

IDENTIFIKASI KOMPONEN EKSTRAK SIRIH (*Piper betle* Linn) DARI BEBERAPA PELARUT DAN PEMANFAATANNYA UNTUK PENGAWETAN IKAN

Identification of Betle Leaf (Piper betle Linn.) Extracts Components Obtained from Several Solvents and Its Use for Fish Preservation

Rini Yanti¹, Suyitno¹, Eni Harmayani¹

Program Studi Teknologi Hasil Perkebunan
Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada

ABSTRACT

The inhibition ability of betle leaf extract against the growth of spoilage bacteria (*Pseudomonas fluorescens*) on fish had been studied.

The objectives of this research were (1) to analyze compounds of betle leaf extracted by ethanol, diethyl ether, hexane, using GC-MS, (2) to determine antibacterial activity of four kinds betle leaf extract, (3) and to use betle extracts for fish preservation.

The betle leaf extracts consisted of several compounds as analysed by GC-MS. The major components were 4-allyl-1,2- diacetoxy benzene and benzoic acid derivats such as 2,4-dimethyl, benzoic acid and 3,5-dimethyl, benzoic acid. The other components were derivats of phenol and terpen.

In the antibacteria activity test, betle leaf extracted with etanol showed the highest antibacteria activity, followed by diethyl eter, hexane, and aquadest extracts.

Concentration below 0,1%, did not inhibit *P. fluorescens* growth. The inhibition of betle leaf extract againts *P. fluorescens* in nutrien broth (NB) with initial population of 10⁶ CFU/ml was effective at 0,2%.

Fish soaked with betle leaf extract (2%) solution for 30 minutes and during cold storage had lower aerobic plate count and pseudomonads number as compared to control. The number of pseudomonads decreased approximately 1 log cycle after soaking in leaf extract solution for 30 minutes (8,9. 10⁴ cfu/g to 6,0. 10³ cfu/g), and total bacteria from 4,0.10⁵ to 2,34. 10⁴ cfu/g. In the second day, the number of total bacteria of fish without soaking in extract solution reached 10⁷ cfu/g, but fish soaked in extract solution for 30 minutes reached total bacteria count of 10⁷ cfu/g after 5 days. The results indicated that betle leaf extract had the ability to extend the shelf-life of fish in cold storage.

Keywords : *betle leaf -- antibacteria -- fish.*

PENGANTAR

Bagi masyarakat Indonesia, sirih merupakan tanaman yang sudah dikenal secara luas. Sirih digunakan untuk berbagai keperluan, baik untuk upacara adat, kesehatan maupun kecantikan. Secara tradisional sirih banyak digunakan untuk obat batuk, obat sakit gigi, mengeringkan luka, dan lain-lain. Dari berbagai penggunaan tersebut, terdapat gambaran bahwa sirih mempunyai sifat sebagai antimikroba.

Penggunaan sirih yang terbesar saat ini adalah untuk keperluan obat-obatan, selain itu saat ini sirih sudah mulai digunakan sebagai tambahan dalam industri parfum, odol, permen dan lain-lain. Namun demikian pemanfaatannya untuk pengawetan pangan masih sangat terbatas, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk memanfaatkan ekstrak sirih di bidang pangan.

Mengingat hal tersebut, maka telah dilakukan penelitian dengan memanfaatkan sirih untuk mempertahankan kualitas pangan. Sirih dimanfaatkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri pada ikan. Upaya ini dilakukan, dengan pertimbangan ikan merupakan bahan pangan yang memiliki gizi tinggi, terutama protein. Namun disamping itu ikan juga merupakan media yang baik bagi pertumbuhan bakteri.

Sirih yang digunakan dalam penelitian ini dalam bentuk ekstrak sirih. Banyaknya hasil ekstraksi dan komponen penyusun daun sirih, dipengaruhi oleh beberapa faktor. Faktor yang paling penting adalah jenis pelarut, karena komponen yang dapat diekstrak adalah komponen yang punya tingkat kepolaran yang hampir sama dengan pelarut. Untuk tujuan penggunaan sirih sebagai antimikroba, perlu diketahui jenis pelarut yang mana yang memberikan hasil dengan sifat antimikroba yang tinggi.

