

## **Aktivitas Antibakteri Minuman Sinbiotik Cincau Hijau dengan Penambahan Sari Buah Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Selama Penyimpanan**

### ***Antibacterial Activity Of Premna Oblongifolia Merr Synbiotic Beverage With Addition Fruit Juice Against Staphylococcus aureus and Escherichia coli During Storage***

**Samsul Rizal<sup>1\*</sup>, Murhadi<sup>1</sup>, Suharyono<sup>1</sup>, Fibra Nurainy<sup>1</sup>, Eka Putri Asrialni<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Lampung

<sup>2</sup> Alumni Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Lampung

\*Email : samsul.rizal@fp.unila.ac.id

#### **ABSTRACT**

*Synbiotic beverage of Premna oblongifolia Merr extract has the ability to suppress the growth of pathogenic bacteria that cause diarrhea, such as Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, and Salmonella sp. This study was conducted to determine the antibacterial activity of synbiotic beverage of Premna oblongifolia Merr extract with the addition of guava or pineapple fruit juice against the test bacteria, Staphylococcus aureus, and Escherichia coli during storage time. Products were stored for 28 days in the refrigerator (4°C ± 2°C). Antibacterial activity was assayed by the agar diffusion method. The average of the data was presented on tables and diagrams, then analyzed descriptively. The results showed that the inhibition of Escherichia coli growth was greater than Staphylococcus aureus. Synbiotic beverage of Premna oblongifolia Merr extract with addition of guava juice during storage produce a log of total BAL range from 10,90-10,27 Log colonies/ml, equivalent to 8,0x10<sup>10</sup>-1,9x10<sup>10</sup> CFU/ml, total acid 0,50-0,90%, and pH 3,61-3,84, while the addition of pineapple juice has resulted in a log of total BAL range from 10,82-10,11 Log colonies/ml, equivalent to 6,8x10<sup>10</sup>-1,3x10<sup>10</sup> CFU/ml, total acid 0,54-0,95%, and pH 3,52-3,76.*

**Keywords:** *synbiotic beverage, Premna oblongifolia Merr, fruit juice; antibacterial activity*

**Disubmit:** 25 September 2019; **Diterima:** 02 Oktober 2019, **Disetujui:** 05 Oktober 2019

#### **PENDAHULUAN**

Minat masyarakat terhadap makanan dan minuman kesehatan yang cenderung meningkat mendorong perkembangan diversifikasi pangan, terutama yang berbahan dasar komoditi lokal. Produk kesehatan yang diminati terutama produk-produk yang dapat menstimulasi kekebalan tubuh, seperti minuman sinbiotik. Ekstrak cincau hijau mengandung pektin hingga 40% (Nurdin, 2005). Pektin termasuk jenis serat pangan larut air yang dapat difermentasi dengan baik oleh mikroflora usus besar (Gallaher, 2000). Ekstrak cincau hijau dapat dijadikan sebagai substrat untuk pertumbuhan bakteri probiotik *L. casei* dan *L. plantarum* (Nurdin dan Nurainy, 2007). Minuman sinbiotik dari ekstrak cincau hijau memiliki kemampuan menekan pertumbuhan bakteri-bakteri patogen penyebab diare, seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, dan *Salmonella sp* (Rizal, et al., 2019).

Penambahan sari buah jambu biji atau sari buah nanas diketahui dapat memperbaiki penerimaan panelis terhadap minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dan meningkatkan aktivitas antioksidannya (Syah, 2013; Nurainy, *et al.*, 2018). Selain itu, penambahan sari buah tersebut diduga dapat meningkatkan kemampuan aktivitas antibakteri karena jambu biji mengandung flavonoid dan tannin (Parimin, 2007), dan nanas mengandung tannin, asam fenolat, dan flavonoid (SabahelKhier *et al.*, 2010) yang dapat berfungsi sebagai antimikroba (SabahelKhier *et al.*, 2010).

Efektifitas pemanfaatan minuman sinbiotik dapat dilihat dari seberapa besar kemampuan minuman tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri patogen pangan penyebab diare. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri uji, yaitu bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* dan bakteri Gram negatif *Escherichia coli*. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar sumur. Selama masa penyimpanan diduga akan terjadi beberapa perubahan pada minuman sinbiotik, salah satunya terhadap daya aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan aktivitas antibakteri serta pengaruh lama penyimpanan terhadap kemampuan aktivitas antibakteri minuman sinbiotik cincau hijau yang ditambahkan sari buah jambu biji atau sari buah nanas.

## METODE PENELITIAN

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun cincau dari tanaman cincau pohon (*Premna oblongifolia Merr*), jambu biji merah varietas Getas, nanas jenis *queen*, susu skim, glukosa, asam sitrat, aquades, NaOH 0,1 N, NaCl 0,85%, indikator fenolftalin, larutan buffer 7,0, inokulum kultur murni *Lactobacillus casei*, dan kultur bakteri uji yang terdiri dari *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang disimpan dalam refrigerator suhu  $10^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Media yang digunakan adalah MRS Broth, MRS Agar, Nutrient Broth, dan Nutrient Agar.

