

Maret 2009

JURNAL TEKNOLOGI PERTANIAN

UNIVERSITAS MULAWARMAN

Penelitian

Sifat Fisiko Kimia pada Pengemasan dan Penyimpanan Cassava flakes Fortifikasi (*Physical and Chemical Properties of Fortificated Cassava Flakes Package and Preservation*) **Farid Rakhmat A, Hadi Suprpto, Eka Khaeruni Asih**

Daya Hambat Asap Cair Tempurung Kelapa Terhadap Bakteri Patogen (*Inhibition of Coconut Shell Liquid Smoke to Pathogens Bacteria*) **Ita Zuraida**

Analisa Faktor Daya Kembang dan Daya Serap Kerupuk Rumput Laut pada Variasi Proporsi Rumput Laut (*Eucheuma cottonii*) (*Analysis of Unfolding Factors and Adsorption of Seaweed Chips on Various Proportion of Seaweed (Eucheuma cottonii)*) **Indrati Kusumaningrum**

Studi Waktu Dan Metode Blanching Terhadap Sifat Fisiko-Kimia Tepung Talas Belitung (*Xanthosoma Sagittifolium*) (*Study of Time and Blanching Method on Physical and Chemical Characteristics of Belitung Taro (Xanthosoma sagittifolium) Flour*) **Netty Maria Naibaho, Hudaida Syahrumsyah, Hadi Suprpto**

Kajian Sifat Kimia, Fisik, Dan Organoleptik Pada Kopi Robusta (*Coffea Canephora*), Kayu Manis (*Cinnamomun Burmanii*) Dan Campurannya *Study of Physical Chemistry and Sensory Properties of Coffee Robusta (Coffea canephora), Cinnamon (Cinnamomun burmanii) and Its Mixture.* **Miftakhur Rohmah**

Isolasi Dan Karakterisasi Ekstrak Kasar Daun Pakem (*Pangium edule Reinw.*) Sebagai Penghambat Bakteri Patogen Dan Pembusuk Daging. *Isolation and Characterization of Pakem Leaf Crude Extract (Pangium edule Reinw.) as Inhibitor against Pathogenic and Spoilage Meat Bacteria* **Suhardi**

JTP

JURNAL TEKNOLOGI PERTANIAN

PENERBIT

Program Studi Teknologi Hasil Pertanian
Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian
Universitas Mulawarman
Jl.Tanah Grogot Kampus Gunung Kelua
Samarinda

PELINDUNG

Juremi Gani

PENANGGUNG JAWAB

Alexander Mirza

KETUA EDITOR

Krishna Purnawan Candra (THP-UNMUL Samarinda)

EDITOR

Dahrulsyah (TPG-IPB Bogor)
Meika Syahbana Roesli (TIN-IPB Bogor)
Muhammad Nurroufiq (BPTP-Samarinda)
Neni Suswatini (THP-UNMUL Samarinda)
Sulistyo Prabowo (THP-UNMUL Samarinda)
Hudaida Syahrumsyah (THP-UNMUL Samarinda)

EDITOR PELAKSANA

Hadi Suprpto
Sukmiyati Agustin, Anton Rahmadi

ALAMAT REDAKSI

Program Studi Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Pertanian
Universitas Mulawarman
Jalan Tanah Grogot Kampus Gunung Kelua
Samarinda 75123
Telp 0541-749159
e-mail: JTP_unmul@yahoo.com

JURNAL TEKNOLOGI PERTANIAN

UNIVERSITAS MULAWARMAN

Volume 4 Nomor 2

Penelitian

Halaman

Sifat Fisiko Kimia Pada Pengemasan dan Penyimpanan Cassava flakes Fortifikasi (*Physical and Chemical Properties of Fortificated Cassava Flakes Package and Preservation*) **Farid Rakhmat A, Hadi Suprpto, Eka Khaeruni Asih**.....

Daya Hambat Asap Cair Tempurung Kelapa Terhadap Bakteri Patogen (*Inhibition of Coconut Shell Liquid Smoke to Pathogens Bacteria*) **Ita Zuraida**.....

Analisa Faktor Daya Kembang Dan Daya Serap Kerupuk Rumput Laut Pada Variasi Proporsi Rumput Laut (*Eucheuma cottonii*) (*Analysis of Unfolding Factors and Adsorption of Seaweed Chips on Various Proportion of Seaweed (Eucheuma cottonii)*) **Indrati Kusumaningrum**.....

Studi Waktu Dan Metode Blanching Terhadap Sifat Fisiko-Kimia Tepung Talas Belitung (*Xanthosoma Sagittifolium*) (*Study of Time and Blanching Method on Physical and Chemical Characteristics of Belitung Taro (Xanthosoma sagittifolium) Flour*) **Netty Maria Naibaho, Hudaida Syahrumsyah, Hadi Suprpto**.....

Kajian Sifat Kimia, Fisik, Dan Organoleptik Pada Kopi Robusta (*Coffea Cannephora*), Kayu Manis (*Cinnamomun Burmanii*) Dan Campurannya (*Study of Physical Chemistry and Sensory Properties of Coffee Robusta (Coffea cannephora), Cinnamon (Cinnamomun burmanii) and Its Mixture.*) **Miftakhur Rohmah**

Isolasi Dan Karakterisasi Ekstrak Kasar Daun Pakem (*Pangium edule Reinw.*) Sebagai Penghambat Bakteri Patogen Dan Pembusuk Daging. (*Isolation and Characterization of Pakem Leaf Crude Extract (Pangium edule Reinw.) as Inhibitor against Pathogenic and Spoilage Meat Bacteria*) **Suhardi**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI EKSTRAK KASAR DAUN PAKEM
(*Pangium edule* Reinw.) SEBAGAI PENGHAMBAT BAKTERI PATOGEN DAN
PEMBUSUK DAGING**

*Isolation and Characterization of Pakem Leaf Crude Extract (*Pangium edule* Reinw.)
as Inhibitor against Pathogenic and Spoilage Meat Bacteria*

Suhardi

*Animal Nutrition Laboratory of Animal Husbandry Department, Agricultural Faculty of Mulawaman
University, Jalan Tanah Grogot, Kampus UNMUL Gunung Kelua, Samarinda 75119*

Received 1 February 2009 Accepted 20 February 2009

ABSTRACT

Indonesia is rich in specific flora, which are useful as drug plants. One of those is *Pangium edule* Reinw. or known as pakem. Pakem are wide spread in Indonesia and grows well in Java. Pakem is suspected as antimicrobial agent as the presence of hydrogen cyanide (HCN) and tannin. In the other hand, meat is not only has a high nutrition value, but also perishable. Besides, meat is easily contaminated by pathogenic bacteria, such as *Salmonella*, or even spoilage bacteria like *Pseudomonas*. The objectives of this research was to isolate the crude extract of pakem leaf and to study its antibacterial agent characteristics, e.g. its potency in inhibiting pathogenic and meat spoilage bacteria. This research showed that methanol could extract the crude antibiotic agent from pakem leaf better than hexane. Characteristics of methanol crude extract of pakem leaf were follows: 1) the widest inhibition diameter against meat contaminant bacteria, 2) MIC value was 6.25 % (w/v), 3) broad inhibition spectrum against bacteria, 3) un toxic and better stability on refrigerate temperature (4-7 °C).