Beberapa informasi dari penelitian yang pernah dilakukan menunjukkan bahwa sirih mempunyai potensi sebagai antimikroba. Garg dan Jain (1992) melakukan penelitian mengenai aktivitas biologi dari minyak atsiri *Piper betle* mereka melaporkan bahwa daun sirih memiliki aktifitas antibakteri yang kuat. Dari penelitiannya ternyata minyak atsiri daun sirih murni mempunyai aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibanding *potassium penicilin G* dan *streptomysin* dengan konsentrasi 2000 ppm. Minyak atsiri daun sirih juga memperlihatkan aktivitas jamur yang lebih tinggi jika dibanding *griseofulvin* (1000 ppm) dan *resorchinol* (2%). Kemudian dilaporkan juga bahwa minyak atsiri daun sirih lebih manjur dalam membasmi cacing pita dan cacing tambang dibanding *piperazine* dan *hexyl resorchinol* pada konsentrasi yang sama.

Penelitian yang dilakukan Sundari (1991) mengenai penggunaan minyak atsiri daun sirih dalam pasta gigi. Pada penelitian tersebut dibuat pasta gigi yang ditambah minyak atsiri dengan variasi 0,1%, 0,25%, 0,5%, 0,75% dan 1% b/b. Kemudian sebanyak dua gram pasta gigi ditambah air sampai sejumlah 10 ml. Kedalaman campuran tersebut ditambahkan 0,1 ml 108 CFU *Sterptococcus alfa*. Dari hasil penelitian ternyata minyak atsiri dengan kadar 0,1% dan 0,25% belum menunjukkan daya antiseptika. Pada konsentrasi yang lebih tinggi yaitu 0,5%, 0,75% dan 1%, telah menunjukkan adanya daya antiseptika.

Oehadian (1997) melaporkan bahwa daun sirih yang ditumbuk dan ditambah air dengan konsentrasi 40%, dan kemudian direbus menunjukkan penghambatan terhadap *Candida albican*.

Pramono et al. (1991) menambahkan minyak atsiri pada serbuk jamu yang disimpan ada suhu kamar. Pada awal penyimpanan minyak atsiri dengan konsentrasi 5% mampu menurunkan bakteri sebanyak 15%, minyak atsiri dengan konsentrasi 10% menurunkan bakteri 37% dan minyak sirih dengan konsentrasi 20% menurunkan bakteri 68%.

Sifat antimikroba yang ada pada sirih dihasilkan oleh senyawa-senyawa yang terdapat pada sirih tersebut. Menurut Eykman dalam Heyne (1987) sirih mengandung minyak atsiri yang sepertiganya adalah fenol. Burkill (1935) menyatakan bahwa dalam minyak atsiri daun sirih terdapat campuran fenol dan terpen. Dan diantara fenol yang ada, eugenol merupakan jumlah terbesar pada daun sirih yang terdapat di India. Balasubrahmanyam (1992) menyatakan bahwa kultivar-kultivar tanaman sirih yang ada di India ternyata mempunyai kandungan kimia yang berbeda-beda, tapi dari lima kultivar yang diteliti, semuanya menunjukkan bahwa senyawa yang paling banyak menyusun minyak atsiri daun sirih adalah eugenol. Sedangkan menurut Burkill (1953) senyawa yang banyak terdapat pada daun sirih di Siam dan Jawa adalah fenol betel dan kavicol.

Menurut Prindle dan Wright dalam Nurhayati (1992) adanya senyawa fenol dalam suatu bahan dapat menyebabkan lisis pada sel mikroba, sehingga racun ke dalam sel dan mengakibatkan kebocoran metabolit esensial yang dibutuhkan oleh mikroba, kemudian fenol di dalam sel akan merusak sistem kerja sel.

Sivropolou et al. (1995) melakukan penelitian mengenai aktivitas citral, carvacrol, geraniol, terpineol, perriladehyde, eugenol, linalool, citronellal. Dari penelitian tersebut memperlihatkan bahwa carvacrol, terpineol, dan eugenol mempunyai daerah hambat yang lebih besar dari yang lainnya. Ketiga komponen tersebut dilaporkan terdapat

dalam daun sirih yaitu eugenol dan terpineol dan carvakrol (Balasubrahmanyam, 1992).

