmen antosianin.

Flavonoid biasanya terdapat dalam sel warna bunga disebabkan karena adanya senyawa flavonoid, terutama antosianin(Manitto, 1992). Antosianin merupakan glikosida yang berperan dalam pada bunga (biru, ungu dan merah).Jumlah gugus hidroksil bebas pada antosianin menyebabkan perbedaan warna yang

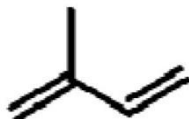
ditimbulkan. Semakin banyak gugus hidroksil bebas pada antosianin maka warna semakin biru pekat, sedangkan apabila semakin banyak jumlah gugus metoksil maka warnanya mendekati merah. Warna antosianin juga dipengaruhi oleh pH pigmen. Antosianin akan berwarna merah pada kondisi asam, menjadi biru pada pH basa dan rusak dalam larutan alkali kuat (Manitto, 1992). Struktur senyawa kimia antosianin ditunjukkan pada Gambar 3.7.



Gambar 3.7. Struktur kimia senyawa antosianin.

Sumber :McNaught, 1997

Senyawa triterpenoid berasal dari MVA (asam mevalonat) melalui skualen dan biasanya melalui 2,3 epoksiskualen. Strukturnya terdiri atas 20 jenis kerangka yang tergantung pada kecenderungan skualen dengan keenam ikatan rangkapnya dalam melakukan multisiklikasi. Senyawa ini banyak terdapat pada hewan dan tumbuhan. Triterpenoid tetrasiklik lebih banyak ditemui pada hewan, sedangkan triterpenoid pentasiklik umumnya terdapat pada tumbuhan. Triterpenoid pentasiklik terdapat dalam bentuk bebas atau terikat pada satu atau lebih unit gula pada gugus hidroksil pada posisi 3 (Manitto, 1992). Struktur dasar dari triterpenoid adalah isoprena (Herbert, 1995). Struktur kimia senyawa isoprena dapat dilihat pada Gambar 3.8.

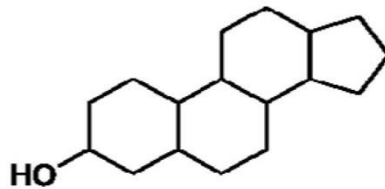


Gambar 3.8. Struktur kimia senyawa isoprena

Sumber :Guenther et al., 2006

Steroid alami berasal dari berbagai transformasi kimia dua terpenoid asal, yaitu

lanosterol dan sikloartenol. Pada umumnya steroid hewan berasal dari lanosterol, sedangkan steroid tumbuhan dari sikloartenol (Manitto, 1992). Biosintesis steroid dalam organisme fotosintetik berlangsung melalui sikloartenol. Sterol tanaman ditandai oleh rantai cabang yang disubstitusi alkil (Herbert, 1995). Sterol tumbuhan disebut fitosterol (Manitto, 1992). Struktur kimia senyawa sterol dapat dilihat pada Gambar 3.9.



Gambar 3.9. Struktur kimia senyawa sterol.

Sumber : Ostlund, 2003

Senyawa-senyawa fitosterol dalam tumbuhan dapat mengalami berbagai transformasi struktural, terutama pada rantai sampingnya. Senyawa hasil transformasi tersebut dapat digolongkan menjadi 2, yaitu glikosida dan saponin steroid. Glikosida yang dihidrolisis dengan asam dan enzim akan menghasilkan aglikon yang kadang disebut genin. Genin tersebut mempunyai inti steroid biasa dan satu rantai samping yang khas berbentuk cincin butenolida, misalnya digenigenin (Manitto, 1992).

Saponin steroid tersusun dari suatu aglikon steroid (sapogenin) yang terikat pada suatu oligosakarida, misalnya heksosa dan pentosa. Saponin memiliki sifat seperti sabun, yaitu dapat membentuk buih dalam air. Saponin bersifat toksik apabila langsung masuk lewat darah, tapi menjadi tidak toksik bila masuk lewat pencernaan. Contoh saponin steroid adalah diosgenin (Manitto, 1992).

Senyawa fenolik merupakan substansi yang mempunyai cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil sehingga sifatnya mudah larut dalam pelarut polar. Senyawa fenolik tanaman yang telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri diantaranya adalah turunan p-benzokuinon (Nishina, 1991).

Senyawa fenol paling banyak digunakan sebagai antimikroba karena senyawa tersebut tidak hanya terdapat pada antibiotik sintetik, namun pada senyawa alam yang dikenal sebagai polifenol. Senyawa ini bekerja dengan merusak membran sitoplasma secara total dengan mengendapkan protein sel. Akan tetapi bila dalam konsentrasi rendah, fenol merusak membran sel yang menyebabkan kebocoran metabolit penting dan menginaktifkan bakteri (Madigan, 2005).

E. Teknik Mikroenkapsulasi

Mikroenkapsulasi adalah suatu proses penyalutan secara langsung terhadap zat aktif dalam bentuk partikel halus dari zat padat, tetesan cairan dan bentuk terdispersi (Chaerunisaa, 2004). Dalam proses mikroenkapsulasi pemilihan bahan enkapsulan sangat penting karena mempengaruhi stabilitas emulsi sebelum pengeringan, daya alir, stabilitas fisik dan daya simpan setelah pengeringan. gum arab, maltodektrin dan protein whey, merupakan beberapa jenis enkapsulan yang sering digunakan. Maltodektrin memiliki emulsi dan viskositasnya rendah (Wahjuningsih dan Bambang, 2009).

Adanya kekurangan dalam penggunaan bunga kecombrang berbentuk minyak atsiri, maka harus dilakukan pengolahan lebih lanjut dari minyak atsiri diantaranya adalah dengan teknik mikroenkapsulasi. Menurut Thies (1996) dalam Permadi (2003), mikrokapsul adalah partikel kecil yang mengandung suatu zat aktif atau bahan inti yang dikelilingi suatu pelapis atau sel. Risch (1995) dalam Permadi (2003) menambahkan, mikroenkapsulasi memberikan sarana untuk mengubah komponen dalam bentuk cairan menjadi partikel padat dan melindungi materi dari pengaruh lingkungan. Perlindungan yang diberikan oleh mikroenkapsulasi dapat mencegah degradasi karena radiasi cahaya atau oksigen, dan juga memperlambat terjadinya evaporasi.

Bahan pembawa (enkapsulan) yang paling banyak digunakan adalah yang berasal dari hidrokoloid, yaitu agar, alginat, karagenan, chitosan, gelatin, selulosa non gel, pektin metoksil rendah, gellan gum, gum arab, siklodektrin, maltodektrin dan pati termodifikasi. Namun demikian, setiap bahan pembawa memiliki kelemahan dan kelebihan masing-masing. Pemilihan jenis enkapsulan perlu dikaji terutama berkaitan

dengan konsentrat flavor yang akan dilindungi.

F. Teknik Pengemasan Antimikroba Kecombrang

Kemasan merupakan suatu benda yang digunakan untuk wadah atau tempat yang dikemas dan dapat memberikan perlindungan sesuai dengan tujuannya (Nurminah, 2002). Adanya kemasan yang dapat membantu mencegah/mengurangi kerusakan, melindungi bahan yang ada di dalamnya dari pencemaran serta gangguan fisik seperti gesekan, benturan dan getaran. Dari segi promosi kemasan berfungsi sebagai perangsang atau daya tarik pembeli.

Menurut Winarno *et al.* (1986), bahan pangan yang dikemas mempunyai tujuan untuk mengawetkan makanan, yaitu mempertahankan mutu kesegaran, warnanya yang tetap, untuk menarik konsumen, memberikan kemudahan penyimpanan dan distribusi, serta yang lebih penting lagi dapat menekan peluang terjadinya kontaminasi dari udara, air, dan tanah baik oleh mikroorganisme pembusuk, mikroorganisme yang dapat membahayakan kesehatan manusia, maupun bahan kimia yang bersifat merusak atau racun.

Bahan pengemas tidak boleh bereaksi dengan komoditi, tidak berbau, tidak mempunyai rasa serta tidak beracun. Pengemas yang digunakan dalam penelitian yaitu botol gelas putih bening dan botol plastik. Pemilihan jenis pengemas dalam penelitian ini didasarkan pada jenis pengemas yang paling sering digunakan masyarakat dan industri, mudah diperoleh dan aman terhadap bahan yang dikemas, yaitu botol gelas putih bening dan botol plastik. Botol gelas putih bening tidak diberikan perlakuan tambahan, sedangkan botol plastik dilapisi dengan akrilik hitam untuk menciptakan kondisi yang ekstrim sehingga dapat dilihat seberapa besar kerusakan atau penurunan potensi antioksidan selama penyimpanan.

1. Botol gelas putih bening

Gelas termasuk kelompok termogel, yang merupakan senyawa kimia dengan susunan yang kompleks. Gelas merupakan produk yang “amorf” dan bening dengan kekerasan dan elastisitas yang cukup, tetapi sangat rapuh. Gelas dibuat dari campuran pasir, soda, batu kapur, natrium sulfat, feldspar, senyawa boron dan aluminium serta

bahan aditif lain, tergantung pada jenisnya. Sebagian besar pengemas gelas adalah tipe soda-kapur-silika (Winarno, 1993).

