

## Pengaruh konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) dan waktu penyimpanan terhadap kualitas daging ikan tongkol

### The effect of ethanol extracts concentration of mengkudu fruit (*Morinda citrifolia*) and storage time toward *Euthynnus affinis* meat quality

VENERANDA SONYA AYU, ESTU RETNANINGTYAS NUGRAHENI, TJAHJADI PURWOKO

Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 28 Juli. Revisi disetujui: 23 Agustus 2010.

**Abstract.** Ayu VS, Nugraheni ER, Purwoko T. 2010. The effect of ethanol extracts concentration of mengkudu fruit (*Morinda citrifolia*) and storage time toward *Euthynnus affinis* meat quality. *Biofarmasi* 8: 58-65. High protein content in fish and the storage in a relatively short time will encourage the growth of bacteria. Therefore, the preservation techniques are required to expand the fish store. The use of formalin as a preservative substance, especially for fish, can damage to health, so it is necessary to find out the preservative substance as an alternative to substitute formalin. Mengkudu fruit (*Morinda citrifolia* L.) contains compounds that have an antibacterial activity, such as alkaloids and flavonoids. The purposes of this study were to determine the effect of ethanol extract concentration of mengkudu fruit and the storage time on the number of bacteria in *Euthynnus affinis* meat, and the concentration which have the same activity with formalin in inhibiting the number of bacteria in *E. affinis* meat. This research used a completely randomized design. The tested sample was *Euthynnus affinis* meat that soaked in ethanol extract of mengkudu fruit with concentrations between 10-100%. Every four hours, the TPC test, the water content, pH value and temperature of samples were measured. The results of observation were analyzed by ANOVA, further the results that significantly different were followed by a DMRT test with 95% confidence level. Based on the statistical analysis, the concentration of ethanol extract of mengkudu fruit and the storage time were significantly ( $p < 0.05$ ) in inhibiting the number of bacteria in *Euthynnus affinis* meat. The concentrations of extracts 80%, 90% and 100% had almost same activity to formalin in inhibiting the number of bacteria in *Euthynnus affinis* meat.

**Keywords:** *Euthynnus affinis*, *Morinda citrifolia*, meat quality, storage time

### PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara perairan yang kaya akan ikan laut. Menurut Sulistiyarto (2002), berdasarkan data FAO dari tahun 1994 sampai 1999, total perikanan dunia mengalami peningkatan, bahkan diprediksi akan terjadi peningkatan jumlah kebutuhan ikan pada tahun 2010, yaitu berkisar antara 105-110 juta ton berat basah. Hal ini disebabkan pertumbuhan jumlah penduduk dunia sekitar 1,8% per tahun, terutama di negara-negara berkembang (Sulistiyarto 2002).

Ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) (Muklis et al. 2009) termasuk salah satu jenis ikan laut yang terdapat di perairan Indonesia. Ikan tongkol merupakan sumber protein hewani yang banyak dikonsumsi masyarakat. Tingginya kadar protein mencerminkan tingginya kualitas daging ikan. Namun demikian, dengan tingginya kandungan protein akan memacu pertumbuhan bakteri yang dapat menimbulkan kerusakan. Menurut Fardiaz (1992), kerusakan bahan pangan, termasuk ikan, disebabkan bakteri memiliki berbagai enzim yang dapat memecah komponen-komponen kompleks menjadi senyawa-senyawa sederhana yang mengakibatkan terjadinya perubahan-perubahan sifat, seperti warna, bau,

rasa, dan tekstur. Oleh karena itu, diperlukan teknik pengawetan untuk mengatasi kerusakan pada daging ikan.

Teknik pengawetan adalah suatu metode untuk memperpanjang waktu simpan bahan pangan, dalam hal ini daging ikan. Teknik pengawetan yang umum dilakukan untuk mengatasi kerusakan tersebut adalah dengan pemberian es. Metode ini hanya mampu mempertahankan kualitas ikan dalam beberapa jam saja. Sementara itu, banyak dijumpai produsen ikan menggunakan formalin sebagai bahan pengawet.

Penggunaan formalin sangat dilarang oleh Pemerintah Indonesia, karena dapat mengakibatkan luka korosif pada lapisan mukosa saluran pencernaan dan disertai mual, muntah, dan rasa perih; pengaruh sistemik berupa depresi susunan saraf pusat, koma, kejang, dan terdapat sel darah merah pada urin; terjadi kerusakan hati, jantung, otak, limpa, pankreas, dan ginjal; serta formalin bersifat karsinogenik (Setyabudi et al. 2008). Dengan demikian, perlu dicari alternatif pengawet makanan, terutama daging ikan, yang aman bagi kesehatan dan memiliki aktivitas antibakteri.

Salah satu jenis tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri adalah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). Buah mengkudu digunakan sebagai obat antihipertensi,

antikanker, dan antibakteri. Senyawa antibakteri yang terdapat dalam buah mengkudu adalah *acubin*, *lasperuloside*, *alizarin*, serta komponen *antraquinon* lainnya. Senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus morgaui*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, dan *Shigella* (Winarti 2005).

Menurut Mangunwardoyo et al. (2007), bakteri patogen yang terdapat pada ikan laut adalah *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella*, *Pseudomonas*, dan *Enterobacteriaceae*. Adapun berdasarkan laporan penelitian Purwani et al. (2008), 4 dari 10 isolat bakteri pada daging dan ikan laut segar meliputi *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, serta *Escherichia coli*.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas senyawa antibakteri buah mengkudu pada daging ikan laut. Dalam penelitian ini dilakukan uji secara *in vivo* untuk diketahui jumlah bakteri pada daging ikan tongkol seiring dengan bertambahnya waktu penyimpanan, serta kualitas daging ikan tongkol berdasarkan pengaruh faktor-faktor lingkungan, yaitu kadar air, pH, dan suhu.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu terhadap jumlah bakteri pada daging ikan tongkol, pengaruh waktu penyimpanan terhadap jumlah bakteri pada daging ikan tongkol, serta konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu yang memiliki aktivitas yang sama dengan formalin dalam menghambat jumlah bakteri pada daging ikan tongkol.