Minyak atsiri daun sirih tersusun atas beberapa komponen kimia yang digolongkan sebagai senyawa fenol dan senyawa selain fenol. Senyawa-senyawa fenol penyusun minyak atsiri daun sirih terdiri dari dua komponen fenol yaitu isomer betel fenol dari kavikol dan eugenol dengan berbagai kombinasi fenol seperti alil pirokatekol, kavibetol, karvakrol, metil eugenol, sineol dan estragol. Senyawa kimia selain fenol terdiri dari kadinen, kariofilen terpen, terpinen, metil ether, menthon dan sesquiterpen (Dharma, 1985).

Tujuan dari penelitian ini adalah : 1) untuk mengetahui komponen penyusun ekstrak sirih, 2) mengevaluasi aktivitas antibakteri dari jenis ekstrak sirih, 3) mempelajari pengaruh ekstrak sirih terhadap pertumbuhan bakteri pada ikan yang disimpan pada suhu 4°C

BAHAN DAN CARA PENELITIAN

Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih (*Piper betle*, Linn.). Daun yang digunakan adalah daun yang tidak terlalu tua dan juga tidak terlalu muda (pucuk) yaitu daun ke 2, 3, atau 4 dari pucuk. Daun sirih ini diperoleh dari pedagang pengumpul di daerah Prambanan, Yogyakarta.

Ikan yang digunakan adalah tongkol segar yang diperoleh dari pasar Demangan Yogyakarta. Ikan disayat setebal 1,5 cm, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dipotong-potong dengan berat ± 20 g, dan Waktu yang dibutuhkan untuk menunggu perlakuan ± 1 jam.

Pelarut yang digunakan terdiri dari 4 jenis, yaitu 3 pelarut organik (heksan, etanol, dietil eter) dan aquadest. Sedangkan bahan lain yang digunakan adalah *tween 80*, *paper disk* diameter 6 mm, *aluminium foil*, kapas, kantong plastik, dan kertas payung.

Bahan-bahan dan media yang digunakan untuk pemeriksaan bakteri antara lain adalah : *Nutrient Broth*, *Mueller Hinton Agar* (Oxoid CM 337), *Plate Count Agar* (CM325), *Media Kellman*, air pepton 0,1 %.

Peralatan yang digunakan terdiri dari timbangan sartorius BP 160 P, kertas saring, *Freeze dryer* (Edwards Modulyo suhu -40°C, tekanan 0,1-0,2 atm, *Grinder*, *Vennoject*, *Magnetic stirrer*, *Khromatografi gas HP 3396*, *rotary vacuum evaporator* (Buchi rotavapor

R 114, Buchi Vacobox B 177), pisau dan peralatan gelas lain.

Ekstraksi Daun Sirih dengan Beberapa Pelarut

Untuk persiapan proses ekstraksi, daun sirih dirajang ± 1 cm, kemudian dibekukan ± 12 jam. Selanjutnya daun tersebut dikering-bekukan dalam *freeze drier* (suhu -40°C, tekanan 0,1-0,2 atm) selama ± 3 hari. Daun yang telah kering kemudian digiling dengan menggunakan *grinder*, sehingga diperoleh bubuk daun sirih.

Kemudian diambil sebanyak 20 g bubuk untuk diekstrak dengan beberapa pelarut. Ekstraksi dilakukan dengan cara perkolasi dengan perbandingan bahan dan pelarut (g : ml) 1 : 6 dengan lama ekstraksi 2 jam.

Setelah dilakukan ekstraksi dilakukan penyaringan, dan hasil berupa campuran ekstrak dengan pelarutnya (*miscella*). Pelarutnya kemudian dipisahkan dengan menggunakan *rotavapor*. Selanjutnya dilakukan juga penghilangan sisa pelarut yang mungkin masih terdapat pada ekstrak dengan menggunakan aliran gas N_2 .