Key words: Bacteria inhibition, meat, pakem

PENDAHULUAN

Flora Indonesia beragam jumlahnya dan mempunyai potensi yang cukup besar sebagai penghasil bahan nabati dan obat-obatan. Masyarakat Indonesia sudah menggunakan tanaman obat dalam usaha preventif dan kuratif. Kebiasaan itu terus berlangsung hingga sekarang, terutama di daerah-daerah terpencil. Tanaman obat juga dapat dimanfaatkan untuk pengawetan bahan pangan.

Daging merupakan salah satu bahan pangan asal hewan yang bernilai gizi tinggi, sekaligus media yang baik bagi pertumbuhan mikroorganisme. Keterse-diaan nutrisi dalam daging memungkinkan perkembangan mikroorganisme yang bersifat perusak (*spoilage*) juga patogen khususnya *Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*. Keberadaan mikroorganisme dalam daging dapat menyebabkan intoksikasi dan

infeksi yang erat kaitannya dengan keamanan pangan.

Salah satu jenis tanaman obat yang terdapat di Indonesia adalah *Pangium edule* Reinw. atau yang lebih dikenal dengan pakem di daerah Jawa Tengah. Pakem selama ini lebih banyak digunakan sebagai obat-obatan tradisional sebagai obat reumatik dan desinfektan. Pakem juga dapat berfungsi sebagai zat antimikroba, antioksidan, insektisida maupun fungisida.

Seluruh bagian tanaman pakem (termasuk daun) mengandung asam sianida yang sangat beracun dengan kadar yang tinggi yaitu 350 gram per pohonnya (Heyne, 1987). Asam sianida diduga mengandung senyawa antimikroba yang berguna untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

Banyak penelitian mengenai tanaman pakem lebih diutamakan pada bagian

bijinya. Kristikasari (2002), menggunakan biji pakem segar dan terfermentasi untuk mengetahui sifat antimikroba terhadap bakteri patogen dan pembusuk makanan. Penelitian terbaru mengenai daun pakem dilakukan oleh Rusman (2002) sebagai zat insektisida.

Berdasarkan berbagai informasi penting tersebut, maka dilakukan penelitian keberadaan zat antibakteri dari daun pakem yang akan diujikan terhadap beberapa jenis bakteri patogen dan pembusuk yang sering ditemukan dalam daging seperti *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi ekstrak kasar daun pakem (*Pangium edule* Reinw.) serta mempelajari karakternya sebagai antibakteri terutama kemampuannya dalam menghambat bakteri patogen dan bakteri pembusuk daging. Karakterisasi akan meliputi uji aktivitas ekstrak kasar pada penghambatan bakteri kontaminan daging, penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM), uji spektrum penghambatan terhadap bakteri uji, uji toksisitas secara *in vivo* ke mencit serta uji pengaruh suhu dan lama penyimpanan yang berbeda terhadap ekstrak kasar yang dihasilkan.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi mengenai cara isolasi dan karakterisasi ekstrak kasar daun pakem (*Pangium edule* Reinw.), khususnya sebagai penghambat bakteri patogen dan pembusuk daging.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Daun pakem muda diperoleh dari daerah Cimahpar dan Dermaga, reagen kimia teknis yang digunakan adalah metanol (polar), dietil eter (semi polar), dan heksana (non polar), serta kertas saring. Daging sapi segar (sirloin) digunakan sebagai sumber kontaminan, dan *brain heart infusion* (BHI) digunakan untuk pengayaan bakteri, sedangkan untuk media uji aktivitas penghambatannya pada *mueller hinton agar* (MHA) menggunakan kertas cakram 6 mm, ketiganya dari oxoid. Media

mikrobiologis lain yang digunakan adalah *buffer pepton water* (BPW) dan *nutrient agar* (NA), keduanya dari merek Oxoid. Bakteri uji yang digunakan adalah *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Kontrol positif dalam uji aktivitas penghambatan ini menggunakan kloramfenikol 30 µg dan penisilin G 10 units dari merek Oxoid, sedangkan untuk uji toksisitas dipakai mencit betina lepas saphih dengan bobot badan antara 16-21 gram.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini berupa alat untuk uji kimia dan mikrobiologi. *Vacuum evaporator* (Heidolph VV 2000), neraca analitik (*Sartorius* dan *Berkel*), autoklaf, inkubator, inkubator goyang, sentrifus (Sorvall RC-5B), cawan petri, pipet, mikro pipet, jangka sorong skala 150 mm, *vortex mixer*, pinset, jarum suntik (*syringe*) ukuran 2,5 mL, penangas air, *refrigerator*, termometer, pemanas Bunsen.

Metode

Penelitian ini dilakukan dengan dua tahap. Tahap pertama merupakan penentuan kadar air, ekstraksi daun pakem muda, dan penghitungan rendemen ekstrak kasar, lalu dilanjutkan pada tahap kedua berupa pengujian terhadap karakter ekstrak kasar daun pakem.

Penentuan Kadar Air (AOAC, 1984)

Cawan yang akan digunakan dipanaskan terlebih dahulu pada suhu 105 °C selama satu jam, kemudian didinginkan dalam eksikator dan ditimbang sebagai bobot kosong cawan. Sampel daun yang telah dihaluskan diambil sebanyak 3 gram (A) dan dimasukkan ke dalam cawan, lalu ditimbang (B). Cawan berisi sampel selanjutnya dikeringkan menggunakan oven bersuhu 105 °C selama satu malam sampai beratnya konstan (C). Kadar air dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Sampel sebelum dikeringkan (gram)} - \text{Sampel setelah dikeringkan}}{\text{Berat sampel sebelum dikeringkan}} \times 100$$

Ekstraksi Daun Pakem (Harborne, 1996)

Daun pakem muda yang digunakan

pada tahapan ekstraksi dirajang halus menggunakan pisau dengan ukuran 1×0,5 cm menggunakan pisau. Rajangan daun sebanyak 100 gram direndam selama 24 jam dalam pelarut teknis yang diteliti (metanol, dietil eter, heksana), lalu dilakukan penyaringan dengan kertas saring hingga diperoleh filtrat. Residu direndam kembali dalam pelarut, dan diulang beberapa kali sampai filtratnya tidak berwarna. Keseluruhan filtrat dicampur, selanjutnya dipekatkan dengan rotavapor pada suhu 25-30 °C sehingga diperoleh ekstrak kasar yang bebas pelarut.

