

**VOLUME 15, NOMOR 1 MARET 2021**

**ISSN: 1907-8056  
e-ISSN: 2527-5410**

# **AGROINTEK**

**JURNAL TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN**

**JURUSAN TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN  
UNIVERSITAS TRUNOJOYO MADURA**

## **AGROINTEK: Jurnal Teknologi Industri Pertanian**

Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian is an open access journal published by Department of Agroindustrial Technology, Faculty of Agriculture, University of Trunojoyo Madura. Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian publishes original research or review papers on agroindustry subjects including Food Engineering, Management System, Supply Chain, Processing Technology, Quality Control and Assurance, Waste Management, Food and Nutrition Sciences from researchers, lecturers and practitioners. Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian is published four times a year in March, June, September and December.

Agrointek does not charge any publication fee.

Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian has been accredited by ministry of research, technology and higher education Republic of Indonesia: 30/E/KPT/2019. Accreditation is valid for five years. start from Volume 13 No 2 2019.

### **Editor In Chief**

Umi Purwandari, University of Trunojoyo Madura, Indonesia

### **Editorial Board**

Wahyu Supartono, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

Michael Murkovic, Graz University of Technology, Institute of Biochemistry, Austria

Chananpat Rardniyom, Maejo University, Thailand

Mohammad Fuad Fauzul Mu'tamar, University of Trunojoyo Madura, Indonesia

Khoirul Hidayat, University of Trunojoyo Madura, Indonesia

Cahyo Indarto, University of Trunojoyo Madura, Indonesia

### **Managing Editor**

Raden Arief Firmansyah, University of Trunojoyo Madura, Indonesia

### **Assistant Editor**

Miftakhul Efendi, University of Trunojoyo Madura, Indonesia

Heri Iswanto, University of Trunojoyo Madura, Indonesia

Safina Istighfarin, University of Trunojoyo Madura, Indonesia

### **Alamat Redaksi**

DEWAN REDAKSI JURNAL AGROINTEK

JURUSAN TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN

FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS TRUNOJOYO MADURA

Jl. Raya Telang PO BOX 2 Kamal Bangkalan, Madura-Jawa Timur

E-mail: [Agrointek@trunojoyo.ac.id](mailto:Agrointek@trunojoyo.ac.id)



## **KEMAMPUAN EKSTRAK ETANOL DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix D.*) UNTUK MENGHAMBAT BAKTERI *Eschericia coli* DAN *Salmonella sp* PADA SUSU SEGAR**

Yustina Wuri Wulandari<sup>1\*</sup>, Kharis Triyono<sup>2</sup>, Nanik Suhartatik<sup>1</sup>, Mita Krisna Murti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi dan Industri Pangan UNISRI, Surakarta

<sup>2</sup>Agroteknologi, Fakultas Pertanian UNISRI Surakarta

### Article history

Diterima:

10 Juli 2020

Diperbaiki:

30 Agustus 2020

Disetujui:

4 September 2020

### Keyword

*Kaffir lime leaves*; fresh milk; *E. coli*; *Salmonella sp.*; antimicrobial.

### ABSTRACT

*Kaffir lime leaves are often used as a flavoring. In addition to being used as a flavoring, kaffir lime leaves are known to be used as antimicrobials. Fresh milk has a high nutritional value, so good for the growth of pathogenic microbes. Therefore, treatment was needed on fresh milk by adding of kaffir lime leaves ethanol extract which containing active compounds to inhibit the growth of pathogenic microbes. The purpose of this research is to know the ability of kaffir lime leaves ethanol extract to inhibit E. coli and Salmonella sp. on fresh milk. This research uses explorative method with 2 factors. The first factor was concentration of kaffir lime leaves ethanol extract (20, 10, 5, and 2,5 g/ml), while the second factor was incubation time (0, 1, 2, and 3 hours). Analysis of this research include Total Plate Count (TPC) and calculation of count of E. coli and Salmonella sp. The results showed that the kaffir lime leaves ethanol extract able to inhibit the growth of E. coli and Salmonella sp. in fresh milk. Growth of E. coli and Salmonella sp. decreased significantly with increasing concentrations of kaffir lime leaves ethanol extract and incubation time.*

© hak cipta dilindungi undang-undang

\* Penulis korespondensi

Email : yustinawulandari@yahoo.co.id

DOI 10.21107/agrointek.v15i1.7846

## PENDAHULUAN

Indonesia memiliki sumber daya alam dalam bidang agrobisnis yang melimpah. Salah satu sumber daya alam yang potensial adalah tanaman jeruk purut. Tanaman jeruk purut termasuk tanaman rempah di Indonesia yang sering dimanfaatkan atau digunakan terutama buah dan daunnya. Daun jeruk purut banyak digunakan dalam industri makanan, minuman, farmasi, *flavor*, parfum, dan pewarna (Munawaroh dan Handayani, 2010). Selain digunakan sebagai bahan penyedap masakan dan *flavoring*, daun jeruk purut diketahui dapat digunakan sebagai antimikroba.