## BAHAN DAN METODE

### Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan di Sub-Laboratorium Biologi Pusat Universitas Sebelas Maret Surakarta dari Juni 2009 sampai Januari 2010.

### Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kain hitam, tampah, pisau, telenan, baskom, nampan, gelas beker 1 L, corong gelas, oven, blender, stoples maserasi, Erlenmeyer 1 L, *rotary evaporator*, neraca digital, *waterbath*, botol flakon, gelas arloji, sarung tangan, masker, spatula, mikropipet, *blue tip*, *yellow tip*, gelas beker 50 ml, pinset, cawan petri, botol semprot (untuk alkohol 70%), tabung reaksi, rak tabung reaksi, *dryglasky*, mikropipet, erlenmeyer, gelas beker, kamera digital, *bunsen burner*, LAF, inkubator, *colony counter*, *autoclave*, pH-meter, dan termometer.

Sementara itu, bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah mengkudu yang diperoleh dari Desa Sukomangu, Kota Purwantoro, Kabupaten Wonogiri. Buah mengkudu tersebut berumur 4-5 bulan dengan tingkat kematangan sedang (buah berwarna kuning keputihan). Bahan-bahan lainnya diantaranya etanol 96% (untuk maserasi), kertas saring, CMC 0,1%, akuades, kertas label, daging ikan tongkol segar dari agen ikan laut di Kota Surakarta, ekstrak etanol buah mengkudu konsentrasi 10-100%, formalin 1%, garam fisiologis 0,9%, *peptone water*

0,1 %, media NA, alkohol 70% (untuk sterilisasi alat, LAF), *aluminium foil*, dan CMC 0,1%.

### Rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan menggunakan RAL dua arah. Penelitian ini menggunakan 2 faktor, yaitu konsentrasi ekstrak buah mengkudu yang terdiri dari 12 perlakuan yaitu konsentrasi 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%, formalin 1%, dan waktu penyimpanan yang terdiri dari 5 perlakuan, yaitu 0, 4, 8, 12, dan 16 jam. Penelitian dilakukan dengan dua kali ulangan perlakuan.

### Cara kerja

#### *Penyiapan sampel buah mengkudu*

Buah mengkudu dicuci bersih dengan air mengalir. Selanjutnya, buah mengkudu diiris tipis, pemotongan ini bertujuan untuk mempercepat proses pengeringan. Pengeringan dilakukan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam, selanjutnya buah mengkudu dikeringkan lagi di dalam oven bersuhu 45°C. Buah mengkudu yang telah kering dihancurkan dengan menggunakan blender hingga berbentuk serbuk.

#### *Ekstraksi dan pembuatan seri konsentrasi ekstrak buah mengkudu*

Serbuk buah mengkudu ditimbang hingga konstan menggunakan neraca digital kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol 96% selama 24 jam. Setelah 24 jam, hasil maserasi disaring dengan menggunakan kertas saring dan corong gelas, kemudian filtrat (maserat) I yang dihasilkan diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C, sehingga dihasilkan ekstrak etanol. Ekstrak etanol tersebut kemudian dikeringkan menggunakan *waterbath* hingga berbentuk pasta. Ampas serbuk buah mengkudu dimaserasi kembali seperti cara sebelumnya sebanyak tiga kali ulangan sehingga diperoleh filtrat II dan III, kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan dikeringkan menggunakan *waterbath* hingga berbentuk pasta.

Seri konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu dibuat dengan cara menimbang sejumlah ekstrak kasar sesuai dengan besarnya konsentrasi yang akan dibuat (10-100%). Ekstrak yang sudah ditimbang menggunakan neraca digital, dilarutkan ke dalam CMC 0,1% dan dihomogenkan secara sempurna.

#### *Uji in vivo daging ikan tongkol*

Ikan tongkol segar dengan saluran pencernaan yang telah dibuang, dicuci bersih dengan air mengalir. Selanjutnya, daging ikan tongkol dipotong-potong dan ditimbang dengan berat rata-rata 12 gram. Daging ikan tongkol direndam dengan ekstrak etanol buah mengkudu untuk masing-masing seri konsentrasi selama 2 menit, kemudian disimpan pada suhu kamar untuk diuji ALT setiap 4 jam. Sebagai kontrol digunakan formalin 1%.

#### *Uji ALT daging ikan tongkol*

Uji ALT dilakukan secara aseptis setiap 4 jam terhadap sampel daging ikan tongkol. Semua peralatan yang digunakan disterilkan terlebih dahulu menggunakan

*autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Daging ikan tongkol yang telah direndam ekstrak selanjutnya dihancurkan dan dihomogenasi dengan *peptone water* 0,1% dan garam fisiologis 0,9% di dalam erlenmeyer steril. Sebanyak 100 µl sampel diambil menggunakan pipet, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi 9,9 ml *peptone water* 0,1% dan garam fisiologis 0,9% sebagai pengenceran 10<sup>-2</sup>, selanjutnya sebanyak 100 µl diambil dari pengenceran 10<sup>-2</sup> dimasukkan ke dalam tabung kedua sebagai pengenceran 10<sup>-4</sup>, proses berlanjut hingga pengenceran 10<sup>-8</sup>. Keempat tabung reaksi tersebut dihomogenkan menggunakan *vortex*. Hasil dilusi untuk tiap faktor pengenceran ditumbuhkan ke dalam cawan petri steril yang berisi media NA sebanyak 100 µl. Cawan petri tersebut kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Jumlah koloni yang tumbuh dihitung menggunakan *colony counter* (Depkes RI 1995).