Analisa Ekstrak dengan GC-MS

Kondisi operasi GC-MS yang digunakan untuk menganalisa ekstrak sirih adalah sebagai berikut : jenis pengion yang digunakan adalah elektron *Impack* (EI), sedangkan kolomnya adalah kolom kapiler DB-1 dengan panjang 30 meter. Suhu injektor diatur 270°C dan suhu detektor 280°C. Gas pembawa adalah helium dan jumlah sampel yang diinjeksikan 0,1 μ l selama operasi suhu kolom diatur 60°C sampai 250°C dengan kenaikan 7,5°C / menit.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Penelitian tahap ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari 4 jenis ekstrak sirih dan menentukan ekstrak sirih yang mempunyai aktivitas antibakteri tertinggi. Karena ekstrak sirih ini merupakan cairan yang kental dan lengket serta bersifat *oil-dispersible liquid*, maka untuk mencampur ekstrak sirih ini dengan air ditambahkan *tween 80*. *Tween 80* ini dipilih setelah dilakukan pengujian pendahuluan dengan pengemulsi lainnya. Pengamatan yang dilakukan meliputi kelarutan dan kestabilan emulsi.

Konsentrasi ekstrak sirih yang digunakan adalah 4%, 2,5%, dan 1,82%. Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan dengan teknik difusi agar, dan pengamatan dilakukan terhadap terbentuknya zona penghambatan.

Aplikasi pada Ikan Segar

Penelitian ini merupakan tahap aplikasi pada ikan, dengan variasi waktu kontak, dengan cara sebagai berikut :

Ikan yang berupa ikan segar disayat setebal $\pm 1,5$ cm, kemudian dicuci dengan air mengalir. Kemudian ikan dipotong-potong dengan berat rata-rata 20 g.

Ada tiga perlakuan yang diberikan, yaitu : a) tanpa perendaman (kontrol), b) Perendaman selama 30 menit, c) Perendaman selama penyimpanan.

Setelah perendaman, ikan ditiriskan dan dimasukkan ke dalam kantong plastik steril. Kemudian sampel disimpan pada suhu 4°C . Penghitungan jumlah bakteri meliputi total bakteri secara keseluruhan dan penghitungan bakteri pseudomonads. Media yang digunakan untuk penghitungan total bakteri adalah media Plate Count Agar, sedangkan untuk Pseudomonad menggunakan media Kellman. Penghitungan jumlah bakteri ini dilakukan setiap hari, dimulai pada hari ke-0, dan diakhiri pada saat jumlah total bakteri $\pm 10^8$ CFU/g (angka ini menunjukkan tingkat kerusakan ikan yang cukup tinggi).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi komponen

Dari hasil analisa GC-MS, senyawa yang terdapat pada ketiga ekstrak sirih dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil yang didapatkan dari spektra massa menunjukkan bahwa senyawa-senyawa yang terdeteksi adalah senyawa-senyawa hidrokarbon dari jenis sesquiterpen (terdiri dari 3 unit isoprene) dan juga senyawa-senyawa oxygenated hidrokarbon (golongan senyawa hidrokarbon yang mengandung oksigen) dalam bentuk alkohol siklis maupun dalam bentuk ester seperti benzoat.

Dari spektra massa juga terlihat bahwa senyawa yang dominan terdapat dalam ekstrak sirih adalah 4 allyl-1,2 diacetoxybenzene, dimana konsentrasi relatifnya adalah 43,95 % pada ekstrak sirih-heksan, 28,55 % pada ekstrak sirih dietil eter, dan 39,83 % pada ekstrak sirih- etanol. Menurut Guenther (1987) ada 4 kelompok besar pada minyak atsiri yang menentukan sifat minyak atsiri, diantaranya adalah turunan benzene. Turunan benzene pada minyak atsiri merupakan senyawa yang memberi rasa pada minyak atsiri.

Tabel 1. Komponen penyusun ekstrak sirih pada tiga jenis pelarut organik (% luas relatif)

No	Jenis Komponen	Jenis Pelarut		
		Etanol	Dietil eter	Heksan
1	Phenol,4-(2-propyl)	2,15	-	-
2	4 allylphenil acetate	13,08	7,05	11,34
3	Phenol,2-methoxy -4-(1Prophenyl)	3,54	4,62	3,91
4	Cyclohexane,1-ethenyl -1-methyl-2,4bis (methylethenil)	0,59	-	-
5	Isocaryophyllene	1,30	0,85	1,87
6	Alphacaryophyllene	1,51	0,84	-
7	Germacrene	9,54	-	-
8	2,4 - dimethyl, benzoic acid	16,03	37,87	-
9	Phenol,2-methoxy-4-(2-propenyl) acetate	12,43	9,58	14,22
10	4-allyl-1,2-diacetoxy benzene	39,43	28,55	43,95
11	Benzemethanol , alpha etenil	-	2,63	-
12	2,3- dimethyl, benzoic acid	-	6,49	-
13	Napthalene decahydro-4a-methyl-1methylene-7(methylethenyl)	-	0,83	1,12
14	Hexadecyne	-	0,69	-
15	3,5 -dimethyl, benzoic acid	-	-	24,40