Beberapa penelitian sebelumnya, seperti yang dilakukan oleh Natta *et al.* (2008), Yuliani *et al.* (2011), dan Fadliah (2014) pertumbuhan mikroba dapat dihambat dengan memanfaatkan ekstrak dari herbal dan rempah-rempah yang memiliki senyawa antimikroba. Bahan pangan perlu dijaga kualitasnya selama proses distribusi maupun penyimpanan, karena pada tahap ini bahan pangan sangat rentan terhadap terjadinya kontaminasi terutama dari mikroba patogen. Salah satu bahan pangan yang rentan terhadap kontaminasi selama proses distribusi adalah susu segar.

Susu segar merupakan bahan pangan bernutrisi tinggi yang kaya akan karbohidrat, protein, lemak, vitamin, dan mineral (Oliver *et al.*, 2005). Susu memiliki nilai gizi tinggi yang tidak hanya baik untuk konsumsi manusia, tetapi juga untuk mikroba. Berdasarkan SNI (2011) dalam Fadliah (2014), *Staphylococcus aureus* dan golongan *Enterobacteriaceae* dijadikan sebagai syarat mutu susu segar. SNI (2011) menetapkan batas cemaran mikroba pada susu segar mempunyai batas maksimum cemaran *Enterobacteriaceae*  $1 \times 10^3$  cfu/ml dan *Staphylococcus aureus*

$1 \times 10^2$  cfu/ml dengan *Total Plate Count* (TPC) maksimal  $1 \times 10^6$  cfu/ml.

Oleh karena itu, diperlukan *treatment* pada susu segar yaitu dengan menambahkan ekstrak dari bahan alami yang mengandung senyawa aktif untuk menghambat pertumbuhan mikroba patogen. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol daun jeruk purut untuk menghambat bakteri *E. coli* dan *Salmonella sp.* pada susu segar, sehingga dapat diketahui pengaruh penambahan ekstrak dengan konsentrasi dan waktu inkubasi yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *Salmonella sp.* pada susu segar.

## METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jeruk purut, susu segar, *aquadest*, etanol 96 %, media PCA (*Plate Count Agar*), media VRBA (*Violet Red Bile Agar*), media NB (*Nutrient Broth*), media SSA (*Salmonella Shigella Agar*), stok kultur murni *E. coli* FNCC 0090 dan *Salmonella sp.* FNCC 0187, larutan NaCl 0,85 %, dan alkohol 70 %.

### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, *erlenmeyer*, kompor listrik, *water bath*, *petridish*, inkubator, mikro pipet, tabung reaksi, rak tabung reaksi, tip kuning dan biru, tissue, bunsen, buret, blender, *rotary evaporator*, spatula, penyaring, gelas ukur, gelas beker, jarum ose, *eppendorf*, tabung falkon, *autoclave*, *colony counter*, dan *laminar air flow*.

### Tahapan Penelitian

#### Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan metode eksploratif yang akan menggali kemampuan ekstrak etanol daun jeruk purut untuk menghambat bakteri *E. coli* dan *Salmonella sp.* pada susu segar.

Adapun faktor perlakuan pada penelitian ini meliputi konsentrasi ekstrak etanol daun jeruk purut (20, 10, 5, dan 2,5 g/ml) serta waktu inkubasi (0, 1, 2, dan 3 jam). Setiap perlakuan dianalisis meliputi pengujian *Total Plate Count* (TPC) dan pengujian penghambatan terhadap bakteri *E. coli* dan *Salmonella sp.*

### **Cara Penelitian**

#### **Pembuatan Ekstrak Daun Jeruk Purut**

Dua kilogram daun jeruk purut segar disortasi, dicuci, kemudian dikeringanginkan selama 3 hari dan dilanjutkan pengeringan beku dengan *freezer* selama 2 hari. Daun yang kering kemudian diblender hingga menjadi serbuk dan ditimbang sebanyak 200 g. Serbuk daun jeruk purut ditambah dengan larutan etanol 96 % sebanyak 500 ml kemudian dimaserasi selama 3 x 24 jam. Hasil maserasi disaring kemudian filtrat dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C selama 10 menit. Kemudian menyiapkan ekstrak pekat untuk pengujian penghambatan sesuai perlakuan (20, 10, 5, dan 2,5 g/ml).