Alat-alat yang digunakan antara lain timbangan analitik dua digit (Mettler PJ 3000), *laminary flow* (merk Esco), pH meter (Hanna Instruments 8424), oven (Heraeus dan Philips Harris Ltd), *blender* (Sharp), *autoclave* (Wise Calve, Daihan Scientific), inkubator (Mettmert), *colony counter* (Stuart Scientific), mikropipet (Thermo Scientific), fermentor, alat pembuat sumur, dan alat-alat lainnya untuk analisis mikrobiologi.

**Metode Penelitian.** Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan data kualitatif pengujian aktivitas antibakteri minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji atau nanas terhadap bakteri uji, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Penelitian diawali dengan pembuatan bubuk daun cincau dan dilanjutkan dengan proses ekstraksi bubuk daun cincau hijau dengan menggunakan metode Nurdin *et al.* (2004). Pembuatan sari buah jambu biji atau nanas dilakukan dengan menggunakan metode Rizal *et al.* (2006) yang telah dimodifikasi. Buah yang telah dikupas kulitnya kemudian diblansir pada suhu  $76^{\circ}\text{C}$  selama 5 menit. Setelah itu buah diparut dan disaring sehingga didapatkan sari buah.

Proses pembuatan minuman sinbiotik dari ekstrak cincau hijau dengan penambahan jambu biji dan nanas diterapkan dengan menggunakan metode yang telah dilakukan pada penelitian sebelumnya (Nurdin dan Nurainy, 2007). Sebanyak 2% (b/v) susu skim, 2% (b/v) glukosa, 0,5% (b/v) ekstrak cincau hijau, dan 15% (b/v) sari buah jambu biji atau nanas dimasukkan ke dalam masing-masing fermentor kemudian ditambahkan aquades hingga volumenya menjadi 120 ml. Campuran ini selanjutnya diaduk hingga rata menggunakan spatula kaca selama 30 detik. Kemudian campuran tersebut dipasteurisasi pada suhu  $76^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit, selanjutnya didinginkan hingga suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Kultur kerja *Lactobacillus casei* sebanyak 4% (v/v) diinokulasi ke dalam media dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam.

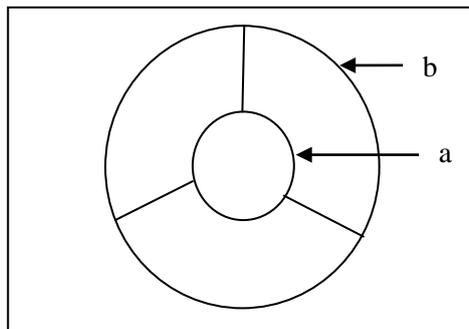
Produk minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji atau nanas kemudian disimpan selama 28 hari dalam refrigerator suhu  $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Pengamatan dan pengujian dilakukan setiap 7 hari sekali meliputi total bakteri asam laktat (Fardiaz, 1989), total asam laktat AOAC (2000), nilai

pH (Fardiaz, 1989), dan aktivitas antibakteri dari masing-masing produk. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode sumur (difusi agar) (Murhadi, 2010). Setiap percobaan dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali secara *duplo*. Data yang diperoleh diambil rata-ratanya, kemudian disajikan dalam bentuk tabel serta diagram dan dianalisis secara deskriptif.

**Pengujian aktivitas antibakteri.** Pengukuran penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri uji dilakukan dengan menggunakan metode Murhadi (2010) yang dimodifikasi. Pada penelitian ini aktivitas penghambatan antibakteri hanya diukur berdasarkan luas areal bening yang terbentuk oleh sampel produk di sekitar sumur uji, tanpa perhitungan luas areal bening yang terbentuk dari pelarut pengencer ke dalam sumur uji yang lain. Zona penghambatan yang diukur adalah jari-jari ( $r$ , mm) penghambatan berupa areal bening di sekeliling sumur uji, setelah diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Pengukuran jari-jari ( $r_p$ , mm) zona hambat di sekeliling sumur uji dilakukan dengan cara mengukur jarak dari tepi sumur uji ke batas lingkaran zona hambat menggunakan jangka sorong pada beberapa sisi sumur uji, lalu dirata-ratakan. Selanjutnya nilai diameter ( $d$ , mm) zona hambat hasil pengamatan langsung, diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

$$d = 2 \times r_p$$

Pengukuran dilakukan dari tepi lubang sampai batas areal bening seperti pada Gambar 1.