Perhitungan Rendemen

Perhitungan rendemen ekstrak kasar penting dilakukan untuk mengetahui serta membandingkan jumlah senyawa yang dapat terambil oleh pelarut yang berbeda kepolarannya. Rendemen dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat daun}} \times 100$$

Isolasi Kultur Bakteri Kontaminan Daging

Bakteri kontaminan daging diperoleh dengan cara melakukan pengulasan (*swab*) permukaan daging sapi segar bagian sirloin dengan menggunakan *cotton swab* steril. *Cotton swab* dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi BHI steril untuk menumbuhkan bakteri. Sampel diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam, dan digunakan sebagai stok yang selalu disimpan pada suhu rendah. Kultur bakteri kontaminan daging yang diuji berumur 24 jam, yang diperoleh dengan cara menumbuhkannya kembali pada media BHI setiap akan dilakukan uji konfrontasi.

Uji Aktivitas Ekstrak Kasar dengan Metode Cakram (Pelczar et al., 1986)

Sebanyak 1 ml kultur bakteri uji dengan jumlah koloni 10^6 cfu/mL dipipet dalam cawan petri, kemudian ditambahkan *mueller hinton agar* sebanyak 15-20 mL (metode cawan tuang atau *pour plate*). Keseluruhannya dihomogenkan dan dibiarkan hingga agar memadat. Masing-masing ekstrak kasar terlebih dahulu dilarutkan dengan masing-masing pelarutnya (pelarut absolut) hingga

diperoleh konsentrasi 25 % (b/v). Masing-masing ekstrak kasar sebanyak 15 µL diteteskan ke atas kertas cakram steril menggunakan mikro pipet. Pelarut absolut dari masing-masing ekstrak kasar juga diteteskan ke atas kertas cakram steril sebanyak 15 µL sebagai kontrol negatif.

Sebagai kontrol positif ditambahkan sendawa dengan konsentrasi 2 % (b/v) yang telah dilarutkan terlebih dahulu dengan akuades steril dan diteteskan ke atas kertas cakram steril sebanyak 15 µL. Kertas cakram yang telah berisi masing-masing ekstrak kasar dan kontrol (+/-) diletakkan ke atas agar yang telah berisi kultur. Cawan beserta isinya disimpan dalam refrigerator selama dua jam untuk memberikan kesempatan ekstrak dapat meresap ke dalam agar dengan baik. Setelah itu, cawan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam dan diameter zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong. Zona hambat ekstrak terhadap bakteri uji ditunjukkan oleh adanya area bening di sekitar kertas cakram. Setiap perlakuan dibuat duplo. Penentuan ekstrak terpilih berdasarkan pada diameter zona hambat terbesar yang dihasilkan terhadap bakteri uji. Ekstrak terpilih selanjutnya akan digunakan pada berbagai pengujian.

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) (Pelczar et al., 1986)

Penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) hanya dilakukan untuk ekstrak kasar metanol dengan kontrol negatif pelarut metanol absolut. Metode yang digunakan adalah metode pengenceran (Pelczar et al., 1986). Ekstrak kasar metanol daun pakem yang diperoleh diencerkan menggunakan akuades steril dengan pengenceran tertingi sampai terendah hingga diperoleh konsentrai yaitu 3,125; 6,25; 12,5; 25; dan 50 % (b/v). Masing-masing dipipet ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan kultur bakteri kontaminan daging yang ditumbuhkan dalam media BHI sehingga didapatkan populasi akhir bakteri masing-masing $\frac{1}{2} \times 10^6$, $\frac{1}{4} \times 10^6$, $\frac{1}{8} \times 10^6$, $\frac{1}{16} \times 10^6$, dan $\frac{1}{32} \times 10^6$ cfu/mL. Campuran diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam dan diamati pertumbuhan bakterinya berdasarkan pada tingkat

kekeruhan. Bila terjadi pertumbuhan bakteri, maka campuran akan memperlihatkan tingkat kekeruhan yang berbeda dibandingkan dengan kontrolnya. Kontrol positif adalah tabung reaksi yang hanya berisi kultur bakteri dan BHI tanpa penambahan ekstrak kasar, sedangkan kontrol negatif adalah tabung reaksi yang hanya berisi BHI tanpa bakteri ataupun ekstrak kasar.

Penentuan Spektrum Penghambatan terhadap Bakteri Uji (Pelczar et al., 1986)

Penentuan spektrum ekstrak kasar dilakukan hanya untuk ekstrak kasar metanol dengan kontrol negatif pelarut metanol absolut, dan kontrol positif antibiotik (kloramfenikol 30 µg dan penisilin G 10 units). Konfrontasi antara ekstrak kasar metanol daun pakem dalam pelarut terpilih (metanol) dengan sejumlah bakteri uji dilakukan dengan metode cakram. Bakteri uji yang digunakan meliputi bakteri Gram positif berbentuk kokus (*S. aureus*), Gram positif berbentuk batang dan berspora (*B. cereus*) serta bakteri Gram negatif berbentuk batang (*E. coli*, *S. typhimurium*, dan *P. Aeruginosa*). Metode yang digunakan mengikuti metode cakram menurut Pelczar et al. (1986). Setiap perlakuan dibuat duplo dan dibandingkan dengan kontrol positif antibiotik (kloramfenikol dan penisilin G) untuk mengelompokkan ekstrak kasar dalam kelompok spektrum luas atau sempit. Jumlah koloni bakteri yang digunakan yaitu 10^8 cfu/ml dan konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 6,25; 12,5; 25; dan 50 % (b/v).

Uji Toksisitas

Mencit betina lepas saph (21 hari) sebanyak 20 ekor (bobot badan antara 16-21 gram) digunakan pada uji toksisitas ini menggunakan ekstrak kasar metanol dengan kontrol negatif pelarut metanol absolut. Uji toksisitas bertujuan untuk mengetahui tingkat bahaya atau kemampuan ekstrak meracuni induk semangnya bila mengkonsumsi produk yang mengandung ekstrak tersebut. Ekstrak kasar metanol diberikan pada mencit secara oral menggunakan alat bantu *syringe* dengan dosis tunggal sebanyak 2% dari bobot badan mencit dan

diamati selama 10 hari. Respon biologis mencit selama 24 jam pertama terus dipantau selama 1 jam, sedangkan setelah itu pengamatan dilakukan setiap 24 jam dan dilakukan juga penimbangan bobot badan mencit.

Sebanyak 10 ekor mencit mendapat perlakuan (pemberian ekstrak kasar daun pakem) dan 10 ekor lainnya sebagai kontrol (hanya diberi akuades) dalam jumlah yang sama. Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam uji ini adalah yaitu 6,25 % (konsentrasi terpilih pada penentuan KHM). Mencit yang dipelihara dalam kandang, selain mendapat ekstrak kasar tetap diberi pakan setiap hari dan air minum secara *ad libitum*.