#### **Peremajaan Bakteri**

Satu ose stok kultur murni *E. coli* FNCC 0090 dan *Salmonella sp.* FNCC 0187, masing-masing diinokulasikan ke dalam tabung reaksi berisi 5 ml media NB. Kemudian divortex hingga homogen dan diinkubasi pada suhu 30 °C selama 18-24 jam.

#### **Persiapan Sampel**

Susu segar dimasukkan ke dalam 13 tabung reaksi steril masing-masing 0,8 ml untuk 4 tabung; 0,7 ml untuk 8 tabung; dan 10 ml untuk 1 tabung. Kemudian dibagi menjadi 4 kelompok : 4 tabung (0,8 ml susu segar) tidak diinjeksi dengan bakteri, 4 tabung (0,7 ml susu segar) diinjeksi dengan bakteri *E. coli* sebanyak 100 µl, 4 tabung (0,7 ml susu segar) diinjeksi dengan bakteri *Salmonella sp.* sebanyak 100 µl, dan 1 tabung (10 ml susu segar) sebagai kontrol.

Masing-masing tabung reaksi kecuali kontrol diberi ekstrak etanol daun jeruk purut sebanyak 200 µl sesuai perlakuan (20, 10, 5, dan 2,5 g/ml). Kemudian masing-masing diencerkan bertingkat secara aseptis dari 10<sup>-1</sup> sampai 10<sup>-6</sup>.

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

Pengujian TPC menggunakan metode *pour plate* dengan membandingkan jumlah bakteri antara sampel sebelum dan sesudah ditambah ekstrak etanol daun jeruk purut. Diambil pengenceran 10<sup>-6</sup> dari sampel susu segar sebelum dan sesudah ekstrak etanol daun jeruk purut. Suspensi sampel diambil 1 ml dan dimasukkan secara aseptis masing-masing ke dalam cawan petri steril. Perlakuan ini dilakukan secara duplo. Kemudian tuangkan media PCA steril yang telah didinginkan hingga hangat-hangat kuku. Goyangkan cawan petri secara perlahan dan tunggu hingga media memadat. Cawan petri diinkubasi selama 18 – 24 jam pada suhu 37 °C. Setelah itu, diamati dan dihitung jumlah bakteri yang tumbuh.

#### **Pengujian Penghambatan Bakteri *E. coli* dan *Salmonella sp.***

Pengujian penghambatan bakteri *E. coli* dan *Salmonella sp.* menggunakan metode *pour plate* dengan membandingkan jumlah bakteri antara sampel yang tidak ditambah dan ditambah ekstrak etanol daun jeruk purut serta diinjeksi bakteri *E. coli* dan *Salmonella sp.* Pengenceran 10<sup>-5</sup> dari tiap konsentrasi sampel diambil 1 ml dan dimasukkan secara aseptis masing-masing ke dalam cawan petri steril. Perlakuan ini dilakukan secara duplo. Kemudian tuang media VRBA steril untuk sampel yang diinjeksi dengan *E. coli* dan tuang media SSA steril untuk sampel yang diinjeksi dengan *Salmonella sp.* Goyangkan cawan petri secara perlahan dan tunggu hingga media memadat. Cawan petri yang berisi media VRBA dilapisi lagi dengan media VRBA steril untuk mencegah pertumbuhan

koloni di permukaan. Kemudian, diinkubasi selama 24 – 48 jam pada suhu 37 °C untuk media SSA, sedangkan untuk media VRBA diinkubasi selama 24 – 48 jam pada suhu 32 °C. Setelah itu, diamati dan dihitung jumlah bakteri yang tumbuh.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

