

**UJI EKSTRAK MINYAK ATSIRI LADA PUTIH (*Piper nigrum* Linn)
SEBAGAI ANTIBAKTERI *Bacillus Cereus***



SKRIPSI

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar Sarjana Strata I
Pada Program Studi Pendidikan Kimia
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Bengkulu**

Oleh:

**VETTY NOVITASARI
AIF010030**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN KIMIA
JURUSAN PENDIDIKAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS BENGKULU
BENGKULU
2014**

**UJI EKSTRAK MINYAK ATSIRI LADA PUTIH (*Piper nigrum* Linn)
SEBAGAI ANTIBAKTERI *Bacillus Cereus***

SKRIPSI

OLEH:

VETTY NOVITASARI

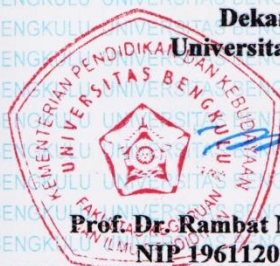
A1F010030

Disahkan Oleh:

FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN

**Dekan FKIP
Universitas Bengkulu**

**Ketua Jurusan PMIPA-FKIP
Universitas Bengkulu**



Prof. Dr. Rambat Nur Sasongko, M.Pd
NIP 19611207 198601 1 001

Dra. Diah Aryulina, M.A., Ph.D.
NIP 19620718 198702 2 001

**UJI EKSTRAK MINYAK ATSIRI LADA PUTIH (*Piper nigrum* Linn)
SEBAGAI ANTIBAKTERI *Bacillus cereus***

SKRIPSI

Oleh:

**VETTY NOVITASARI
AIF010030**

Telah Dipertahankan di Depan Tim Penguji Program Studi Pendidikan Kimia
Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan

Ujian dilaksanakan pada:

Hari/Tanggal : Jumat/7 Maret 2014
Pukul : 15.00 – 17.00 WIB
Tempat : Ruang Prodi Pend.Kimia

Skrripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh Dosen Pembimbing

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

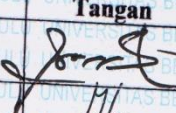

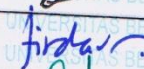



**Dr. Sumpono, M.Si
NIP 19600825 198703 1 005**



**Drs. Hermansyah Amir
NIP 19620920 199803 1 001**

Skrripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh Tim Penguji :

| Penguji | Nama Dosen | Tanda Tangan | Tanggal |
|-------------|--|--|---------------|
| Penguji I | Dr. Sumpono, M.Si NIP. 19600825 198703 1 005 |  | 18/03/2014 |
| Penguji II | Drs. Hermansyah Amir NIP. 19620920 199803 1 001 |  | 17/3 - 2014 |
| Penguji III | Dr. M.Lutfi Firdaus, M.T 19731022 200003 1 001 |  | 17/03 2014 |
| Penguji IV | Sura Menda Ginting, M.Sc 19810131 200501 2 003 |  | 17/03 2014 |

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

- Sesungguhnya di dalam kesulitan itu ada kemudahan (Q.S. Al-Insyirah : 7)
- Janji Allah itu pasti,,,terkadang manusia itu sendiri yang mengingkarinya. Bukankah Allah sudah mengatakan bahwa Allah tidak pernah membebankan sesuatu kepada umatNYA melebihi kemampuan umatNYA. Dan bukti cinta Allah kepada umatNYA adalah dengan ujian yang DIA berikan
- Me + ALLAH = Incredible

Persembahan dan ucapan terima kasih

Ya ALLAH, tanpaMu ku bukan apa-apa. Berkat semua hidayah Mu maka ku bisa menyelesaikan skripsi ini, dan skripsi ini akan ku persembahkan kepada

- Kedua orang tua ku tercinta. Ibuku (Yuniarti) yang selalu selalu selalu mencurahkan kasih sayang nya kepada ku hingga tak tahu harus bagaimana mengucapkan rasa terima kasih ini kepada mu. Terima kasih ma,,maafkan anakmu yang selalu merepotkan mu. Dan juga untuk ayahku (Irianto) super hero in my family, pahlawan yang menjaga keluarga nya. Tak peduli seberapa panas matahari atau seberapa dingin angin malam, tetapi engkau berusaha untuk selalu menjaga kami, menjaga ku. Terima kasih ayah,,,,
- My sista , Kiki Puspa Sari. Tak tahu harus berkata apa. Tapi kuucapkan terima kasih untuk segalanya. Kita saling membutuhkan tetapi mungkin memiliki ego yang lebih tinggi untuk mengakui nya. Thank's a lot sista ☺
- Keluarga besar ku yang selalu mendukungku dan memberiku semangat yang tak henti-hentinya. Nenek dan datuk, Bunda, bucik, wancik, mang jhon, wak suhar, serta sepupu-sepupu ku yang nakal dan lucu-lucu. Terima kasih untuk semua pelajaran dalam hidup ini yang berharga.

Rasa terima kasih juga ku ucapkan kepada

- Para dosen di pendidikan kimia. Ilmu ini tak kan sampai kepada ku jika tak ada mereka. Dan kepada kedua pembimbing ku yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing ku.

- My family in tarbiyah. Sekolah pertama ku. Tempat ku memulai untuk berhijrah. Tempat ku belajar arti sesungguhnya dalam hidup. Specially buat Deti dan Yeni. Ingat akan mimpi kita yang kita gaungkan di dekat danau untuk menjadi bagian dari keluarga ALLAH merupakan kobaran semangat bagi ku. Syukron sudah mau menjadi bagian besar dalam hidup ini, semoga tak pernah bosan dan lupa akan ukhuwah yang kita ciptakan. Serta tambahan keluarga tarbiyah ku, Iska, Sari, Mbak Gina, dan Mbak Hani. syukron ukhti,,afwan ana tak pernah bisa menjadi keluarga yang baik bagi kalian. Ana uhibbuki fillah
- Mbak nova, Terima kasih sudah menjadi inspirasi bagiku. Serta mbak Atik, Syukron atas bimbingannya yang membuat diri ini lebih mengerti. Afwan selama ini selalu menjadi mutarabbi yang merepotkan.
- Ukhtifillah Gawat 2010. Nanda, Uut, Frenti, Beta, Riska, Mbak Nue, Ismi, Rici, Mutia, Dian, Hestri dan semua nya. Syukron atas ukhuwah ini. Ana uhibbuki fillah
- My best friend Winda Wiranata. Lucu juga kalau flash back dari masa lalu. Sudah banyak yang kita lalui, terima kasih selalu bersedia menjadi tempat bercerita dan bercanda. Dan tak pernah bosan untuk selalu mengingatkan ku walau ternyata aku masih saja teledor. Thank's a lot. Dan sekarang kita sedang diajarkan untuk dewasa kawan. ☺. Tak lupa juga buat Dea Alvicha Putri. Kisah ini akan menjadi kenangan indah tersendiri dalam lembar kehidupan ku. Mengingat bagaimana perjuangan kita untuk menempuh semua ini. Semangat. Selalu ingat kata-kata mu. Mungkin jalan yang kita tempuh untuk menuju suatu tempat dengan orang lain berbeda, tetapi akan selalu berusaha untuk menempuhnya hingga akhir. Oya tak lupa juga buat Ferdi Syahdani. Jangan langsung panik terhadap sesuatu. Hadapi dengan tenang. Allah tak kan pernah memberikan ujian melebihi kemampuan hambaNYA dan untuk Muhammad Allan Serunting. Fokus itu satu-satu saja. Jangan sekaligus dua. Ingat, fokus pada satu saja. Hehe ☺. Untuk Medi Ariansyah. Terima kasih sudah menjadi adik yang baik. Cobalah untuk membuka jendela, maka kau akan tahu luasnya dunia. Jangan sedih ya kalau kami udah pada lulus. Maafkan mbak mu ini yang selalu merepotkanmu. N the last persahabatan ini di bangun dengan keunikan. Terima kasih semua.

- Keluarga kechepul ku. Sela si novelis, ronal, feki, aang, daniel, bang feri, kak septian, theo ,anto, bungsu fanny, mak siti, mak may, mbk wind, ois, dwi, yeyen, jenk tup, hasyuni, nicky wulan, dedek siska, Paul, chintya, melita, hepy, icin, putri, dan hani. Waktu ini terlalu singkat untuk bisa mengenal kalian semua. Tapi berada dan masuk dalam keluarga ini sungguh suatu kesyukuran. Terima kasih sudah menjadikanku bagian dari keluarga besar ini. Love u all
- Adinda-adinda ku. Iin, ulfa, vani, ivo, ratna, serta dian, juwita, vera, inten, oca, lensi, monik, widya, afrinda, yopita dan lain-lain. Maaf tak bisa menyebutkan satu persatu. Maafkan mbak ya dinda belum bisa menjadi kakak yang baik buat kalian.
- Ayunda-ayunda ku. Mbak oksii, mbak ti, mbak laras, mbak dwi, maaf selalu merempongkan kalian semua. Syukron yunda atas support yang kalian berikan.
- Buat sanak ku seAyue senja. Thank's sanak atas cerita-cerita dan impian kita. Sukses buat kita semua
- Buat mbak mona. Thank's ya mbak sudah mau membantu dalam kerepotan yang kami buat 😊.
- Keluarga besar BEM FKIP tahun 2013-2014 dan 2012-2013. Maaf tak bisa mengemban amanah dengan baik. Terima kasih atas semua nya.
- Ikhwafillah di UKM FOSI, UKM KEROHANIAN, dan KAMMI ABABIL. syukron sudah menjadi rumah peradaban bagi ku.
- Terima kasih juga buat dirimu yang nan jauh disana. Sudah membuat diri ini menjadi lebih baik dan lebih baik lagi. Walau tak tahu siapa nama dan wajahmu, tapi aku yakin engkau pun juga sedang mempersiapkan diri menjadi lebih baik lagi. 😊
- Terima kasih semua kepada seluruh pihak yang tak bisa disebutkan satu persatu. Jazakumullah khair.
- Agamaku
- Negaraku
- Almamater ku

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Vetty Novitasari
NPM : A1F010030
Prodi : Pendidikan Kima
Fakultas : Keguruan dan Ilmu Pendidikan

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi ini merupakan hasil karya ilmiah yang disusun berdasarkan prosedur penelitian atau pengembangan yang penulis lakukan sendiri dan bukan merupakan duplikasi/karya ilmiah orang lain. Pendapat atau temuan orang lain yang terdapat dalam skripsi ini dikutip atau dirujuk berdasarkan kode ilmiah.

Demikian pernyataan keaslian skripsi ini penulis buat agar dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Bengkulu, Maret 2014

Yang Menyatakan



Vetty Novitasari

A1F010030

**UJI EKSTRAK MINYAK ATSIRI LADA PUTIH (*Piper nigrum* Linn)
SEBAGAI ANTIBAKTERI *Bacillus cereus***

Vetty Novitasari*, Hermansyah Amir, Sumpono

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak minyak atsiri lada putih (*Piper nigrum* Linn) sebagai antibakteri pada bakteri *Bacillus cereus*. Selain itu juga bertujuan untuk mengetahui seberapa besar konsentrasi yang bisa digunakan sebagai antibakteri dan sebagai bakteriosida pada bahan pengawet makanan. Untuk mengekstrak minyak atsiri dari lada putih menggunakan metode destilasi. Variasi larutan atau konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini adalah sebesar 15%, 20%, 25%, 30%, dan 35%. Isolat murni bakteri *Bacillus cereus* yang digunakan untuk uji efektifitas diencerkan dalam media cair hingga 10^5 kali. Uji efektifitas ekstrak minyak atsiri dilakukan dengan cara menginokulasikan bakteri yang sudah diencerkan pada media padat. Uji aktifitas antibakteri dengan menggunakan metode difusi kertas cakram yang ditetesi di kertas cakram dengan berbagai variasi konsentrasi setiap media biakan, kemudian diinkubasikan selama 24 jam. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak minyak atsiri lada putih dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini ditunjukkan dengan semakin besarnya diameter zona hambat yang muncul pada setiap konsentrasi. Dari hasil penelitian ini didapat bahwa konsentrasi 35% dapat menghambat pertumbuhan antibakteri *Bacillus cereus* dengan diameter zona hambatnya sebesar 10 mm. Selain itu dilakukan uji one way anova untuk mengetahui seberapa signifikan data tersebut diperoleh. Di dapat bahwa $F_{hitung} \geq F_{tabel}$, maka ekstrak minyak atsiri dapat digunakan sebagai antibakteri *Bacillus cereus*.