Uji Stabilitas Ekstrak Daun Pakem terhadap Suhu dan Lama Penyimpanan

Ekstrak kasar terpilih dengan konsentrasi 6,25% dikondisikan pada berbagai pada berbagai suhu, yaitu refrigerator (4-7 °C), freezer (-20 °C), ruang (27 °C), pemanasan Low Holding (60 °C selama 30 menit), pasteurisasi (65 °C selama 30 menit), dan pada air mendidih (100 °C). Masing-masing perlakuan dibuat duplo.

Pengujian aktivitas ekstrak dilakukan 2 kali sehari selama 8 hari, yaitu hari ke-0, hari ke-2, hari ke-4, hari ke-6, dan hari ke-8 untuk penyimpanan pada suhu ruang. Pada suhu refrigerator, pengujian aktivitas ekstrak dilakukan setiap 6 hari sekali, yaitu pada hari ke-0, hari ke-6, hari ke-12, dan hari ke-18, sedangkan ekstrak yang disimpan pada suhu beku diuji aktivitasnya 2 minggu sekali selama 4 minggu, yaitu pada hari ke-0, hari ke-12, dan hari ke-24. Ekstrak kasar yang mendapat perlakuan pemanasan segera diuji dan tidak mendapat perlakuan penyimpanan. Pengujian aktivitas antimikroba ekstrak kasar melalui konfrontasi dengan bakteri uji menggunakan metode cakram.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perhitungan Kadar Air

Perhitungan kadar air daun dilakukan pada tahap ekstraksi dengan menggunakan metode gravimetri (AOAC, 1984). Hasil

perhitungan diperoleh kadar air daun pakem sebesar 74,26 %. Kadar air penting dilakukan untuk koreksi terhadap hasil.

Ekstraksi

Ekstraksi daun pakem menggunakan berbagai macam pelarut yang berbeda kepolarnya ternyata memberikan hasil yang berbeda pula. Perbedaan tersebut dapat dilihat dari warna dan rendemen masing-masing ekstrak kasar yang dihasilkan. Warna dari ekstrak kasar metanol dan dietil eter sangat pekat (hijau tua), sedangkan untuk ekstrak kasar heksana berwarna kekuningan. Perbedaan warna ini dipengaruhi oleh tingkat kepolaran dari masing-masing pelarut yang digunakan. Pelarut metanol menyari senyawa-senyawa polar yang terdapat di dalam daun. Pelarut dietil eter menyari senyawa-senyawa semi polar dan pelarut heksana menyari senyawa-senyawa non polar.

Rendemen

Rendemen ekstrak kasar metanol dari 100 gram sampel daun yang digunakan sebesar 26,85 % (b/v), sedangkan ekstrak kasar heksana yaitu 0,78 % (b/v). Rendemen untuk ekstrak kasar dietil eter tidak dapat dilakukan karena filtrat yang diperoleh hampir selama dua bulan tidak juga jernih. Hal ini mungkin dikarenakan banyaknya senyawa dalam daun tersebut seperti klorofil yang ikut terekstrak sehingga menyebabkan filtrat yang telah disaring berulang kali tidak juga jernih. Menurut Harborne (1996), klorofil mudah diekstraksi ke dalam pelarut lipid seperti aseton dan eter.

Pelarut polar memberikan rendemen yang paling besar bila dibandingkan dengan pelarut non polar (26,85 % vs 0,78 %). Hal ini berarti dalam daun pakem banyak terkandung senyawa polar, salah satunya adalah senyawa alkaloid. Perhitungan rendemen ekstrak kasar penting dilakukan untuk penentuan kuantitas senyawa yang dapat diambil oleh pelarut yang berbeda kepolarnya.

Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Menggunakan Metode Cakram

Ekstrak kasar diuji aktivitasnya terhadap bakteri kontaminan daging, yang ditunjukkan dengan besar atau kecilnya diameter zona hambat yang dihasilkan. Aktivitas ekstrak kasar daun pakem dapat dilihat pada Tabel 1 dan divisualisasi pada Gambar 1.

Table 1. Inhibition activity of crude extract of pakem leaf using various solvents against bacteria

Type of Solution	Diameter of inhibition zone (mm)
Crude extract using methanol	29.0
Crude extract using diethyl ether	13.6
Crude extract using hexsane	6.0
Methanol solvent	6.0
Dietil ether solvent	6.0
Hexane solvent	6.0
Saltpetre	8.3

Notes: Diameter of paper was 6 mm

Hasil konfrontasi ekstrak kasar dengan bakteri kontaminan daging menunjukkan, bahwa ekstrak kasar metanol memiliki diameter zona hambat paling besar (29 mm), bila dibandingkan dengan ekstrak kasar dietil eter (13,6 mm) dan ekstrak kasar heksana (6 mm). Berdasarkan hasil pengujian ini, maka ekstrak kasar metanol dipilih untuk berbagai uji selanjutnya.

Diameter zona hambat yang lebih besar dari ekstrak kasar metanol kemungkinan disebabkan oleh kandungan steroid yang lebih banyak, ditunjukkan oleh warna hijau kebiruan pada residu yang kuat. Diameter zona hambat ekstrak kasar metanol dan dietil eter yang jauh lebih besar dibandingkan dengan ekstrak kasar heksana, mungkin disebabkan oleh adanya senyawa fenol seperti flavonoid, tanin dan kuinon di dalamnya yang mampu untuk melakukan lisis terhadap dinding sel bakteri, atau

kemampuan senyawa fenol menginaktifkan beberapa aktivitas enzim bakteri (Poeloengan *et al.*, 1999). Ekstrak kasar heksana tidak mengandung senyawa fenol.

Penggunaan pelarut (metanol, dietil eter, heksana) sebagai kontrol negatif, masing-masing hanya memberikan diameter zona hambat sebesar 6 mm (sama dengan diameter kertas cakram kosong), yang berarti bahwa sendawa juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri kontaminan daging, untuk itu zat ini biasa

digunakan sebagai pengawet. Zona hambat yang dihasilkan oleh sendawa lebih kecil dari yang dihasilkan ekstrak kasar metanol dan dietil eter (8,3 vs 29 vs 13,6 mm).

Ekstrak kasar metanol memiliki zona penghambatan terbesar, sehingga dijadikan ekstrak terpilih pada pengujian selanjutnya. Berbeda dengan sendawa, ekstrak merupakan substrat alami yang bersifat *bio degradable*, sedangkan sendawa merupakan pengawet sintetik yang dapat menyebabkan karsinogenik.

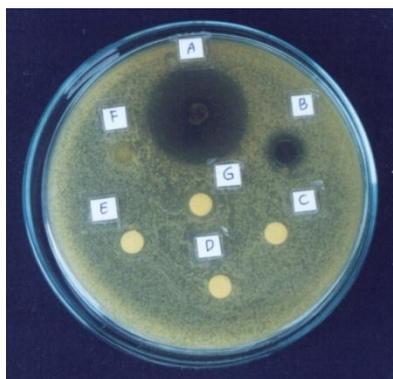


Figure 1. Inhibition zone of crude extract of pakem leaf using various solvents and control. A. Crude extract using methanol, B. Crude extract using dietil ether, C. Dietil ether, D. Metanol, E. Hexane, F. Crude extract using hexane, G. Saltpetre.