Gelas merupakan bahan yang dapat ditembus oleh cahaya tampak dan sinar infra merah, tetapi tidak oleh sinar ultraviolet. Pemanasan akan menyebabkan pemuaian gelas yang besarnya sangat berbeda satu sama lain (tergantung koefisien pemuaian). Bila pemanasan atau pendinginan berlangsung terlalu cepat atau terkonsentrasi pada satu titik, akan terjadi tegangan. Karena gelas bersifat rapuh, tegangan tersebut dapat menimbulkan retakan. Bahan aditif khusus seperti boron oksida dapat membuat gelas kimia lebih tahan terhadap bahan kimia dan perubahan temperatur.

Sebagai bahan pengemas, gelas mempunyai sifat-sifat yang menguntungkan antara lain dapat dicetak, transparan, *inert* (tidak bereaksi), kuat, tahan terhadap kerusakan, sangat baik sebagai *barrier* terhadap benda padat, cair dan gas (Heiss, 1970). Kelemahan gelas yaitu sangat mudah rusak oleh lelehan alkali, alkali karbonat, (pH 10), hidrogen, fluorida, dan agak mudah rusak oleh basa panas dengan pH 7 – 10, serta larutan panas asam anorganik yang mengandung air, misalnya HCl 30%.

2. Botol plastik

Plastik adalah salah satu bahan yang dapat kita temui di hampir setiap barang. Plastik dipakai karena ringan, tidak mudah pecah, dan murah. Bahan pembuat plastik dari minyak dan gas sebagai sumber alami, dalam perkembangannya digantikan oleh bahan-bahan sintetis sehingga dapat diperoleh sifat-sifat plastik yang diinginkan dengan cara kopolimerisasi, laminasi, dan ekstruksi (Syarif *et al.*, 1989).

Komponen utama plastik sebelum membentuk polimer adalah monomer, yaitu rantai yang paling pendek. Polimer merupakan gabungan dari beberapa monomer yang akan membentuk rantai yang sangat panjang. Bila rantai tersebut dikelompokkan bersama-sama dalam suatu pola acak, menyerupai tumpukan jerami maka disebut amorf, jika teratur hampir sejajar disebut kristalin dengan sifat yang lebih keras dan tegar (Syarif *et al.*, 1989).

Menurut Eden dalam Davidson (1970), klasifikasi plastik menurut struktur kimianya terbagi atas dua macam yaitu: 1. Linear, bila monomer membentuk rantai polimer yang lurus (linear) maka akan terbentuk plastik termoplastik yang

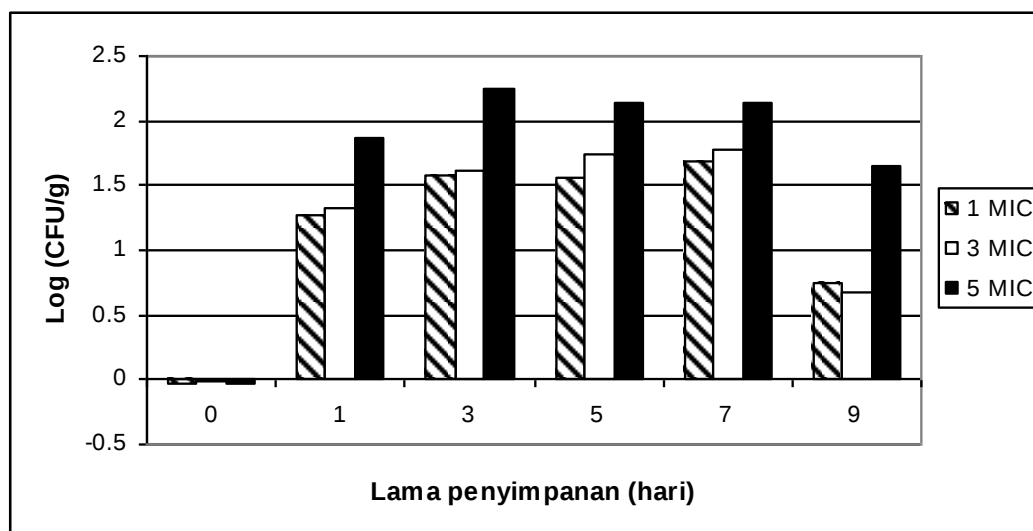
mempunyai sifat meleleh pada suhu tertentu, melekat mengikuti perubahan suhu dan sifatnya dapat balik (*reversible*) kepada sifatnya yakni kembali mengeras bila didinginkan. 2. Jaringan tiga dimensi, bila monomer berbentuk tiga dimensi akibat polimerisasi berantai, akan terbentuk plastik thermosetting dengan sifat tidak dapat mengikuti perubahan suhu (*irreversible*). Bila sekali pengerasan telah terjadi maka bahan tidak dapat dilunakkan kembali.

Proses polimerisasi yang menghasilkan polimer berantai lurus mempunyai tingkat polimerisasi yang rendah dan kerangka dasar yang mengikat antar atom karbon dan ikatan antar rantai lebih besar daripada rantai hidrogen. Bahan yang dihasilkan dengan tingkat polimerisasi rendah bersifat kaku dan keras (Flinn dan Trojan, 1975). Bahan kemasan plastik dibuat dan disusun melalui proses yang disebabkan polimerisasi dengan menggunakan bahan mentah monomer, yang tersusun sambung-menyambung menjadi satu dalam bentuk polimer. Penggunaan plastik sebagai bahan pengemas mempunyai keunggulan dibanding bahan pengemas lain karena sifatnya yang kuat tapi ringan, transparan, termoplastis dan selektif dalam permeabilitasnya terhadap uap air, O₂, CO₂, serta dapat diberi warna. Sifat permeabilitas plastik terhadap uap air dan udara menyebabkan plastik mampu berperan memodifikasi ruang kemas selama penyimpanan (Winarno, 1987). Kelemahan bahan ini adalah adanya zat-zat monomer dan molekul kecil lain yang terkandung dalam plastik yang dapat melakukan migrasi ke dalam bahan makanan yang dikemas.

BAB 4. APLIKASI ANTIMIKROBA KECOMBRANG

A. Aplikasi Kecombrang pada Daging Giling

Seperti telah dijelaskan sebelumnya ekstrak etil asetat memiliki stabilitas lebih baik dari ekstrak etanol terhadap pH, NaCl dan pemanasan. Oleh karena itu pengujian dalam sistem pangan menggunakan ekstrak etil asetat dengan konsentrasi sebesar 1, 3 dan 5 MIC dibandingkan dengan kontrol. Daging giling dipilih sebagai contoh sistem pangan. Nilai MIC yang dipergunakan adalah 3 mg/mg daging giling yang merupakan nilai MIC terendah dari ekstrak etil asetat bunga kecombrang (Bab 4). Penurunan total mikroba (log CFU/g) disajikan pada (Gambar 5.5). Daging sapi segar banyak mengandung komponen nutrisi yang diperlukan oleh bakteri untuk pertumbuhan, sehingga bakteri akan tumbuh baik di dalam daging segar dibandingkan dengan apabila tumbuh dalam media agar saja. Oleh sebab itu diperlukan ekstrak bunga kecombrang dengan konsentrasi lebih tinggi agar dapat dipergunakan sebagai bahan antimikroba atau pengawet. Pada daging sapi segar sebagai kontrol (tanpa penambahan ekstrak) diperoleh jumlah total mikroba awal sebesar 6×10^5 cfu/g. Standar daging sapi giling adalah jumlah total mikroba tidak lebih dari $5,0 \times 10^6$ cfu/g (Schalch dan Beck 2000).



Gambar 4.1. Pengaruh konsentrasi ekstrak etil asetat pada berbagai MIC terhadap penurunan total mikroba (log CFU/g) pada daging giling yang disimpan sampai hari ke-9

Penambahan konsentrasi 1 MIC ekstrak etil asetat ke dalam daging giling setelah penyimpanan selama 1 hari mengalami penurunan jumlah koloni bakteri sebesar 1,27 log CFU/g, sedangkan pada penyimpanan 3, 5 dan 7 hari terjadi penurunan sebesar 1,56 - 1,68 log CFU/g namun setelah penyimpanan 9 hari hanya terjadi penurunan sebesar 0,75 log CFU/g (Gambar 5.5). Sedangkan pada kontrol jumlah mikroba sudah meningkat (1,72 log CFU/g) pada hari ke 1. Penurunan 1 log siklus berarti telah mengalami penghambatan pertumbuhan mikroba.

Penambahan konsentrasi 3 MIC ekstrak etil asetat ke dalam daging giling dapat menghambat pertumbuhan mikroba mulai hari ke 1, 3, 5 dan 7 dengan penurunan jumlah koloni bakteri berkisar antara 1,32 - 1,78 log CFU/g, namun setelah penyimpanan 9 hari hanya mengalami penurunan sebesar 0,68 log CFU/g. Hasil ini menunjukkan bahwa dengan konsentrasi 1 dan 3 MIC ekstrak etil asetat ke dalam daging giling dapat menghambat pertumbuhan mikroba sampai penyimpanan 7 hari.