Kata kunci: minyak atsiri, lada putih, *bacillus cereus*

*Korespondensi Penulis: vetty.novitasari@gmail.com

THE EFFECT OF ESSENTIAL OIL EXTRACTS OF WHITE PEPPER (*Piper nigrum Linn*) AS ANTIBACTERIAL *Bacillus cereus*

Vetty Novitasari*, Hermansyah Amir, Sumpono

ABSTRACT

This study aimed to determine the effect of essential oil extracts of white pepper (*Piper nigrum Linn*) as antibacterial agent of *Bacillus cereus*. It also aimed to study the effect of concentration that can be used as an antibacterial agent on food preservative. The essential oil of white pepper was extracted using distillation method. Variation of the solution or the concentration used in this study were 15%, 20%, 25%, 30%, and 35%. Pure isolates of *Bacillus cereus* bacteria were used to test the effectiveness of the liquid medium the bacteria was diluted up to 10^5 times. The effectiveness of essential oil extract was tested by using bacteria that have been inoculated on solid media. The concentration of essential oil extract was varied on each media and they were incubated for 24 hours. The results of this study showed that the essential oil of white pepper extract can inhibit the growth of bacteria. This was indicated by the larger diameter of the inhibition zone that appears at each concentration. From the results of this stud, it was found that 35% of concentration can inhibit the growth of *Bacillus cereus* antibacterial with inhibitory zone diameter up to 10 mm. Additionally, one way ANOVA test was used to determine the significany of the data obtained. it was found that $F_{\text{calculated}} \geq F_{\text{table}}$ it can be concluded that concentration has a significant effect on the antibacterial activity of white pepper.

Key word: essential oil, white pepper, *Bacillus cereus*

* Corresponding author: vetty.novitasari@gmail.com

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Segala puji dan syukur penulis haturkan kepada ALLAH SWT karena berkat rahmat dan hidayahNYA penulis dapat menyelesaikan skripsi penelitian yang berjudul “**Uji Ekstrak Minyak Atsiri Lada Putih (*Piper nigrum Linn*) sebagai Antibakteri *Bacillus cereus***”. Tidak lupa juga shalawat beserta salam senantiasa tercurah kepada Baginda Rasulullah SAW.

Skripsi ini ditulis dalam rangka memenuhi salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Pendidikan pada Program Pendidikan Kimia Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (PMIPA), Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan (FKIP)-Universitas Bengkulu. Penulis menyadari hingga selesainya skripsi ini tidak lepas dari bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak secara langsung maupun tidak langsung, baik secara moril maupun materil. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Rambat Nur Sasongko, M.Pd selaku Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu
2. Dra. Diah Aryulina, M.A., Ph.D selaku Ketua Jurusan P.MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu
3. Ibu Dewi Handayani, M.Si selaku Ketua Program Studi Pendidikan Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu
4. Bapak Dr. Sumpono, M.Si selaku Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, masukan, kritik dan saran dari awal hingga akhir sehingga skripsi ini bisa terselesaikan
5. Bapak Drs. Hermansyah Amir selaku Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan, arahan, masukan, kritik dan saran dari awal hingga akhir sehingga skripsi ini bisa terselesaikan
6. Ibu Elvinawati, M.Si selaku Pembimbing Akademik.
7. Bapak dan Ibu Dosen Program Studi Pendidikan Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Kimia Universitas Bengkulu , yang telah senantiasa membekali ilmu yang sangat berharga

8. Ketua dan Staff Laboratorium Ilmu Hama dan Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu yang telah banyak membantu penulis dalam penelitian.
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang telah membantu baik moril maupun materil hingga skripsi ini dapat diselesaikan.

Penulis menyadari apa yang tertulis pada skripsi ini masih banyak ditemukan kesalahan ataupun kelemahan. Untuk itu kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan sebagai masukan bagi penulisan kaya-karya lainnya diwaktu selanjutnya. Akhirnya penulis juga berharap semoga skripsi ini dapat memberikan sumbangan yang bermanfaat bagi pengembanga ilmu pengetahuan.

Bengkulu, Februari 2014

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|--|-------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PENGESAHAN | ii |
| HALAMAN PERSETUJUAN | iii |
| HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN | iv |
| HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI..... | vii |
| ABSTRAK | viii |
| | |
| KATA PENGANTAR..... | x |
| DAFTAR ISI..... | xii |
| DAFTAR GAMBAR..... | xiv |
| DAFTAR TABEL | xv |
| | |
| BAB I PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 5 |
| 1.3 Tujuan Penelitian..... | 5 |
| 1.4 Ruang Lingkup | 5 |
| 1.5 Manfaat Penelitian..... | 5 |
| 1.6 Keaslian Penelitian | 6 |
| | |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... | 7 |
| 2.1 Studi Pustaka | 7 |
| 2.2 Landasan Teori | 8 |
| 2.2.1 Pengertian Pangan dan Makanan | 8 |
| 2.2.2 Peranan mikroorganisme..... | 12 |
| 2.2.3 Bakteri | 13 |
| 2.2.4 Senyawa Antimikroba..... | 21 |
| 2.2.5 Rempah-rempah sebagai Antimikroba Alami..... | 22 |
| 2.2.6 Uraian Tumbuhan Lada..... | 23 |
| 2.2.7 Minyak Atsiri | 26 |
| 2.2.8 Penentuan Aktivitas Antibakteri | 26 |
| 2.3 Kerangka Berpikir | 28 |
| 2.4 Hipotesis | 28 |
| | |
| BAB III METODE PENELITIAN | 29 |
| 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian | 29 |
| 3.2 Alat dan Bahan | 29 |
| 3.1.1 Alat..... | |
| 3.1.2 Bahan | |
| 3.3 Prosedur penelitian | 29 |
| 3.3.1 Ekstraksi Minyak Atsiri Lada Putih (<i>Piper nigrum Linn</i>) | 29 |
| 3.3.2 Pembuatan larutan sampel minyak atsiri Lada Putih (<i>Piper nigrum Linn</i>) | 30 |
| 3.3.3 Uji Kandungan senyawa Organik | 31 |

| | |
|---|-----------|
| 3.3.4 Pembuatan dan Penempatan Media | 32 |
| 3.4 Pengenceran Isolat Bakteri | 33 |
| 3.5 Pemindahan Bakteri dan Uji aktivitas antibakterinya | 34 |
| 3.6 Analisa Data | 34 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | 36 |
| 4.1 Preparasi Sampel Minyak atsiri Lada Putih (<i>Piper nigrum Linn</i>)..... | 36 |
| 4.2 Ekstraksi Minyak atsiri Lada putih (<i>Piper nigrum Linn</i>) | 37 |
| 4.3 Uji Fitokimia | 38 |
| 4.4 Uji Aktivitas Antibakteri | 38 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN | 43 |
| 5.1 Kesimpulan..... | 43 |
| 5.2 Saran | 43 |
| DAFTAR PUSTAKA | 44 |
| DAFTAR RIWAYAT HIDUP | 48 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| Gambar 1 Morfologi sel | 13 |
| Gambar 2 Struktur sel | 15 |
| Gambar 3 Koloni <i>Bacillus cereus</i> pada agar | 18 |
| Gambar 4 Lada | 24 |
| Gambar 5 Lada Putih (<i>Piper nigrum Linn</i>) bentuk pasar dan pabrik | 25 |
| Gambar 6 Hasil Uji Aktivitas Bakteri | 27 |
| Gambar 7 Lada Putih yang sudah dikeringkan | 36 |
| Gambar 8 Simplisia Lada Putih yang telah dihaluskan | 36 |
| Gambar 9 Ekstraksi Minyak Atsiri Lada Putih dengan Metode Destilasi Air | 37 |
| Gambar 10 Grafik Hubungan Kosentrasi Ekstrak Lada Putih dengan Diameter Zona Hambat | 39 |
| Gambar 11 Perbandingan diameter zona bening setiap konsentrasi | 40 |

DAFTAR TABEL

| | |
|--|----|
| Tabel 1 Kerusakan Kelompok Makanan Spesifik Mikroba..... | 12 |
| Tabel 2 Contoh Bakteri Penyebab Penyakit dan Gejalanya..... | 17 |
| Tabel 3 Kondisi yang diperlukan bagi pertumbuhan <i>Bacillus cereus</i> | 19 |
| Tabel 4 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Minyak Atsiri Lada Putih (<i>Piper nigrum Linn</i>). | 38 |

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Makanan merupakan salah satu kebutuhan dasar terpenting dan sangat esensial dalam kehidupan manusia. Makanan yang aman adalah yang tidak tercemar, tidak mengandung bakteri atau mikroorganisme dan bahan kimia yang berbahaya. Makanan yang aman juga harus diolah dengan tata cara yang benar sehingga nilai gizinya tidak rusak dan tidak bertentangan dengan kesehatan manusia (Astawan, 2010).

Menurut UU No.7 tahun 1996 keamanan makanan didefinisikan sebagai suatu kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah makanan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia. Oleh karena itu, kualitas makanan, baik segi bakteriologi, kimia, dan fisik harus selalu diperhatikan. Kualitas dari produk pangan untuk konsumsi manusia pada dasarnya dipengaruhi oleh mikroorganisme (UU No 7 tahun 1996 tentang Pangan).

Pertumbuhan mikroorganisme dalam makanan memegang peranan penting dalam pembentukan senyawa yang menyebabkan makanan menjadi tidak layak makan. Beberapa mikroorganisme yang mengontaminasi makanan dapat menimbulkan bahaya bagi yang mengkonsumsinya. Kondisi tersebut dinamakan keracunan makanan (Astawan, 2010).

Menurut Gaman dan Shrington (1996) keracunan makanan atau *foodborne disease* (penyakit bawaan makanan) adalah gejala yang disebabkan mengkonsumsi makanan yang beracun atau terkontaminasi mikroorganisme. Menurut Volk (Astawan, 2010), keracunan makanan yang disebabkan oleh mikroorganisme dapat dibagi menjadi dua kelompok besar, yaitu infeksi makanan dan keracunan makanan. Infeksi makanan terjadi karena konsumsi makanan yang mengandung organisme hidup yang mampu bersporulasi di dalam usus, yang menimbulkan penyakit. Sebaliknya, keracunan makanan tidak disebabkan tertelannya organisme hidup, melainkan akibat masuknya toksin atau substansi

beracun yang disekresikan ke dalam makanan. Organisme penghasil toksin tersebut mungkin mati setelah pembentukan toksin dalam makanan.

Berbagai penyakit atau infeksi yang berbeda-beda mungkin terjadi karena memakan makanan yang terkontaminasi bakteri patogen tersebut. Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan keracunan makanan adalah bakteri *Bacillus cereus*. Bakteri ini merupakan bakteri yang berbentuk batang, bersifat aerobik dan dapat membentuk endospora, juga merupakan jenis bakteri Gram positif yang memiliki peptidoglikan tebal dan mampu menghasilkan spora tahan panas serta toksin ekstraseluler. *Bacillus cereus* merupakan bakteri patogen yang dapat berkembang dengan baik pada substrat berkarbohidrat tinggi (Supardi dan Sukanto (Angelia, 2009)). Hal ini menyebabkan *B.cereus* masih mungkin berkembang walau makanan telah dimasak. Jumlah *B.cereus* yang mencapai 10^6 koloni per gram makanan telah mampu menyebabkan keracunan makanan (USFDA, 2001). Keracunan akan timbul jika seseorang menelan bakteri atau bentuk spornya, kemudian bakteri bereproduksi dan menghasilkan toksin di dalam usus atau seseorang mengonsumsi pangan yang telah mengandung toksin tersebut.