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Kasar Metanol

Konsentrasi hambat minimum (KHM) perlu diketahui untuk menentukan konsentrasi terendah ekstrak kasar metanol daun pakem yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil penentuan KHM dengan teknik pengenceran tabung tidak dapat menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri secara jelas. Bila terjadi penghambatan secara total seharusnya tidak didapatkan pertumbuhan bakteri sehingga media cair untuk pertumbuhannya teta bening (tidak keruh). Namun kondisi ekstrak kasar yang pekat menyebabkan sulit untuk membedakan dengan mata telanjang maupun menggunakan bantuan alat spektrofotometer mengenai ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri. Verifikasi selanjutnya yaitu menumbuhkan hasil pengujian (bakteri dalam ekstrak kasar) di atas media agar dengan metode gores. Bila bakteri yang diuji sensitif terhadap ekstrak

kasar, maka tidak akan didapatkan pertumbuhannya di atas agar setelah diinkubasi pada 37 °C selama 24 jam. sebaliknya bila bakteri tidak dihambat oleh ekstrak kasar maka akan didapatkan pertumbuhannya secara normal pada agar. Hasil verifikasi disajikan pada Tabel 2.

Verifikasi terhadap aktivitas ekstrak kasar methanol daun pakem menunjukkan, bahwa ekstrak dengan konsentrasi 12,5; 25; 50% (b/v) menghambat pertumbuhan bakteri secara nyata, yang ditunjukkan oleh adanya pertumbuhan bakteri dengan populasi $\frac{1}{4} \times 10^6$, $\frac{1}{8} \times 10^6$, $\frac{1}{16} \times 10^6$, dan $\frac{1}{32} \times 10^6$ cfu mL⁻¹, namun tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan populasi yang lebih tinggi ($\frac{1}{2} \times 10^6$ cfu mL⁻¹), yang ditunjukkan dengan masih adanya pertumbuhan bakteri pada media. Ekstrak dengan pengenceran tertinggi (konsentrasi terendah) yaitu 3,25 % (b/v) ternyata tidak mampu untuk menghambat pertumbuhan bakteri baik pada populasi terendah, apalagi pada populasi yang lebih tinggi.

Semakin tinggi pengenceran ekstrak, maka konsentrasi zat-zat penghambatnya akan semakin rendah yang berakibat pula pada semakin kecil aktivitas penghambatannya terhadap bakteri. Konsentrasi ekstrak 6,25 % (b/v) ternyata sudah mampu untuk menghambat pertumbuhan bakteri,

oleh sebab itu ekstrak dengan konsentrasi 6,25 % (b/v) dianggap sebagai konsentrasi terendah yang sudah mampu menghambat pertumbuhan bakteri (KHM) setelah diinkubasi selama 24 jam, sehingga dijadikan konsentrasi terpilih untuk uji selanjutnya.

Table 2. Verification of minimal inhibition concentration using streak technique

Extract conc. (%)	Population of meat bacteria (cfu mL ⁻¹)				
	$\frac{1}{2} \times 10^6$	$\frac{1}{4} \times 10^6$	$\frac{1}{8} \times 10^6$	$\frac{1}{16} \times 10^6$	$\frac{1}{32} \times 10^6$
50.000	-	-	-	-	-
25.000	-	-	-	-	-
12.500	-	-	-	-	-
6.250	+	-	-	-	-
3.125	+	+	+	+	+

Notes: (+) bacteria growth, (-) no bacteria growth, incubation time was 24 h

Penentuan Spektrum Aktivitas Penghambatan Pertumbuhan Beberapa Bakteri Patogen

Penentuan spektrum aktivitas penghambatan ekstrak kasar metanol terhadap bakteri uji dengan spesies yang berbeda, dilakukan untuk mengetahui efektivitas dari substrat dalam menghambat

pertumbuhan bakteri uji. Spektrum yang dihasilkan oleh suatu substrat dapat dikelompokkan menjadi substrat yang berspektrum luas atau sempit. Hasil penentuan spektrum aktivitas ekstrak kasar metanol penghambatan terhadap bakteri uji dapat dilihat pada Tabel 3 dan divisualisasikan pada Gambar 2.

Table 3. Inhibition activity of crude methanol extract of pakem leaf against various pathogenic bacteria

Type of bacteria	Average of diameter of inhibition zone (mm) for					
	Crude methanol extract (%)				Antibiotic	
	6.25	12.05	25.00	50.00	Chloramphenicol	Penicyllin G
<i>S. typhimurium</i>	6.00	6.00	8.85*	12.37 [#]	32.30	15.35
<i>S. aureus</i>	6.00	6.00	11.90*	18.67 ⁺	34.72	14.62
<i>E. coli</i>	6.00	6.00	10.22*	12.65 [#]	19.90	15.80
<i>B. cereus</i>	6.00	6.00	9.75*	25.77**	34.67	14.00
<i>P. aeruginosa</i>	6.00	6.00	9.50*	19.12 ⁺	33.77	12.95

Notes: *) R_C, R_P (Resistant chloramphenicol, Resistant phenicyllin G)

#) R_C, I_P (Resistant chloramphenicol, Intermediate phenicyllin G)

+) S_C, I_P (Sensitive chloramphenicol, Intermediate phenicyllin G)

**) S_C, S_{I_P} (Sensitive chloramphenicol, Sensitif phenicyllin G)

Standar of antibiotic inhibition zone on pathogenic bacteria:

Chloramphenicol : Resistant (≤ 12 mm); Intermediate (13-17 mm); Sensitive (≥ 18 mm)

Phenicyllin G : Resistant (≤ 11 mm); Intermediate (12-21 mm); Sensitive (≥ 22 mm)

Hasil uji spektrum penghambatan menunjukkan bahwa *B. cereus* memiliki diameter zona hambat terbesar (25,775 mm) sedangkan *S. typhimurium* yang terkecil (12,375 mm) dengan konsentrasi ekstrak 50 %. Seharusnya dengan makin tingginya

konsentrasi ekstrak didapatkan diameter zona hambat terbesar pada *S. aureus* dan bukan *B. cereus*. Hal ini menunjukkan, bahwa ekstrak mampu menghambat pertumbuhan *B. cereus* dibandingkan dengan *S. aureus*. Penyebab yang mungkin

adalah perbedaan bentuk selnya, meski keduanya tergolong bakteri Gram positif. Sel *B. cereus* berbentuk basil (batang) sedangkan *S. aureus* berbentuk kokus (bulat). Bentuk basil mungkin lebih sensitif terhadap ekstrak dibandingkan bentuk kokus. *B. cereus* bersifat sensitif dan *S. typhimurium* resisten terhadap ekstrak dengan konsentrasi 50 %.