#### Uji kadar air daging ikan tongkol

Potongan daging ikan tongkol dengan berat sekitar 1 gram direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu untuk masing-masing konsentrasi selama 2 menit, kemudian disimpan pada suhu kamar setiap 4 jam. Uji kadar air ini dilakukan dengan penimbangan botol flakon kosong menggunakan neraca digital. Selanjutnya, botol flakon diisi dengan potongan daging ikan tongkol seberat 1 gram yang sudah diuji secara *in vivo* untuk masing-masing konsentrasi ekstrak kemudian dilakukan penimbangan kembali. Berat botol flakon kosong yang berisi potongan daging ikan tongkol tersebut dianggap sebagai berat sampel awal. Botol flakon yang berisi potongan daging ikan tongkol kemudian dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 100°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, botol flakon berisi potongan daging ikan tongkol ditimbang kembali hingga konstan menggunakan neraca digital dan nilainya dianggap sebagai berat sampel akhir. Selisih antara berat basah dengan berat kering adalah nilai perubahan kadar air dalam daging ikan tongkol. Berikut ini rumus penghitungan kadar air dalam daging ikan tongkol:

$$\frac{\text{berat sampel awal}-\text{berat sampel akhir}}{\text{berat sampel awal}} \times 100\%$$

#### Uji nilai pH daging ikan tongkol

Potongan daging ikan tongkol dengan berat sekitar 1 gram direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu untuk masing-masing konsentrasi selama 2 menit, kemudian disimpan pada suhu kamar untuk diukur nilai pH-nya setiap 4 jam menggunakan pH-meter yang sebelumnya telah dikalibrasi. Sebagai kontrol digunakan formalin 1%.

#### Uji suhu daging ikan tongkol

Potongan daging ikan tongkol dengan berat sekitar 1 gram direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu untuk masing-masing konsentrasi selama 2 menit, kemudian disimpan pada suhu kamar untuk diukur suhunya setiap 4 jam menggunakan termometer. Sebagai kontrol digunakan formalin 1%.

#### Analisis data

Data hasil penelitian dianalisis dengan ANAVA. Jika terdapat perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan uji DMRT dengan tingkat kepercayaan 95%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Tahap preparasi dan pengujian awal

Buah mengkudu yang digunakan dalam penelitian ini berumur sekitar 4 bulan dan berwarna kuning keputihan, karena memiliki kandungan flavonoid yang cukup tinggi (Hilman 2009). Sebelum dibuat serbuk, buah mengkudu mengalami proses penyiapan yang meliputi penyortiran, pencucian, pemotongan, pengeringan, serta penghancuran, sehingga diperoleh simplisia serbuk sebanyak 1200 gram. Pembuatan serbuk bertujuan untuk memperluas permukaan partikel yang berinteraksi dengan pelarut sehingga mempermudah melarutkan metabolit sekunder. Tahap selanjutnya dilakukan ekstraksi dan pembuatan seri konsentrasi.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi dengan pelarut etanol 96%. Ekstraksi dengan etanol 96% bertujuan untuk menyari senyawa-senyawa yang bersifat polar, seperti senyawa golongan polifenol, fenol, glikosida, dan flavonoid (Virganita 2009). Setelah itu dilakukan pembuatan seri konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu dengan pelarut CMC 0,1%. CMC merupakan turunan selulosa bersifat mudah larut dalam air yang berfungsi untuk melarutkan ekstrak. Pada tahap berikutnya dilakukan uji *in vivo*, selanjutnya dilakukan uji ALT serta faktor-faktor lingkungan (kadar air, pH, dan suhu) pada daging ikan tongkol.

#### Hasil perhitungan jumlah bakteri pada daging ikan tongkol dengan metode ALT

Uji ALT dilakukan secara aseptis setiap 4 jam terhadap sampel daging ikan tongkol. Semua peralatan yang digunakan dalam kondisi steril, karena sebelumnya telah dicuci dengan air mengalir, dikeringkan, dan disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 30 menit. Uji ALT dilakukan di dalam ruang LAF untuk menciptakan kondisi yang steril. Tahapan uji ALT meliputi proses homogenisasi sampel, pengenceran, penanaman pada media padat (inokulasi), tahap inkubasi, serta penghitungan jumlah koloni bakteri (Badan POM 2008).

Tahap homogenisasi sampel merupakan tahap pendahuluan dalam pengujian. Tahap homogenisasi sampel dalam penelitian ini yaitu daging ikan tongkol dicuci bersih dengan air mengalir, kemudian dihancurkan dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer untuk selanjutnya dilakukan tahap pengenceran. Homogenisasi bertujuan untuk membebaskan sel bakteri yang mungkin terlindung partikel sampel dan untuk memperoleh distribusi bakteri sebaik mungkin (Badan POM 2008).

Tahap pengenceran bertujuan untuk mengurangi kepekatan mikroba dalam suatu larutan, sehingga diperoleh koloni murni. Pengenceran menggunakan larutan pengencer yang berfungsi untuk mengaktifkan kembali sel-sel bakteri yang mungkin kehilangan vitalitasnya akibat

kondisi di dalam sampel yang kurang menguntungkan (Badan POM 2008). Larutan pengencer yang digunakan adalah *peptone water* 0,1% dan garam fisiologis 0,9%. *Peptone water* berfungsi untuk mempertahankan sel (fase tumbuh) dan sebagai sumber nutrisi bagi bakteri, sedangkan garam fisiologis mengandung ion-ion yang berfungsi dalam metabolisme sel bakteri. Larutan pengencer dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi cacahan daging ikan tongkol. Pengenceran dilakukan hingga  $10^{-8}$ .