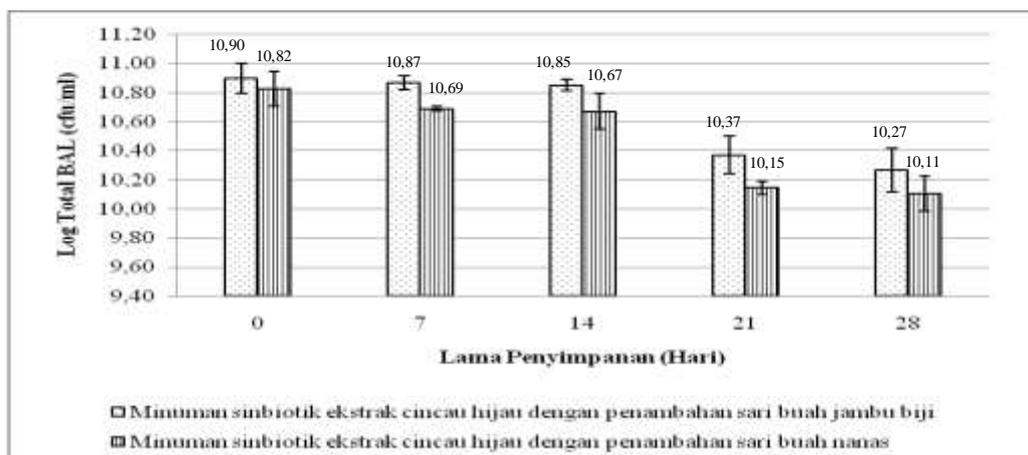
Gambar 1. Pengukuran zona penghambatan  
Sumber: Murhadi (2010)

Keterangan:

- a. Tepi lubang sumur
- b. Batas areal bening

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Total Bakteri Asam Laktat.** Total bakteri asam laktat minuman sinbiotik ekstrak cincou hijau baik dengan penambahan sari buah jambu biji maupun sari buah nanas selama penyimpanan hari ke 0 sampai hari ke 14 mengalami penurunan, namun nilai tersebut relatif hampir sama. Selama penyimpanan hari ke 21 dan ke 28 menunjukkan perbedaan penurunan total bakteri asam laktat yang signifikan atau cenderung berbeda. Data total bakteri asam laktat yang dihasilkan dari minuman sinbiotik ekstrak cincou hijau disajikan dalam Gambar 2.



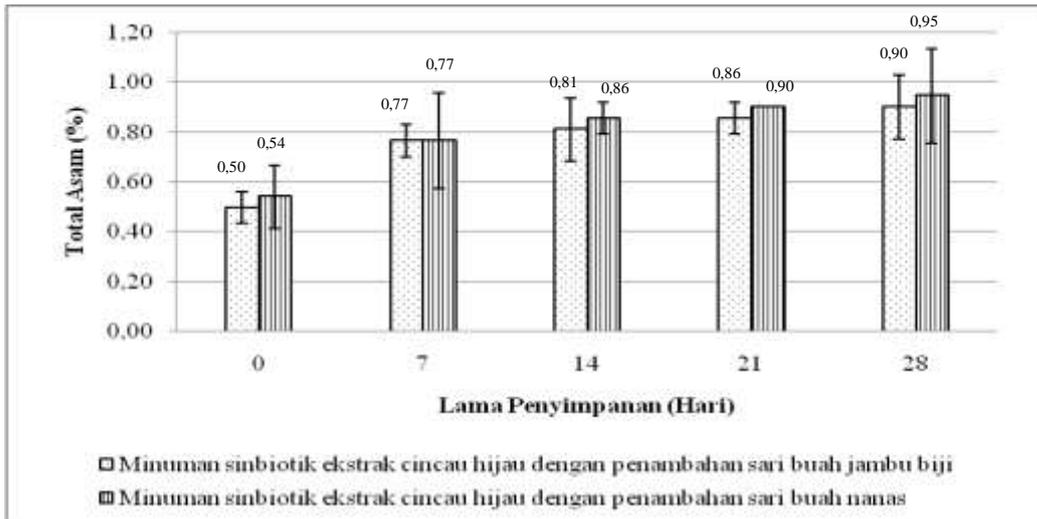
Gambar 2. Log total bakteri asam laktat minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji dan nanas

Total bakteri asam laktat yang dihasilkan dari minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji pada penyimpanan 28 hari berkisar antara  $10,90-10,27$  cfu/ml atau setara dengan  $8,0 \times 10^{10}-1,9 \times 10^{10}$  cfu/ml. Minuman sinbiotik dengan penambahan sari buah nanas menghasilkan total bakteri asam laktat berkisar antara  $10,82-10,11$  atau setara dengan  $6,8 \times 10^{10}-1,3 \times 10^{10}$  cfu/ml. Data ini didukung dengan penelitian Amelia (2010) yang menunjukkan terjadi penurunan total BAL minuman sinbiotik cincau hijau selama penyimpanan 28 hari, yaitu berkisar  $10,12-9,54$  cfu/ml.