Ada dua tipe gejala yang ditimbulkan oleh bakteri *Bacillus cereus* yaitu diare yang disertai perut kram dan nyeri, yang terjadi setelah 8-16 jam mengonsumsi makanan yang terinfeksi bakteri *B.cereus* dan emesis (menyebabkan muntah) yang disertai mual dan muntah dan gejala yang timbul bersifat lebih parah dan akut yang dimulai 1-6 jam setelah mengonsumsi makanan yang tercemar (Granum dan Lund, 1997).

Beberapa hal sudah dilakukan untuk mencegah terjadinya keracunan makanan terhadap bakteri *B.cereus* ini. Salah satunya dengan tindakan pengendalian khusus bagi rumah tangga atau penjual makanan terkait bakteri ini yaitu pengendalian suhu yang efektif untuk mencegah pertunasan dan pertumbuhan spora. Perkembangan teknologi pengawetan untuk memperpanjang masa simpan produk makanan sangat pesat seiring dengan meningkatnya kebutuhan industri makanan dan penyediaan makanan sepanjang tahun (BPOM RI, 2013).

Tindakan lain untuk mencegah bakteri *B.cereus* adalah dengan menggunakan bahan pengawet untuk menurunkan perkembangan bakteri tersebut. Perkembangan teknologi pengawetan untuk memperpanjang masa simpan produk makanan sangat pesat seiring dengan meningkatnya kebutuhan industri makanan dan penyediaan makanan sepanjang tahun. Sistem pengawetan seperti pemanasan, pendinginan, dan penambahan bahan pengawet dapat memperpanjang masa simpan dan menurunkan berkembangnya mikroba patogen yang beresiko menyebabkan penyakit. Namun demikian, masyarakat sudah mulai menghindari penggunaan bahan pengawet sintetis sebagai antimikroba. Dewasa ini, sudah banyak penelitian-penelitian untuk menghambat pertumbuhan dari bakteri *B.cereus* atau mikroba patogen makanan lainnya. Kondisi ini memberikan peluang penggunaan bahan antimikroba alami untuk memperpanjang masa simpan seperti dalam bentuk enzim (latoperoksidase, laktoferin, avidin, lysozym), antimikroba yang diproduksi menggunakan kultur mikroba (nisin dan jenis bakteriosin lainnya) dan yang bersumber dari tanaman seperti rempah-rempah dan herbal berupa ekstrak, minyak atsiri ataupun komponen yang diisolasi dari rempah-rempah atau herbal (Safe, 2013).

Rempah-rempah didefinisikan sebagai tanaman yang digunakan untuk meningkatkan cita rasa makanan, baik bagian kulit, bunga, buah, akar, daun, rimpang, biji, umbi, maupun bagian tanaman lainnya. Disamping itu rempah-rempah sering juga digunakan sebagai obat tradisional karena adanya sifat antibakteri. Pengaruh penambahan rempah-rempah terhadap aktifitas pertumbuhan bakteri disamping dapat menghambat, juga dapat merangsang pertumbuhannya, tergantung pada kuantitas dan kualitas rempah-rempah yang digunakan dan jenis bakterinya (Zaika dan Kissinger, 1981).

Dari beberapa penelitian telah diketahui bahwa rempah-rempah seperti kayu manis, cengkeh, kunyit, dan lain-lain mempunyai sifat antibakteri. Kemampuan rempah-rempah tersebut dalam menghambat pertumbuhan mikroba tergantung dari kandungan senyawa antimikroba yang terdapat dalam rempah-rempah, konsentrasi rempah-rempah dan sifat mikroba yang dihambat. Rempah-rempah dengan konsentrasi yang biasa digunakan sehari-hari tidak dapat

mengawetkan makanan, tetapi pada konsentrasi tersebut rempah-rempah dapat membantu bahan-bahan lain yang lebih mampu mencegah pertumbuhan mikroba dalam makanan (Frazier dan Westhoff, 1983).

Lada (*Piper nigrum Linn*) merupakan salah satu jenis rempah-rempah yang tak asing lagi bagi masyarakat Indonesia dan banyak di tanam di daerah Indonesia. Lada banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai salah satu komponen bumbu dalam masakan tradisional. Tanaman lada termasuk suku Piperaceae. Dua sifat biji lada yang khas, yaitu rasanya yang pedas dan aromanya yang khas menyebabkan biji lada banyak sekali dipergunakan sebagai bahan penyedap atau peningkat rasa makanan. Aroma biji lada adalah akibat adanya minyak atsiri yang terdapat dalam biji lada tersebut (Lenny & Herlina, 1991).

Minyak atsiri dapat diperoleh melalui ekstraksi tumbuh-tumbuhan yakni dari daun, bunga, akar, biji, dan kulit kayu. Minyak atsiri merupakan minyak yang mudah menguap pada suhu kamar tanpa mengalami dekomposisi. Umumnya larut dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air (Koensoemardiyah, 2010). Beberapa penelitian dengan menggunakan minyak atsiri sudah pernah dilakukan. Salah satu nya adalah Yuharman *dkk* (2002) meneliti tentang aktivitas bakterisida dari famili zingiberaceace diantaranya minyak atsiri pada lengkuas (*Alpinia galanga*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillis subtilis* dan *Staphylococcus aureus*. Selain itu penelitian dengan menggunakan minyak atsiri dari rempah-rempah juga dilakukan oleh Ekwenya dan Elegalam (2005) pada aktivitas antibakteri ekstrak *Zingiber officinale* pada *E.coli* dan *Salmonella typhi*.

Kandungan minyak atsiri lada putih adalah alkaloida, terpenoid, fenol, dan berbagai macam senyawa lainnya. Hampir semua minyak atsiri dari rempah-rempah dapat menghambat pertumbuhan mikroba termasuk produksi toksinnya. Karena itu peneliti ingin melakukan penelitian yang meneliti kandungan minyak atsiri lada putih (*Piper nigrum L*) terhadap bakteri *Bacillus cereus*, dengan judul **Uji Ekstrak Minyak Atsiri Lada Putih (*Piper nigrum Linn*) sebagai Antibakteri *Bacillus cereus*.**

1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Bagaimanakah pengaruh ekstrak minyak atsiri lada putih (*Piper nigrum L*) terhadap tingkat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*?
2. Berapakah konsentrasi ekstrak minyak atsiri lada putih (*Piper nigrum Linn*) yang paling berpengaruh terhadap tingkat pertumbuhan *B.cereus*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh ekstrak minyak atsiri lada putih (*Piper nigrum Linn*) terhadap tingkat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*
2. Mengetahui konsentrasi ekstrak minyak atsiri lada putih (*Piper nigrum Linn*) yang paling berpengaruh terhadap tingkat pertumbuhan *B.cereus*.

1.4 Ruang Lingkup

Ruang lingkup dari penelitian ini adalah:

1. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini hanya bakteri *Bacillus cereus* yang didapat di Laboratorium IHPT Universitas Bengkulu
2. Cara mendapatkan minyak atsiri dengan menggunakan metode destilasi
3. Jenis pelarut yang digunakan untuk mengekstrak minyak atsiri Lada putih adalah air

1.5 Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

Menambah wawasan tentang bahan rempah-rempah yang dapat digunakan sebagai antimikroba pada makanan dan untuk menerapkan teori-teori yang telah diperoleh dari bangku kuliah serta menambah keterampilan dalam keahlian peneliti dalam penelitian di laboratorium.

2. Bagi Masyarakat

Dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang pengaruh pemberian ekstrak minyak atsiri lada putih (*Piper nigrum L*) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* serta dapat memanfaatkan ekstrak minyak atsiri lada putih sebagai bahan pengawet makanan atau antimikroba.

3. Bagi Pengembangan Ilmu Pengetahuan

Memberikan informasi terbaru tentang uji ekstrak minyak atsiri lada putih (*Piper nigrum L*) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kandungan kimia minyak atsiri sehingga dapat digunakan sebagai antimikroba lainnya.

1.6 Keaslian Penelitian

Penelitian mengenai kajian efektifitas ekstrak minyak atsiri lada putih (*Piper nigrum L*) terhadap pertumbuhan bakteri *bacillus cereus* belum pernah dilakukan sebelumnya baik dikalangan Universitas Bengkulu ataupun dalam jurnal-jurnal ilmiah dari luar Universitas Bengkulu.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Studi Pustaka

Penelitian tentang tanaman rempah-rempah yang berpotensi sebagai senyawa antibakteri dan antimikroba sudah sering dilakukan. Baik dalam bidang kesehatan ataupun dalam bidang pengawetan bahan makanan. Seperti yang pernah dilakukan oleh Barito, tentang Uji Ekstrak Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni*) sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* secara In Vitro. Hasilnya menunjukkan bahwa kulit batang kayu manis yang mengandung bahan aktif minyak atsiri, saponin, flavonoid, dan tanin dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri *Shigella dysenteriae* secara in vitro. Selain itu semakin besar ekstrak kulit batang kayu manis semakin kecil tingkat pertumbuhan bakteri (Barito, 2011).

Kajian mengenai buah lada pernah dilakukan oleh Muliana, dalam Pemanfaatan Ekstrak Etanol Buah Lada Hitam (*Piper nigrum*) sebagai Antibakteri Terhadap Methicilin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) No.Isolat M.2036.T secara In-Vitro. Hasil yang diperoleh adalah konsentrasi hambat minimum terjadi pada konsentrasi ekstrak lada hitam 55% (v/v) dan konsentrasi bunuh minimum terjadi pada konsentrasi ekstrak lada hitam 60% (v/v) (Muliana, 2013).

Untuk kajian mengenai ekstrak minyak atsiri Lada putih pernah dilakukan oleh Murniaty, tentang Karakterisasi Simplisia, Isolasi, serta Analisis Komponen Minyak Atsiri Lada Hitam dan Lada Putih (*Piper nigrum Linn*) secara GC-MS. Hasil penelitian ini diperoleh kadar minyak atsiri lada putih sebesar 1,75% v/b. Hasil penetapan indeks bias minyak atsiri lada putih sebesar 1,485. Bobot jenis yang didapat dari penelitian ini adalah sebesar 0,8671 untuk lada putih. Penelitian ini juga menunjukkan bahwa hasil analisis GC-MS minyak atsiri yang diperoleh dari lada putih menunjukkan 5 komponen dengan konsentrasi paling tinggi yaitu : alpha-thujene (60,51 %); sabinene (15,14 %); alpha pinene (10,88%); delta-3-carene (7,02%) dan camphene (6,45%) (Murniaty, 2010).

2.2 Landasan Teori

2.2.1 Pengertian Pangan dan Makanan

Makanan merupakan kebutuhan pokok sehari-hari yang berperan penting untuk kelangsungan hidup manusia. Aktivitas manusia akan mengalami hambatan jika makanan yang dikonsumsi tidak cukup dalam jumlah dan mutunya. Makanan berasal dari bahan pangan yang sudah atau tanpa mengalami pengolahan. Secara umum pangan didefinisikan sebagai suatu bahan yang diperlukan untuk mempertahankan kehidupan dan fungsi normal dari makhluk hidup baik jasad renik, tumbuhan, hewan, atau manusia (Afrianti. 2008: 12).

Pangan merupakan kebutuhan dasar manusia yang terpenting dalam peningkatan kualitas fisik, mental dan kecerdasan. Yang dimaksud dengan pangan disini adalah semua produk yang dikonsumsi manusia dalam bentuk bahan mentah, setengah jadi atau jadi, yang meliputi produk-produk industri, restoran, katering, serta makanan tradisional atau jajanan (Afrianti. 2008: 12).

Pangan dapat diperoleh dari tumbuhan (nabati) dan hewan (hewani), dengan tujuan sebagai pemberi zat gizi bagi tubuh yang dibutuhkan untuk mempertahankan hidup. Kebutuhan akan pangan nabati atau hewani umumnya bersifat musiman dan terjadi secara periodik. Jaman dahulu, manusia untuk mendapatkan makanan dilakukan dengan cara berburu. Mereka berjuang keras untuk mendapatkan makanan hanya untuk kebutuhan sehari-hari, tanpa berpikir besok atau masa yang akan datang. Terkadang bahan makanan yang dibutuhkan sangat sulit di dapat akibat musim atau harus berkompetisi di antara mereka (Afrianti. 2008: 13).

