

## ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF KENARI (*Canarium indicum* L.) SHELL LIQUID SMOKE

### AKTIVITAS ANTIBAKTERI ASAP CAIR TEMPURUNG KENARI (*Canarium indicum* L.)

Rizki Arizona<sup>1</sup>, Edi Suryanto<sup>2</sup>, Yuny Erwanto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universitas Papua, 98314

<sup>2</sup>Universitas Gadjah Mada, 55281

arizonarahman@gmail.com

#### ABSTRACT

The objective of the experiment was to evaluate the potential antimicrobial activity of canary a on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and was to know the effect of canary shell liquid smoke on microbiological quality of beef. Liquid smoke concentration of 2, 4, 8, 12 and 16 % (v/v) tested in *S.aureus* and *E.coli*. The beef was dipped in liquid smoke solution with the concentration of 0, 4, 8 and 12% (v/v) and then stored for 0, 2 and 4 days. The variable measured were activity of antibacterial, total bacteria number and Coliform. Activity of antibacterial was analyzed by Completely Randomized Design (CRD) of one- way analysis. Total bacteria number and Coliforms were analyzed by using analysis of variance a CRD with factorial 4x3. The results showed that liquid smoke concentration of 12% the best zona of inhibition to *E. coli* (8,10 mm) than *S. aureus* (4,07 mm). It was concluded that the higher liquid smoke concentration and the shorter time storage caused the number of bacterial colonies (TPC) and Coliform is lower.

Keywords : Kenari shell, Liquid smoke, Antibacterial of activity

#### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri asap cair tempurung kenari terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dan mengetahui pengaruh asap cair pada kualitas mikrobiologi daging. Konsentrasi asap cair ( 2, 4, 8, 12 dan 16% ) v/v diujikan pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Daging direndam larutan asap cair (0, 4, 8 dan 12%) v/v selama 15 menit dan disimpan pada suhu kamar selama 0,2 dan 4 hari. Variabel yang diukur meliputi aktivitas antibakteri, total bakteri dan *Coliform*. Rancangan penelitian untuk aktivitas antibakteri adalah analisis variansi *Completely Randomized Design* (CRD) pola searah sedangkan total bakteri dan *Coliform* menggunakan analisis CRD pola faktorial 4x3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi asap cair tertinggi 12% pengaruh zona hambatnya lebih besar terhadap *E. coli* (8,10 mm) dibanding *S. aureus* (4,07 mm). Kesimpulannya adalah semakin tinggi konsentrasi asap cair dan waktu penyimpanan semakin singkat maka jumlah koloni bakteri serta total *Coliform* semakin rendah.

Kata Kunci : Tempurung kenari, Asap cair, Aktivitas antibakteri.

#### PENDAHULUAN

Daging merupakan media pertumbuhan mikroorganisme patogen yang dapat ditularkan kepada manusia yang disebut penyakit asal makanan (*food borne disease*) bila penanganan daging tersebut kurang baik.

Penambahan asap cair dengan konsentrasi yang tepat akan menjadi alternatif dalam proses pengawetan daging. Asap cair mengandung senyawa asam, fenol dan karbonil yang merupakan senyawa fungsional dalam pengawetan pangan antara lain

untuk pertumbuhan mikrobial (Girard, 1992).

*Coliform*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* sering terdapat pada jaringan otot disebabkan karena proses pemotongan yang tidak higienis. Fenol dapat berperan sebagai antimikroba karena dapat bereaksi dengan membran sel yang menyebabkan meningkatnya permeabilitas membran sel, yang mengakibatkan hilangnya isi sel, inaktivasi enzim-enzim esensial dan kerusakan atau inaktivasi fungsional material genetik (Estrada *et al.*, 1998).

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi ilmiah mengenai potensi antibakteri asap cair tempurung kenari dan mengetahui pengaruh asap cair pada kualitas mikrobiologi daging. Aktivitas antibakteri asap cair pada penelitian ini diujikan terhadap bakteri Gram negatif *Escherichia coli* dan Gram positif *Staphylococcus aureus*

## **METODE**

### **Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Daging dan Laboratorium Susu dan Telur, Fakultas Peternakan UGM.

### **Metode Penelitian**

Bahan yang digunakan yaitu asap cair tempurung kenari, daging sapi, *aquadest*, plastik polietilen, PCA, *Lactose Broth*, *Bromiol Thimol Blue*, *Brilliant Green Lactose Bile*, alkohol 70%, Natrium Agar, *Trypticase Soy Broth*. Peralatan yang digunakan yaitu erlenmeyer, *vochdoos*, jangka sorong, tabung reaksi, cawan petri, rak tabung, tabung durham, inkubator, LAF (*Laminair Air Flow*).