Turunnya total bakteri asam laktat menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri asam laktat dalam minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau juga mengalami penurunan. Penurunan pertumbuhan bakteri asam laktat tersebut disebabkan terjadinya persaingan antara bakteri asam laktat karena nutrisi dalam media dan energi cadangan di dalam sel BAL telah habis, sehingga aktivitas bakteri tersebut menurun dan pertumbuhannya terhambat. Selain itu, sebagian besar BAL telah melewati fase eksponensial dan telah menuju ke fase kematian logaritmik. Penurunan tersebut juga dapat disebabkan oleh hasil metabolisme BAL sendiri yang kemungkinan beracun, sehingga dapat menyebabkan kematian sel. Penurunan jumlah bakteri asam laktat yang terjadi selama penyimpanan akan mempengaruhi produktifitas asam laktat. Semakin banyak bakteri asam laktat yang mati, maka asam laktat yang dihasilkan semakin berkurang.

Pada Gambar 2 terlihat bahwa total bakteri asam laktat pada minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji lebih tinggi dibandingkan dengan penambahan sari buah nanas. Hal ini diduga karena kandungan gula dari buah jambu biji lebih besar dibandingkan dengan buah nanas, yaitu sebesar 3,71% (Winarti, 2010) sedangkan kandungan gula buah nanas sebesar 2,70% (Asiedu *et al.*, 2009). Kandungan gula pada sari buah tersebut merupakan sumber karbon yang dibutuhkan mikroorganisme untuk pertumbuhan dan penyusunan komponen sel serta pembentukan metabolit selama fermentasi.

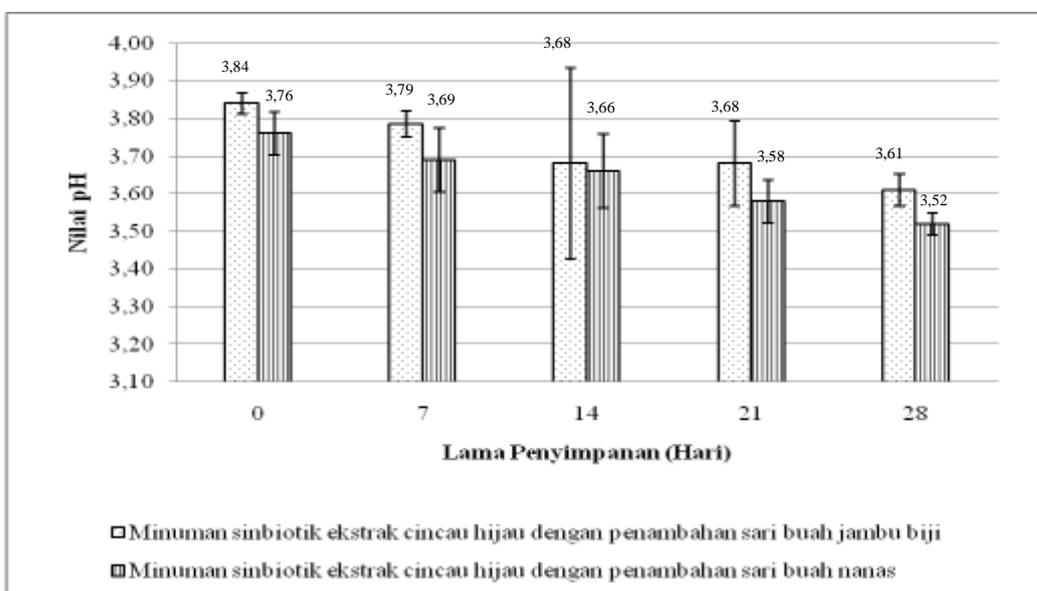
**Total Asam Laktat.** Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi peningkatan total asam minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji ataupun sari buah nanas. Peningkatan tersebut disebabkan oleh terakumulasinya total asam pada minuman sinbiotik yang diproduksi oleh bakteri asam laktat. Gambar 3 memperlihatkan bahwa total asam minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji mengalami peningkatan selama penyimpanan 28 hari, namun pada penyimpanan hari ke 7 sampai hari ke 28 nilai total asam tersebut relatif sama. Total asam minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah nanas juga mengalami peningkatan dengan nilai yang relatif sama atau tidak berbeda nyata selama penyimpanan 28 hari. Total asam laktat yang relatif sama selama penyimpanan disebabkan karena jumlah bakteri asam laktat yang memproduksi asam mengalami penurunan selama penyimpanan. Hal tersebut menyebabkan seiring bertambahnya masa simpan, maka produksi asam laktat semakin rendah. Dengan demikian asam laktat yang terakumulasi dalam media fermentasi juga semakin sedikit.



Gambar 3. Total asam minuman sinbiotik ekstrak cincou hijau dengan penambahan sari buah jambu biji dan nanas

Total asam tertitrasi yang dihasilkan minuman sinbiotik ekstrak cincou hijau dengan penambahan sari buah jambu biji selama penyimpanan 28 hari berkisar antara 0,50%-0,90%, sedangkan total asam yang dihasilkan minuman sinbiotik ekstrak cincou hijau dengan penambahan sari buah nanas berkisar 0,54%-0,95%. Data ini didukung oleh penelitian Amelia (2010) yang menunjukkan terjadi peningkatan total asam minuman sinbiotik cincou hijau selama penyimpanan 28 hari, yaitu berkisar 0,42%-0,87%. Kandungan asam pada minuman sinbiotik ini juga berasal dari penguraian sukrosa dan laktosa yang ada pada susu skim menjadi senyawa yang lebih sederhana. Kemudian dilanjutkan dengan penguraian pektin yang terdapat pada cincou dan sari buah yang ditambahkan menjadi monomer-monomer yang lebih sederhana (Dongowski *et al.*, 2002).