Tahap berikutnya adalah penanaman bakteri pada media padat (inokulasi). Inokulasi suspensi sampel ke dalam media NA steril dilakukan dengan metode cawan sebar menggunakan *dryglasky*. Pada media NA terkandung natrium sebagai sumber karbon dan nitrogen untuk pertumbuhan bakteri pada sampel. Selanjutnya, cawan petri tersebut diinkubasi di dalam inkubator pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam, hal ini bertujuan untuk menumbuhkan koloni bakteri. Jumlah koloni bakteri yang tumbuh dihitung menggunakan *colony counter* (Depkes RI 1995). Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri pada daging ikan tongkol menggunakan metode ALT dapat dilihat pada Gambar 1.

Jumlah bakteri pada daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu pada 4 jam penyimpanan cenderung mengalami peningkatan, kecuali pada konsentrasi 80%, 90%, dan 100% serta formalin 1%. Peningkatan jumlah bakteri tersebut mempengaruhi peningkatan suhu, seperti pada Gambar 4. Hal ini disebabkan semakin tinggi pertumbuhan bakteri maka suhu semakin meningkat, karena bakteri aktif melakukan metabolisme untuk pertumbuhan sel. Adapun pada konsentrasi 80%, 90%, dan 100% serta formalin 1% cenderung mengalami penurunan jumlah bakteri. Penurunan jumlah bakteri pada awal penyimpanan mempengaruhi penurunan kadar air dan pH. Menurut Yanti et al. (2008), hasil metabolisme bakteri antara lain air yang dapat meningkatkan kadar air pada daging. Oleh karena itu, semakin sedikit bakteri yang tumbuh maka jumlah air yang dihasilkan juga semakin rendah.

Secara keseluruhan, grafik hasil perhitungan jumlah bakteri pada daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu selama 4 jam penyimpanan (Gambar 1) cenderung mengandung jumlah bakteri yang masuk dalam batas kelayakan konsumsi, kecuali pada konsentrasi 10%, 20%, dan 30%. Batas maksimal cemaran bakteri pada daging segar sesuai Standar Nasional Indonesia (SNI) No. 01-6366-2000 yaitu  $1 \times 10^4$  CFU/gram (Yanti et al. 2008). Jumlah bakteri pada daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu pada konsentrasi 10%, 20%, dan 30% cenderung meningkat melebihi batas kelayakan konsumsi ( $>10^4$  CFU/gram) hingga 16 jam. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa senyawa antibakteri dalam ekstrak etanol buah mengkudu pada konsentrasi 10%, 20%, dan 30% tidak efektif menghambat pertumbuhan bakteri pada daging ikan tongkol. Hal ini dapat terjadi akibat terdegradasinya komponen-komponen senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri, akan tetapi komponen-komponen nutrisi seperti gula, senyawa logam, atau serat masih bersifat aktif dan berperan dalam metabolisme sel,

sehingga dimanfaatkan sel bakteri untuk meningkatkan pertumbuhannya (Rahayu 2000). Selain itu, terjadinya peningkatan jumlah bakteri hingga 16 jam diduga disebabkan tingginya kandungan lemak dalam daging ikan yang mampu membentuk lapisan pada permukaan bakteri, sehingga mencegah penetrasi zat antibakteri dari ekstrak ke dalam sel bakteri.

Daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu pada 8 jam penyimpanan memiliki jumlah bakteri yang cenderung meningkat. Peningkatan jumlah bakteri tersebut menyebabkan terjadinya peningkatan kadar air dan suhu. Berdasarkan Gambar 1, hasil perhitungan jumlah bakteri pada daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu pada konsentrasi 40%, 50%, 60%, dan 70% melebihi batas kelayakan konsumsi ( $>10^4$  CFU/gram), sehingga diasumsikan bahwa ekstrak tersebut hanya mampu mempertahankan masa simpan daging ikan tongkol selama 4 jam penyimpanan. Adapun jumlah bakteri pada daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu pada konsentrasi 80%, 90%, dan 100% serta formalin 1% selama 8 jam penyimpanan masuk dalam batas kelayakan konsumsi ( $<10^4$  CFU/gram), sehingga ekstrak tersebut masih berfungsi efektif untuk mengawetkan daging ikan.

Pada 12 jam penyimpanan, jumlah bakteri pada daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol pada konsentrasi 80% mengalami peningkatan hingga melebihi batas kelayakan konsumsi ( $>10^4$  CFU/gram). Peningkatan jumlah bakteri tersebut didukung oleh faktor lingkungan, yaitu pH dan suhu. Hal ini disebabkan semakin tinggi pH dan suhu maka akan terjadi peningkatan jumlah bakteri, begitu juga sebaliknya. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol buah mengkudu dengan konsentrasi 80% hanya mampu mempertahankan masa simpan daging ikan selama 8 jam penyimpanan.

Jumlah bakteri pada daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu konsentrasi 90% cenderung menurun pada 12 jam penyimpanan dengan jumlah bakteri di bawah batas ( $<10^4$  CFU/gram). Penurunan tersebut mempengaruhi penurunan pH dan suhu. Menurut Yanti et al. (2008), pH rendah, yaitu 5,1-6,1, menyebabkan daging mempunyai stabilitas yang lebih baik terhadap kerusakan oleh mikroorganisme, sedangkan pH daging ikan yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu pada konsentrasi 90% adalah 5. Oleh karena itu, pernyataan Yanti et al. (2008) sesuai dengan penelitian ini. Akan tetapi, jumlah bakteri meningkat melebihi batas ( $>10^4$  CFU/gram) pada 16 jam penyimpanan. Peningkatan tersebut mempengaruhi kadar air dan suhu. Berdasarkan uraian tersebut maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol buah mengkudu pada konsentrasi 90% mampu memperpanjang masa simpan daging ikan tongkol selama 12 jam penyimpanan.

Daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu pada konsentrasi 100% mampu memperpanjang masa simpan daging ikan tongkol hingga 16 jam. Terjadinya penghambatan jumlah bakteri oleh ekstrak etanol buah mengkudu pada konsentrasi 100% didukung oleh pengaruh faktor lingkungan, yaitu kadar air.

Hal ini sesuai dengan pernyataan Wulandari et al. (2005) bahwa kadar air merupakan salah satu faktor yang sangat mempengaruhi daya tahan suatu bahan pangan. Semakin rendah kadar air maka semakin lambat pertumbuhan bakteri, sehingga bahan pangan dapat tahan lama untuk disimpan. Sebaliknya, semakin tinggi kadar air, semakin cepat pertumbuhan bakteri. Menurut Nursal et al. (2006), salah satu faktor yang dapat menyebabkan terjadinya penghambatan pertumbuhan koloni bakteri adalah kerusakan pada komponen struktural membran sel bakteri akibat pengaruh aktivitas senyawa antibakteri. Selain itu, tingginya kandungan senyawa antibakteri dan antioksidan dalam ekstrak dapat menghambat pertumbuhan bakteri dalam jangka waktu yang lama. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pelczar dan Chan (1988) bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka semakin tinggi aktivitas antibakterinya.

Berdasarkan analisis statistik, diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol buah mengkudu dan waktu penyimpanan berpengaruh signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap jumlah bakteri pada daging ikan tongkol, serta ekstrak etanol buah mengkudu dengan konsentrasi 80%, 90%, dan 100% memiliki aktivitas antibakteri yang hampir sama dengan formalin dalam menghambat jumlah bakteri pada daging ikan tongkol. Hal ini sesuai dengan pernyataan Zuhud et al. (2001) bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka jumlah senyawa antibakteri yang dilepaskan semakin besar, sehingga mempermudah penetrasi senyawa tersebut masuk ke dalam sel. Secara umum dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak dan lama waktu kontak maka aktivitas antibakteri ekstrak semakin baik.

Tingginya kandungan senyawa antibakteri dalam ekstrak etanol buah mengkudu, yaitu senyawa fenol, akan mempengaruhi keawetan suatu bahan pangan. Hal ini disebabkan kemampuan fenol untuk mendenaturasi protein dan merusak membran sel dengan cara melarutkan lemak yang terdapat pada dinding sel karena senyawa fenol mampu bermigrasi dari fase cair ke lemak (Rahayu 2000). Selain itu, adanya senyawa antioksidan dalam buah mengkudu dapat menghambat autooksidasi pada lemak dengan menghambat reaksi antara peroksida aktif dan ikatan rangkap lemak (Rini 2009). Senyawa antioksidan juga berfungsi sebagai antibakteri karena kemampuannya membentuk kompleks dengan protein yang larut, protein ekstraseluler, dan dinding sel bakteri (Kresnawaty et al. 2009).

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan uji T, terdapat perbedaan jumlah bakteri pada daging ikan tongkol antara perlakuan kontrol dan formalin 1%. Pada kontrol, jumlah bakteri meningkat karena jumlah bakteri pada 16 jam penyimpanan berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) dengan jumlah bakteri pada 0 jam. Adapun daging ikan tongkol yang direndam dengan formalin 1% cenderung mengalami penghambatan jumlah bakteri karena jumlah bakteri pada 16 jam dan 0 jam penyimpanan tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ), hal ini sesuai dengan hasil grafik ALT (Gambar 1) bahwa formalin 1% mampu mempertahankan masa simpan daging ikan tongkol hingga 16 jam dengan jumlah bakteri paling rendah. Hal ini dikarenakan formalin memiliki unsur aldehida yang mudah bereaksi dengan

protein dan membentuk lapisan baru yang melindungi lapisan di bawahnya, sehingga tahan terhadap serangan bakteri lain.

### **Hasil uji faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi kualitas daging ikan tongkol**

#### *Kadar air daging ikan tongkol*

Kadar air daging ikan tongkol yang direndam pada semua konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu dan formalin 1%, cenderung mengalami penurunan pada 4 jam penyimpanan. Salah satu penyebab penurunan kadar air tersebut adalah berkurangnya jumlah bakteri pada daging ikan tongkol yang direndam dalam beberapa konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu, seperti pada grafik ALT (Gambar 1). Hal ini didukung oleh pernyataan Fardiaz (1992) yang menyatakan bahwa semakin sedikit bakteri yang tumbuh maka jumlah air yang dihasilkan juga semakin rendah.

Kadar air daging ikan tongkol yang direndam dalam beberapa konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu pada 8 jam penyimpanan cenderung mengalami penurunan, kecuali ekstrak etanol buah mengkudu dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, serta 40%. Penurunan kadar air tersebut diduga disebabkan ekstrak pada awal waktu penyimpanan lebih difokuskan untuk menyerap air pada daging ikan tongkol melalui osmosis. Dengan berkurangnya kadar air, diharapkan dapat memperpanjang masa simpan daging ikan tongkol. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sedjati et al. (2007) bahwa rendahnya kadar air dalam suatu bahan pangan dapat memperpanjang masa simpan karena semakin sedikit bakteri yang tumbuh (Fardiaz 1992). Adapun peningkatan kadar air yang terjadi pada ekstrak etanol buah mengkudu dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, dan 40% terjadi akibat peningkatan jumlah bakteri seperti pada grafik ALT (Gambar 1). Hal ini sesuai dengan pernyataan Yanti et al. (2008) bahwa air merupakan hasil metabolisme dari bakteri, sehingga semakin tinggi total koloni bakteri pada daging maka semakin tinggi kadar airnya.

Daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu pada penyimpanan 12 jam, menunjukkan pola grafik kadar air yang cenderung menurun, kecuali ekstrak etanol buah mengkudu dengan konsentrasi 40%, 50%, 70%, 90%, dan 100%. Peningkatan kadar air pada beberapa konsentrasi tersebut disebabkan terjadinya peningkatan total koloni bakteri seperti pada grafik ALT (Gambar 1). Hal ini sesuai dengan pernyataan Yanti et al. (2008) bahwa semakin tinggi total koloni bakteri pada daging maka semakin tinggi kadar airnya, karena air merupakan hasil metabolisme dari bakteri.

Sementara itu, pada penyimpanan selama 16 jam, kadar air daging ikan tongkol cenderung meningkat. Peningkatan kadar air tersebut terjadi akibat peningkatan jumlah bakteri hingga melebihi batas kelayakan konsumsi oleh beberapa konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu, seperti pada grafik ALT (Gambar 1).

Formalin 1% cenderung mengalami penurunan kadar air dan memiliki kemampuan pengeringan kadar air terbaik. Hal ini dikarenakan formalin merupakan formaldehida yang mampu mengikat protein hingga menembus dalam sel, sehingga sulit terdegradasi dan

memiliki kemampuan difusi yang optimal.

Secara keseluruhan, kadar air daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu pada konsentrasi 60-100% selama 16 jam penyimpanan, memiliki kadar air yang cukup rendah yaitu berkisar antara 63-67%. Sebagai pembandingan adalah kadar air daging ikan tongkol tanpa perlakuan, yaitu sebesar 77%. Dengan demikian dapat diasumsikan bahwa kadar air daging yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu dengan konsentrasi yang cukup tinggi memiliki kadar air yang lebih rendah dibanding daging ikan tongkol tanpa perlakuan, dengan demikian dapat memperpanjang masa simpan daging ikan tongkol.

#### *Nilai pH daging ikan tongkol*

Nilai pH merupakan salah satu faktor penting yang dapat mempengaruhi pertumbuhan, aktivitas biologi dan enzim, serta kematian bakteri (Sumarsih 2003). Nilai pH daging ikan tongkol pada semua konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu cenderung mengalami penurunan pada 4 jam penyimpanan dengan pH lebih rendah dari kontrol. Menurut Rostini (2007), penurunan pH dapat memperlambat pertumbuhan mikroorganisme pembusuk. Pernyataan tersebut sesuai dengan grafik ALT (Gambar 1), yaitu terjadi kecenderungan penurunan jumlah bakteri pada daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu.

Berdasarkan hasil penelitian Jayaraman et al. (2008), yaitu salah satu kandungan senyawa antibakteri dalam buah mengkudu adalah flavonoid. Flavonoid merupakan golongan fenol alam yang ditemukan pada semua tumbuhan hijau (Ambarwati 2007). Menurut Rahayu (2000), jika kondisi substrat dengan pH rendah, seperti pada nilai pH daging ikan tongkol dengan penyimpanan selama 4 jam maka akan meningkatkan aktivitas senyawa fenol dalam menghambat pertumbuhan mikroba. Hal ini dikarenakan fenol memiliki kemampuan untuk mendenaturasi protein dan merusak membran sel bakteri dengan cara melarutkan lemak yang terdapat pada dinding sel bakteri karena senyawa fenol mampu melakukan migrasi dari fase cair ke fase lemak. Selain itu, beberapa senyawa turunan fenol memiliki kemampuan untuk menurunkan tegangan permukaan sel bakteri.

Daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu pada penyimpanan selama 8 jam cenderung mengalami penurunan nilai pH, kecuali ekstrak etanol buah mengkudu dengan konsentrasi 100%. Nilai pH yang rendah akan menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga total koloni bakteri menjadi rendah (Yanti et al. 2008). Peningkatan pH pada ekstrak etanol buah mengkudu dengan konsentrasi 100% dipengaruhi oleh peningkatan pertumbuhan bakteri seperti pada grafik ALT (Gambar 1).

Nilai pH daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu selama 12 jam penyimpanan cenderung menurun, kecuali ekstrak etanol buah mengkudu pada konsentrasi 50% dan 80%. Ekstrak etanol buah mengkudu pada konsentrasi 50% dan 80% cenderung mengalami peningkatan nilai pH karena terjadi peningkatan jumlah bakteri, seperti yang ditunjukkan pada grafik ALT (Gambar 1). Adapun pada penyimpanan selama 16 jam,

nilai pH daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu cenderung menurun, kecuali ekstrak etanol buah mengkudu pada konsentrasi 40% dan 100%. Peningkatan pH pada ekstrak etanol buah mengkudu pada konsentrasi 40% dan 100% terjadi karena peningkatan jumlah bakteri, seperti yang ditunjukkan pada grafik ALT (Gambar 1).

Nilai pH medium sangat mempengaruhi jenis mikroba yang tumbuh. Nilai pH daging ikan tongkol dari hasil penelitian ini berkisar antara 4-5,5. Dengan demikian diduga bakteri yang terdapat pada daging ikan tongkol tersebut adalah golongan bakteri asam laktat. Hal ini disebabkan bakteri asam laktat mampu memecah glukosa menghasilkan asam laktat sehingga menyebabkan pH menjadi rendah. Nilai pH yang rendah dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain sehingga dapat berfungsi sebagai pengawet makanan (Kusmiati dan Malik 2002). Selain itu, aktivitas senyawa fenol dapat meningkat pada kondisi pH media yang rendah (Rahayu 2000), sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan dapat digunakan sebagai alternatif pengawet alami pada daging ikan tongkol.