Sumber daya alam yang dimiliki manusia biasanya dari darat (hasil pertanian, perkebunan dan peternakan), laut (ikan laut, ikan air tawar, payau) adalah terbatas, karena itu penggunaan teknologi terhadap sumber daya alam ini tidak terukur dan juga tidak terbatas. Salah satu hasil yang dicapai oleh ilmu dan teknologi sekarang adalah, bahwa manusia mempunyai persediaan bahan pangan yang lebih bervariasi daripada sebelumnya. Hal ini menunjukkan bahwa persediaan bahan pangan per orang bukan semata-mata sebagai fungsi jumlah penduduk yang ada atau luas lahan yang ditanami. Penyediaan bahan pangan

modern merupakan hasil penelitian manusia terhadap gejala-gejala alam dan aplikasi dari penemuan-penemuan bagi kelangsungan hidup manusia (Afrianti. 2008: 13-14).

Pada dasarnya bahan pangan merupakan campuran berbagai senyawa kimia yang dapat dikelompokkan ke dalam karbohidrat, lemak, protein, vitamin, mineral, dan air. Bahan pangan terdiri dari 99,9% dari bahan-bahan tersebut sedangkan sisanya adalah bahan-bahan lain berupa pigmen, zat cita rasa dan zat-zat aditif. Sebagian besar yang menyusun pangan bersifat organik dan hanya kandungan mineral dan air yang bersifat anorganik. Makanan yang kita makan mengandung ribuan komponen nutrisi, tetapi hanya sekitar 44 sampai 47 saja yang dibutuhkan manusia. Nutrisi atau zat gizi merupakan senyawa penting yang harus dikonsumsi oleh manusia dengan jumlah yang cukup untuk pertumbuhan, kesehatan secara fisik, reproduksi dan kesehatan hidup (Afrianti. 2008: 15).

2.2.1.1 Keracunan Makanan

Makanan dapat menjadi sumber penyakit dan keracunan pada manusia. Misalnya penyakit typhus, kholera, disentri, dan keracunan makanan yang disebabkan oleh toksin yang dikeluarkan mikroorganisme tertentu (botulinum, asam bongkrek, aflatoksin dan lain-lain) dan toksin alami (alkaloida, hidrogen sianida, mimosan dan lain-lain). Penyakit karena makanan dapat berpengaruh buruk terhadap kemampuan tubuh untuk mencerna, menyerap, atau mendaya gunakan zat gizi, selain itu juga dapat menginduksi perubahan metabolik akut dan kronis. Menurut FAO/WHO (1992) terdapat ratusan juta manusia di dunia menderita menular maupun tidak menular karena pangan yang tercemar (Afrianti. 2008: 17-18).

Kerusakan makanan disebabkan oleh kerja mikroorganisme (bakteri, ragi, jamur). Mikroorganisme itu dapat menyerang makanan dan menyebabkan makanan menjadi busuk, proses ini dapat terjadi pada segala jenis makanan. Bagi industri makanan, bahan pangan yang cepat membusuk bisa mendatangkan kerugian secara ekonomis. Bagi konsumen, bahan yang sudah mengalami proses pembusukan juga dapat menimbulkan gangguan kesehatan. Mikroorganisme yang

membusukkan makanan hanya tumbuh dalam keadaan tertentu. Antara lain adanya oksigen, kelembapan dan juga suhu (Afrianti. 2008: 3).

Pertumbuhan mikroba dalam bahan pangan dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti tersedianya nutrien, air, suhu, pH, oksigen, dan adanya zat penghambat. Keberadaan mikroba di dalam pangan tidak selamanya menguntungkan, tetapi juga dapat mendatangkan kerugian. Misalnya jika kehadiran mikroba tersebut mengubah bau, rasa, dan warna yang tidak dikehendaki; menurunkan berat atau volume; menurunkan nilai gizi/nutrisi; mengubah bentuk dan susunan senyawa serta menghasilkan toksin yang membahayakan di dalam pangan (Supardi dan Sukamto, 1999).

Pangan yang memiliki kandungan mikroba tertentu dapat menimbulkan penyakit bila dikonsumsi. Menurut penyebabnya, penyakit yang ditimbulkan oleh makanan dapat digolongkan dalam dua kelompok besar, yaitu keracunan dan infeksi mikroba. Keracunan dapat terjadi karena tertelannya suatu racun baik organik atau anorganik yang mungkin terdapat secara alamiah pada bahan pangan, serta tertelannya toksin yang merupakan hasil metabolisme sel-sel mikroba tertentu. Gejala keracunan karena toksin tersebut disebut intoksikasi. Sedangkan tertelannya atau masuknya mikroba ke dalam tubuh, kemudian menembus sistem pertahanan tubuh dan hidup serta berkembang biak di dalam tubuh disebut infeksi (Supardi dan Sukamto, 1999).

Gejala keracunan bergantung pada tipe pencemar dan jumlah yang tertelan. Gejala keracunan pangan yang tercemar bakteri patogen biasanya dimulai 2-6 jam setelah mengkonsumsi pangan yang tercemar. Namun, waktunya bisa lebih panjang (setelah beberapa hari) atau lebih pendek, tergantung pada cemaran pada pangan. Gejala yang mungkin timbul antara lain mual dan muntah; kram perut; diare (dapat disertai darah); demam dan menggigil; rasa lemah dan lelah; serta sakit kepala (BPOM RI, 2013).

Menurut Walderhaug (2007), patogen-patogen penyebab keracunan pangan, antara lain: *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Campylobacter sp.*, *Shigella sp.*, *Clostridium botulinum*, dan *Escherichia coli*. Salah satu bentuk kasus keracunan pangan yang

disebabkan oleh bakteri patogen ialah keracunan pangan yang menjadi Kejadian Luar Biasa (KLB) di Amerika, Inggris, Kanada, dan Norwegia. Bakteri penyebab KLB tersebut adalah *Bacillus cereus* yang terdapat pada nasi putih dan nasi goreng (Supardi dan Sukanto, 1999).

Diare adalah salah satu penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen yang menimbulkan KLB. Di Inggris 1 dari 5 orang menderita diare infeksi setiap tahunnya. Di negara berkembang, diare infeksi menyebabkan kematian sekitar 3 juta penduduk setiap tahunnya (Zein, dkk. 2004).

2.2.1.2 Infeksi Pangan

Penyakit akibat pangan karena infeksi merupakan salah satu kategori akibat pangan yang disebabkan kontaminasi bahan biologis. Infeksi pangan adalah penyakit akibat pangan yang terkontaminasi virus, bakteri, atau parasit (Basuki. 2011).

Ada dua istilah yang mirip pengertiannya, yaitu infeksi dan keracunan. Infeksi adalah suatu istilah yang digunakan bila seseorang setelah mengkonsumsi makanan atau minuman yang mengandung bakteri patogen mendapat gejala-gejala penyakit. Keracunan yang disebut juga intoksikasi disebabkan mengkonsumsi makanan yang telah mengandung senyawa beracun yang diproduksi oleh mikroba, baik bakteri maupun kapang (Winarno. 1988: 233-234).

Infeksi oleh mikroorganisme patogen dalam pangan dapat terjadi melalui beberapa cara, diantaranya adalah pangan mentah yang terkontaminasi patogen tidak dimasak dengan benar (suhu dan waktu yang cukup) untuk membunuh patogen atau pangan dikonsumsi mentah. Selain itu, peralatan makan atau masak yang digunakan untuk mengolah bahan mentah yang terkontaminasi patogen, kemudian digunakan pula untuk mengolah bahan pangan lain atau disebut dengan istilah kontaminasi silang (Basuki. 2011: 6)

Gejala yang timbul jika kita mengkonsumsi makanan yang terinfeksi salah satunya adalah diare, kram perut, dan demam yang timbul 8-72 jam setelah mengkonsumsi pangan yang tercemar. Gejala lainnya adalah menggigil, sakit kepala, mual, dan muntah. Gejala dapat berlangsung selama lebih dari 7 hari.

Gejala yang seperti ini disebabkan oleh bakteri *Salmonella*. Banyak orang dapat pulih tanpa pengobatan, tetapi infeksi *Salmonella* ini juga dapat membahayakan jiwa terutama pada anak-anak, orang lanjut usia, serta orang yang mengalami gangguan sistem kekebalan tubuh (BPOM RI, 2013).

2.2.2 Peranan mikroorganisme

Mikroorganisme tersebar luas di alam lingkungan, dan sebagai akibatnya produk pangan jarang sekali yang steril dan umumnya tercemar oleh berbagai jenis mikroorganisme. Bahan pangan selain merupakan sumber gizi bagi manusia juga sebagai sumber makanan bagi perkembangan mikroorganisme. Pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme dalam makanan sangat erat hubungannya dengan kehidupan manusia dan menimbulkan beberapa akibat (Buckle, dkk. 1987: 23).

Pertumbuhan mikroorganisme di dalam atau pada makanan dapat mengakibatkan berbagai perubahan fisik maupun kimiawi yang tidak diinginkan, sehingga bahan pangan tersebut tidak layak untuk dikonsumsi lagi. Apabila hal ini terjadi, produk pangan tersebut dinyatakan sebagai bahan pangan yang busuk dan ini menggambarkan suatu penyalahgunaan sumber gizi yang berharga (Buckle, dkk. 1987: 23). Berikut ini adalah tabel data kelompok makanan yang bisa mengalami kerusakan akibat pertumbuhan mikroorganisme:

Tabel 1. Kerusakan Kelompok Makanan Spesifik Mikroba

| Jenis Makanan | Mikroba Penyebab | Gejala |
|-----------------------------|-------------------------------|--|
| Daging segar | <i>Clostridium</i> psikrotrof | Perubahan tekstur, akumulasi cairan, bau |
| Daging olahan | <i>Serratia</i> spp | Bau amonia |
| Ikan | <i>Pseudomonas</i> | Busuk |
| Susu dan produk susu | <i>Alcaligenes</i> spp | Berlendir |
| Sayuran dan buah-buahan | <i>Bacillus</i> | Perubahan warna, tesktur, dan bau |
| Minuman ringan dan jus buah | <i>Sacharomyces</i> | Produk menjadi keruh |
| Makanan kaleng | <i>B.stearothermophilus</i> | Produk menjadi asam tanpa gas |

(sumber: BPOM RI, 2013)

2.2.3 Bakteri

Mungkin kelompok mikroorganisme yang paling penting dan beraneka ragam, yang berhubungan dengan makanan dan manusia adalah bakteri. Adanya bakteri dalam bahan pangan dapat mengakibatkan pembusukan yang tidak diinginkan atau menimbulkan penyakit yang ditularkan melalui makanan atau dapat melangsungkan fermentasi yang menguntungkan (Buckle, dkk. 1987: 25).

Lingkungan Hidup Bakteri

Bakteri terdapat secara luas di lingkungan alam yang berhubungan dengan hewan, tumbuh-tumbuhan, udara, air dan tanah. Pada kenyataannya sangat sedikit sekali lingkungan yang bersih dari bakteri (Buckle, dkk. 1987: 25).