**Nilai pH (Derajat Keasaman).** Hasil penelitian menunjukkan pH minuman sinbiotik ekstrak cincou hijau dengan penambahan sari buah jambu biji maupun sari buah nanas selama penyimpanan 28 hari mengalami penurunan, namun nilai tersebut relatif sama antar penyimpanan (Gambar 4). Nilai pH yang dihasilkan dari minuman sinbiotik ekstrak cincou hijau dengan penambahan sari buah jambu biji selama penyimpanan 28 hari berkisar antara 3,84-3,61, sedangkan nilai pH minuman sinbiotik yang ditambahkan sari buah nanas berkisar antara 3,76-3,52. Data ini didukung oleh hasil penelitian Amelia (2010) yang menunjukkan terjadi penurunan nilai pH minuman sinbiotik cincou hijau selama penyimpanan 28 hari, yaitu berkisar 4,10-3,80.



Gambar 4. pH minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji dan nanas

Proses pembuatan minuman sinbiotik cincau hijau, terjadi proses fermentasi yang akan menurunkan pH. Penurunan pH terjadi akibat pemecahan polimer pektin cincau, glukosa, dan laktosa menjadi monomer yang lebih sederhana. Penguraian senyawa-senyawa tersebut oleh bakteri asam laktat akan menghasilkan energi untuk bakteri asam laktat, serta menghasilkan senyawa-senyawa lain termasuk asam laktat. Peningkatan jumlah asam laktat minuman sinbiotik cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji atau sari buah nanas akan menyebabkan keasaman minuman tersebut meningkat, sehingga terjadi penurunan pH. Pada penelitian yang telah dilakukan terjadi penurunan pH yang diikuti dengan peningkatan nilai total asam.

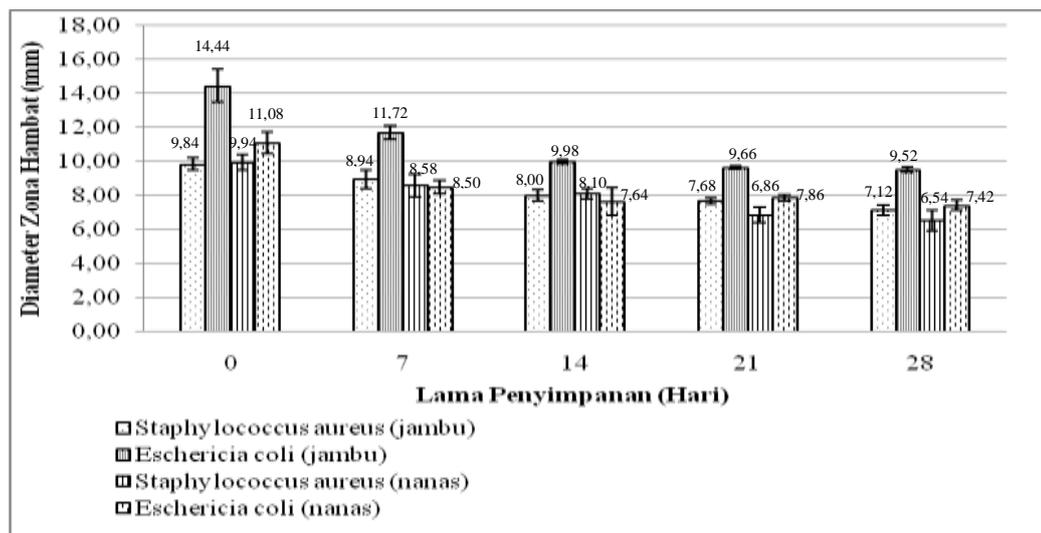
Nilai pH yang dihasilkan minuman sinbiotik pada penelitian ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hal tersebut disebabkan karena *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada interval pH 4,5-9,3 dengan pH optimum antara 7,0-7,5, sedangkan *Escherichia coli* dapat tumbuh pada pH 4-9. Berdasarkan data yang diperoleh, nilai pH minuman sinbiotik yang dihasilkan pada penelitian lebih rendah dibandingkan pH pertumbuhan kedua bakteri uji.