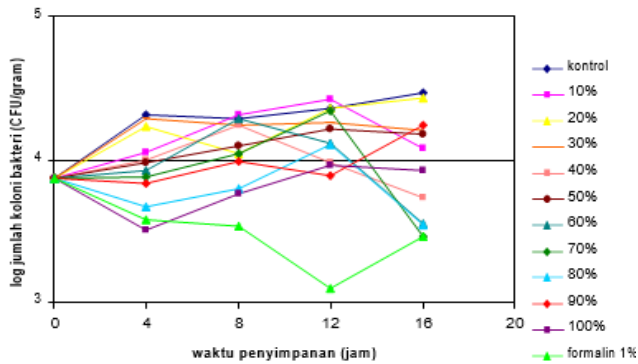
#### *Suhu daging ikan tongkol*

Berdasarkan Gambar 4, dapat diketahui bahwa suhu daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu cenderung meningkat pada 4 jam penyimpanan. Kecenderungan peningkatan suhu tersebut disebabkan oleh peningkatan jumlah bakteri, seperti pada grafik ALT (Gambar 1). Hal ini disebabkan semakin tinggi jumlah bakteri maka semakin tinggi suhunya, karena bakteri aktif melakukan metabolisme.

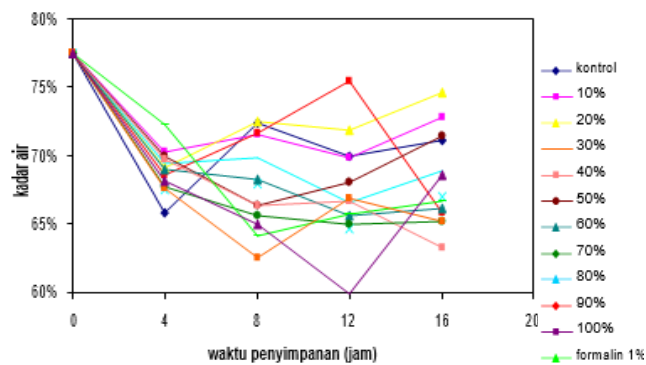
Suhu daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu pada 8 jam penyimpanan cenderung menurun, kecuali ekstrak etanol buah mengkudu pada konsentrasi 10%, 20%, dan 50%. Peningkatan suhu dipengaruhi oleh peningkatan jumlah bakteri karena bakteri aktif melakukan metabolisme.

Pada penyimpanan 12 jam, grafik suhu daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu cenderung menurun, kecuali ekstrak etanol buah mengkudu dengan konsentrasi 80%. Grafik suhu daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu dengan konsentrasi 80% menunjukkan adanya kenaikan suhu. Kenaikan suhu tersebut diikuti dengan kenaikan jumlah bakteri, hal ini sesuai dengan grafik ALT (Gambar 1).

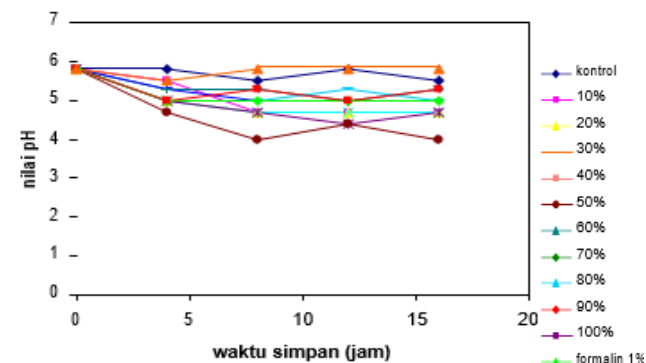
Grafik suhu daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu selama 16 jam penyimpanan cenderung meningkat, kecuali ekstrak etanol buah mengkudu dengan konsentrasi 80%. Penurunan suhu pada daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu dengan konsentrasi 80% menyebabkan penurunan jumlah bakteri, seperti yang ditunjukkan pada grafik ALT (Gambar 1). Hal ini sesuai dengan pernyataan Ramli (2001) bahwa temperatur merupakan faktor yang harus diperhatikan untuk mengatur pertumbuhan bakteri, sebab semakin tinggi temperatur maka tingkat pertumbuhan bakteri semakin besar, dan semakin rendah temperatur maka pertumbuhan bakteri semakin rendah.



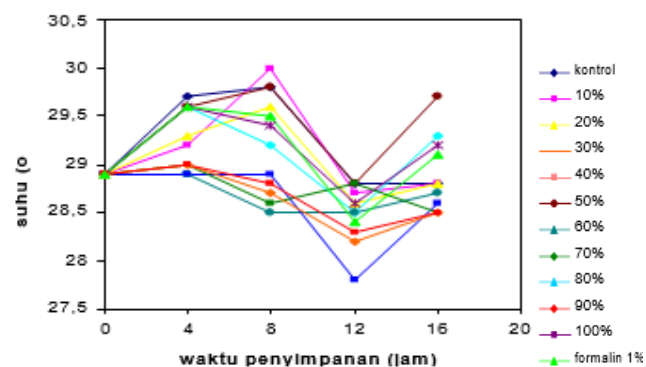
Gambar 1. ALT daging ikan tongkol dengan pemberian ekstrak etanol buah mengkudu



Gambar 2. Kadar air daging ikan tongkol dengan pemberian ekstrak etanol buah mengkudu



Gambar 3. pH daging ikan tongkol dengan pemberian ekstrak etanol buah mengkudu



Gambar 4. Suhu daging ikan tongkol dengan pemberian ekstrak etanol buah mengkudu

Secara keseluruhan, daging ikan tongkol yang direndam dalam ekstrak etanol buah mengkudu memiliki suhu lebih rendah dari kontrol. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol buah mengkudu dapat digunakan sebagai alternatif pengawet alami karena dapat memperpanjang waktu simpan daging ikan tongkol. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Haryuni et al. (2003), yaitu semakin rendah suhu maka semakin lambat proses metabolisme dan semakin lama daging dapat disimpan.

**KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu berpengaruh secara signifikan dalam menghambat jumlah bakteri pada daging ikan tongkol. Waktu penyimpanan berpengaruh signifikan dalam menghambat jumlah bakteri pada daging ikan tongkol. Konsentrasi 80%, 90%, dan 100% merupakan konsentrasi yang memiliki aktivitas hampir sama dengan formalin dalam menghambat jumlah bakteri pada daging ikan tongkol.

**DAFTAR PUSTAKA**

Badan POM [Badan Pengawas Obat dan Makanan]. 2008. Pengujian mikrobiologi pangan. Info POM 9(2): 1-11.  
 Depkes RI [Departemen Kesehatan Republik Indonesia]. 1995. Farmakope Indonesia Edisi IV. Depkes RI, Jakarta.  
 Fardiaz. 1992. Mikrobiologi pangan. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.  
 Haryuni, Dini R, Suranto et al. 2003. Pengaruh Rempah-rempah terhadap kualitas fillet ikan mas (*Cyprinus carpio* L.). *Enviro* 3(1):10-17.  
 Hilman. 2009. Buah mengkudu untuk obat kanker. [www.naturindonesia.com](http://www.naturindonesia.com). [12 April 2010].  
 Jayaraman SK, Manoharan S, Illachezian S. 2008. Antibacterial, antifungal, and tumor cell suppression potential of *Morinda citrifolia* fruit extracts. *Int J Integr Biol* 3(1): 44-49.  
 Kresnawaty, Irma, Zainuddin A. 2009. Aktivitas antioksidan dan antibakteri dari derivat metil ekstrak etanol daun (*Uncaria gambir*). *Jurnal Litri* 15(4): 145-151.  
 Kusmiati, Malik A. 2002. Aktivitas bakteriosin dari bakteri *Leuconostoc mesenteroides* Pbac 1 pada berbagai media. *Makara Kesehatan* 6(1): 1-6.  
 Mangunwardoyo, Sophia WRA, Heruwati ES. 2007. Seleksi dan pengujian aktivitas enzim L-histidine decarboxylase dari bakteri pembentuk histamin. *Makara Sains* 11(2): 104-109.  
 Muklis, Gaol JL, Simbolon D. 2009. Pemetaan daerah potensial penangkapan ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*) dan tongkol (*Euthynnus affinis*) di perairan utara Nanggroe Aceh Darussalam. *E-Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis* 1(1): 24-32.  
 Nursal, Wulandari S, Juwita WS. 2006. Bioaktivitas ekstrak jahe (*Zingiber officinale* Roxb.) dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. *Biogenesis* 2(2): 64-66.  
 Pelczar, Michael J, Chan ECS. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi. UI Press, Jakarta.  
 Purwani, Retnaningtyas E, Widowati D. 2008. Pengembangan pengawet alami dari ekstrak lengkuas, kunyit, dan jahe pada daging dan ikan segar. Laporan Penelitian. Fakultas Ilmu Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.  
 Rahayu WP. 2000. Aktivitas antimikroba bumbu masakan tradisional hasil olahan industri terhadap bakteri patogen dan perusak. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 11(2): 42-48.  
 Ramli. 2001. Perbandingan Jumlah Bakteri pada Ayam Buras Sebelum dan Setelah Penjualan. [Skripsi]. Universitas Syiah Kuala, Aceh.  
 Rini R. 2009. Produksi antioksidan dari daun simpur (*Dillenia indica*) menggunakan metode ekstraksi tekanan tinggi dengan sirkulasi

- pelarut. Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia. Jurusan Teknik Metalurgi dan Material Fakultas Teknik Universitas Indonesia, Jakarta.
- Rostini I. 2007. Peranan bakteri asam laktat (*Lactobacillus plantarum*) terhadap masa simpan filet nila merah pada suhu rendah. Karya Ilmiah. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran, Jatinangor.
- Sedjati S, Agustini TW, Surti T. 2007. Studi penggunaan khitosan sebagai antibakteri pada ikan teri (*Stolephorus heterolobus*) asin kering selama penyimpanan suhu kamar. *Jurnal Pasir Laut* 2(2): 54-66.
- Setyabudi DA, Winarti C, Risfuher. 2008. Perlunya standar mutu buah impor: Studi kasus kontaminan pada buah-buahan impor. Prosiding PPI. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca-panen Pertanian, Bogor.
- Sulistiyarto B. 2002. Pendekatan kelestarian ekologis untuk pengelolaan perikanan (*Ecological sustainability approach for fisheries management*). Makalah Falsafah Sains. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sumarsih S. 2003. Mikrobiologi dasar. Universitas Pembangunan Nasional, Yogyakarta.
- Virganita J. 2009. Uji Antibakteri Komponen Bioaktif Daun Lobak (*Raphanus sativus* L.) terhadap *Escherichia coli* dan Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Winarti C. 2005. Peluang pengembangan minuman fungsional dari buah mengkudu. *Jurnal Litbang Pertanian* 24(4): 149-154.
- Wulandari S, Sayuti I, Asnaini. 2005. Analisis mikrobiologi: Produk ikan kaleng (*sardines*) kemasan dalam limit waktu tertentu (*expire*). *Jurnal Biogenesis* 2(1): 30-35.
- Yanti H, Hidayati, Elfawati. 2008. Kualitas daging sapi dengan kemasan plastik PE (*polyethylen*) dan plastik PP (*polypropylen*) di Pasar Arengka Kota Pekanbaru. *Jurnal Peternakan* 5(1): 22-27.
- Zuhud EAM, Rahayu WP, Wijaya CH et al. 2001. Aktivitas antimikroba ekstrak kedawung (*Parkia roxburghii* G. Don). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 12(1): 6-12.