Penambahan konsentrasi 5 MIC ekstrak etil asetat ke dalam daging setelah penyimpanan selama 1 hari mengalami penurunan jumlah koloni bakteri sebesar 1,87 log CFU/g, setelah penyimpanan dilanjutkan sampai hari ke 3, 5 dan 7 hari terjadi penurunan berkisar antara 2,14 - 2,25 log CFU/g. Pada penyimpanan 9 hari mengalami penurunan sebesar 1,65 log CFU/g. Hasil ini menunjukkan bahwa dengan konsentrasi 5 MIC ekstrak etil asetat dapat menghambat pertumbuhan mikroba sampai penyimpanan 9 hari.

B. Aplikasi Kecombrang pada Ikan

Nugget adalah produk olahan gilingan daging yang dicetak, dimasak dan dibekukan dengan penambahan bahan-bahan tertentu yang diijinkan (BSN, 2002). Umumnya masyarakat saat ini lebih menyukai makanan yang praktis dan siap disajikan dalam waktu yang relatif singkat. *Nugget* terbuat dari berbagai macam daging, diantaranya daging ayam, sapi, dan ikan. Standar Nasional Indonesia 01-6683 menyatakan bahwa kandungan gizi *nugget ayam* adalah kadar air maksimum 60%, kadar protein minimum 12%, kadar lemak maksimum 20% dan kadar karbohidrat maksimum 25% (BSN, 2002). *Nugget ayam* mudah mengalami kerusakan karena salah satu faktor utama yang meningkatkan pertumbuhan mikroba adalah persediaan zat gizi dalam makanan. Effendi (2009) menyatakan bahwa komposisi dari bahan pangan dapat ikut menentukan mikroba yang tumbuh di dalamnya, karena hal ini akan menentukan jumlah zat-zat gizi yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroba. Salah satu upaya untuk meminimalkan

terjadinya kerusakan bahan pangan karena adanya pertumbuhan mikroba adalah dengan melakukan pengawetan.

Salah satu teknik pengawetan sering dilakukan pada produk pangan adalah pengawetan secara kimia dengan menambahkan zat aditif berupa pengawet pada bahan pangan. Pengawet pangan adalah bahan tambahan pangan yang mencegah atau menghambat peruraian terhadap makanan yang disebabkan oleh mikroba (Naufalin dan Herastuti, 2012). Penggunaan bahan pengawet sintetis pada makanan mendapat perhatian khusus dari pemerintah karena menyangkut keamanan pangan untuk masyarakat. Publikasi media massa tentang bahaya penggunaan bahan pengawet sintetis seperti formalin dan boraks membuat masyarakat lebih memilih menggunakan pengawet alami karena dianggap lebih aman untuk dikonsumsi. Zat pengawet sintetis seperti formalin dan boraks bukan merupakan zat pengawet untuk bahan pangan. Permasalahan yang dihadapi diantaranya adalah pemakaian bahan pengawet berbahaya yang diaplikasikan dalam bahan pangan sehingga dapat menimbulkan pengaruh buruk terhadap kesehatan (Affandi, 2006). Oleh karena itu perlu dilakukan pencarian bahan-bahan yang terdapat di alam yang dapat berpotensi sebagai pengawet alami. Salah satu bahan yang potensial digunakan sebagai pengawet alami adalah tanaman kecombrang.

Naufalin *et al.* (2009) menyatakan bahwa kandungan senyawa yang terdapat dalam kecombrang antara lain adalah alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, fenolik dan triterpenoid. Penelitian tentang kecombrang telah banyak dilakukan, diantaranya hasil penelitian menunjukkan bahwa formula buah kecombrang dapat berfungsi sebagai antimikroba, diantaranya dapat menghambat mikroba patogen diantaranya *B. cereus*, *E. coli*, *Botrytis* dan *Saccharomyces sp* (Naufalin, 2013).

BAB 5. ANALISIS TEKNIS EKONOMIS ANTIMIKROBA KECOMBRANG

Tanaman kecombrang berpotensi untuk menjadi pengawet alami, hal ini terkait dengan aktivitas antimikroba yang dimiliki tanaman kecombrang. Penggunaan kecombrang saat ini hanya sebagai kebutuhan rumah tangga. Mengingat kecombrang mampu berfungsi sebagai pengawet alami, maka pendirian industri pengawet alami bahan dasar kecombrang cukup prospektif. Namun demikian, sebelum diaplikasikan menjadi sebuah industri perlu dilakukan studi kelayakan untuk mengukur kelayakan dari industri pengawet alami bahan dasar kecombrang tersebut.

Studi kelayakan industri diperlukan untuk menunjang pengembangan usaha perkebunan dan pengolahan industri pengawet alami berbahan dasar kecombrang di Kabupaten Banyumas, terutama menyangkut kelayakan investasi. Topik yang dikaji yaitu studi kelayakan pendirian usaha perkebunan dan pengolahan industri pengawet alami berbahan dasar kecombrang yang ditinjau dari aspek pasar dan pemasaran, aspek teknis dan teknologis, aspek manajemen operasional, aspek yuridis dan dampak lingkungan serta aspek finansial.

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui kelayakan pendirian usaha perkebunan dan pengolahan industri pengawet alami berbahan dasar kecombrang dari aspek pasar dan pemasaran, aspek teknis dan teknologis, aspek manajemen operasional, aspek yuridis dan aspek finansial. Manfaat penelitian ini adalah: 1) Memberikan gambaran tentang peluang usaha perkebunan dan pengolahan industri pengawet alami berbahan dasar kecombrang di Kabupaten Banyumas; 2) Memberikan informasi bagi investor atau pihak pengambil keputusan mengenai prospek pengembangan pengawet alami berbahan dasar kecombrang di Kabupaten Banyumas; 3) Memberikan informasi bagi Pemerintah Kabupaten Banyumas untuk lebih memaksimalkan potensi daerahnya; dan 4) Memberikan informasi bagi petani kecombrang, khususnya di wilayah Kabupaten Banyumas sehingga dapat memanfaatkan kecombrang menjadi produk bernilai ekonomis tinggi.

A. Aspek Pasar dan Pemasaran

1. Permintaan dan penawaran

Perkembangan permintaan dan penawaran pengawet alami berbahan dasar kecombrang dapat diketahui dengan melihat data produksi ikan dan tahu di Kabupaten

Banyumas. Data produksi ikan di Kabupaten Banyumas per hari mencapai 11.892 kg (Dinnakan Kabupaten Banyumas, 2010) sedangkan produksi tahu per hari mencapai 27.315 kg (Dinperindakop Kabupaten Banyumas, 2009). Total produksi dari ikan dan tahu per hari mencapai 39.207 kg, produksi ini tidak mungkin dikonsumsi secara bersamaan. Jumlah konsumen potensial industri pengawet alami kecombrang terdiri dari tahu dan ikan, jumlah produksi ikan dan tahu per hari pada tahun 2008 sebesar 38.771 kg. Pengawet alami kecombrang yang dibutuhkan sekitar 4 persen atau sekitar 1551 kg pengawet yang dibutuhkan, adanya persaingan dari produk pengawet lain maka industri pengawet alami kecombrang menargetkan 27 persen dari konsumen potensial atau sekitar 430 liter per hari.

Pengawet alami berbahan dasar kecombrang merupakan produk baru di wilayah Kabupaten Banyumas, sehingga sampai saat ini belum diketahui jumlah penawaran secara pasti. Jumlah penawaran dapat dilihat dengan cara mengasumsikan bahwa semakin bertambahnya jumlah industri tahu dan hasil produksi ikan yang terus meningkat, seiring bertambahnya kesadaran masyarakat akan kebutuhan pengawet alami yang relatif aman untuk dikonsumsi dalam jangka waktu yang lama, maka peluang untuk penawaran pengawet alami berbahan dasar kecombrang masih sangat besar, yaitu dengan menentukan strategi pemasaran yang tepat.

2. Perkembangan harga

a. Bahan baku (Kecombrang)

Bahan baku yang akan digunakan dalam industri ini adalah kecombrang. Harga bahan baku kecombrang baik batang maupun bunga berkisar antara Rp. 2.500 per kg (survei, Oktober 2009). Bahan baku kecombrang yang digunakan adalah dari perkebunan pabrik, tetapi untuk menentukan harga produk maka perlu dibandingkan dengan harga bahan baku yang ada di pasaran. Harga bahan baku Rp. 4.000 per kg.

b. Pengawet alami

Dari survei yang dilakukan, pengawet alami tidak dipasarkan, akan tetapi hanya dibuat sendiri dan untuk kebutuhan rumah tangga. Pengawet yang dijual di pasaran adalah pengawet sintetis seperti Na-benzoat dengan harga Rp. 40.000 per kg dan formalin dengan harga Rp. 20.000 per liter.