**Aktivitas Antibakteri.** Hasil pengujian aktivitas antibakteri minuman sinbiotik dinyatakan dalam diameter penghambatan sebagaimana disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 5. Diameter penghambatan minuman sinbiotik yang ditambahkan sari buah jambu biji terhadap *Escherichia coli* pada penyimpanan selama 28 hari berkisar antara 14,44-9,52 mm. Nilai penghambatan tersebut lebih besar jika dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus*, yaitu sebesar 9,84-7,11 mm. Diameter penghambatan minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau yang ditambahkan sari buah nanas terhadap *Escherichia coli* pada penyimpanan selama 28 berkisar antara 11,08-7,42 mm. Nilai penghambatan tersebut lebih besar jika dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus*, yaitu sebesar 9,94-6,54 mm. Data ini didukung dengan penelitian Amelia (2010) yang menghasilkan diameter hambat minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau terhadap *Escherichia coli* dengan nilai berkisar antara 10,11-7,11 mm dan penghambatan terhadap *Staphylococcus aureus* berkisar antara 9,50-6,11 mm selama penyimpanan 28 hari.

Tabel 1. Diameter penghambatan minuman sinbiotik cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji dan nanas terhadap bakteri uji

Produk	Bakteri Uji	Diameter Penghambatan (mm) pada hari ke-				
		0	7	14	21	28
Minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji	<i>S. aureus</i>	9,84	8,94	8,00	7,68	7,12
	<i>E. coli</i>	14,44	11,72	9,98	9,66	9,52
Minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah nanas	<i>S. aureus</i>	9,94	8,58	8,1	6,86	6,54
	<i>E. coli</i>	11,08	8,50	7,64	7,86	7,42

Berdasarkan data hasil penelitian dapat dilihat bahwa daya aktivitas antibakteri minuman sinbiotik cincau hijau baik dengan penambahan sari buah jambu biji maupun sari buah nanas terhadap bakteri uji *Escherichia coli* lebih besar dibanding terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa ketahanan bakteri Gram negatif *Escherichia coli* lebih rendah dibandingkan dengan bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus*. Menurut Volk dan Wheeler (1993), dinding sel organisme Gram positif cukup tebal (20-80 nm) yang terdiri dari 60-100% peptidoglikan, sedangkan bakteri Gram negatif hanya terdiri dari 10-20%. Peptidoglikan berfungsi melindungi sel dari lisis osmotik dan membuat dinding sel menjadi kaku, sehingga ketahanan sel akan meningkat.



Gambar 5. Daya aktivitas antibakteri minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji dan nanas

Pada uji aktivitas antibakteri yang telah dilakukan, diduga bahwa nutrisi yang ditambahkan berupa susu skim dimanfaatkan oleh *Staphylococcus aureus* sebagai sumber nitrogen untuk memenuhi fungsi fisiologis dari mikroba tersebut, yaitu merupakan bagian dari protein, asam nukleat dan koenzim yang sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroba tersebut (Fardiaz, 1989). Aktivitas antibakteri pada minuman sinbiotik dipengaruhi oleh kandungan asam laktat. Asam laktat yang terakumulasi dapat menyebabkan turunnya nilai pH minuman sinbiotik, sehingga meningkatkan keasaman produk. Selain menghasilkan asam laktat, BAL juga menghasilkan bakteriosin yang bersifat antimikroba.

Aktivitas antibakteri pada minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau juga dipengaruhi oleh kandungan senyawa antibakteri yang terdapat pada ekstrak cincau hijau, yaitu flavonoid, polifenol, dan alkaloid (Branen dalam Murhadi, 2010). Senyawa polifenol dan flavonoid merupakan senyawa golongan dari fenol. Menurut Singh dan Bharate (2005), senyawa fenol memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara inaktivasi protein (enzim) pada membran sel. Menurut Juliantina *et al.* (2008), senyawa alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut.

Aktivitas antibakteri pada minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji dipengaruhi oleh kandungan senyawa antibakteri yang ada pada sari buah jambu biji yang ditambahkan. Menurut Parimin (2007), jambu biji mengandung flavonoid dan tanin yang dapat berfungsi sebagai antimikroba. Akiyama *et al.* (2001) menyatakan secara garis besar mekanisme antibakteri tanin

ialah toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri, serta senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba.

Aktivitas antibakteri pada minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah nanas juga dipengaruhi oleh kandungan senyawa antibakteri berupa tanin, asam fenolat, dan flavonoid yang terdapat pada sari buah nanas. Fenolat dapat merusak dan mengganggu struktur membran lipid bilayer dengan penetrasi ke membran dan mengganggu fungsi pertahanan. Hal ini menyebabkan fusi membran yang mengakibatkan kebocoran materi dan agregasi intramembran (Iryani, 2009).

Berdasarkan ketentuan David dan Stout (1971), daya hambat bakteri tergolong sangat kuat bila bernilai  $>20$  mm, kuat bila bernilai 10-20 mm, sedang bila bernilai 5-10 mm, dan tergolong lemah bila bernilai  $>5$  mm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kekuatan daya hambat minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* selama penyimpanan 28 hari tergolong sedang, yaitu berkisar antara 7,12-9,84 mm. Kekuatan daya hambat minuman tersebut terhadap bakteri uji *Eschericia coli* pada penyimpanan selama 0 dan 7 hari tergolong kuat, karena menghasilkan diameter hambat berkisar 11,72-14,44 mm. Selama penyimpanan pada hari ke 14 sampai hari ke 28, daya hambat menurun dengan kekuatan yang tergolong sedang, yaitu berkisar 9,52-9,98 mm.