Senyawa lain yang juga menunjukkan jumlah yang cukup besar adalah senyawa yang mempunyai kemiripan dengan turunan asam benzoat yaitu 3,5-dimethyl benzoic acid dan 2,4-dimethyl benzoic acid.

Asam benzoat dan turunannya merupakan asam karboksilat aromatik yang mempunyai sifat sedikit larut dalam air, dan pada umumnya larut dala pelarut organik seperti alkohol dan eter (Winholz, 1983). Asam benzoat banyak digunakan untuk anti jamur, pengawetan pangan, dan juga sebagai germicida. Orjala et al. (1993) menyebutkan bahwa pada daun tanaman jenis sirih-sirihan yang terdapat di negara Papua Nugini (tanaman *Piper adincum*) mengandung beberapa jenis senyawa turunan asam benzoat. Dari hasil penelitiannya, senyawa-senyawa turunan asam

benzoat tersebut menunjukkan aktivitas antimikroba dan *molluscicida* yang cukup tinggi.

Senyawa lain yang cukup dominan pada ekstrak sirih adalah phenol, 2- methoxy-4(2propenyl) acetate atau yang punya nama lain isoeugenol acetate. Senyawa ini terdapat sebanyak 14,22 % pada ekstrak sirih-heksan, 9,58% pada ekstrak sirih dietil eter, dan 12,43% pada ekstrak sirih-*etanol*. Menurut Winholz (1983) dalam keadaan murni, senyawa ini berbentuk kristal putih dengan aroma seperti cengkeh dan digunakan untuk parfum dan *flavoring agent*.

Senyawa-senyawa lain yang terdapat pada ekstrak sirih, menurut studi kepustakaan yang dilakukan pada umumnya mempunyai sifat-sifat memberi bau dan mempunyai sifat sebagai antimikroba. Senyawa-senyawa yang diduga memberikan sifat sebagai antimikroba selain turunan asam benzoat tadi adalah isoeugenol, eugenol, naphthalene, dan benzemethanol. Dalam Winholz (1983) disebutkan eugenol banyak digunakan dalam obat-obatan. Eugenol mempunyai sifat analgetik dan antiseptik. Sivropolou *et al.* (1995) telah melakukan penelitian mengenai aktivitas antimikroba dari carvacrol, geraniol, terpineol, perriladehyde, eugenol, linalool, dan citronellal. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa carvacrol, terpineol, dan eugenol mempunyai daerah hambat yang lebih besar dari lainnya. Selain itu isoeugenol disamping merupakan komponen penting dalam industri flavor, juga mempunyai sifat sebagai antifungal yang kuat. Winholz (1983) juga menyatakan bahwa benzemethanol banyak digunakan untuk obat salep, sedangkan naphthalene digunakan untuk penolak ngengat dan sebagai fungisida.

Senyawa lain yang juga memberikan kemungkinan sifat antimikroba adalah senyawa-senyawa terpen seperti caryophyllen, isocaryophyllen dan germacrene. Caryophyllene dan isocaryophyllene (γ caryophyllene) adalah senyawa sesquiterpen yaitu senyawa yang terdiri dari 3 unit isopren. Penggunaan caryophyllene dan isocaryophyllene secara industri adalah dalam pembuatan parfum. Namun senyawa-senyawa ini diduga juga mempunyai sifat antimikrobia. Menurut Jansen *et al.* (1985) bahwa turunan terpenoid terutama monoterpen dan sesquiterpen mempunyai aktivitas farmakologi dan aktivitas pengobatan, yang diantaranya adalah antibakteri dan antifungi.