### **Pelaksanaan Penelitian**

Pelaksanaan penelitian ini dimulai dengan menguji aktivitas antibakteri asap cair tempurung kenari. Pelaksanaan uji aktivitas antibakteri dilakukan secara aseptik dengan metode difusi agar. Asap cair tempurung kenari konsentrasi 2, 4, 8, 12, dan 16% diujikan pada pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Daging sapi yang digunakan dalam penelitian ini bagian *Longissimus dorsi*. Daging dipotong kotak kemudian diberi perlakuan perendaman asap cair 0 %, 4%, 8%, 12% dan penyimpanan 0, 2 dan 4 hari.

### **Peubah yang Diamati Aktivitas antibakteri**

Asap cair tempurung kenari konsentrasi 2, 4, 8, 12, dan 16% diujikan pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. 100 µl bakteri uji diinokulasi ke dalam 5 ml *Trypticase Soy Broth* lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 hari. Sebanyak 4 ml bakteri uji diinokulasi ke dalam 200 ml *nutrient agar*, dikocok merata kemudian dituangkan ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak 25 ml yang sebelumnya diletakkan ring sumuran yang berdiameter 6,4 mm. Selanjutnya masing-masing lubang sumuran ditetesi 100 µl asap cair sesuai konsentrasi perlakuan, kemudian disterilkan dalam cool room selama 24 jam lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 hari. Diameter areal bening di sekitar sumur diukur sebagai efek penghambatan asap cair terhadap bakteri uji.

### **Total Plate Count (TPC)**

Satu (1) g sampel dilarutkan dalam 9 ml *aquadest* steril dan diencerkan secara kuantitatif

sampai pengenceran  $10^{-14}$ , lalu dari masing-masing tabung tersebut diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam cawan petri kemudian dituangi medium PCA, masing-masing tingkat pengenceran dilakukan secara duplo. Kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  dan dihitung jumlah koloni yang ada. Hasil menunjukkan nilai positif jika terdapat koloni yang berwarna putih pada permukaan agar. Perhitungan berdasarkan peraturan perhitungan koloni, yaitu kisaran antara 30 sampai 300 koloni (Fardiaz, 1989).

**Coliform**

Pengujian Coliform menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN), yaitu dilakukan pengenceran terhadap sampel daging dalam *peptone water*. Pengenceran dibuat tiga tingkat, yaitu:  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , dan  $10^{-3}$ , kemudian dari masing-masing tingkat pengenceran diambil tiga ml sampel dan dimasukkan ke dalam tiga tabung reaksi yang telah berisi *Lactose Broth* dan tabung durham serta ditutup menggunakan *cotton plug*, sehingga tiap tabung berisi satu ml larutan sampel, kemudian diinkubasi pada suhu  $35^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam. Tabung dinyatakan positif jika terbentuk gas dan larutan berubah warna dari hijau muda menjadi kuning.

Sampel yang positif dipindahkan ke tabung *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB) 2% yang berisi tabung durham dengan menggunakan jarum inokulasi. Inkubasi selama 48 jam pada suhu  $35^{\circ}\text{C}$ . Tabung dinyatakan positif jika terbentuk gas. Perhitungan MPN berdasarkan pada jumlah tabung-tabung BGLB yang mengandung gas.

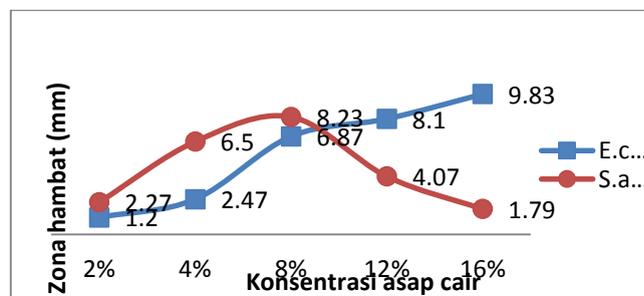
**Rancangan Percobaan**

Data aktifitas antimikrobia asap cair dianalisis dengan analisis variansi *Completely Randomized Design* (CRD) pola searah sedangkan total bakteri (TPC) dan *Coliform*, dianalisis dengan menggunakan analisis variansi CRD pola faktorial dengan 3 ulangan (Gaspersz, 1994). Faktor I adalah konsentrasi asap cair tempurung kenari 0, 4%, 8% dan 12% dan faktor II adalah lama penyimpanan 0, 2 dan 4 hari.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Aktivitas Antibakteri**

Antibakteri adalah senyawa kimia yang mampu membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri khususnya bakteri yang merugikan manusia (Sunen et al. 2001). Rerata hasil uji aktivitas antibakteri asap cair terhadap zona hambat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Rerata hasil uji aktivitas antibakteri asap cair terhadap zona hambat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (mm).