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

Hasil perhitungan *Total Plate Count* (TPC), jumlah total bakteri susu segar tanpa ditambah ekstrak etanol daun jeruk purut mengalami peningkatan secara berurutan dari waktu inkubasi jam ke-0 hingga jam ke-3. Apabila dibandingkan susu segar yang ditambah ekstrak etanol daun jeruk purut, hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun jeruk purut yang ditambahkan pada susu segar menyebabkan jumlah bakteri mengalami penurunan. Penurunan jumlah bakteri juga terjadi seiring lama waktu inkubasi. Pada Gambar 1. terlihat pada awal atau waktu inkubasi jam ke-0, jumlah total bakteri untuk setiap perlakuan menunjukkan jumlah yang berbeda. Secara berurutan, jumlah total bakteri paling banyak ditunjukkan oleh konsentrasi ekstrak 2,5 g/ml dan jumlah total bakteri terus menurun hingga konsentrasi 20 g/ml. Pertumbuhan bakteri juga semakin mengalami penurunan setelah diinkubasi selama 1, 2, hingga 3 jam.

Berdasarkan pengujian TPC menunjukkan bahwa penambahan ekstrak etanol daun jeruk purut dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada susu segar secara signifikan. Hal ini disebabkan di dalam daun jeruk purut mengandung senyawa aktif yang mempunyai aktivitas antimikrobia (Yuliani *et al.*, 2011).

### Pengujian Penghambatan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut terhadap Bakteri *E. coli* dan *Salmonella sp.*

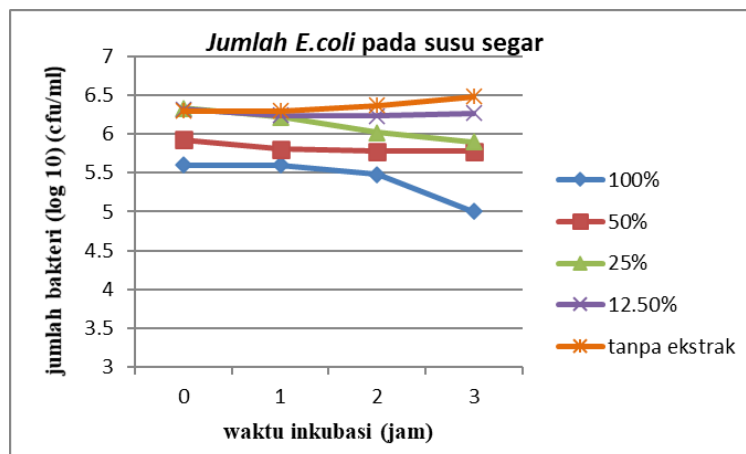
Hasil perhitungan jumlah bakteri *E. coli* pada susu segar tanpa ditambah

ekstrak etanol daun jeruk purut mengalami peningkatan secara berurutan dari waktu inkubasi jam ke-0 hingga jam ke-3. Apabila dibandingkan susu segar yang ditambah ekstrak etanol daun jeruk purut, hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun jeruk purut yang ditambahkan pada susu segar maka jumlah bakteri *E. coli* mengalami penurunan. Jumlah bakteri *E. coli* juga mengalami penurunan seiring lama waktu inkubasi.

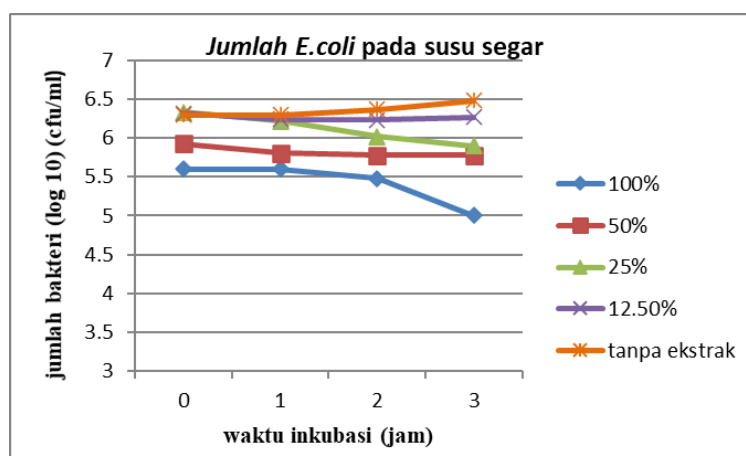
Hasil yang ditunjukkan pada Gambar 2. dapat dilihat pada waktu inkubasi jam ke-0, jumlah bakteri *E. coli* untuk setiap perlakuan menunjukkan jumlah yang berbeda. Secara berurutan, jumlah bakteri *E. coli* paling banyak ditunjukkan oleh konsentrasi ekstrak 2,5 g/ml dan jumlah bakteri terus menurun hingga konsentrasi 20 g/ml. Pertumbuhan bakteri *E. coli* juga semakin mengalami penurunan setelah diinkubasi selama 1, 2, hingga 3 jam. Namun, pada konsentrasi terendah yaitu 2,5 g/ml, setelah diinkubasi selama 3 jam justru menunjukkan terjadi peningkatan jumlah bakteri *E. coli*. Hal ini dapat terjadi karena ekstrak etanol daun jeruk purut tersebut hanya mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* selama 2 jam pertama sehingga bakteri *E. coli* masih dapat tumbuh apabila waktu diinkubasi dilakukan lebih lama.