S. aureus memiliki diameter zona hambat terbesar (11,9 mm) dan *S. typhimurium* yang terkecil (8,85 mm) dengan konsentrasi ekstrak 25 %. Ekstrak lebih mampu menghambat aktivitas pertumbuhan *S. aureus* dibandingkan *S. typhimurium*. Hal ini mungkin dise-

babkan dinding sel *S. aureus* yang merupakan bakteri Gram positif, berlapis tunggal. Berbeda dengan *S. typhimurium* yang merupakan bakteri Gram negatif, ekstrak dengan konsentrasi 25% tidak cukup kuat untuk menembus dinding sel bakteri yang berlapis tiga ini. Menurut Pelczar dan Chan (1986), struktur dinding sel bakteri Gram positif hanya terdiri atas peptidoglikan saja sedangkan bakteri Gram negatif memiliki lipopolisakarida, peptidoglikan dan lipoprotein. *S. aureus* bersifat sensitif dan *S. typhimurium* resisten terhadap ekstrak dengan konsentrasi 25 %.



S. typhimurium



S. aureus



E. coli



B. cereus



P. aureginosa

Figure 2. Inhibition activity of crude extract methanol of pakem leaf on growth of pathogenic bacteria. Chloramphenicol and Phenicillin G were used as control positive. C = chloramphenicol, P = Phenicillin G

Ekstrak dengan konsentrasi 3,125; 6,25 dan 12,5 % terhadap semua bakteri uji, hanya memberikan penghambatan sebesar diameter cakram (6 mm). Ekstrak dengan konsentrasi tersebut masih belum mampu untuk menghambat pertumbuhan bakteri uji.

Diameter zona hambat ekstrak dengan konsentrasi 3,125; 6,25; 12,5 dan 25 % terhadap semua bakteri uji lebih kecil dari diameter zona hambat penisilin G dan kloramfenikol. Hal ini berarti, bakteri uji mampu dihambat pertumbuhannya oleh antibiotik.

Diameter zona hambat ekstrak dengan konsentrasi 50 % pada bakteri *S. typhimurium* lebih kecil dari diameter zona hambat penisilin G dan kloramfenikol (12,375 vs 15,35 vs 32,3 mm). Hal ini mungkin disebabkan kloramfenikol mampu mengganggu sintesa protein *S. typhimurium*. Selain itu *S. typhimurium* mungkin sensitif terhadap penisilin G.

Diameter zona hambat ekstrak dengan konsentrasi 50 % pada bakteri *S. aureus* berada diantara diameter zona hambat kedua antibiotik tersebut. Diameter zona hambat ekstrak lebih besar daripada diameter zona hambat penisilin G, tetapi masih lebih kecil daripada kloramfenikol (18,675 vs 14,625 vs 34,725 mm). *S. aureus* mungkin telah resisten terhadap penisilin G.

Diameter zona hambat ekstrak dengan konsentrasi 50 % pada bakteri *E. coli* lebih kecil daripada diameter zona hambat penisilin G dan kloramfenikol (12,65 vs 15,8 vs 19,9 mm). Kloramfenikol mampu mengganggu sintesa protein *E. coli*. Selain itu *E. coli* mungkin sensitif terhadap penisilin G.

Diameter zona hambat ekstrak dengan konsentrasi 50 % pada bakteri *B. cereus* lebih besar daripada diameter zona hambat penisilin G tetapi lebih kecil daripada kloramfenikol (25,775 vs 14 vs 34,675 mm). *B. cereus* mungkin telah resisten terhadap penisilin G.

Diameter zona hambat ekstrak dengan konsentrasi 50 % pada bakteri *P. aeruginosa* lebih besar daripada diameter zona hambat penisilin G tetapi lebih kecil daripada kloramfenikol (19,125 vs 12,95 vs 33,725 mm). Hal ini mungkin disebabkan kloramfenikol mampu mengganggu sintesa protein *P. aeruginosa*. Selain itu *P. aeruginosa* mungkin sensitif terhadap penisilin G.

Uji Toksisitas

Uji ini dilakukan untuk mengetahui sifat toksik ekstrak kasar methanol daun pakem, sehingga bila akan diaplikasikan dalam pangan tidak mempunyai resiko bagi keselamatan dan keamanan konsumen. Hasil pengukuran bobot badan dapat dilihat pada Gambar 3.

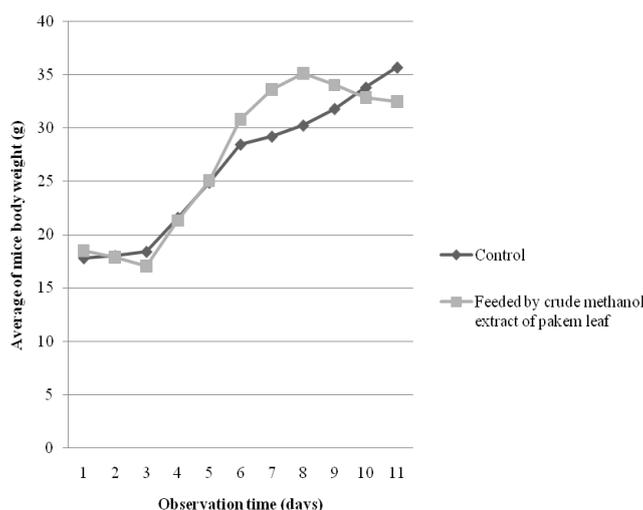


Figure 3. Influence of crude methanol extract of pakem leaf on white mice bodyweight

Rataan Bobot badan mencit mencit control pada awal pengamatan yaitu 17,87 gram, sedangkan untuk mencit yang akan diberi perlakuan yaitu 18,49 gram. Pada hari pertama pemberian ekstrak terhadap mencit perlakuan didapatkan, bahwa mencit tidak melakukan aktivitas (diam), namun setelah 30 menit, mencit menjadi normal seperti biasa. Hal ini dimungkinkan karena adanya stres pada mencit saat pemberian ekstrak dengan *syringe* dan karena adanya zat asing yang masuk ke dalam tubuhnya.

Pada hari kedua pengamatan, rataan bobot badan mencit control meningkat, yaitu 18,41 gram, sedangkan mencit perlakuan menurun bobot badannya menjadi 17,04 gram. Penurunan bobot badan disebabkan oleh nafsu makan mencit yang berkurang karena pemberian ekstrak kasar. Penurunan bobot badan tidak terjadi pada semua mencit perlakuan, namun sebagian besar (90 %) mengalami hal tersebut. Fenomena yang sama didapatkan pada mencit kontrol, namun persentasenya lebih kecil (40 %). Pada hari keempat pengamatan, terdapat satu ekor mencit perlakuan yang mati. Hasil pemeriksaan patologi di Fakultas Kedokteran Hewan menunjukkan, bahwa kematiannya bukan disebabkan oleh keracunan, karena organ dalamnya dalam keadaan normal.