Berdasarkan Gambar 1 menunjukkan bahwa asap cair tempurung kenari bisa diaplikasikan sebagai antibakteri. Yusnaini *et al.* (2012) menyatakan bahwa kandungan fenol asap cair tempurung kenari berkisar 22,8 – 361,47 ppm. Martinez *et al.* (2004) menyatakan asap cair mengandung senyawa karbonil yang rendah sedangkan senyawa fenol sangat tinggi.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa konsentrasi asap cair berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) mempengaruhi aktivitas antibakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Ini menunjukkan bahwa asap cair mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, disebabkan karena adanya kandungan senyawa kimia seperti fenol dan asam yang berperan sebagai bahan aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Konsentrasi asap cair yang berbeda memberikan tingkat pengaruh yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Gambar 1 terlihat pada konsentrasi 2% asap cair sudah mulai menghambat pertumbuhan bakteri. Semakin tinggi konsentrasi asap cair maka zona hambat terhadap bakteri *E. coli* semakin meningkat. Zona hambat konsentrasi 8% pada bakteri *S. aureus* lebih besar dibandingkan konsentrasi 12 dan 16%. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi optimum asap cair untuk dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 8%. Hal ini disebabkan karena bakteri *S. aureus* mengalami resisten, sehingga dengan konsentrasi yang tinggi kemampuan asap cair menghambat pertumbuhan bakteri akan turun.

Uji aktivitas asap cair dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif (*E. coli*) dan bakteri gram positif (*S. aureus*), yang tersajikan pada Gambar 1. Respon yang berbeda dari dua golongan bakteri terhadap senyawa ini disebabkan karena adanya perbedaan kepekaan pada bakteri gram positif dan bakteri gram negatif terhadap senyawa antibakteri yang terkandung dalam asap cair. Bakteri Gram positif cenderung lebih sensitif terhadap komponen antibakteri. Hal ini disebabkan oleh struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja, sedangkan struktur dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks dan berlapis tiga, yaitu lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa peptidoglikan dan lapisan dalam lipopolisakarida (Pambuyun *et al.*, 2007).

#### **Pengaruh asap cair pada kualitas mikrobiologi daging**

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa konsentrasi asap cair berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) mempengaruhi jumlah koloni bakteri dan jumlah *Coliform* daging.

Jumlah koloni bakteri pada perlakuan kontrol (0%) lebih banyak dibandingkan pada perlakuan asap cair (4, 8, dan 12%). Hal ini menunjukkan penggunaan asap cair dapat mereduksi total bakteri. Asap cair mampu menghambat pertumbuhan mikrobia, maka asap cair mampu bersifat sebagai bakteriostatik (Yuwanti, 2005). Pengaruh asap cair pada kualitas mikrobiologi daging disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh asap cair tempurung kenari pada kualitas mikrobiologi daging

Konsentrasi asap cair (%)	Total bakteri (Log CFU/g)	Jumlah <i>Coliform</i> (Log MPN/g)
0	9,39 <sup>a</sup>	3,01 <sup>a</sup>
4	6,93 <sup>b</sup>	2,35 <sup>b</sup>
8	6,46 <sup>b</sup>	1,78 <sup>c</sup>
12	5,16 <sup>c</sup>	1,62 <sup>c</sup>
Lama Penyimpanan (hari)		
0	3,64 <sup>d</sup>	1,55 <sup>d</sup>
2	7,49 <sup>e</sup>	2,37 <sup>e</sup>
4	9,82 <sup>f</sup>	2,64 <sup>e</sup>

Semakin tinggi konsentrasi asap cair maka total bakteri dan *Coliform* pada daging semakin menurun. Penurunan jumlah koloni bakteri pada daging disebabkan karena asam asetat dan fenol yang terkandung dalam asap cair. Semakin tinggi konsentrasi asap cair maka kandungan fenol dan asam asetat makin meningkat pula. Asam asetat yang semakin tinggi dapat meningkatkan persentase asam asetat yang tidak terurai, sehingga semakin banyak molekul asam yang tidak terdisosiasi. Akibatnya, asam berubah menjadi lipolitik dan masuk ke sel mikroorganisme dan terdisosiasi menghasilkan H<sup>+</sup> dalam sitoplasma. Kondisi seperti ini menurut Aritonang dan Mihrani (2008) dapat mengakibatkan menurunnya pH dan merusak gradient proton antar di dalam dan di luar sel mikroorganisme, sehingga menghambat pertumbuhan dan jumlah mikroorganisme dalam daging.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa lama penyimpanan berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) mempengaruhi jumlah total bakteri dan *Coliform*. Semakin lama waktu penyimpanan akan meningkatkan jumlah total bakteri (Nuhriawangsa, 2001). Secara