Morfologi

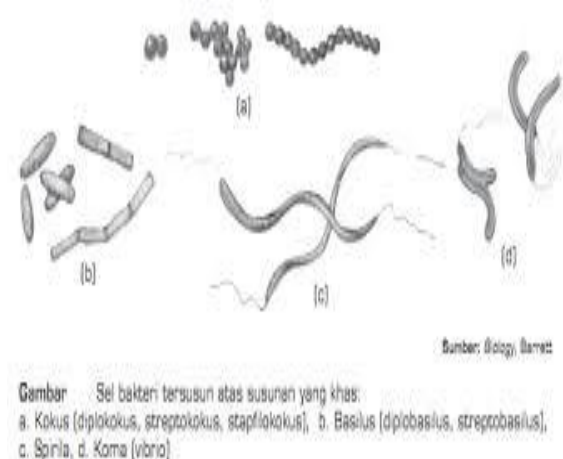
Bakteri adalah mikroorganisme bersel tunggal yang tidak terlihat oleh mata, tetapi dengan bantuan mikroskop, mikroorganisme tersebut akan nampak. Ukuran bakteri berkisar antara 0,5 sampai 10 μ dan lebar 0,5 sampai 2,5 μ tergantung jenis bakterinya. (μ = 1 mikron = 0,001 mm). Walaupun terdapat beribu jenis bakteri, tetapi hanya beberapa karakteristik bentuk sel yang ditemukan yaitu:

Bentuk bulat atau cocci (tunggal = *coccus*)

Bentuk batang atau bacilli (tunggal = *bacillus*)

Bentuk spiral atau spirilli (tunggal = *spirillum*)

Bentuk koma atau vibrio (tunggal = *vibrio*)



Gambar 1. Morfologi

Sel-sel ini dapat dijumpai dalam keadaan tunggal, berpasangan, tetrad, kelompok kecil, gerombolan atau rantai (Buckle, dkk. 1987: 26).

Struktur sel

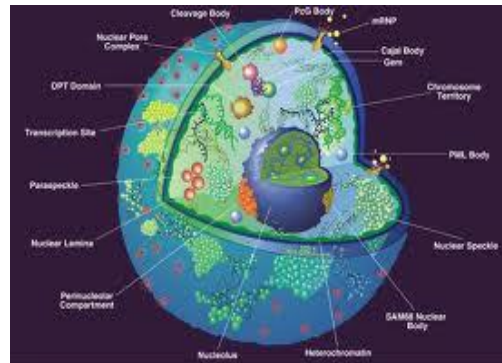
Hampir semua bakteri mempunyai struktur dan organisasi dasar yang sama walaupun bentuknya berbeda. Setiap sel terdiri atas lapisan dinding sel bagian luar yang kaku dan dibawahnya terdapat membran sel semipermeabel. Di dalam membran tersebut terdapat isi dari sitoplasma termasuk di dalamnya bahan inti dan berbagai kelompok serta enzim yang dibutuhkan untuk metabolisme dan pertumbuhan (Buckle, dkk. 1987: 26).

Flagella (tunggal = *flagellum*) adalah struktur tambahan di luar sel yang berbentuk cambuk halus yang tak nampak di bawah mikroskop biasa kecuali bila digunakan teknik pewarnaan khusus. Adanya flagella ini menyebabkan gerakan dari sel. Susunan flagella pada sel penting untuk diidentifikasi dan dapat dikelompokkan menjadi 2 golongan yaitu flagella peritrichous dan flagella polar (Buckle, dkk. 1987: 26).

Beberapa sel bakteri di sebelah luarnya dikelilingi oleh lapisan berlendir yang dihasilkan oleh sel bakteri itu sendiri. Bahan ini dapat melekat pada sel atau berdifusi atas gugusan kompleks ke dalam media. Lapisan luar ini disebut kapsul dan dapat terdiri atas gugusan kompleks polisakarida atau polipeptida. Adanya kapsul ini dapat mengakibatkan sel melekat pada bahan pangan atau alat-alat pengolahan pangan. Sebagaimana akan diuraikan lebih lanjut, produksi berlebihan dari bahan kapsul di saat pertumbuhan bakteri dalam bahan pangan menimbulkan sifat berlendir dan *ropyness* yaitu lendir kental berbentuk tali pada pembusukan bahan pangan tersebut (Buckle, dkk. 1987: 27).

Satu sifat yang penting dari bakteri dalam hubungannya dengan mikrobiologi pangan adalah kemampuan beberapa jenis bakteri untuk memproduksi struktur internal yaitu endospora. Endospora ini umumnya terbentuk secara tunggal dalam sel guna menanggulangi keadaan lingkungan yang kurang baik. Spora yang sudah masak dilepas oleh sel ke alam sekitarnya. Spora-spora ini dapat dilihat di bawah mikroskop fase kontras dan nampak sebagai bagian yang bercahaya terang baik di dalam atau di luar sel. Spora-spora ini tahan terhadap keadaan fisik atau kimiawi yang ekstrim seperti suhu, kekeringan dan bahan-bahan kimia pembasmi kuman dan dapat bertahan dalam keadaan tidur

untuk beberapa tahun. Pada saat kondisi pertumbuhan memungkinkan, spora-spora tersebut tumbuh menjadi sel-sel vegetatif yang normal (Buckle, dkk. 1987: 27).



Gambar 2. Struktur Sel

Perkembangbiakan sel

Bakteri berkembang biak secara asexual yaitu dengan proses pembelahan diri menjadi dua. Secara sederhana dapat diuraikan sebagai berikut: sel-sel akan memanjang dan apabila sudah mencapai dua kali ukuran normal akan membelah di bagian tengah menjadi dua sel yang selanjutnya juga akan mengalami pembelahan. Walaupun sel secara individu tidak nampak oleh mata, tetapi kumpulan dari berjuta-juta sel tunggal. Sebagai hasil pembelahan sel yang berulang-ulang pada substrat padat, membentuk suatu unit yang terlihat oleh mata yang disebut koloni. Jenis koloni yang terbentuk (warna, bentuk, tekstur dan sebagainya) penting dalam identifikasi bakteri tersebut (Buckle, dkk. 1987: 28).

Taksonomi

Taksonomi adalah suatu studi tentang klasifikasi secara biologis dan mempunyai dua fungsi yaitu:

- Mengidentifikasi dan mendeskripsikan selengkap mungkin unit taksonomi dasar atau spesies (jenis).
- Merencanakan cara yang tepat untuk mengatur dan membuat 15 atalog dari unit-unit tersebut.

Mikrobiologi pangan adalah pengetahuan tentang tingkat dan tipe mikroorganisme yang berhubungan dengan bahan pangan. Kerusakan dan fermentasi bahan pangan seringkali hanya melibatkan kegiatan dari beberapa jenis yang penting. Penyakit yang ditularkan melalui makanan hanya berhubungan dengan sejumlah kecil bakteri patogenik tertentu. Pengawasan interaksi antara

makanan-mikroorganisme-manusia terutama didasarkan pada pengetahuan dan pengertian mengenai tipe mikroorganisme yang terdapat dalam makanan. Oleh karena itu taksonomi bakteri, terutama kemampuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi jenis-jenis bakteri yang paling berperan, merupakan suatu komponen yang penting dari mikrobiologi pangan. Jenis-jenis bakteri yang paling berperan merupakan suatu komponen yang penting dari mikrobiologi pangan (Buckle, dkk. 1987: 29).

Jenis-jenis bakteri yang umum berhubungan dengan makanan tidak menunjukkan tanda-tanda anatomi yang nyata dan khas yang memungkinkan untuk mengenal dan mengidentifikasi secara mudah. Identifikasi setelah isolasi dalam bentuk murni, didasarkan pada pengamatan sejumlah sifat termasuk sifat-sifat morfologi, biokimia, fisiologi, dan serologis (Buckle, dkk. 1987: 30).

Penyakit Oleh Bakteri

Bahan pangan dapat bertindak sebagai perantara atau substrat untuk tumbuhnya mikroorganisme yang bersifat patogen terhadap manusia. Penyakit menular yang cukup berbahaya seperti tipus, kolera, disentri, tbc dan poliomyelitis dengan mudah disebarkan melalui bahan pangan. Akhir-akhir ini terjadi peningkatan gangguan saluran pencernaan (gastrointestinal) akibat keracunan bahan pangan yang disebarkan oleh mikroorganisme patogenik yang termakan bersama bahan pangan yang tercemar. Sebagai akibat dari meningkatnya perjalanan dan perdagangan pangan secara internasional, maka penyakit yang disebabkan bahan pangan dan keamanan bahan pangan dari mikroorganisme telah menjadi perhatian utama dunia (Buckle, dkk. 1987: 24).

Tabel 2 . Contoh Bakteri penyebab penyakit dan gejalanya

| Bakteri Penyebab | Gejala | Jenis makanan yang terkontaminasi |
|--------------------------|---|--|
| Eschericia coli | Diare (seringkali berdarah) | sayuran |
| Staphylococcus aureus | Muntah,sakit kepala,diare | Daging dan produk daging, ayam, telur, salad,produk bakery, serta susu dan produk susu |
| Salmonella | Diare,demam,sakit perut | Makanan yang tidak cukup matang dari binatang yang terinfeksi |
| Shigella | Sakit perut,diare berdarah dan berlendir, demam | Salad, sayuran mentah, serta susu dan produk susu |
| Pseudomonas cocovenenans | hiperglikemia | Tempe bongkrek |
| Bacillus cereus | Muntah, sakit kepala, diare, kram.kejang perut | Pangan berbahan beras, kentang tumbuk, sayuran dan daging |

(Sumber: Astawan, 2010)

Kelompok-kelompok bakteri yang penting

Berdasarkan atas sifat-sifat tertentu yang dimiliki, bakteri dapat diklasifikasikan menjadi jenis (*species*), suku (*tribe*), keluarga (*family*) dan kelas (*order*). Untuk hampir semua keperluan dalam mikrobiologi pangan, golongan (*genus*) dan jenis (*species*) adalah tingkat klasifikasi yang umum digunakan. Salah satu nya adalah golongan *Bacillaceae* (Buckle, dkk. 1987: 30).

2.2.3.1 Bacillaceae

Dalam famili ini ada dua genus penting yang berhubungan dengan bahan pangan. Yaitu *Bacillus* dan *Clostridium*. Mikroorganisme ini penting dalam mikrobiologi pangan terutama kemampuannya dalam membentuk endospora. Sel-selnya berbentuk batang dan umumnya cukup besar, merupakan bakteri gram positif dan sering bergerak dengan flagella peritrichous. Kedua jenis ini dibedakan metabolisme oksigen, *clostridium* bersifat sangat anaerobik (katalase negatif) dan *bacillus* bersifat aerobik dan fakultatif anaerobik (katalase positif).

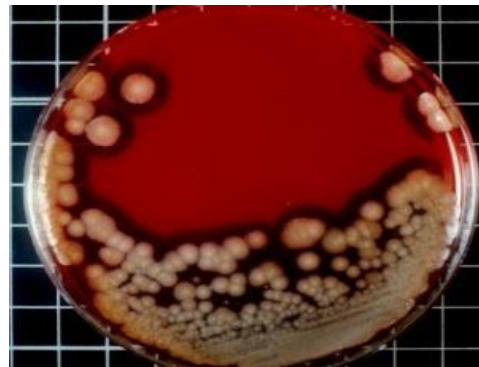
Kedua genus mikroorganisme ini tersebar luas dalam air dan tanah serta mencemari banyak jenis bahan pangan. Kegiatan merusak kedua jenis bakteri ini terutama berhubungan dengan bahan pangan yang diolah dengan pemanasan di mana endosporanya tahan terhadap pemanasan. Anggota genus ini menghasilkan berbagai jenis enzim perusak karbohidrat, lemak dan protein. *Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans*, dan *Bacillus starothermophilus* dikenal sebagai penyebab keasaman dari makanan kaleng karena fermentasi gula yang dikandung bahan pangan tersebut. *Clostridium putrefaciens* dan *clostridium sporogenes* dikenal karena sifat proteolitik anaerobik (pembusukan) pada daging dan sayuran, terutama produk dalam kaleng. *Bacillus cereus*, *clostridium perfringens* dan *clostridium botulinum* adalah penyebab keracunan makanan (Buckle, dkk.1987: 30).

2.2.3.2 *Bacillus cereus*

Bacillus cereus telah dikenali sebagai salah satu penyebab keracunan pada makanan sejak tahun 1955, sejak saat itu mikroorganisme ini telah menarik banyak perhatian dan menjadi salah satu penyebab keracunan pada pangan yang termasuk sering ditemukan. Sekitar 5% dari semua kasus keracunan pangan di Eropa tahun 1990 yang telah dilaporkan ke *World Health Organization Surveillance Programme* disebabkan oleh *Bacillus cereus* (WHO, 1990 dalam Granum dan Lund). Menurut data kasus jumlah minimal *Bacillus cereus* yang dapat menimbulkan keracunan pada pangan adalah sekitar 10^5 sel/gram pangan (CDCP, 1979 dalam Granum dan Lund).