Pada hari kelima pengamatan, rataan bobot badan mencit perlakuan dan kontrol

meningkat. Peningkatan bobot badan terjadi pada hampir sebagian mencit, yaitu sebesar 66,67 % pada mencit perlakuan, dan 60 % pada mencit kontrol. Hal ini menunjukkan, bahwa metabolisme tubuh mencit sudah kembali normal, serta alat pencernaan mencit sudah beradaptasi terhadap ekstrak yang diberikan. Pada hari ketujuh pengamatan, rataan bobot badan mencit perlakuan dan kontrol meningkat. Peningkatan bobot badan terjadi pada hampir seluruh mencit, yaitu sebesar 90 % pada mencit perlakuan, dan 70 % pada mencit kontrol. Pada hari kesembilan pengamatan, rataan bobot badan mencit perlakuan dan kontrol menurun. Penurunan bobot badan terjadi pada hampir sebagian mencit, yaitu sebesar 77,78 % pada mencit perlakuan, dan 90 % pada mencit kontrol. Pada hari terakhir pengamatan, mencit perlakuan dan kontrol tetap dalam keadaan sehat. Ekstrak kasar metanol tidak bersifat toksik.

Stabilitas Ekstrak Kasar Metanol terhadap Suhu dan Lama Penyimpanan yang Berbeda

Ekstrak dikondisikan pada suhu dan lama penyimpanan yang berbeda, kemudian diuji aktivitasnya terhadap bakteri kontaminan daging untuk menentukan stabilitasnya. Hasil pengukuran stabilitas ekstrak ditunjukkan pada Tabel 4.

Table 4. Stability of crude extract methanol of pakem leaf

Temperature treatments and storage	Left activity (%) of crude extract methanol of pakem leaf after time of storage (days)							
	0	2	4	6	8	12	18	24
Low Holding (60 °C for 30 min.)	99							
Pasteurisation (65 °C for 30 min.)	89							
Boiling (100 °C for 30min.)	81							
Room temp. (27 °C)	100*	93	79	79	71			
Refrigerator (5 °C)	100*			108		99	88	
Freezer (-20 °C)	100*					78		72

Note: *) Control

Ekstrak kasar metanol yang mendapat perlakuan pemanasan dibandingkan aktivitasnya dengan kontrol (ekstrak yang disimpan pada suhu ruang) untuk menentukan persentase aktivitas yang

tertinggal pada ekstrak setelah diberi perlakuan pemanasan. Ekstrak kasar memberikan persentase aktivitas penghambatan terbesar saat dikondisikan pada suhu Low Holding (60 °C), yaitu 99 %. Persen-

tase aktivitas ekstrak pada suhu pasteurisasi (65 °C), lebih kecil (89 %) dibanding suhu *Low Holding* tetapi masih lebih besar dibanding suhu pendidihan (100 °C), yaitu 81 %. Hal ini jelas karena pengaruh suhu yang berbeda dari masing-masing perlakuan. Semakin tinggi suhunya maka makin kecil aktivitas penghambatnya. Selain itu juga karena di dalam ekstrak terdapat suatu enzim yang apabila mendapat perlakuan pemanasan maka aktivitasnya akan berkurang. Enzim mudah terdenaturasi dan menjadi inaktif oleh panas (di atas suhu tubuh, 37 °C) (Pelczar *et al.*, 1986).

Persentase aktivitas ekstrak kasar yang disimpan pada suhu ruang dibandingkan dengan kontrol, yaitu sebelum disimpan menunjukkan, bahwa didapatkan ekstrak kasar menurun aktivitasnya sejak awal hingga akhir penyimpanan. Pada hari kedua penyimpanan, persentase aktivitasnya menurun menjadi 93 % dan pada hari keempat penyimpanan terjadi penurunan kembali menjadi 79 %. Ekstrak kasar yang disimpan setelah enam hari penyimpanan tidak mengalami kenaikan ataupun penurunan aktivitas, karena persentase aktivitasnya tetap sama yaitu 79 %. Pada akhir penyimpanan, aktivitasnya terus menurun menjadi 71 %. Ekstrak kasar metanol tidak cocok disimpan pada suhu ruang, karena persentase aktivitas yang dihasilkannya terus menurun.

Persentase aktivitas ekstrak kasar yang disimpan pada suhu refrigerator dibandingkan dengan kontrol, yaitu sebelum disimpan menunjukkan, bahwa didapatkan ekstrak kasar mengalami peningkatan aktivitas sejak awal hingga enam hari penyimpanan. Pengamatan selanjutnya mendapatkan penurunan aktivitas hingga akhir penyimpanan. Pada enam hari penyimpanan, persentase aktivitasnya meningkat menjadi 108 %. Aktivitas yang didapatkan melebihi dari kontrolnya. Hal ini mungkin karena kandungan zat-zat aktif dalam ekstrak kasar tetap baik pada suhu refrigerator sehingga memberikan aktivitas yang lebih besar dibanding kontrol. Pada hari ke-12 penyimpanan, aktivitasnya mulai mengalami sedikit penurunan menjadi 99

%. Pada akhir penyimpanan, aktivitasnya kembali menurun menjadi 88 %. Penurunan aktivitasnya masih lebih sedikit dibandingkan ekstrak kasar yang disimpan pada suhu ruang. Ekstrak yang disimpan pada suhu refrigerator hanya dapat disimpan selama enam hari penyimpanan. Penyimpanan yang lebih lama akan menurunkan aktivitas ekstrak.

Persentase aktivitas ekstrak kasar yang disimpan pada suhu freezer dibandingkan dengan kontrol, yaitu sebelum disimpan menunjukkan, bahwa didapatkan ekstrak kasar mengalami penurunan aktivitas sejak awal hingga akhir penyimpanan. Pada hari ke-12, aktivitas yang tertinggal adalah 78 %, sedangkan pada akhir penyimpanan menjadi 72 %. Ekstrak tidak cocok untuk disimpan pada suhu freezer karena aktivitasnya yang terus menurun, tetapi masih lebih baik bila dibandingkan dengan ekstrak yang disimpan pada suhu ruang. Aktivitas ekstrak kasar metanol lebih stabil disimpan pada suhu refrigerator.

Ekstrak kasar daun pakem, dengan demikian, menunjukkan stabilitas yang tinggi pada kondisi penyimpanan refrigerator. Penyimpanan pada freezer dan suhu ruang serta perlakuan pemanasan akan menyebabkan penurunan aktivitas penghambatan terhadap bakteri kontaminan daging.