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sirih

Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari empat jenis ekstrak sirih terhadap kultur bakteri *Pseudomonas fluorescens*, menunjukkan bahwa perbedaan jenis pelarut yang digunakan untuk mengekstrak sirih akan menghasilkan aktivitas antibakteri yang berbeda (Tabel 2)

Tabel 2. Hasil pengamatan aktivitas antibakteri ekstrak sirih yang ditunjukkan dengan zona penghambatan (mm)

Konsentrasi	Jenis Pelarut			
	Heksan	Dietil eter	etanol	air
Pengenceran 1 (4%)	10,63 ^b	9,71 ^c	11,85 ^a	7,43 ^e
Pengenceran 2 (2,5 %)	8,46 ^d	9,28 ^c	11,60 ^d	6,47 ^f
Pengenceran 3 (1,8%)	6,50 ^f	6,60 ^{ef}	6,73 ^{ef}	6,03 ^f

Keterangan : notasi yang sama menunjukkan tidak beda nyata pada taraf uji 5 % menurut DMRT

Pengenceran 1 : 100 mg ekstrak + 1 ml tween 80 + 1,5 ml air

Pengenceran 2 : 100 mg ekstrak + 1 ml tween 80 + 3,0 ml air

Pengenceran 3 : 100 mg ekstrak + 1 ml tween 80 + 4,5 ml air

Zona penghambatan : diameter paper disk + zona jernih yang terbentuk

Diameter paper disk : 6,00 mm

Dari keempat jenis ekstrak, ekstrak dengan air menunjukkan aktivitas antibakteri yang paling kecil, yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona jernih terkecil pada ekstrak sirih - air, sedangkan ekstrak sirih-*etanol* menghasilkan zona jernih yang lebih besar dibanding ekstrak lainnya.

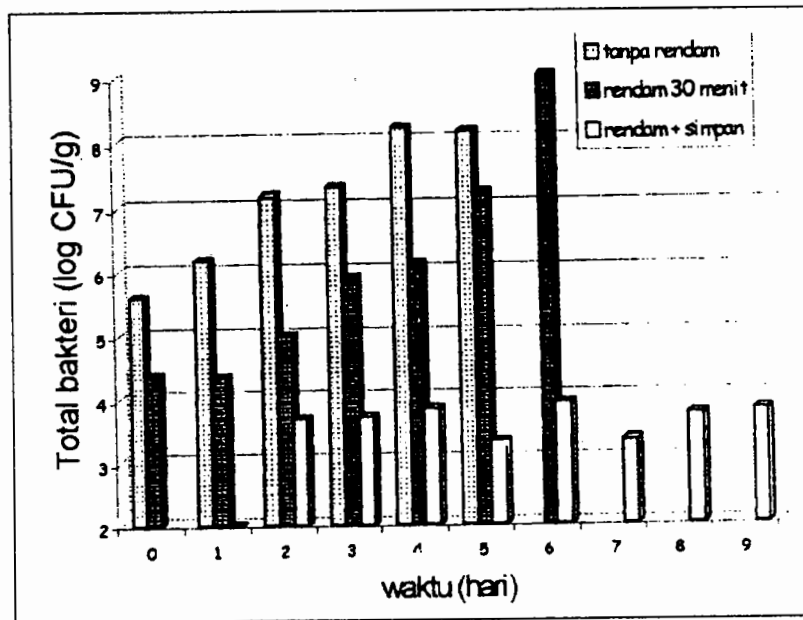
Dari pengamatan Tabel 2 diketahui bahwa ekstrak sirih-*etanol* mempunyai daya antimikrobia yang paling tinggi, karena itu untuk tahap penelitian selanjutnya dipilih ekstrak sirih dengan pelarut *etanol*.