3. Saingan usaha

Persaingan dengan produk pengawet alami sejenis hampir dipastikan tidak ada, tetapi ada persaingan dengan pengawet sintetis. Pengawet alami berbahan dasar kecombrang memiliki keunggulan yaitu aman untuk dikonsumsi sehingga tidak menimbulkan efek yang buruk bagi kesehatan.

4. Strategi pemasaran

a. Produk

Produk pengawet alami kecombrang memiliki beberapa keunggulan, diantaranya adalah produk ini aman bagi kesehatan konsumen dan dapat memberikan umur simpan yang lebih lama pada makanan. Bahan baku yang digunakan adalah kecombrang yang telah siap untuk dipanen, sehingga khasiat dan manfaatnya tetap terjaga. Pengawet alami berbahan dasar kecombrang berbentuk cair, hal ini untuk memudahkan penggunaan di lapangan. Pengemasan menggunakan botol plastik, untuk labelnya dibuat sebaik mungkin untuk menarik minat konsumen. Kemasan produk pengawet alami kecombrang dapat dilihat pada Gambar 5.1.



Gambar 5.1. Kemasan pengawet alami kecombrang

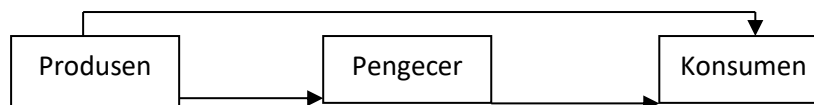
b. Harga

Harga pengawet alami bahan dasar kecombrang menyesuaikan dengan pengawet jenis lainnya, setelah melakukan survei ternyata tidak ditemukan pengawet alami yang dijual dipasaran maka harga yang ditetapkan akan disesuaikan dengan

pengawet sintetis yang dijual di pasaran. Pengawet alami berbahan dasar kecombrang akan dipasarkan dengan harga yang terjangkau.

c. Tempat dan distribusi

Sistem distribusi yang direncanakan menggunakan dua sistem distribusi yaitu distribusi langsung dan semi langsung. Saluran distribusi yang diterapkan dapat dilihat pada Gambar 5.2.



Gambar 5.2. Saluran distribusi langsung dan semi langsung

d. Promosi

Produk pengawet alami bahan dasar kecombrang merupakan produk baru yang ada di pasaran, oleh karena itu kegiatan promosi sangatlah penting. Promosi dilakukan dengan pemasangan iklan di beberapa radio dan koran-koran yang ada di wilayah Kabupaten Banyumas. Selain itu, promosi dilakukan dengan cara promosi di internet dengan pasar tujuan yang semakin luas.

B. Aspek teknis dan teknologis

1. Ketersediaan bahan baku

Bahan baku kecombrang akan diperoleh dari perkebunan yang telah dimiliki perusahaan. Perkebunan kecombrang dilakukan satu tahun sebelum perusahaan dapat beroperasi, hal ini dilakukan karena tanaman kecombrang butuh waktu sekitar satu tahun untuk bisa dijadikan bahan baku dasar pembuatan pengawet alami bahan dasar kecombrang. Bahan baku didapat dari perkebunan sendiri yang dikelola oleh pabrik dan dengan menggunakan sejumlah pekerja dari daerah sekitar. Kecombrang segar yang dibutuhkan sekitar 500 kg per hari.

2. Rencana kapasitas produksi

Kapasitas produksi pengawet alami berbahan dasar kecombrang yang direncanakan sebesar 430 liter per hari yang merupakan kapasitas maksimal industri pengawet alami berbahan dasar kecombrang.

3. Teknologi proses produksi

Teknologi pengolahan kecombrang menjadi produk pengawet alami meliputi tiga tahap yaitu tahap pembuatan bubuk, pembuatan bubur, dan pengemasan.

a. Tahap pembuatan bubuk

Bunga dan batang kecombrang segar yang telah dipetik dari tanaman dibersihkan dengan air, ditiriskan, diiris kemudian dikeringkan dengan *cabinet drier* pada 50°C hingga kering patah. Bunga dan batang kecombrang yang telah kering kemudian dihancurkan dengan mesin giling sampai diperoleh bubuk yang homogen.

b. Tahap pembuatan bubur

Bubuk kecombrang yang telah homogen ditambahkan aquades, kemudian diaduk menggunakan *mixer tank*. Pengadukan dilakukan untuk menghomogenkan bubuk kecombrang sehingga didapatkan pengawet alami bahan dasar kecombrang yang telah homogen.

c. Tahap Pengemasan

Pengawet bahan dasar yang sudah homogen akan dilakukan proses penyaringan menggunakan mesin penyaring sehingga didapatkan pengawet alami bahan dasar kecombrang dalam bentuk cair. Produk inilah yang akan dipasarkan sebagai pengawet alami berbahan dasar kecombrang. Bagan proses pembuatan pengawet alami berbahan dasar kecombrang dapat dilihat pada Lampiran 2.

4. Mesin dan peralatan

Mesin dan peralatan yang digunakan pada usaha perkebunan dan industri pengolahan berbahan dasar kecombrang terdiri atas alat perkebunan dan alat pengolahan. Alat perkebunan seperti cangkul, kored, gerobak, dan sebagainya. Sedangkan alat untuk pengolahan terdiri dari *cabinet dryer*, *mixing tank*, mesin giling, mesin saring, dan sebagainya. Gambar mesin dan peralatan dapat dilihat pada Lampiran 3.

5. Penentuan lokasi

Pembobotan dilakukan dengan nilai yang paling tinggi diasumsikan sebagai biaya yang termurah. Menurut Husnan dan Suwarsono (2000) penentuan bobot prioritas meliputi lima parameter kelayakan lokasi perusahaan. Parameter-parameter yang akan dibandingkan adalah kemudahan penyediaan bahan baku (Bb), kemudahan akses pasar

(Ps), ketersediaan tenaga kerja (Tk), ketersediaan sarana transportasi (St), dan ketersediaan utilitas air dan listrik (Ut). Penentuan bobot prioritas terhadap kelima parameter dilakukan dengan survei menggunakan kuisioner pada 5 orang responden terpilih menggunakan metode *purposive sampling*.

Pemilihan alternatif lokasi dilakukan dengan menggunakan metode *Zero-one*, bobot parameter yang digunakan yaitu berdasarkan kondisi potensi wilayah yang dimiliki. Terdapat lima kecamatan di Kabupaten Banyumas yang diproyeksikan menjadi alternatif lokasi pendirian industri pengawet alami bahan dasar kecombrang yaitu Kecamatan Kembaran, Kecamatan Baturaden, Kecamatan Sumbang, Kecamatan Purwosari dan Kecamatan Tambak. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 5.3.

Parameter	Bb	Ps	Jp	St	Ut	Total
Bobot	39,3	26,1	16,6	10,3	7,7	100%
Alternatif						
Kec. Kembaran	3,93 10	7,83 30	1,66 10	2,06 20	0,77 10	16,5
Kec. Baturaden	11,79 30	5,22 20	3,32 20	1,03 10	2,31 30	23,67
Kec. Sumbang	15,72 40	5,22 20	4,98 30	3,09 30	2,31 30	31,32
Kec. Purwosari	3,93 10	5,22 20	3,32 20	2,06 20	0,77 10	15,30
Kec. Tambak	3,93 10	2,61 10	3,32 20	2,06 20	1,54 20	13,46

Gambar 5.3. Matriks keputusan pemilihan alternatif lokasi

Keterangan : Bb. Ketersediaan bahan baku.

Ps. Kemudahan akses dengan pasar.

Tk. Ketersediaan tenaga kerja.

St. Kemudahan sarana transportasi.

Ut. Ketersediaan utilitas

Berdasarkan total persentase yang diperoleh (Gambar 5.3), dapat ditentukan bahwa lokasi usaha terbaik yaitu di Kecamatan Sumbang dengan total bobot 31,32 persen.

6. Pengawasan mutu

Pengawasan mutu di industri pengawet alami berbahan dasar kecombrang diterapkan dari mulai bahan baku, bahan baku yang tidak sesuai syarat maka tidak dimasukkan dari

proses produksi. Pada saat pengolahan pengawasan dilakukan dengan mengatur suhu, pencampuran bahan baku dan bahan tambahan lain sesuai dengan acuan. Produk yang telah dikemas akan diperiksa di laboratorium sebelum produk dipasarkan.

7. Penentuan kebutuhan ruangan pabrik

Kebutuhan luas ruangan industri pengawet alami berbahan dasar kecombrang dapat dilihat pada Tabel 5.1, *lay out* usaha perkebunan dan pengolahan pengawet alami berbahan dasar kecombrang dapat dilihat pada Lampiran 4.

Tabel 5.1. Perkiraan kebutuhan ruangan industri pengawet alami berbahan dasar kecombrang

Lokasi	Luas (m ²)
Gudang bahan baku	10,50
Ruang persiapan	12,75
Ruang pengolahan	29,25
Ruang pengemasan	12,75
Gudang produk jadi	12
Ruang laboratorium	9
Kantor	12
Mushola	9
Toilet	3
Pos satpam dan parker	25
Total	135,25

C. Aspek manajemen operasional

1. Struktur organisasi perusahaan

Struktur organisasi yang dirancang merupakan struktur organisasi garis dan disusun berdasarkan ruang lingkup tugas dan wewenang dari suatu jabatan. Sistem manajemen pada industri pengawet alami bahan dasar kecombrang dilakukan dengan cukup jelas. Sistem yang dianut adalah sistem organisasi garis (*line organization*). Sistem ini mempunyai pengertian bahwa setiap atasan mempunyai bawahan yang tetap dan sebaliknya setiap bawahan mempunyai satu atasan tetap. Struktur organisasi perusahaan ditunjukkan pada Lampiran 5.