Berikut ini merupakan klasifikasi dari *Bacillus cereus*:

| | |
|---------|--------------------------|
| Kingdom | : Bacteria |
| Phylum | : Firmicutes |
| Class | : Bacilli |
| Order | : Bacillales |
| Family | : Bacillaceae |
| Genus | : Bacillus |
| Spesies | : <i>Bacillus cereus</i> |



Gambar 3. Koloni *B.cereus* pada agar

Karakteristik umum

Bacillus cereus merupakan golongan bakteri Gram-positif (bakteri yang mempertahankan zat warna kristal violet sewaktu proses pewarnaan Gram), aerob fakultatif (dapat menggunakan oksigen tetapi dapat juga menghasilkan energi secara anaerobik), dan dapat membentuk spora (endospora). Spora *Bacillus cereus* lebih tahan pada panas kering daripada pada panas lembab dan dapat bertahan lama pada produk yang kering. Selnya berbentuk batang besar (bacillus) dan sporanya tidak membengkakkan sporangiumnya.

Sifat-sifat dan karakteristik-karakteristik lainnya, termasuk sifat-sifat biokimia, digunakan untuk membedakan dan menentukan keberadaan *Bacillus cereus*, walaupun sifat-sifat ini juga dimiliki oleh *Bacillus cereus* var. *mycoides*, *Bacillus thuringiensis* dan *Bacillus anthracis*. Organisme-organisme ini dapat dibedakan berdasarkan pada motilitas/gerakan (kebanyakan *Bacillus cereus* motil/dapat bergerak), keberadaan kristal racun (pada *Bacillus thuringiensis*), kemampuan untuk menghancurkan sel darah merah (aktivitas *hemolytic*) (*Bacillus cereus* dan lainnya bersifat *beta haemolytic* sementara *Bacillus anthracis* tidak bersifat *hemolytic*), dan pertumbuhan *rhizoid* (struktur seperti akar), yang merupakan sifat khas dari *Bacillus cereus* var. *mycoides*.

Tabel 3. Kondisi yang Diperlukan bagi Pertumbuhan *Bacillus cereus*

| Parameter | |
|---|--|
| Suhu | < 4 °C (4 – 50 °C) |
| pH | < 4,4 (4,4 – 9,3) |
| a_w | < 0,91 |
| Jumlah <i>Bacillus cereus</i> yang ditemukan dalam susu segar pasteurisasi | < 10 organisme / 100 ml |
| Jumlah indikasi <i>Bacillus cereus</i> yang menyebabkan <i>foodborne disease</i> | > 10 ⁵ cfu g ⁻¹ atau ml ⁻¹ |
| Konsentrasi pada makanan yang terkait dengan racun makanan <i>Bacillus cereus</i> | 10 ⁵ to > 10 ⁹ cfu ml ⁻¹ atau g ⁻¹ |

Bacillus cereus adalah bakteri pembentuk spora yang tergolong ke dalam famili *Bacillaceae*. Spora *B.cereus* tahan terhadap panas dan radiasi. Bakteri ini bersifat aerobik sampai anaerobik fakultatif, katalase positif, dan kebanyakan Gram positif serta mempunyai enzim proteolitik (Fardiaz, 1992).

B. cereus juga memproduksi enterotoksin dan metabolit-metabolit lainnya. Tidak memproduksi indol, reaksi Voges-Proskauer positif, dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon, mereduksi nitrat, tidak memproduksi urease dan penisilinase, dapat tumbuh secara anaerobik di dalam media cair yang mengandung 1% glukosa, memproduksi asam dari glukosa, sukrosa, maltosa dan gliserol, serta tahan terhadap lisozim (Supardi dan Sukamto, 1999).

Jenis pangan yang sering ditumbuhi *B. cereus* terutama adalah daging, nasi, sayuran, sosis, makaroni, dan kadang-kadang ikan, susu atau es krim. Pangan penyebab keracunan umumnya mengandung sel *B. cereus* dalam jumlah tinggi. Analisis mikrobiologi terhadap *B. cereus* pada agar darah menunjukkan bahwa dari 17 KLB yang terjadi di Inggris tahun 1971-1976, kandungan *B. Cereus* pada nasi penyebab keracunan tersebut berkisar antara $3 \times 10^5 - 2 \times 10^9$ CFU/g dengan rata-rata 5×10^7 CFU/g (Supardi dan Sukamto, 1999).

Konsumsi pangan yang mengandung lebih dari 10^6 *B.cereus*/g (USFDA, 2001) sudah dapat menyebabkan keracunan pangan, khususnya pada pangan yang dibiarkan saat preparasi tanpa dimasukkan ke dalam lemari pendingin sebelum dihidangkan. *B.cereus* tumbuh cepat apabila substratnya mengandung karbohidrat. Sedangkan bila substratnya tidak mengandung karbohidrat, pertumbuhannya akan sangat lambat dan tidak dapat membentuk toksin. *B cereus* dapat tumbuh secara baik pada media yang mengandung 0.025 M glukosa dan mencapai maksimum setelah 4,5 jam (Supardi dan Sukamto, 1999).

Produksi toksin terjadi selama pertumbuhan logaritmik, dan mencapai maksimum sampai glukosa di dalam medium habis dipecah oleh bakteri tersebut. Galur *B.cereus* yang bersifat patogenik digolongkan ke dalam bakteri penyebab intoksikasi dan dapat dibedakan atas dua grup berdasarkan sifat patogeniknya, yaitu galur penyebab diare dan galur penyebab muntah. Galur penyebab diare yang memproduksi enterotoksin dapat tumbuh pada berbagai pangan dan

mempunyai waktu inkubasi sejak tertelan sampai timbulnya gejala intoksikasi berkisar antara 8-16 jam. Galur yang memproduksi toksin emetik mempunyai masa inkubasi lebih pendek, sekitar 1-5 jam (Supardi dan Sukamto, 1999).

Galur *B.cereus* yang beragam tersebut dapat dibedakan berdasarkan gen spesifik yang dimiliki masing-masing galur. Berdasarkan beberapa penelitian terdapat beberapa gen spesifik yang terdapat pada *B.cereus*, antara lain: gen penghasil *cereulide* (*ces*), sejenis toksin emetik (Fricker *dkk.*, 2007), phosphotidyl inositol (PI-1) (Myers dan Sakelaris, 2004), gyrase (*gyrB*) (Myers dan Sakelaris, 2004), enterotoksin non-hemolitik (*Nhe*) (Hansen dan Hendriksen, 2001), sitotoksin (*cytK*) (Lund *dkk.*, 2000), hemolysin (*hblA*) (Mantynen dan Lindstrom, 1998), dan enterotoksin T (*BceT*) (Mantynen dan Lindstrom, 1998).

Target gen spesifik akan menentukan primer yang digunakan dalam uji amplifikasi dengan PCR, target gen yang banyak digunakan ialah *ces* karena toksin ini spesifik dihasilkan *B.cereus* emetik (Fricker *dkk.*, 2007). Berbeda dengan sekuens gen 16S rRNA karena identik dengan beberapa bakteri lain, termasuk *B.anthraxis*. Keidentikan tersebut terlihat dari struktur primer 16S rRNA *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, dan *Bacillus thuringiensis* setelah ditetapkan dengan metode sekuensing dideoksi transkripsi terbalik, hasilnya menunjukkan semua galur memiliki sekuens serupa (tingkat kemiripannya lebih dari 99%) (Ash *dkk.*, 1991).

2.2.4 Senyawa Antimikroba

Untuk menghambat kerusakan pada makanan digunakan bahan pengawet yang ditambahkan pada saat mengolahnya. Bahan pengawet yang berfungsi menghambat pertumbuhan mikroba dikenal sebagai zat antimikroba. Menurut Pelczar dan Reid (1979), zat antimikroba adalah senyawa biologis atau kimia yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroba.

Zat antimikroba dapat bersifat katersidal (membunuh bakteri), bakteri statik (menghambat pertumbuhan kapang), germisidal (menghambat germinasi spora bakteri), dan sebagainya (Fardiaz, 1992).

Pelezar dan Reid (1979) menerangkan bahwa mekanisme penghambatan pertumbuhan mikroba oleh senyawa antimikroba ada beberapa macam yaitu:

- Merusak dinding sel
- Mengganggu permeabilitas membran sitoplasma
- Denaturasi protein sel
- Merusak sistem metabolisme sel dengan cara menghambat kerja enzim

Efektivitas mekanisme senyawa antimikroba dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya:

- Jenis, jumlah, umur, dan keadaan mikroba
- Konsentrasi zat antimikroba
- Suhu dan waktu kontak
- Sifat fisiko kimia substrat

(Frazier dan Westhoff, 1988).

Senyawa antimikroba yang digunakan sebagai pengawet ada dua jenis, yaitu antimikroba sintetis dan antimikroba alami. Antimikroba sintetis dibuat dari senyawa organik dan anorganik secara kimiawi. Zat antimikroba sintetis memiliki efek samping yang dapat merugikan kesehatan manusia walaupun memiliki aktivitas antimikroba yang lebih kuat dibandingkan dengan antimikroba alami. Oleh karena itu antimikroba alami mulai menjadi perhatian untuk menggantikan peran dari zat antimikroba sintetis (Winarno, 1997).

2.2.5 Rempah-rempah sebagai Antimikroba Alami

Salah satu jenis bahan pangan yang dapat menjadi antimikroba alami adalah rempah-rempah. Rempah-rempah menurut Farrel (1985), didefinisikan sebagai bahan yang dikeringkan, memiliki aroma atau citarasa tertentu yang merupakan tanaman atau bagian dari tanaman, baik dalam bentuk utuh maupun potongan. Selama ini rempah-rempah lebih banyak digunakan sebagai bumbu masakan karena dapat meningkatkan citarasa makanan. Walaupun demikian secara alamiah rempah-rempah akan mengawetkan makanan (Andarwulan, 1995).

Aktivitas antimikroba rempah-rempah tergantung pada jenis rempah, konsentrasi dan jenis mikrobanya. Menurut Frazier dan Westhoff (1988), minyak

atsiri dari rempah-rempah lebih bersifat menghambat pertumbuhan mikroba dibandingkan rempah-rempahnya sendiri.

2.2.6 Uraian Tumbuhan Lada

2.2.6.1 Lada secara Umum

Genus *Piper* ditemukan oleh Linnaeus dan memiliki banyak spesies. Sekitar 600 - 2.000 spesies di antaranya tersebar di daerah tropis. Dari jumlah tersebut, terdapat beberapa spesies yang telah dibudidayakan (Rukmana (Murrniaty, 2010)).

2.2.6.2 Deskripsi Tumbuhan

Lada merupakan tanaman rempah yang sudah lama ditanam di Indonesia. Tanaman ini berasal dari Ghats-Malabar India dan di negara asalnya terdapat tidak kurang dari 600 jenis varietas, sementara itu di Indonesia terdapat tidak kurang dari 40 varietas. Adapun varietas lada yang banyak dikembangkan di Indonesia antara lain: Jambi, Lampung, Bulok Belantung, Muntok atau Bangka. Di alam sendiri mungkin sudah terjadi evaluasi perkayaan plasma nutfah lada sebagai akibat mutasi alami yang mungkin saja dapat timbul dalam upaya penyesuaian diri (aklimatisasi) dengan keadaan lingkungan daerah penanamannya. Secara umum syarat tanaman lada minimal mempunyai:

1. Elevasi (ketinggian) berkisar dari 10–500 m dpl,
2. Curah hujan di atas 2.000 mm per tahun,
3. Suhu berkisar antara 25° - 26,5° C
4. Ketinggian air tanah relatif dalam (air tanah 0,5 M di bawah tanah) sedangkan untuk tanah gambut tidak ditolerir oleh tanaman lada.