Pengaruh Ekstrak Sirih Terhadap Pertumbuhan Bakteri pada Ikan

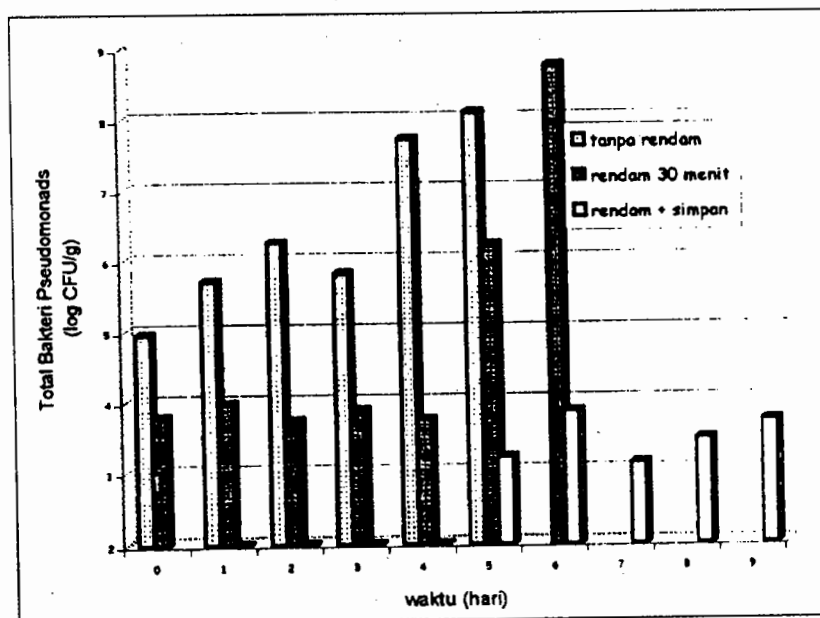
Hasil pemeriksaan jumlah awal bakteri pada ikan tongkol adalah sebagai berikut : total bakteri 4,0. 10⁵ CFU/gram, dan total pseudomonads sebesar 8,9. 10⁴ CFU/g.

Hasil penghitungan total bakteri dan total pseudomonads dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.

Pada hari ke 0 perendaman selama 30 menit telah menurunkan total bakteri sebesar 1,2 siklus log, dan total pseudomonad sebesar 1,2 siklus log. Pada hari ke dua total pada perlakuan tanpa perendaman telah mencapai 1,4. 10⁷ CFU/g. Pada keadaan ini sudah terjadi kerusakan pada ikan. Menurut Frazier (1977), ikan busuk jumlah bakterinya 1,0. 10⁶ - 1,0. 10⁸ CFU tiap gramnya. Ilyas (1988) menyatakan bahwa daya awet ikan yang disimpan pada suhu 4°C berkisar selama 3 hari.



Gambar 1. Total bakteri aerob pada ikan tongkol selama penyimpanan suhu 4°C
*Pada hari ke-6 perlakuan tanpa perendaman sudah busuk, sehingga tidak diuji lagi.



Gambar 2. Total bakteri pseudomonads pada ikan tongkol selama

Pada perlakuan tanpa perendaman, total pseudomonad terlihat meningkat seiring dengan bertambahnya waktu, sedangkan dengan perlakuan perendaman selama 30 menit, penurunan total pseudomonad pada awal penyimpanan dengan jumlah $\pm 10^3$ CFU/g bisa bertahan sampai hari ke-4. Jumlahnya baru meningkat cukup tajam pada hari ke-5. Sedangkan perlakuan selama penyimpanan menunjukkan bahwa pada hari ke-0 sampai ke-4 jumlah pseudomonad $\leq 10^2$ cfu/g. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak sirih cukup efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri pseudomonads.

Pada penghitungan total bakteri, walaupun terlihat kecenderungan jumlah yang selalu meningkat, tapi nilainya selalu lebih rendah dibanding perlakuan tanpa perendaman. Sementara itu penurunan jumlah bakteri yang cukup tajam terlihat pada perlakuan perendaman selama penyimpanan, total pseudomonad turun drastis pada penyimpanan hari ke-1 menjadi $< 10^2$ CFU/g. Hal ini bertahan samapai hari ke-4. Dengan perlakuan perendaman selama penyimpanan, total bakteri turun drastis menjadi 10^3 CFU/ pada hari ke-2. Nilai ini bertahan sampai hari ke-9.

Dari pengamatan yang dilakukan, perlakuan dengan perendaman dalam ekstrak sirih, menunjukkan penurunan baik total bakteri secara keseluruhan, maupun total pseudomonad. Selain itu hasil pengamatan juga menunjukkan perbedaan waktu kontak yang diberikan menghasilkan penurunan jumlah bakteri yang berbeda.