2. Rancangan jabatan

Rancangan jabatan adalah spesifikasi, kualifikasi, deskripsi tugas, dan wewenang serta tanggung jawab personal dalam organisasi. Kualifikasi dan spesifikasi kebutuhan tenaga kerja perusahaan dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2. Kualifikasi dan spesifikasi jabatan

No	Jabatan	Jmlh	Kualifikasi	Spesifikasi
1.	Direktur	1	S1	- Pertanian / TP
2.	Kabag Produksi	1	S1	- Pertanian / TP
3.	Kabag Umum	1	S1	- Manajemen
4.	Staf adm. keuangan	1	D3/S1	- Admin. Keuangan
5.	Staf QC	1	D3/S1	- Teknik Kimia
6.	Staf Pemasaran	1	D3	- Manajemen
7.	Staf pengembangan	1	D3	- Pertanian
7.	Bagian Produksi	8	SMU/K	- Disesuaikan
8.	Staf keamanan	2	SMU/K	- Sertifikasi satpam
9.	Bag. Pendukung			
	- Clening Service	1	SLTP/SMU	- Disesuaikan
	- Sopir	2	SMU/K	- Mempunyai SIM C dan B1
Jumlah		20		

3. Rencana penggajian

Manajemen penggajian mengacu pada Surat Ketetapan Gubernur Jawa Tengah No. 561.4/108/2009 tanggal 17 November 2009 tentang Upah Minimum pada 35 Kabupaten atau Kota di Jawa Tengah per 1 Januari 2010 yang menyebutkan bahwa besarnya UMK Banyumas tahun 2010 sebesar Rp. 670.000,-.

Tabel 5.3. Daftar rencana gaji pokok karyawan perusahaan.

No	Jabatan	Jmlh	Gaji (Rp)	Gaji/bulan (Rp)	Gaji/tahun (Rp)
1.	Direktur	1	2.250.000	2.250.000	27.000.000
2.	Kabag Produksi	1	1.750.000	1.750.000	21.000.000
3.	Kabag Umum	1	1.750.000	1.750.000	21.000.000
4.	Staf adm. keuangan	1	1.250.000	1.250.000	15.000.000
5.	Staf QC	1	1.250.000	1.250.000	15.000.000
6.	Staf Pemasaran	1	1.100.000	1.100.000	13.200.000
7.	Staf Pengembangan	1	1.100.000	1.100.000	13.200.000
8.	Bagian produksi	8	800.000	6.400.000	76.800.000
9.	Bagian pendukung				
	- <i>Cleaning service</i>	1	700.000	700.000	8.400.000
	- Sopir	2	700.000	1.400.000	16.800.000
10.	Staf keamanan	2	700.000	1.400.000	16.800.000
Total		20	13.350.000	20.350.000	244.200.000

D. Aspek yuridis

1. Bentuk badan usaha

Badan usaha yang direncanakan adalah *Perseroan Terbatas (PT)*.

2. Perizinan

Perizinan pendirian industri meliputi Izin Lokasi, Izin Gangguan (HO), Izin Mendirikan Bangunan (IMB), Izin Usaha Perdagangan (IUP) dan Tanda Daftar Usaha Perdagangan (TDUP), serta Izin Usaha Industri (IUI) dan Tanda Daftar Industri (TDI) dan Izin Reklame serta Nomor Pokok Wajib Pajak (NPWP).

3. Pengelolaan lingkungan

Industri akan menghasilkan limbah yang berupa limbah cair, limbah gas, dan limbah padat. Limbah industri pengawet alami berbahan dasar kecombrang ditangani berdasarkan jenisnya, yaitu limbah padat dan limbah cair. Industri pengawet alami berbahan dasar kecombrang juga menerapkan sanitasi yang baik, hal ini dilakukan untuk meminimalisir limbah dan juga untuk menjaga kebersihan pabrik. Sanitasi diterapkan di semua bagian produksi, dari mulai penyiapan bahan baku sampai dengan tempat pengolahan limbah.

E. Aspek finansial

Berdasarkan perhitungan yang dilakukan kebutuhan dana investasi awal usaha perkebunan dan industri pengolahan pengawet alami berbahan dasar kecombrang sebesar Rp. 703.565.000 dengan biaya operasional yang berbeda tiap tahunnya. Kapasitas produksi per hari maksimal 430 liter pengawet alami. Harga jual produk sebesar Rp. 7000/botol (500 mL). Pemasukan diperoleh dari perkebunan kecombrang pada tahun pertama sebesar Rp. 460.000.000, tahun kedua Rp. 520.000.000, dan tahun ketiga sampai kesepuluh setiap tahunnya Rp. 676.000.000. Pemasukan yang diperoleh dari pengolahan pengawet alami berbahan dasar kecombrang pada tahun pertama sebesar Rp. 1.444.800.000, tahun kedua Rp. 1.625.400.000, tahun ketiga Rp. 1.806.600.000. Pendapatan yang diperoleh merupakan pendapatan kotor yang belum dipotong biaya operasional dan pajak pendapatan.

Tingkat suku bunga yang digunakan adalah 15 persen. Proyek dikatakan menguntungkan jika nilai NPV > 0, PI > 1 dan IRR > 15 persen. Hasil analisis kelayakan dan sensitivitas untuk perkebunan ditunjukkan pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4. Hasil analisis kelayakan dan sensitivitas perkebunan kecombrang

Keterangan	NPV	IRR	PI	PBP (Tahun)
Keadaan normal	902.512.722	41%	2,84	2,95
Pendapatan turun 5 persen	764.949.442	37%	2,56	3,20
Operasional naik 5 persen	841.512.854	39%	2,72	3,08
Investasi naik 25 persen	889.793.950	40%	2,80	2,99

Tingkat suku bunga yang digunakan adalah 15 persen. Proyek dikatakan menguntungkan jika nilai NPV > 0, PI > 1 dan IRR > 15. Hasil analisis kelayakan dan sensitivitas untuk industri pengolahan pengawet alami kecombrang ditunjukkan pada Tabel 5.5.

Tabel 5.5. Hasil analisis kelayakan dan sensitivitas industri pengolahan pengawet alami kecombrang

Keterangan	NPV	PI	PBP (Tahun)	IRR (%)
Keadaan normal	1.257.271.313	2,86	2,16	51
Pendapatan turun 10 persen	656.684.319	1,97	3,06	35
Pendapatan turun 15 persen	354.641.655	1,52	3,74	26
Biaya operasional naik 10 persen	855.410.329	2,26	2,73	40
Biaya operasional naik 15 persen	652.730.671	1,96	3,07	34
Biaya investasi naik 25 persen	1.057.147.782	2,25	2,75	40