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa kekuatan daya hambat minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah nanas terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* selama penyimpanan 28 hari tergolong sedang, yaitu berkisar antara 6,54-9,94 mm. Kekuatan daya hambat minuman tersebut terhadap bakteri uji *Eschericia coli* pada penyimpanan selama 0 hari tergolong kuat, karena menghasilkan diameter hambat sebesar 11,08 mm. Namun, ketika minuman sinbiotik disimpan selama 17 sampai 28 hari, daya penghambatannya menurun dengan kekuatan yang tergolong sedang, yaitu berkisar 7,42-8,50 mm.

Pada Gambar 5 dapat dilihat, secara umum daya hambat minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji terhadap kedua bakteri uji selama penyimpanan 28 hari lebih besar dibandingkan dengan daya hambat minuman sinbiotik yang ditambahkan sari buah nanas. Hal ini diduga karena aktivitas antioksidan minuman sinbiotik sari buah jambu biji lebih tinggi dibanding dengan sari buah nanas. Menurut Syah (2013) sari buah jambu biji mengandung aktivitas antioksidan yang lebih besar yaitu 64,13%, sedangkan sari buah nanas sebesar 58,27%. Cowan (1999) menyatakan aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh senyawa metabolit sekunder tumbuhan sangat penting karena dapat berfungsi sebagai penangkap radikal bebas dan memiliki peran dalam mekanisme pertahanan terhadap mikroorganisme, serangga dan herbivora. Aktivitas ini dimiliki karena kemampuannya membentuk kompleks dengan protein yang larut dan protein ekstraseluler, dan dapat membentuk kompleks dinding sel bakteri, sehingga dapat berfungsi sebagai antibakteri.

Gambar 5 menunjukkan bahwa daya hambat minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji terhadap kedua bakteri uji mengalami penurunan dengan nilai yang relatif berbeda antar penyimpanan. Namun daya hambat minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah nanas terhadap kedua bakteri uji mengalami penurunan dengan nilai yang relatif sama selama penyimpanan hari ke 7 sampai hari ke 28. Penurunan daya hambat yang terjadi diduga karena selama masa penyimpanan terjadi penurunan kualitas senyawa antibakteri yang terkandung dalam minuman sinbiotik tersebut.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa daya hambat minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau yang ditambahkan sari buah jambu biji mengalami penurunan dengan nilai yang relatif berbeda antar penyimpanan. Hal ini diduga karena kandungan pektin pada buah jambu biji lebih besar dibandingkan dengan nanas. Pektin dalam buah jambu biji mencapai 0,5-1,8% (Jagtiani *et al.*, 1988), sedangkan kandungan pektin pada buah nanas sebesar 0,06-0,16% (Hidayah, 2012).

Pektin merupakan penyusun terbesar komponen pembentuk gel, sehingga semakin tinggi kandungan pektin dalam larutan maka viskositas larutan akan semakin tinggi. Selama penyimpanan diduga terjadi peningkatan viskositas pada produk yang menyebabkan berkurangnya kemampuan berpenetrasi pada dinding sumur uji. Larutan dengan viskositas tinggi akan sulit melakukan difusi dibandingkan dengan larutan dengan viskositas yang lebih rendah. Oleh karena itu, terjadi penurunan kekuatan daya hambat minuman sinbiotik selama masa penyimpanan.

## KESIMPULAN

Minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* berturut-turut dengan diameter hambat berkisar antara 7,12-9,84 mm dan 9,52-14,44 mm selama masa penyimpanan 28 hari. Penghambatan terbesar dari minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau baik dengan penambahan sari buah jambu biji atau dengan penambahan sari buah nanas terjadi pada bakteri uji *Escherichia coli*. Daya aktivitas antibakteri minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji yang telah mengalami masa penyimpanan mengalami penurunan baik pada bakteri uji *E. coli* maupun *S. aureus*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akiyama, H., K. Fujii, O. Yamasaki. 2001. Antibacterial Action of Several Tannins Against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 48: 487-491.
- Amelia, Z.R. 2010. Kajian Aktivitas Antibakteri Minuman Sinbiotik Cincau Hijau Terhadap Bakteri Patogen Penyebab Diare Selama Penyimpanan. (Skripsi). Unila.
- AOAC. 2000. Official methods of analysis of the association of official analytical chemist, chapter 28. Washington DC. Association of Official Chemist.
- Asiedu, M.S, W. Wardy, F.K. Saalia, A.S. Budu and S.S Dedeh. 2009. *A comparison of some physical, chemical and sensory attributes of three pineapple (Ananas cosmosus) varieties grown in ghana. Jurnal Ilmu Pengetahuan*. 3(1) : 022-025.
- Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12:546-582.
- David, W.W., T.R. Stouth. 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. *Journal of Microbiology*. 22(4):659-665.
- Dongowski, G., A. Lorenz, and Proll. 2002. The degree of methylation influence the degradation of pectin in the intestinal tract of rats and in vitro. *Jurnal Nutrisi*. 132:1935-1944.
- Fardiaz, S. 1989. Penuntun Praktikum Mikrobiologi Pangan. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Gallaher, D. 2000. Dietary Fiber and Its Physiological Effect in Essential of Functional Food. Aspen Publisher. Mayland.
- Gariga, M., M. Hugas, T. Aymerich, and J.M. Monfort. 1993. Bacteriogenic Activity of *Lactobacilli* from Fermented Sausage. *App. Bacteriol*. 75:142-148.
- Hidayah, N. 2012. Pembuatan Jam Nanas. <http://nurhidayah3tphp3.blogspot.com>. Diakses pada tanggal 30 Januari 2014.
- Iryani, M. 2009. Physicochemical Profiling and Detection of Phenolic Constituents with Antioxidant and Antibacterial Activities of *Myristica fragrans* Houtt. Tesis. Universiti Sains Malaysia.