KESIMPULAN

Perbedaan Pelarut menghasilkan perbedaan jenis komponen yang dapat diekstrak dan perbedaan daya antibakteri, yaitu ekstrak n̄ air menghasilkan aktivitas mikroorganisma terendah dan etanol tertinggi.

Penggunaan ekstrak sirih pada ikan dapat menurunkan bakteri pseudomonads dan total bakteri aerob selama penyimpanan pada suhu 4°C, sehingga dapat memperpanjang masa simpan ikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Balasubrahmanyam, V.R. and A.K.S. Rawat. 1992. Flavor Characteristic of *Piper betle* L. Spices and Aromatic Crops. 1, 30 - 38.
- Burkill, I.H. 1935. *A Dictionary of the Economic Product the Malay Peninsula*, vol. II. London.
- Dharma, A.P. 1985. *Tanaman Obat Tradisional Indonesia*. Balai Pustaka. Jakarta.

- Ekundayo, O., I Lakso, R.M. Adegbola, B. Oguntmei, A. Sofowora dan R. Hiltunene, 1988. Essential Oil of Ashanti Peper (*Piper quineese*) Fruits (Berries). *J. Agric. Food Chem.* 38 : 880-882.
- Frazier, W.C., 1977. *Food Microbiology*. 2nd Ed. Mc Graw Hill Publishing Company Ltd. New Delhi.
- Garg, S.C., R. Jain. 1992. Biological Activity of the Essential Oil of *Piper betle* L. *J. Essent. Oil Res.* 44 : 601-606.
- Harahap, A.N. 1996. Mempelajari Keamanan Antioksidan Daun Sirih (*Piper betle* L) Dosis Tinggi Secara *In Vivo* dan *In Vitro*. *Skripsi*, Fakultas Teknologi Pertanian IPB, Bogor.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia II*. Diterjemahkan oleh Badan Litbang Kehutanan. Yayasan Sarana Wanajaya. Jakarta.
- Ilyas, S. 1988. Meraih Nilai Maksimum Pemasaran Ikan Segar. *Prosiding Pertemuan Teknis Peranan Metode Pendinginan Dalam Mendukung Pemasaran Ikan*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian Jakarta.
- Jansen A.M., J.J.C. Scheffer, S.A. Baerheim. 1986. Antimicrobial Activity of Essential Oils : A 1976 - 1986 Literatur Review Aspect of the Test Methods. *Planta Medica.* 53 : 5, 395 -397.
- Ketaren, S. 1985. *Pengantar Teknologi Minyak Atsiri*. Balai Pustaka. Jakarta.
- Oehadian, H. 1997. Daya Hambat Rebusan Daun Sirih (*Piper betle* L) Terhadap Jamur *Candida Albicans*. *Laporan Penelitian*. Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran. Bandung.
- Orjala, J., C.A.J. Erdelmeier, A.D. Wright, T. Rali, dan O. Sticher. 1993. Five New Prenylated p-Hydroxybenzoic Acid Derivates with Antimicrobial and Mollucicidal Activity from *Piper Aduncum* Leaves. *J. Planta Med.* 59:547-551.
- Perry, R.H. and D. Green. 1984. *Perry's Chemical Engineers Handbook*. 6 th. McGraw Hill International, Singapore
- Sivropoulou, A., Papinikolaou, E. Papinikolaou, C, Nokolaou, S. Kokkini. 1996. Antimicrobial and Cytotoxic Activites of *Origanum* Essential Oil. *J. Agric. Food Chem.* 44, 1202 - 1205.
- Sudibyo, M. 1991. Sirih. *Seminar Sirih*. Yogyakarta, 3 Juli 1991.
- Sundari, S., R.S. Sumadilaga, dan R.M Soelarko. 1991. Aktivitas Antibakteri Daun Sirih (*Piper betle* L) Terhadap Bakteri Gingivitas dan Bakteri Pembentuk Plak/Karies Gigi (*Streptococcus mutans*). *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*. I : I, 14.
- Sundari, S. Koensoemardijah, Nusratini. 1991. Minyak Atsiri Daun Sirih dalam Pasta Gigi, Stabilitas Fisis dan Daya Anti Bakterinya. *Seminar Sirih*. Yogyakarta, 3 Juli 1991.
- Winholz M., 1983. *The Merc Index, An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologocals*. 10 th ed. Merck aand Co. Inc.