BAB 6. KESIMPULAN

Tanaman kecombrang bagian batang, daun, batang dan bunga memiliki komponen bioaktif yang dapat diformulasi menjadi pengawet alami. Aktivitas antimikroba kecombrang dalam formula pengawet alami dapat menghambat bakteri Gram positif, bakteri Gram negatif, Kapang dan Khamir yang dapat merusak dan menyebabkan pembusukan pada pangan. Formulasi pengawet alami berbahan kecombrang dalam bentuk bubuk, ekstrak, suspensi, mikrokapsul dan nanokapsul dapat menghasilkan pengawet alami. Bahan pengisi untuk membuat formula pengawet alami yaitu berupa maltodestrin, beta siklodekstrin dan gelatin. Produk pengawet alami berbahan dasar kecombrang dapat diaplikasikan pada daging giling, ikan segar, mie, bakso, sosis dan aneka produk pangan lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abram V, Donko M. 1999. Tentative Identification of Polyphenols in *Sempervivum tectorum* and assessment of the antimicrobial activity of *Sempervivum* L. *J Agric Food Chem* 47(2):485-489.
- Adam MR, Moss MO. 1995. *Food Microbiology*. The Royal Society of Chemistry. Cambridge.
- Adawiyah DR. 1998. Kajian Pengembangan Metode Ekstraksi Komponen Antimikroba Biji Buah Atung (*Parinarium glaberrinum* Hassk) [Tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Alakomi HL, Skytta E, Saarela M, Mattila-Sandholm T. 2000. Lactic acid permeabilizes gram negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Appl Environ Microbiol* 66:2001-2005.
- AOAC, 1990. *Official Methods Of Analisis Of Association Of Official Analytical Chemist* 25th edition. Publisher AOAC, Inc. , Washington
- Apriyantono, A., D. Fardiaz, N.L. Puspitasari, Sedarnawati dan S. Budiyo. 1989. *Analisis Pangan*. PAU Pangan dan Gizi, IPB, Bogor.
- Ardiansyah, Nuraida L, Andarwulan N. 2003. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Beluntas (*Plucea indica* L) dan Stabilitas Aktivitasnya Pada Berbagai Konsentrasi Garam dan Tingkat pH. *J Teknol dan Industri Pangan* XIV:2 (90-97).
- Bagamboula CF, Uyttendaele M, Debevere J. 2003. Antimicrobial effect of species and herbs on *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*. *J Food Prot* 66:668-673
- Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM. 1995. *Diagnostic Microbiology*. 9th eds. Bailey and Scott's Publisher. London.
- Best GK. 1999. Antibacterial Chemotherapy. <http://pharminto.com/publ/msb/newdrugs.html>. [20 maret 2004].
- Beuchat LR, Brackett RE, Doyle MP. 1994. Lethality of Carrot juice to *Listeria monocytogenes* as affected by pH, sodium chloride and temperature. *J Food Protect* 57(6):470-474.
- Booth IR. 1985. Regulation of cytoplasmic pH in bacteria. *Microbiol Rev* 49:359-378.
- Branen AL, Davidson PM. 1993. *Antimicrobial in Food*. Marcel Dekker. New York.
- Brewer MS. 2000. *Traditional preservatives – sodium chloride*. In : Robinson RK, Batt CA, Patel PD, editor. *Encyclopedia of food microbiology*. volume 1. London : Academic Press.
- Bruni R et al. 2004. Chemical composition and biological activities of Ishpingo essential oil, a traditional Ecuadorian spice from *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (Laureceae) flower calices. *Food Chem* 415-421.
- Bunduki MMC, Flanders KJ, Donnelly CW. 1995. Metabolic and Structural sites of Damage in heat and sanitizer-injured population of *Listeria monocytogenes*. *J Food Protect* 58(4): 410.
- Burt SA, Reinders RD. 2003. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* 0157:H7. *Letters in Appl Microbiol* 36(3) : 162-167.
- Campo JD, Amiot MJ, Christophe NT.. 2000. Antimicrobial Effect of Rosemary Extract. *J Food Protect* 63(10):1359-1368
- Campo JD, Amiot MJ, Nguyen-The C. 2000. Antimicrobial effect of rosemary extracts. *J Food prot* 63:1359-1368.
- Cano RJ, Colome JS. 1986. *Microbiology*. New York: West Publishing.
- Carson, C. F. and Riley, T. V. 1995. Antimicrobial Activity of the Major Components of the Essential Oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology* 78: 264-269.

- Carson, C. F., Mee, B. J. and Riley, T. V. 2002. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46(6): 1914–1920.
- Chan, E. W. C., Lim, Y. Y. and Omar, M. 2007. Antioxidant and antibacterial activity of leaves of *Etlingera species* (Zingiberaceae) in Peninsular Malaysia. *Food Chemistry* 104: 1586-1593.
- Chan, E. W. C., Lim, Y. Y., Wong, L. F., Lianto, F. S., Wong, S. K., Lim, K. K., Joe, C. E. and Lim, T. Y. 2008. Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species. *Food Chemistry* 109: 477-483.
- Chattopadhyay, D., Maiti, K., Kundu, A. P., Chakraborty, M. S., Bhadra, R., Mandal, S. C. and Mandal, A. B. 2001. Antimicrobial activity of *Alstonia macrophylla*: a folklore of bay islands. *Journal of Ethnopharmacology* 77(1): 49-55.
- Chart H. 2000. VTEC enteropathogenicity. *Appl Microbiol Sym Supplement* 88:12-23.
- Chung, P. Y., Navaratnam, P. and Chung, L. Y. 2011. Synergistic antimicrobial activity between pentacyclic triterpenoids and antibiotics against *Staphylococcus aureus* strains. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobial* 10(25): 1-6.
- Church, G. M. and Gilbert, W. 1984. Genomic sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 81(7): 1991-1995.
- Conner DE. 1993. *Naturally occurring compounds*, In Davidson P.M. and A.L. Branen. *Antimicrobial in Foods* 2nd. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Cosentino S *et al.* 1999. In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Letters in Appl Microbiol* 29: 130-135.
- Dahiya, P. and Purkayastha, S. 2012. Phytochemical screening and antimicrobial activity of some medicinal plants against multi-drug resistant bacteria from clinical isolates. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 74(5): 443-450.
- Davidson, P. M., Sofos, J. N. and Branen, A. L. 2005. *Antimicrobials in food*. CRC press.
- Djipa CD, Delmee M, Quetin-Leclercq J. 2000. Antimicrobial activity of bark extracts of *Syzygium jambos* (L.) Alston (Myrtaceae). *J Ethnopharm* 71:307-313.
- Dorman HJD, Deans SG. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol* 88:308-316.
- Fitzgerald DJ, Stratford M, Gasson MJ, Narbad A. 2005. Structure-Function Analysis of the Vanillin Molecule and Its Antifungal Properties. *J Agric Food Chem* 53:1769-1775.
- Frazier WC, Westhoff. 1988. *Food Microbiology*. Tata McGraw-Hill Publ. Co., Ltd. New Delhi.
- Gilbert P. 1984. The revival of microorganisms sublethally injured by chemical inhibitors. Andrew M. H. E., and Russell, A. D. (Eds). *The revival of injured microbes*. Academic Press, London.
- Glass KA, Loeffelholz JM, Ford JP. 1992. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 as affected by pH or sodium chloride and in fermented, dry sausage. *Appl Environ Microbiol* 58:2513-2516.
- Gordon MH, Jing An. 1995. Antioxidants activity of flavonoids isolated from Licorice. *J Agric Food Chem* 43:1874-1880
- Gould GW. 1995. *New method of food preservation*. Blackie Academic and Professional Pub., London.
- Guenther, A.; T. Karl, P. Harley, C. Wiedinmyer, P. I. Palmer and C. Geron (2006). "Estimates of global terrestrial isoprene emissions using MEGAN (Model of Emissions of Gases and Aerosols from Nature)". *Atmos. Chem. Phys.* 6(11): 3181–3210. doi:10.5194/acp-6-3181-2006.

- Guether E., 1987. Minyak Atsiri Jilid I. Terjemahan.oleh S. Ketaren. Universitas Indonesia Press. Jakarta. Indonesia.
- Gunawan-Efendi. 1994. Teknik Mikroenkapsulasi Provitamin A dari minyak sawit merah dengan metode koaservasi kompleks. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pangan dan Gizi, IPB, Bogor
- Habsah, M., Ali, A. M., Lajis, N. H., Sukari, M. A., Yap, Y.H., Kikuzaki, H. and Nakatani, N. 2005. Antitumour promoting and cytotoxic constituents of *Etlingera elatior*. *Malaysian Journal of Medical Science* 12: 6-12.
- Harborne, J. B. 2006. Phytochemicals technique. Bandung (ID): ITB Press.
- Houghton, P. J. and Raman. 1998. Laboratory Handbook for The Fractionation of Natural Extract. Chapman and Hall. London.
- Harbone JB. 1996. *Metode Fitokimia*. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (Penerjemah Padmawinata, K dan I. Soediro). Penerbit ITB. Bandung.
- Heath HB, Reineccius G. 1986. Flavor chemistry and Technology. An AVI Book. Van Nostrand Reinhold Comp. Publ. New York.
- Herbert RB. 1995. Biosintesis Metabolit Sekunder. (Terjemahan Srigandono B) IKIP Semarang Press. Semarang.
- Hesse, Manfred (2002). *Alkaloids: Nature's Curse or Blessing?*. Wiley-VCH. ISBN 978-3-906390-24-6.
- Hidayat SS dan Hutapea JR. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Edisi I: 440 – 441. Badan Penelitian dan Pengembangan Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Imelda, F., Faridah, D. N. and Kusumaningrum, H. D. 2014. Bacterial inhibition and cell leakage by extract of *Polygonum minus* Huds. leaves. *International Food Research Journal* 21(2): 553-560.
- Jay JM. 1996. *Modern Food Microbiology*. Van Nostrand Reinhold Publ. New York.
- Jenie BSL, Undriyani K, Dewanti R. 1992. Pengaruh metode ekstraksi jahe dan waktu kontak terhadap aktivitas beberapa mikroba penyebab kerusakan pangan. *Bul Pen Ilmu dan Tek Pangan* III (2):1-16.
- Jokopriyambodo W, Wahyono S, Katno. 1999. Pengaruh metode ekstraksi terhadap kadar ekstrak total laos (*Alpinia galanga* SW.). Buku Panduan Seminar Nasional XV Tumbuhan Obat Indonesia. Pokjanas TOI. Departemen Kesehatan RI dan PT Indofarma. Jakarta.
- Kam, P. C. A. and Liew. 2002. Traditional Chinese herbal medicine and anaesthesia. *Anaesthesia* 57(11): 1083-1089. (give name of second author)
- Kanazawa, A., Ikada, T. and Endo, T. 1995. A Novel Approach to Made of Action of Cationic Biocides Morphological Effect on Antibacterial Activity. *Journal of Applied Bacteriology* 78: 55-60.
- Karou, D., Savadogo, A., Canini, A., Yameogo, S., Montesano, C., Simpure, J. and Traore, A. S. 2006. Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology* 5(2): 195-200.
- Kubo, I., Muroi, H. and Himejima, M. 1992. Antimicrobial activity of green tea flavor components and their combination effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40(2): 245-248.
- Kubo, A., Lunde, C.S. and Kubo, I. 1993. Antimicrobial activity of olive oil flavour compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemical* 40(6): 999-1003.
- Karatzas AK, Kets EPW, Smid EJ, Bennik MHJ. 2001. The combined action of carvacrol and high hydrostatic pressure on *Listeria monocytogenes* Scott A. *J Appl Microbiol* 89:296-301.