Hasil pengamatan bakteri *Salmonella sp.* pada susu segar tanpa penambahan ditambah ekstrak etanol daun jeruk purut menunjukkan tidak ada pertumbuhan koloni yang mengindikasikan bakteri *Salmonella sp.* dari waktu inkubasi jam ke-0 hingga jam ke-3. Pada Gambar 3 terlihat bahwa pada waktu inkubasi jam ke-0, jumlah bakteri *Salmonella sp.* untuk setiap perlakuan menunjukkan jumlah yang berbeda. Secara berurutan, jumlah bakteri *Salmonella sp.* paling banyak ditunjukkan oleh konsentrasi ekstrak 2,5 g/ml dan terus mengalami penurunan hingga konsentrasi

20 g/ml. Pertumbuhan bakteri *Salmonella sp.* juga semakin mengalami penurunan setelah diinkubasi selama 1, 2, hingga 3 jam.



Gambar 1. Grafik perbandingan jumlah total bakteri pada pengujian TPC

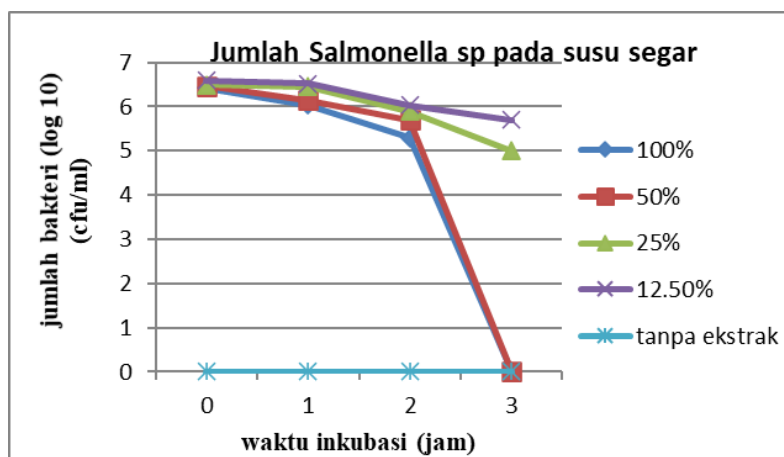


Gambar 2. Grafik perbandingan jumlah bakteri *E. Coli*

Susu dengan penambahan ekstrak daun jeruk purut konsentrasi 10 dan 20 g/ml dengan waktu inkubasi 3 jam tidak ada pertumbuhan bakteri *Salmonella sp.* Hal ini menginformasikan bahwa penambahan ekstrak jeruk purut mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella sp.*

Hasil yang diperoleh menunjukkan kemampuan penghambatan ekstrak etanol daun jeruk purut pada bakteri *E. coli* dan *Salmonella sp.* berbeda walaupun kedua bakteri tersebut tergolong bakteri gram negatif. Menurut Davidson dan Branen

(1993) dalam Hariyadi (2000) kemampuan zat antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh konsentrasi zat antimikroba, waktu kontak dengan zat antimikroba, suhu lingkungan, sifat-sifat bakteri, sifat fisik dan kimia makanan termasuk kadar air, pH, dan jenis senyawa di dalamnya. Hal tersebut sangat memungkinkan adanya perbedaan aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun jeruk purut terhadap bakteri *Salmonella sp.* dan *E. Coli*.



Gambar 3. Grafik perbandingan jumlah bakteri *Salmonella sp*

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun jeruk purut mampu menghambat pertumbuhan bakteri secara keseluruhan dan khususnya bakteri patogen seperti *E. coli* dan *Salmonella sp.* pada susu segar. Secara berurutan, jumlah bakteri paling banyak pada penambahan konsentrasi ekstrak 2,5 g/ml dan terus mengalami penurunan hingga konsentrasi 20 g/ml. Penurunan jumlah bakteri juga terjadi seiring lama waktu inkubasi dari 0 hingga 3 jam.