2.2.6.3 Biji Lada

Buah merupakan produksi pokok daripada hasil tanaman lada. Buah lada mempunyai ciri-ciri khas yaitu, Bentuk dan warna buah: buah lada berbentuk bulat, berbiji keras dan berkulit buah yang lunak. Kulit buah yang masih muda berwarna hijau, sedangkan yang tua berwarna kuning. Dan apabila buah sudah

masak berwarna merah, berlendir dengan rasa manis. Maka buah lada disukai burung-burung berkicau. Sesudah dikeringkan lada itu berwarna hitam. Kedudukan buah: buah lada merupakan buah duduk, yang melekat pada malai. Besar kulit dan bijinya 4-6 mm. Sedangkan besarnya biji 3-4 mm. Berat 100 biji kurang lebih 38 gr atau rata-rata 4,5 gr. Keadaan kulit buah: kulit buah atau pericarp terdiri dari 3 bagian, ialah:

- a. Epicarp = kulit luar
- b. Mesocarp = kulit tengah
- c. Endocarp = kulit dalam

Biji: di dalam kulit ini terdapat biji-biji yang merupakan produk dari lada, biji-biji ini juga mempunyai lapisan kulit yang keras (Sutarno dan Agus Andoko (Murniaty, 2010)).

2.2.6.4. Sistematika Tumbuhan

Sistematika tumbuhan lada adalah sebagai berikut

Divisi: Spermatophyta

Anak divisi: Angiospermae

Kelas: Dicotyledoneae

Bangsa: Piperales

Suku: Piperaceae

Marga: Piper

Spesies: *Piper nigrum* L.



Gambar 4. Lada

2.2.6.5 Kandungan Kimia

Kandungan kimia dari buah lada adalah minyak atsiri mengandung felandren, dipenten, kariopilen, enthoksilin, limonen, alkaloida piperina dan kavisina.

2.2.6.6 Lada putih (*Piper nigrum* Linn)

Lada, *Piper nigrum* Linn, merupakan tanaman dari famili Piperaceae dan biasa ditanam di halamamn dan kebun yang bertanak subur dan gembur. Di Indonesia, tanaman ini sering dijumpai di daerah Bangka, Lampung, Kalimantan, dan Aceh. Lada putih merupakan tanaman memanjat dengan panjang sekitar 10 m, daun berbentuk bulat telur, dan bunga berbulir-bulir saling berhadapan dengan daunnya. Bedanya dengan lada hitam adalah buahnya diambil pada saat sudah matang.



Gambar 5. Lada Putih (*Piper nigrum* Linn) bentuk pasar dan pabrik

Bagian tanaman yang dimanfaatkan adalah bagian buahnya. Komponen kimia yang terkandung di dalam lada putih adalah piperin, piperidin, lemak, asam piperat, chavisin, dan minyak terbang yang terdiri dari felanden, kariofilen, dan terpen-terpen (Achyad dan Rasyidah (Nely, 2007)). Minyak esensial pada lada putih hanya terdapat dalam jumlah yang sangat sedikit yaitu sekitar 1%. Ketajaman aroma lada putih lebih menyengat tetapi kurang memiliki aroma dibandingkan dengan lada hitam dan lada hijau (Nely, 2007).

Lada putih banyak digunakan sebagai bumbu masakan di dalam makanan yang tidak menginginkan kontaminan penampakan. Menurut Martinez *dkk* (Nely, 2007), lada hitam dan lada putih dapat menghambat diskolorisasi dengan sedikit modifikasi warna sosis, dan juga mencegah oksidasi lipid yang mengarah kepada penghambatan formasi off odor, terutama lada hitam. Selain itu, lada juga menghambat pertumbuhan mikroba saat ditambahkan dengan konsentrasi yang tinggi (1% *Piper* dan 2% *Capsicum*).

2.2.7 Minyak Atsiri

Minyak atsiri adalah zat berbau yang terkandung dalam tanaman. Minyak ini disebut juga minyak menguap (*volatile oil*), minyak eteris (*ethereal oil*), atau minyak esensial (*essential oil*). Dalam keadaan segar dan murni, minyak atsiri umumnya tidak berwarna, namun pada penyimpanan lama warnanya berubah menjadi lebih gelap karena oksidasi. Untuk mencegahnya, minyak atsiri harus terlindung dari pengaruh cahaya, diisi penuh, ditutup rapat serta disimpan di tempat yang kering dan gelap (Gunawan & Mulyani, 2004).

2.2.7.1. Keberadaan Minyak Atsiri pada Tumbuhan

Dalam tumbuhan, minyak atsiri terdapat dalam berbagai jaringan, seperti di dalam rambut kelenjar (pada suku Labiatae), di dalam sel-sel parenkim (pada suku Zingiberaceae dan Piperaceae), di dalam saluran minyak (pada suku Umbelliferae), di dalam rongga-rongga skizogen dan lisigen (pada suku Myrtaceae, Pinaceae dan Rutaceae), terkandung di dalam semua jaringan (pada suku Coniferae).

Pada tumbuhan, minyak atsiri berperan sebagai pengusir serangga pemakan daun. Sebaliknya minyak atsiri dapat berfungsi sebagai penarik serangga guna membantu proses penyerbukan dan sebagai cadangan makanan (Gunawan & Mulyani, 2004).

2.2.8 Penentuan Aktivitas Antibakteri

Penentuan kepekaan bakteri patogen terhadap antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yaitu dilusi atau difusi. Penting sekali menggunakan metode standar untuk mengendalikan semua faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba.

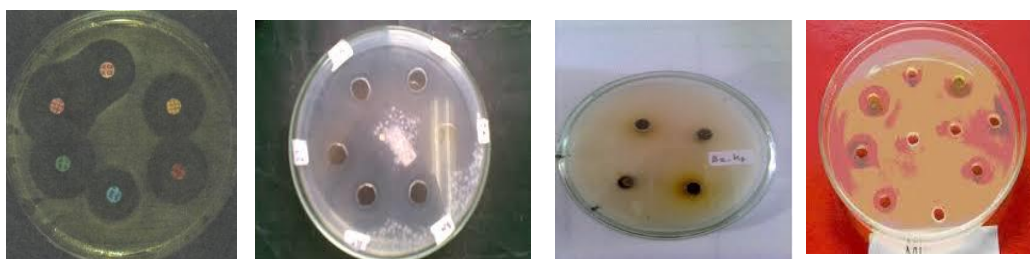
a. Metode Dilusi

Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan dieramkan. Tahap akhir dilarutkan antimikroba dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan cara dilusi agar memakan waktu dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja (Jawetz dkk (Dewi, 2010)).

b. Metode Difusi

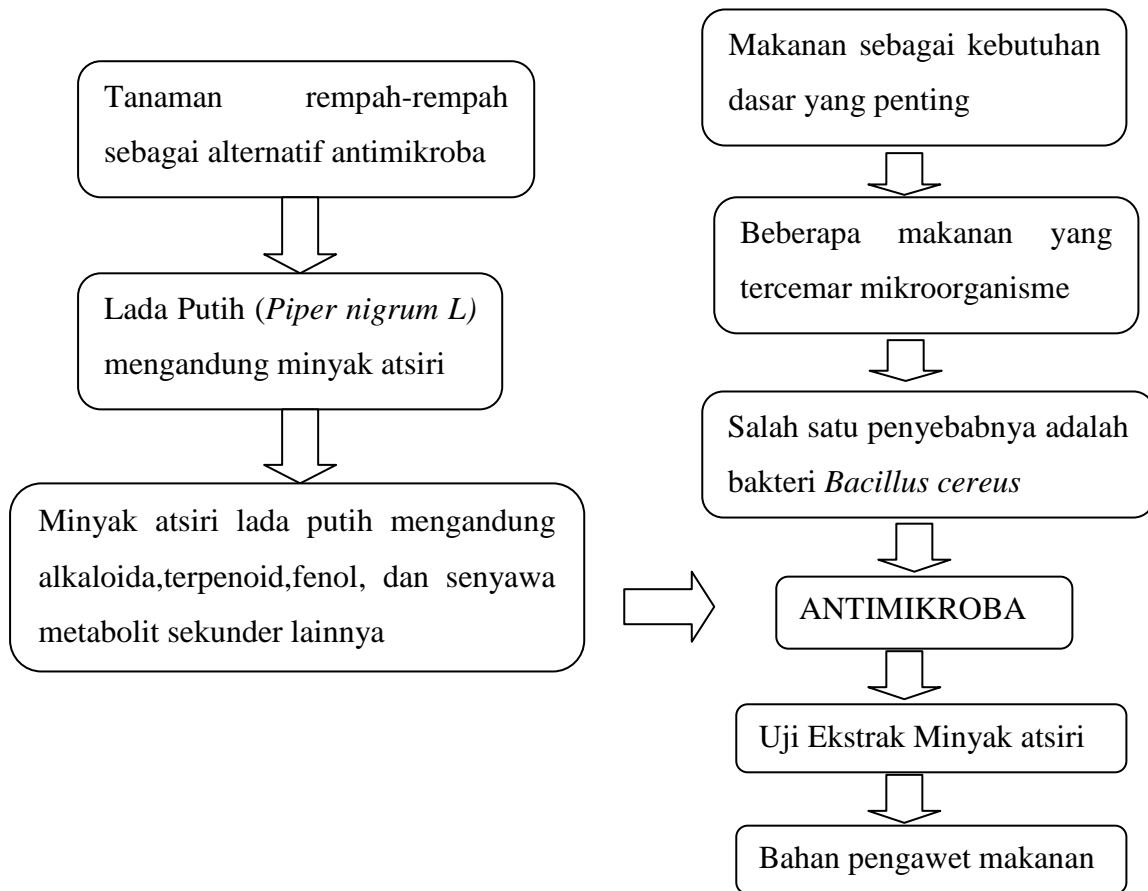
Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Metode difusi dapat dilakukan 3 cara yaitu metode silinder, lubang dan cakram kertas. Metode silinder yaitu meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat di atas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri di atas media agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling silinder.

Metode lubang yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang. Metode cakram kertas yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling cakram (Kusmiyati, 2007).



Gambar 6. Hasil uji Aktivitas bakteri (dari kiri ke kanan: dilusi, silinder, cakram, dan lubang)

2.3 Kerangka Berpikir



2.4 Hipotesis

Berdasarkan latar belakang dan tinjauan pustaka yang ada, maka hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

H_0 : terdapat pengaruh ekstrak minyak atsiri lada putih terhadap tingkat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*

H_a : tidak terdapat pengaruh ekstrak minyak atsiri lada putih terhadap tingkat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pendidikan Kimia Lab 7 dan Laboratorium Ilmu Hama dan Penyakit Tanaman pada bulan Januari – Februari 2014.

3.2 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Alat-Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: gelas kimia, gunting, sarung tangan, gelas ukur, kertas saring, *hotplate*, corong, rotary evaporator, labu erlenmeyer, pipet tetes, pipet mikro, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri 9 cm, kawat ose, batang pengaduk, destilasi, dan pompa aquarium kecil.

3.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: Lada putih (*Piper nigrum Linn*). Bakteri *Bacillus cereus* yang digunakan adalah isolate murni *B.cereus* yang diperoleh dari laboratorium IHPT Universitas Bengkulu, pelarut metanol, aquades, es, nutrient agar (NA) untuk media padat, nutrient broth (NB) untuk media cair, pereaksi Liberman-Burchad, peraksi Salkowsky, asam sulfat pekat, alkohol 96 %

3.3 Prosedur penelitian

3.3.1 Ekstraksi Minyak Atsiri Lada Putih (*Piper nigrum Linn*)

Pada metode ini, bahan tumbuhan direbus dalam air mendidih dalam satu wadah. Minyak atsiri akan dibawa oleh uap air yang kemudian didinginkan dengan mengalirkannya melalui pendingin. Hasil destilasi adalah minyak atsiri yang belum murni. Perlakuan ini sesuai untuk minyak atsiri yang tidak rusak oleh pemanasan (Guenther, 1987).