KESIMPULAN

Daun pakem yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kadar air 74,26 %. Rendemen ekstrak kasar dengan pelarut metanol lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut heksana. Diameter zona hambat terbesar dihasilkan oleh ekstrak kasar metanol. Ekstrak kasar metanol dengan konsentrasi 6,25 % sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Ekstrak kasar metanol mampu menghambat berbagai bakteri uji baik bakteri Gram positif, Gram negatif, kokus maupun basil. Ekstrak kasar metanol memiliki spectrum penghambatan yang luas dan tidak bersifat toksik pada uji toksisitas *in vivo* terhadap mencit. Stabilitas ekstrak kasar metanol lebih tinggi bila disimpan pada suhu refrigerator.

Penelitian lebih lanjut mengenai pemisahan dan identifikasi senyawa-senyawa dalam ekstrak perlu dilakukan untuk mengetahui senyawa yang paling berpotensi sebagai antibakteri. Aplikasi ekstrak ke bahan pangan juga perlu dilakukan untuk mengetahui aktivitasnya.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC (1984) Official Methods of Analysis. 13th ed. Association of Analytical Chemist, Washington DC.
- Harborne JB (1996) Metode Fitokimia. Cetakan ke-2. Terjemahan: Kosasih Padmawinata, Iwang Soediro. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Heyne K (1987) Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid III. Cetakan ke-1. Terjemahan: Badan Litbang Kehutanan. Penerbit Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta.
- Kristikasari E (2000) Mempelajari sifat antimikroba biji picung (*Pangium edule* Reinw.) segar dan terfermentasi terhadap bakteri patogen perusak makanan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Pelczar MJ, Chan ECS (1986) Dasar-dasar Mikrobiologi I. Cetakan ke-1. Terjemahan: Hadioetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Pelczar MJ, Chan ECS, Krieg NR (1986) Microbiology. 5th Ed. McGraw-Hill Inc, New York.
- Poeloengan M, Susan MN, Soeripto (1999) Efek ekstrak daun teh hijau (*Camelia sinensis*) terhadap pertumbuhan *Salmonella enteritidis* dan *Pseudomonas pseudomallei*. Prosiding. Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Departemen Pertanian, Bogor. p. 554-557.
- Rusman (2002) Penepisan senyawa insektisida dari ekstark daun picung (*Pangium edule* Reinw.). Skripsi. Jurusan Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Wu Q, Knowles R (1995) Effect of Chloramphenicol on Denitrification in *Flexibaxter canadensis* and *Pseudomonas denitrificans*. Applied and Environmental Microbiology, 61: 434-437.

PEDOMAN PENULISAN

Jurnal Teknologi Pertanian

Universitas Mulawarman

Pengiriman

Jurnal Teknologi Pertanian Universitas Mulawarman menerima naskah berupa artikel hasil penelitian dan ulasan balik (*review*) yang belum pernah dipublikasikan pada majalah/jurnal lain. Penulis diminta mengirimkan tiga eksemplar naskah asli beserta *softcopy* dalam disket yang ditulis dengan program *Microsoft Word*. Naskah dan disket dikirimkan kepada:

Editor Jurnal Teknologi Pertanian

d. a. Program Studi Teknologi Hasil Pertanian
Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian
Universitas Mulawarman
Jalan Pasir Belengkong
Samarinda 75123

Format

Umum. Naskah diketik dua spasi pada kertas A4 dengan tepi atas dan kiri 3 centimeter, kanan dan bawah 2 centimeter menggunakan huruf *Times New Roman 12 point*, maksimum 12 halaman. Setiap halaman diberi nomor secara berurutan. Ulasan balik ditulis sebagai naskah sinambung tanpa subjudul Bahan dan Metode, Hasil dan Pembahasan. Selanjutnya susunan naskah dibuat sebagai berikut :

Judul. Pada halaman judul tuliskan judul, nama setiap penulis, nama dan alamat institusi masing-masing penulis, dan catatan kaki yang berisi nama, alamat, nomor telepon dan faks serta alamat E-mail jika ada dari *corresponding author*. Jika naskah ditulis dalam bahasa Indonesia tuliskan judul dalam bahasa Indonesia diikuti judul dalam bahasa Inggris.

Abstrak. Abstrak ditulis dalam bahasa Inggris dengan judul "ABSTRACT" maksimum 250 kata. Kata kunci dengan judul "Key word" ditulis dalam bahasa Inggris di bawah abstrak.

Pendahuluan. Berisi latar belakang dan tujuan.

Bahan dan Metode. Berisi informasi teknis sehingga percobaan dapat diulangi dengan teknik yang dikemukakan. Metode diuraikan secara lengkap jika metode yang digunakan adalah metode baru.

Hasil. Berisi hanya hasil-hasil penelitian baik yang disajikan dalam bentuk tubuh tulisan, tabel, maupun gambar. Foto dicetak hitam-putih pada kertas licin berukuran setengah kartu pos.

Pembahasan. Berisi interpretasi dari hasil penelitian yang diperoleh dan dikaitkan dengan hasil-hasil penelitian yang pernah dilaporkan (publikasi).

Ucapan Terima Kasih. Digunakan untuk menyebutkan sumber dana penelitian dan untuk memberikan penghargaan kepada beberapa institusi atau orang yang membantu dalam pelaksanaan penelitian dan atau penulisan laporan.

Daftar Pustaka. Daftar Pustaka ditulis memakai sistem nama tahun dan disusun secara abjad. Beberapa contoh penulisan sumber acuan:

Jurnal

Wang SS, Chiang WC, Zhao BL, Zheng X, Kim IH (1991) Experimental analysis and computer simulation of starch-water interaction. *J Food Sci* 56: 121-129.

Buku

Charley H, Weaver C (1998) *Food a Scientific Approach*. Prentice-Hall Inc USA

Bab dalam Buku

Gordon J, Davis E (1998) Water migration and food storage stability. Dalam: *Food Storage Stability*. Taub I, Singh R. (eds.), CRC Press LLC.

Abstrak

Rusmana I, Hadioetomo RS (1991) *Bacillus thuringiensis* Berl. dari peternakan ulat sutra dan toksisitasnya. Abstrak Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia. Bogor 2-3 Des 1991 hA-26.

Prosiding

Prabowo S, Zuheid N, Haryadi (2002) Aroma nasi: Perubahan setelah disimpan dalam wadah dengan suhu terkendali. Dalam: *Prosiding Seminar Nasional PATPI*. Malang 30-31 Juli 2002 hA48.

Skripsi/Tesis/Disertasi

Meliana B (1985) Pengaruh rasio udang dan tapioka terhadap sifat-sifat kerupuk udang. Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian UGM Yogyakarta.

Informasi dari Internet

Hansen L (1999) Non-target effects of Bt corn pollen on the Monarch butterfly (Lepidoptera: Danaidae). <http://www.ent.iastate.edu/entsoc/ncb99/pr og/abs/D81.html> [21 Agu 1999].

Bagi yang naskahnya dimuat, penulis dikenakan biaya Rp 75.000,00 (tujuh puluh lima ribu rupiah).

Hal lain yang belum termasuk dalam petunjuk penulisan ini dapat ditanyakan langsung kepada REDAKSI JTP