## DAFTAR PUSTAKA

- Fadliah, 2014. Kualitas Organoleptik dan Pertumbuhan Bakteri pada Susu Pasteurisasi dengan Penambahan Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) Selama Penyimpanan. *Skripsi-S1*. Makasar: Fakultas Peternakan, Universitas Hasanudin, Makasar, Indonesia. .
- Hariyadi, P. 2000. Dasar dasar Teori dan Praktek Proses Termal. Bogor: Pusat Studi Pangan dan Gizi Institut Pertanian, Bogor, Indonesia
- Munawaroh, S., Handayani, P.A. 2010. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix D.C.*) dengan pelarut Etanol dan N-Heksana. *Jurnal Kompetisi Teknik*.2(1): 73-78.
- Natta, L., Orapin, K., Krittika, N., Pantip, B. 2008. Essential Oil from Five

Zingiberaceae for Anti Food-borne Bacteria. *International Food Research Journal* 15(3): 337-346.

- Oliver, S.P., Jayarao, B.M., Almedia, R.A. 2005. Food Borne Pathogens in Milk and The Dairy Environment Food Safety and Public Health Implications. *Foodborne Pathogens and Disease* 2: 1115-1129.
- Yuliani, R., Peni, I., Septi, S. R. 2011. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Pharmacom*. 12(2): 50-4



## AUTHOR GUIDELINES

### Term and Condition

1. Types of paper are original research or review paper that relevant to our Focus and Scope and never or in the process of being published in any national or international journal
2. Paper is written in good Indonesian or English
3. Paper must be submitted to <http://journal.trunojoyo.ac.id/agrointek/index> and journal template could be download here.
4. Paper should not exceed 15 printed pages (1.5 spaces) including figure(s) and table(s)

### Article Structure

1. Please ensure that the e-mail address is given, up to date and available for communication by the corresponding author
2. Article structure for original research contains

**Title**, The purpose of a title is to grab the attention of your readers and help them decide if your work is relevant to them. Title should be concise no more than 15 words. Indicate clearly the difference of your work with previous studies.

**Abstract**, The abstract is a condensed version of an article, and contains important points of introduction, methods, results, and conclusions. It should reflect clearly the content of the article. There is no reference permitted in the abstract, and abbreviation preferably be avoided. Should abbreviation is used, it has to be defined in its first appearance in the abstract.

**Keywords**, Keywords should contain minimum of 3 and maximum of 6 words, separated by semicolon. Keywords should be able to aid searching for the article.

**Introduction**, Introduction should include sufficient background, goals of the work, and statement on the unique contribution of the article in the field. Following questions should be addressed in the introduction: Why the topic is new and important? What has been done previously? How result of the research contribute to new understanding to the field? The introduction should be concise, no more than one or two pages, and written in present tense.

Material and methods, “This section mentions in detail material and methods used to solve the problem, or prove or disprove the hypothesis. It may contain all the terminology and the notations used, and develop the equations used for reaching a solution. It should allow a reader to replicate the work”

**Result and discussion**, “This section shows the facts collected from the work to show new solution to the problem. Tables and figures should be clear and concise to illustrate the findings. Discussion explains significance of the results.”

**Conclusions**, “Conclusion expresses summary of findings, and provides answer to the goals of the work. Conclusion should not repeat the discussion.”

**Acknowledgment**, Acknowledgement consists funding body, and list of people who help with language, proof reading, statistical processing, etc.

**References**, We suggest authors to use citation manager such as Mendeley to comply with Ecology style. References are at least 10 sources. Ratio of primary and secondary sources (definition of primary and secondary sources) should be minimum 80:20.

#### Journals

Adam, M., Corbeels, M., Leffelaar, P.A., Van Keulen, H., Wery, J., Ewert, F., 2012. Building crop models within different crop modelling frameworks. *Agric. Syst.* 113, 57–63. doi:10.1016/j.agsy.2012.07.010

Arifin, M.Z., Probawati, B.D., Hastuti, S., 2015. Applications of Queuing Theory in the Tobacco Supply. *Agric. Sci. Procedia* 3, 255–261. doi:10.1016/j.aaspro.2015.01.049

#### Books

Agrios, G., 2005. *Plant Pathology*, 5th ed. Academic Press, London.