Sampel Lada putih (*Piper nigrum Linn*) yang digunakan adalah yang telah mencapai usai panen. Lada putih di jemur dan dikeringkan. Kemudian diblender dan di dapatkan serbuk simplisia. Timbang dengan teliti 40 gram serbuk lada putih dan pindahkan ke dalam labu destilasi. Tambahkan aquades sampai sampel terendam seluruhnya dan aduk dengan sempurna. Sebelumnya tambahkan beberapa butir batu didih ke dalam labu destilasi. Pasang alat destilasi sedemikian rupa dan panaskan labu tersebut sampai mendidih selama lebih kurang 6 jam. Destilasi dihentikan bila tidak ada lagi butir-butir minyak yang menetes bersama air atau volume minyak tidak bertambah. Dinginkan penampung beserta isinya sampai suhu kamar atau bisa juga merendam dalam air kemudian baca volume minyak dalam penampung (SNI Lada Putih, 1995).

3.3.2 Pembuatan larutan sampel minyak atsiri Lada Putih (*Piper nigrum Linn*)

Ekstrak Minyak Atsiri Lada Putih (*Piper nigrum Linn*) dibuat dengan vairasi konsentrasi sebagai berikut : 15%v/v, 20%v/v, 25%v/v, 30%v/v, dan 35%v/v

1. Larutan A dengan konsentrasi 15% yang terdiri dari 0,3 gram ekstrak sampel dalam 2 ml larutan.
2. Larutan B dengan konsentrasi 20% yang terdiri dari 0,4 gram ekstrak sampel dalam 2 ml larutan.
3. Larutan C dengan konsentrasi 25% yang terdiri dari 0,5 gram ekstrak sampel dalam 2 ml larutan.
4. Larutan D dengan konsentrasi 30% yang terdiri dari 0,6 gram ekstrak sampel dalam 2 ml larutan.
5. Larutan E dengan konsentrasi 35% yang terdiri dari 0,7 gram ekstrak sampel dalam 2 ml larutan.

3.3.3 Uji Kandungan senyawa Organik

- **Uji Terpenoid/Steroid**

Sebanyak 20 mg ekstrak kasar etanol dari masing-masing metode ditambahkan kloroform dan reagen Liebermen Buchard. Kemudian larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Steroid memberikan warna biru atau hijau. Triterpenoid akan memberikan warna merah atau ungu (Marliana, 2011).

- **Uji Saponin**

Sebanyak 30 mg ekstrak kasar etanol dari masing-masing metode ditambahkan 10 ml air panas dengan suhu 70°C. Kemudian tabung dikocok kuat-kuat. Ekstrak positif mengandung saponin jika timbul busa dengan ketinggian 1-10 cm yang bertahan selama 10 menit (Marliana 2011).

- **Uji Fenolik**

Sebanyak 30 mg ekstrak kasar etanol dari masing-masing metode ditambahkan 10 mL air panas dengan suhu 70°C. Kemudian ditambahkan beberapa tetes FeCl₃ 1%. Uji positif ditunjukkan oleh terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat (Marliana, 2011).

- **Uji Alkaloid**

Sebelum dilakukan uji alkaloid, terlebih dahulu dibuat reagen Wagner dengan cara: sebanyak 1,27 g I₂ dan 2 g KI dilarutkan dalam 5 mL air suling. Kemudian larutan ini diencerkan menjadi 100 mL dengan air suling. Endapan yang terbentuk disaring dan larutan disimpan dalam botol berwarna coklat.

Sebanyak 4 g ekstrak etanol dari masing-masing metode ekstraksi ditambahkan asam sulfat pekat sebanyak 10 tetes. Kemudian di tambahkan pereaksi Wagner. terbentuknya endapan berwarna coklat menunjukkan sampel positif mengandung alkaloid (Sangi, 2008).

- **Uji Flavonoid**

Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 0,5 gram lalu ditambahkan 10 ml metanol, direfluks selama 10 menit, disaring panas-panas melalui kertas saring. Filtrat diencerkan dengan 10 ml air suling, setelah dingin ditambahkan 5 ml eter, dikocok hati hati, lalu didiamkan sebentar. Lapisan metanolnya diambil, diuapkan

pada temperatur 40⁰C, sisanya dilarutkan dalam 5 ml etil asetat, disaring. Filtratnya digunakan untuk uji flavonoida dengan cara Sebanyak 1 ml larutan percobaan diuapkan sampai kering, sisanya dilarutkan dengan 2 ml etanol 95% lalu ditambahkan pereaksi asam sulfat pekat. Jika terjadi warna hijau kekuning-kuningan menunjukkan adanya flavonoida (Tarigan, dkk.2008).

3.3.4 Pembuatan dan Penempatan Media

3.3.4.1 Pembuatan Media

Langkah pertama dalam persiapan media ini adalah pembuatan media. Adapun media yang digunakan adalah media padat atau sering disebut media agar (Nutrient Agar) dan media cair (Nutrient Broth). Untuk membuat media padat, ditimbang sebanyak 6 gram serbuk NA dan dimasukkan dalam gelas piala 500 ml. Kemudian ditambahkan aquades sebanyak 250 ml. Lalu dipanaskan di atas *hot plate* hingga semua bahan larut dan homogen. Setelah itu dimasukkan dalam labu Erlenmeyer dan siap di autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit.

Untuk membuat media cair (NB), ditimbang sebanyak 2 gram serbuk NB dan dimasukkan ke dalam gelas piala 500 ml, kemudian ditambah aquades sebanyak 250 ml. kemudian dipanaskan diatas *hot plate* sampai semua bahan larut dan homogen. Setelah itu, larutan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer dan selanjutnya siap untuk di autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit (Meilisa, 2009).

3.3.4.2 Sterilisasi Alat

Langkah kedua dalam persiapan dan penempatan media adalah sterilisasi alat. Alat-alat yang terbuat dari kaca seperti cawan petri, tabung reaksi, Erlenmeyer, gelas ukur, spreader di sterilisasi dalam oven pada suhu 160⁰C selama 2 jam.

Alat seperti kawat ose disterilkan dengan pembakaran langsung di atas lampu spiritus. Gelas penutup dan gelas kimia disterilkan secara kimia dengan menggunakan alcohol 96% dan di panaskan di atas lampu spiritus.

Untuk proses sterilisasi media yang telah dibuat, cawan petri sebagai tempat media padat dan tabung reaksi yang akan digunakan untuk tempat media cair harus dibungkus kertas terlebih dahulu sebelum dimasukkan ke dalam autoklaf (Sumarni, 2005).

3.3.4.3 Penempatan Media

Setelah media padat di autoklaf, media tersebut dipindahkan ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak 15 ml hingga rata. Sedangkan media cair dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian media yang telah disterilkan tersebut disimpan dalam kulkas dan siap untuk digunakan (Sari, 2010).

3.4 Pengenceran Isolat Bakteri

Sebelum digunakan dalam uji efektivitas, isolat bakteri harus diencerkan dengan berbagai pengenceran untuk mengetahui jumlah koloni yang masih bisa dihitung. Pengenceran bakteri tersebut dilakukan dengan langkah berikut:

1. Disiapkan 5 ml media cair dalam tabung reaksi. Digesek permukaan media biakan isolat bakteri dengan kawat ose untuk mengambil bakterinya. Kemudian dicelupkan ke dalam 5 ml media cair yang telah disiapkan. Selama 24 jam tabung tersebut harus selalu dikocok (minimal 2 jam sekali) dengan shaker agar bakteri dapat tumbuh dan berkembang dengan baik.
2. Dipipet 0,1 ml suspensi bakteri dalam media cair bagian atas, dimasukkan dalam tabung reaksi 2. Kemudian ditambahkan 0,9 ml media cair dikocok dengan menggerak tabung reaksi ke atas dan ke bawah. Dalam hal ini bakteri di encerkan 100 kali atau 1×10^2 .
3. Lakukan kembali langkah dua (2) hingga jumlah pengenceran sesuai dengan yang telah diperhitungkan atau sampai 5 kali pengenceran.

Setelah pengenceran selesai, masing-masing media dalam tabung reaksi diinokulasikan ke dalam media padat cawan petri sebanyak 5 μ l. Kemudian dibiarkan selama 24 jam pada suhu kamar untuk mengetahui jumlah koloni

bakteri yang tumbuh. Jumlah koloni bakteri yang masih bisa dihitung antara 30-300 koloni yang akan digunakan dalam uji efektifitas.

3.5 Pemindahan Bakteri dan Uji aktivitas antibakterinya

Langkah pertama adalah pembuatan standar atau kontrol. Diambil 2 media padat yang telah membeku, kemudian masing-masing ditetesi dengan suspensi bakteri dari tabung reaksi yang mempunyai pertumbuhan koloni bakteri antara 30-300 koloni berdasarkan pengenceran diatas sebanyak 5 µl. Kemudian diratakan pipa kapiler yang telah dibentuk sedemikian rupa agar pertumbuhan bakterinya merata dalam cawan petri.

Langkah kedua adalah uji efektifitas. Diambil 5 media padat yang telah disiapkan kemudian diinokulasikan bakteri dari dalam media cair masing masing sebanyak 5 µl tepat dibagian tengahnya. Setelah itu, kertas cakram yang telah steril di letakkan pada media padat dengan posisi sedemikian hingga agar difusinya merata. Kemudian cakram tersebut ditetesi larutan minyak atsiri Lada Putih (*Piper nigrum Linn*) dengan jumlah tetesan yang sama. Setiap cawan petri di tetesi konsentrasi yang berbeda, dengan satu cawan petri yang tidak diberi perlakuan sebagai control. Lalu dibiarkan selama 15 menit agar larutan ekstrak minyak atsiri lada putih tersebut meresap ke dalam media. Setelah itu diinkubasi selama 1 x 24 jam dengan posisi cawan petri terbalik. Pertumbuhan populasi bakteri diamati dan dibandingkan dengan control. Kemudian dihitung dengan populasi koloni bakteri untuk mengetahui zona hambatan bakteri. Media pertama ditetesi dengan larutan A, media kedua ditetesi dengan larutan B dan selanjutnya hingga media kelima ditetesi larutan E. Pertumbuhan populasi bakteri diamati dan dibandingkan dengan kontrol. Uji efektifitas ini diulangi hingga tiga kali untuk diambil rata-rata nya.

3.6 Analisa Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini adalah banyaknya populasi koloni bakteri yang tumbuh pada media yang telah diberi perlakuan dengan variasi ekstrak minyak atsiri Lada Putih (*Piper nigrum Linn*) dibandingkan

dengan kontrol. Data diolah dengan menggunakan melihat hasil pertumbuhan dan dimasukkan tabel kemudian dibuat grafiknya.

Selain itu juga akan dianalisa menggunakan statistic parametric yaitu One Way ANOVA (Anova satu jalur). Anova merupakan bagian dari metode analisis statistika yang tergolong uji komparatif (perbandingan) lebih dari dua rata-rata. Gunanya adalah untuk menguji kemampuan generalisasi, maksudnya dari signifikansi hasil penelitian dapat dilihat data sampel dapat dianggap mewakili populasi atau tidak. Rumus ANOVA atau uji F adalah sebagai berikut:

$$F \text{ hitung} = \frac{JKR_A}{JKR_D}$$

Keterangan:

JKR_A = Jumlah Kuadrat Rerata Antar Group

JKR_D = Jumlah Kuadrat Rerata Dalam group

Untuk menghitung jumlah kuadrat rerata antar group (JKR_A) dengan rumus:

$$JK_A = \sum \frac{(\sum X_{Ai})^2}{n_{Ai}} - \frac{(\sum X_T)^2}{N}$$

untuk $db_A = A - 1$

$$JKR_A = \frac{JK_A}{db_A}$$

Untuk menghitung jumlah kuadrat rerata dalam group (JKR_D) dengan rumus:

$$JK_D = \sum X_T^2 - \sum \frac{(\sum X_{Ai})^2}{n_{Ai}}$$

untuk $db_D = N - A$

$$JKR_D = \frac{JK_D}{db_D}$$

Dimana:

$\frac{(\sum X_T)^2}{N}$ = sebagai factor koreksi

N = jumlah keseluruhan sampel

A = Jumlah keseluruhan group sampel

Jika $F \text{ hitung} \geq F \text{ table}$, maka H_0 ditolak berarti data signifikan dan dapat mewakili populasinya (Riduwan, 2013).