umum daging terdiri dari protein 18%, lemak 3,5%, bahan ekstrak tanpa nitrogen 3,3%, air 75% dan karbohidrat berupa glikogen dalam jumlah sedikit (Soeparno, 2005). Bakteri menggunakan nutrisi yang ada pada daging untuk keperluan hidupnya. Nutrisi tersebut diserap ke dalam sel dan akan digunakan untuk proses metabolisme (Rorvik, 2000). Nurwantoro dan Djarijah (1997) menyatakan bahwa metabolisme adalah suatu reaksi kimia di dalam sel yang menghasilkan energi dan menggunakan energi tersebut untuk pergerakan, reproduksi, pertahanan sel dan pertumbuhan. Jariyah dan Susiloningsih (2006) menyatakan bahwa pertambahan waktu simpan meningkatkan jumlah bakteri. Pada saat penyimpanan, bakteri akan menyesuaikan diri dengan lingkungannya, kemudian akan memanfaatkan nutrisi pada daging untuk tumbuh dan berkembang.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa interaksi antara konsentrasi asap cair dan lama penyimpanan berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) mempengaruhi jumlah koloni bakteri. Hal ini berarti semakin singkat penyimpanan dan semakin tinggi konsentrasi asap cair maka jumlah koloni bakteri yang

dihasilkan semakin rendah. Tidak ada interaksi antara konsentrasi asap cair dan lama penyimpanan terhadap jumlah *Coliform*.

### KESIMPULAN

Konsentrasi asap cair tertinggi 12% pengaruh zona hambatnya lebih besar terhadap *E. coli* (8,10 mm) dibanding *S. aureus* (4,07 mm). Semakin tinggi konsentrasi asap cair dan semakin singkat penyimpanan maka jumlah koloni bakteri serta total *Coliform* semakin rendah.

### DAFTAR PUSTAKA

- Aritonang, S., Mihrani, 2008. Pengaruh Pencucian Dengan Larutan Asam Asetat Terhadap Nilai pH, Kadar Protein, Jumlah Koloni Bakteri dan Daya Simpan Daging Ayam Kampung pada Penyimpanan Suhu Ruang. *Jurnal Agrisistem* 4:19-25.
- Estrada, M.R., E.A.E. Boyle and J.L. Marsden, 1998. Liquid Smoke Effect on *Escherichia coli* O 157:H7 and its Antioxidant Properties in Beef Product. *J. Food Science* 63: 153-159.
- Fardiaz, S. 1989. Analisis Mikrobiologi Pangan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Gaspersz, V. 1994. Metode Perancangan Percobaan. CV Armico, Bandung
- Girard, J.P. 1992. Smoking in Technology of Meat and Meat Product. Ellis Horwood, New York.
- Jariyah dan E. K. B. Susiloningsih. 2006. Pengaruh Perendaman Daging Ayam dalam Jus Daun Sirih Terhadap Daya Simpan Dendeng Ayam. *Jurnal dan Industri Teknologi Pangan* 13: 154-160.
- Nuhriawangsa, A., 2001. Pemanfaatan Hipoklorit Untuk Meningkatkan Daya Simpan Daging Ayam Broiler. Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Nurwantoro dan A.S. Djarijah 1997. Mikrobiologi Pangan Hewan Nabati. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Pambuyun, R, M. Gardjito, S. Sudarmadji, K. Rahayu, 2007. kandungan Fenol dan Sifat Antibakteri dari Berbagai jenis Ekstrak Produk Gambir (*Uncaria gambir Roxb*). *Majalah Farmasi Indonesia* 18: 141-146.
- Rorvik L.M. 2000. *Listeria monocytogenes* in The Smoked Salmon Industry. *International Journal of Food Microbiology* 62 183-190
- Sunen E., Belen F., Carol A., 2001. Antibacterial Activity of Smoke Wood Condensates Against *Aeromonas hydrophila*, *Yersenia enterocolitica* and *Listeria monocytogenes* at Low Temperature. *Food Microbiology*. 18 387-393.
- Yusnaini, Soeparno, E. Suryanto dan R. Armunanto. 2012. Physical, Chemical and Sensory Properties of Kenari (*Canarium indicum* L.) Shell Liquid Smoke-Immersed-Beef on Different Level of Dilution. *J. Indonesian Trop. Anim.Agric* 37: 27-33.
- Yuwanti, S., 2005. Asap Cair Sebagai Pengawet Alami Pada Bandeng Presto. *Agritech* 25: 36-40.