- Kardono BS, Dewi RT. 1998. Kandungan Antioksidan dan Senyawa Fenolik dalam Rempah-rempah Endemik. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pangan dan Gizi*. Puslitbang Kimia Terapan LIPI, Serpong.
- Keun I, Davidson PM, Chung HJ. 2001. Antibacterial Activity in Extracts of *Camelia japonica*
- Khattak S *et al.* 2005. Biological effects of indigenous medicinal plants *Curcuma longa* and *Alpinia galangal*. *Fitoterapia* 76: 254-257.
- Kim JM, Marshall MR, Wei CI. 1995. Antibacteria Activity of Some Essensial Oil Components Againts Five Foodborne Pathogens. *J Agric Food Chem* 43(11):2839-2845.
- Kim, Y.D., C.V. Morr dan T.W. Schenz. 1996. Microencapsulation Properties of Gum Arabic and Several Food Proteins: Liquid Orange Oil Emulsion Particles. *J. Agric. Food Chem.* 44:1308-1313p.
- Kondo, A. 1970. *Microcapsule Processing and Technology*. Marcel Dekker Inc., New York.
- Kordali S *et al.* 2005. Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential oils from three Turkish *Artemisia* species. *J Agric Food Chem* 53:1408-1416.
- Lachumy, S. J. T., Sasidharan, S., Sumathy, V. and Zuraini, Z. 2010. Pharmacological activity, phytochemical analysis and toxicity of methanol extract of *Etlingera elatior* (torch ginger) flowers. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 3: 769-774.
- Lambert RJ, Stratford M. 1999. Weak acid preservatives: modelling microbial inhibition and response. *J Appl Microbiol* 86:157-164.
- Lambert RJW, Skandamis PN, Coote P, Nychas GJE. 2001. A study of minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J appl Microbiol* 91:453-462.
- López AM, Alzamora SM, Palou E. 2005. *Aspergillus flavus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. *Intern J Food Microbiol* 90:119-128.
- Lovitt RW, Wright CJ. 2000. *Bacteria. Di dalam* Robinson RK, Batt CA, Patel PD. editorial. *Encyclopedia of food microbiology* volume 1. Academic Press London.
- Moshi, M. J. and Mbwapbo, Z. H. 2005. Some pharmacological properties of extracts of *Terminalia sericea* roots. *Journal of Ethnopharmacology* 97(1): 43-47.
- Madigan MT, Martinko JM, Parker J. 2000. *Biology of Microorganisms*. Ninth Edition. Southern Illinois University Carbondale.
- Man J. 1987. *Secondary Metabolism* (2nd ed.). Clarendon Press. Oxford.
- McClure PJ, Hall S. 2000. Survival of *Escherichia coli* in foods. *Appl Microbiol Sym Supplement* 88:61-70.
- McKenney D, Willcock L, Trueman PA, Allison DG. 1994. Effect of sub-Mic antibiotic on the cell surface and extracellular virulence determinants of *Pseudomonas cepacia*. *J Appl Bacteriol* 76:190-195.
- McNaught, Alan D; Wilkinson, Andrew; IUPAC (1997). "[Flavonoids \(isoflavonoids and neoflavonoids\)](#)". *IUPAC Compendium of Chemical Terminology* (2 ed.). Oxford: Blackwell Scientific. Archived from [the original](#) on 29 June 2011.
- Mendoza-Yepes MJ, Sanchez-Hidalgo LE, Maertens G, marin-Iniesta F. 1997. Inhibition of *Listeria monocytogenes* and other bacteria by plant essential oil (DMC) en Spanish soft cheese. *J Food Safety* 17:47-55.
- Messenger S, Hammer KA, Carson CF, Riley TV. 2005. Assessment of the antibacterial activity of tea tree oil using the European EN 1276 and EN 12054 standard suspension tests. *J Hosp Infect* 59:113-125.
- Ming X, Weber GH, Ayres JW, Sandine WE. 1997. Bacteriocins applied to food packaging materials to inhibit *Listeria monocytogenes* on meats. *J Food Sci* 62(2): 413-415.

- Moniharapon T. 1998. Kajian Fraksi Bioaktif dari Buah Atung (*Parinarium glaberrimum* Hassk) sebagai Bahan Pengawet Pangan [disertasi]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Moyler DA. 1994. *Spices Recent Advances. Di dalam Charambous* (edition). Spices, Herbs and Edible Fungi. Elsevier. Amsterdam.
- Murhadi. 2002. Isolasi dan Karakterisasi Komponen Antibakteri dari Biji Atung (*Parinarium glaberrimum* Hassk) [disertasi]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Naufalin, R., Jenie, B.S.L. and Herastuti. S.R. 2005. Antibacterial activity of kecombrang (*Nicolaia speciosa*) flower extract toward pathogenic and spoilage bacteria. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 16(2): 119-125.
- Naufalin, R., Jenie, B.S.L., Kusnandar, F., Mirnawati, S. and Herastuti, S.R. 2006. Effect of pH, NaCl and heating on the antibacterial stability of kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) flower extract and its application in minced meat. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 17(3): 197-203.
- Naufalin, R. 2008. Aktivitas dan mekanisme kerja antibakteri ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan). Makalah Seminar Nasional Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia, Purwokerto 22-23 Agustus 2008.
- Naufalin, R. dan Herastuti, S.R. 2012. Pengawet Alami Pada Produk Pangan. UPT. Percetakan dan Penerbitan Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto.
- Naufalin, R. dan Herastuti, S.R. 2013. Microcapsule application of kecombrang (*Nicolaia speciosa*) flower extract: effect of concentration, type of fraction, pH of medium and NaCl on microbiological properties of minced beef. *Journal Animal Production* 15(1): 8-14.
- Naufalin, R. dan Herastuti, S.R. 2016. Antioxidant activity and physicochemical properties of *Nicolaia speciosa* flower extract. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* 09:297-303
- Nikaido, H. 2003. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67(4): 593-656.
- Nishina AK *et al.* 1991. 2,6-Dimetoxin-perfusi-benzoquinone as an Antimicrobial Substance in the Bark of *Phyllostachys heterocycla* var. Pubescens a Species of Thicks-Stemmed Bamboo. *J Agric Food Chem* 39:266-269.
- Nuraida L, Andarwulan N, Kristikasari E. 1999. Aktivitas antimikroba biji picung (*Pangium edule* Reinw.) segar dan terfermentasi terhadap bakteri patogen dan perusak makanan. *J Ilmu dan Tek Pangan* 4(2):118-122.
- Nuraida L., Dewanti RH. 2001. Sifat Antimikroba Beberapa Tanaman Indigenus terhadap Bakteri Patogen dan Pembusuk serta Kapang. *Prosiding Seminar Nasional. Pangan Tradisional sebagai Basis Industri Pangan Fungsional dan Suplemen*. Jakarta 14 Agustus 2001.
- Nychas GJE, Tassou CC. 2000. *Traditional preservatives-Oils and Spices. Di dalam Robinson, R.K., C.A. Batt, P.D. Patel. Ed. Encyclopedia of food.*
- Nychas GJE, Tassou CC. 2000. *Traditional preservatives-Oils and Spices. Di dalam Robinson RK, Batt CA, Patel PD. editorial. Encyclopedia of food microbiology volume 1. Academic Press London.*
- Oonmetta-aree, J., Suzuki, T., Gasaluck, P. and Eumkeb, G. 2006. Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*. *Food Science and Technology* 39: 1214–1220.
- Onwulata, C.I., P.W. Smith, J.C. Craig, J.R. and V.H. Holsinger. 1994. Physical Properties of Encapsulated Spray Dried Milk Fat. *J. Food Sci.* 59(2): 316-320p
- Ostlund RE, Racette SB, Stenson WF (1 June 2003). ["Inhibition of cholesterol absorption by](#)