- Jagtiani, J., H.T. Chan, and W. Sakai. 1988. Tropical Fruit Processing. Academic Press. Inc. Tokyo. 36:12-19.
- Juliantina. F.R., D.A. Citra, B. Nirwani. 2008. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Anti Bakteri Terhadap Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*.
- Murhadi. 2002. Isolasi dan Karakteristik Komponen Antibakteri dari Biji Atung. Disertasi. Program Pasca Sarjana. IPB. Bogor. 192 hlm.
- Murhadi. 2010. Antimikroba dari Tanaman: golongan senyawa, sumber, dan aktivitasnya. Buku Referensi (ISBN 978-979-8510-16-8; Oktober 2010). Cetakan Pertama. Penerbit Lembaga Penelitian Universitas Lampung. Bandar Lampung. hlm 2-36.
- Nurainy, F. dan S.U. Nurdin. 2007. Produksi Minuman Sinbiotik dari Ekstrak Cincau Hijau (*Premna Oblongifolia Merr*) sebagai Minuman Fungsional. Laporan Penelitian Dosen Muda. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Nurainy, F., Rizal, S., Suharyono, dan Umami, E. 2018. Karakteristik Minuman Probiotik Jambu Biji (*Psidium guajava*) pada Berbagai Variasi Penambahan Sukrosa dan Susu Skim. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 7 (2): 47-57.
- Nurdin, S.U., A.S.Zuidar, dan R. Krisnawati. 2004. Pengaruh konsentrasi asam sitrat terhadap rendemen dan sifat serat pangan dari daun cincau pohon (*Premna oblongifolia Merr*). *Prosiding Seminar Nasional dan Kongres PATPI*. Jakarta, 17-18 Desember 2004.
- Nurdin, S.U. 2005. Green cincau leaves (*Premna oblongifolia Merr*) as potential sources of pectin-rich plant extract. *Artocarpus*. 5(1): 24-27.
- Parimin. 2007. Jambu Biji: Budi Daya dan Ragam Pemanfaatannya. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Rizal, S., Marniza dan S.U.Nurdin. 2006. Optimasi Proses Pengolahan Minuman Probiotik dari Kulit Nenas dan Pengaruhnya Terhadap Mikroflora Usus Besar Tikus Percobaan. Laporan Akhir Penelitian. TPSDP Unila. Bandar Lampung.
- Rizal, S., Suharyono, Amelia, J.R. 2019. Pengaruh Penambahan Larutan Sukrosa terhadap Aktivitas Antibakteri Minuman Sinbiotik Ekstrak Cincau Hijau selama Penyimpanan pada Suhu Dingin. *Jurnal Ilmu Pertanian AGRIC*. Fakultas Pertanian UKSW. Vol 31 (1): 53-66.
- SabahelKhier, K.M., A.S. Hussain, K.E.A. Ishag. 2010. *Effect of Maturity Stage on Protein Fractionation, In Vitro Protein Digestibility and Anti-nutrition Factors in Pineapple (Ananas comosis) Fruit Grown in Southern Sudan. African Journal of Food Science*. 4(8) : 550-552.
- Singh, I.P., S.B. Bharate. 2005. Anti-HIV Natural Products. *Journal Current Science*. 89(2):269-290.
- Syah, I.L.R. 2013. Pemanfaatan Minuman Sinbiotik Ekstrak Daun Cincau Hijau (*Premna oblongifolia Merr*.) dengan Penambahan Sari Buah Terhadap Total Mikroba, Parameter Kimia, Organoleptik dan Status Antioksidan Hati Mencit. (Tesis). Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Volk, W.A and M.F. Wheeler. 1993. Basic Microbiology: Fifth Edition. Harper and Row Publisher Inc. New Jersey, Emeritus. 369 pp.
- Winarti, S. 2010. Makanan Fungsional. Graha Ilmu. Yogyakarta.