- [phytosterol-replete wheat germ compared with phytosterol-depleted wheat germ". *Am. J. Clin. Nutr.* 77 \(6\): 1385–9. PMID 12791614.](#)
- Panizzi, L., Caponi, C., Catalano, S., Cioni, P. L. and Morelli, I. 2002. In vitro antimicrobial activity of extracts and isolated constituents of *Rubus ulmifolius*. *Journal of Ethnopharmacology* 79(2): 165-168.
- Park, S. J., Park, H. W. and Park, J. 2003. Inactivation kinetics of food poisoning microorganisms by carbon dioxide and high hydrostatic pressure. *Journal of Food Science* 68(3): 976-981.
- Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Meier, C., Kähkönen, M., Heinonen, M., Hopia, A., and Oksman-Caldentey, K. M. 2001. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology* 90(4): 494-507.
- Palmer SA, Stewart J, Fyfe L. 1998. Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils and Essences Against Five Important Food-Borne Pathogens. *Letter App Microbiol* 26:118-122.
- Pomeranz Y, Meloan CE. 1994. *Food Analysis, Theory, and Practice* (3rd Ed.). Chapman & Hall. New York.
- Portillo FGD. 2000. Molecular and Celular Biology of *Salmonella* Pathogenesis. *Di dalam* Cary JW, John EL, Deppak B. Microbial Foodborne Disease. Technomic Publishing Co., Pennsylvania.
- Prindle RF. 1983. *Phenolic compounds*. In Block SS. Ed. Desinfection Sterilization and Preservation. Lea and Fibiger. Philadelphia.
- Puupponen-Pimia R *et al.* 2001. Antimicrobial properties of phenolic compound from berries. *J Appl Microbiol* 90:494-507.
- Quinlan, M. B., Quinlan, R. J. and Nolan, J. M. 2000. Ethnophysiology and herbal treatments of intestinal worms in Dominica, West Indies. *Journal of Ethanopharmacology* 80: 75-83.
- Ramsewak RS *et al.* 1999. Biologically active carbazole alkaloids from *Murraya koenigii*. *J Agric Food Chem* 47(2): 444-447.
- Ray B. 2001. *Fundamental food microbiology*. Ed ke 2. New York: CRC Press.
- Reineccius G. 1994. Source Book of Flavors (2nd Ed). Chapman & Hall. New York.
- Ricci D *et al.* 2005. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of *Teucrium marum* (Lamiaceae). *J Ethnopharm* 98:195-200.
- Rosenberg, M., I.J. Kopelman and Y. Talmon. 1985. A Scanning Electron Microscopy Study of Microencapsulation. *J. Food Sci.* 50:139-144p.
- Scazzocchio, F., Cometa, M. F., Tomassini, L. and Palmery, M. 2001. Antibacterial activity of *Hydrastis canadensis* extract and its major isolated alkaloids. *Planta Medica* 67(6): 561-564.
- Shan, B., Cai, Y., Brooks, J. D. and Corke, H. 2008. Antibacterial properties of *Polygonum cuspidatum* roots and their major bioactive constituents. *Food Chemistry* 109: 530-537.
- Sara B. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Intern J Food Microb* 94:223-253.
- Saragih B, Betty SLJ, Wijaya CH. 2003. Potensi antimikroba ekstrak kulit kayu sikam (*Bischofia javanica* BL) terhadap bakteri patogen dan peusak makanan. *Prosiding*
- Schalch B, Beck H, 2000. European Union. Di dalam: Robinson RK, Batt CA, Patel PD. editorial. *Encyclopedia of food microbiology* Volume 1. Academic Press London.
- Shunying Z *et al.* 2005. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Chrysanthemum indicum*. *J Ethnopharm* 96:151-158.
- Shunying Z *et al.* 2005. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Chrysanthemum indicum*. 96: 151-158.

- Soekarto, T.S., 1987. *Pengujian Organoleptik Pada Bahan Makanan*. Gramedia. Jakarta.
- Stern NJ, Smoot LA, Pierson MD. 1979. Inhibition of *Staphylococcus aureus* growth by combinations of butylated hydroxyanisole, sodium chloride and pH. *J Food Sci* 44:710-712.
- Stern NJ, Smoot LA, Pierson MD. 1979. Inhibition of *Staphylococcus aureus* growth by combinations of butylated hydroxyanisole, sodium chloride and pH. *J Food Sci* 44:710-712.
- Stock K, Stolle A. 2001. Incidence of Salmonella in minced meat produced in a European Union-approved cutting plant. *J Food Protect* 64(9): 1435-1438.
- Stratford M. 2000. *Traditional preservatives organic acids*. In : Robinson RK, Batt CA, Patel PD, editor. *Encyclopedia of food microbiology*. volume 1. London : Academic Press.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhadi. 1997. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta.
- Sugiastuti S. 2002. Kajian Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L) pada Daging Sapi Giling [tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Syarief R, Halid H. 1993. *Teknologi Penyimpanan Pangan*. Arcan, Jakarta.
- Tampubolon OT, Suhatsyah S, Sastrapradja S. 1983. Penelitian Pendahuluan Kimia Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan). *Risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat III*. Fakultas Farmasi, UGM, Yogyakarta.
- Tampubolon, O.T., S. Suhatsyah, dan S. Sastrapradja. 1983. Penelitian Pendahuluan Kimia Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan). *Risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat III*. Fakultas Farmasi, UGM, Yogyakarta.
- Teisser P J. 1994. *Chemistry of Fragment Substance*. VHC Publ, Inc. New York.
- Thompson DP, Hintom. 1996. Inhibition of growth of mycotoxigenic *Fusarium* sp. by buthylated hydroxyanisole and/or carvacrol. *J Food Protect* 59:412-415.
- Ting ETW, Diebel KE. 1992. Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to spices at two temperature. *J Food Safety* 12:129-132
- Ultee A, Gorris LGM, Smid EJ. 1998. Bacterial activity of carvacrol towards the foodborne pathogen *Bacillus cereus*. *J Appl Microbiol* 85:211-216.
- Ultee A, Slump RA, Steging G, Smid E.J. 2000. Antimicrobial Activity of Carvacrol Toward *Bacillus cereus* on Rice. *J Food Protect* 63(5): 620-624.
- Ultee A, Smid EJ. 2001. Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*. *Intern J Food Microbiol* 64:373-378.
- Wijekoon, M. J. O., Bhat, R. and Karim, A. A. 2011. Effect of extraction solvents on the phenolic compounds and antioxidant activities of bunga kantan (*Etlingera elatior* Jack.) inflorescence. *Journal of Food Composition and Analysis* 24(4): 615-619.
- Wijekoon, M. M. J. O., Karim, A. A. and Bhat, R. 2011. Evaluation of nutritional quality of torch ginger (*Etlingera elatior* Jack.) inflorescence. *International Food Research Journal* 18(4): 1415-1420.
- Vagi E, Simandi B, Suhajda A., Hethelyi E. 2005. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Origanum majorana* L. extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide. *Food Research International* 38 : 51-57.
- Valianty K. 2002. Potensi Antibakteri Minyak Bunga Kecombrang [skripsi]. Purwokerto: Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Jenderal Soedirman
- Wagner, L.A. and J.J. Warthesen. 1995. Stability of freeze dried encapsulated Carrot Carotenes. *J. Food Sci.* 60(5):1048-1053p
- Wijaya CH, Apriyantono A, Rahayu WP, Haryanto HH. 1996. Ekstraksi campuran komponen ester dalam larutan model dengan menggunakan alat Likens Nickerson. *Bul Teknol &*

Industri Pangan.VII (3): 65-69.

- Xing, K., Chen, X. G., Kong, M., Liu, C. S., Cha, D. S. and Park, H. J. 2009. Effect of oleoyl-chitosan nanoparticles as a novel antibacterial dispersion system on viability, membrane permeability and cell morphology of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Carbohydrate Polymers* 79: 17-22.
- Young, S.L., X. Sarda and M. Rosenberg. 1993. Microencapsulating Properties of Whey Proteins : Combination of Whey Protein with Carbohidrat. *J. Dairy Sci.* 76 : 2878-2885p.
- Zhao T, Doyle MP, Besser RE. 1993. Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in apple cider with and withouth preservatives. *Appl Environ Microbiol* 59:2526-2530.

Bibliografi



Prof. Dr. Rifda Naufalin, S.P., M.Si. Lahir di Kudus pada tahun 1970. Pendidikan kesarjanaan diselesaikan di Fakultas Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Jenderal Soedirman. Berkesempatan studi S2 di Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bidang Ilmu Pangan. Gelar Doktor diperoleh dari Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor (2002-2005) dalam bidang Ilmu Pangan. Bekerja sebagai staf pengajar di Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto sejak tahun 1995 hingga sekarang. Mengajar beberapa mata kuliah yakni Kimia Pangan, Mikrobiologi Dasar, Mikrobiologi Pangan, Analisis Pangan, Biokimia Pangan, Teknologi Pengolahan Hasil Palmae, Mikrobiologi Industri dan Manajemen Mutu Agroindustri. Buku yang telah ditulis yaitu Pengawet Alami Pada Produk Pangan (2012), Penerapan Good Manufacturing Practicess (GMP) Pada Industri Gula Kelapa (2014), Aneka Olahan Sehat Pepaya (2014), dan Formulasi Tiwul Instan Tinggi Protein (2014).



UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN

Jalan Prof. Dr. H.R. Boenyamin 708 Purwokerto

Kode Pos 53122 Kotak Pos 115

Telepon 635292 (Hunting) 638337, 638795

Faksimile 631802

www.unsoed.ac.id

ISBN 978-602-1004-62-3



7 786021 004623