



Uji potensi ekstrak etanol daun nimba (*Azadiractha indica*) sebagai bahan pengawet pada ikan tongkol (*Auxis thazard*)

Ade Lestrari Rambu Leba¹, Nemay A. Ndaong², Maria AEGA Gelolodo³

¹*Faculty of Veterinary Medicine, Nusa Cendana University, Kupang*

²*Laboratory of AFFB Faculty of Veterinary Medicine, Nusa Cendana University, Kupang*

³*Laboratory of IPHK Faculty of Veterinary Medicine, Nusa Cendana University, Kupang*

Abstract

<p>Riwayat Artikel: Diterima: 17 Januari 2019 Direvisi: 20 Januari 2019 Disetujui: 1 Februari 2019</p>	<p><i>This study aimed to the capability of the ethanol leaf extract obtained from neem (<i>Azadiractha indica</i>) as preservatives for frigate mackerel (<i>Auxis thazard</i>). Analysis was carried out by looking at the storability of the fish with two parameters, which are pH and total plate count (TPC). The samples were treated with different treatments by using different extract concentrations. This study was an experimental laboratory research using completely randomized design method with three replications of factorial 5x4. There were 5 treatments, 10% formalin (positive control), ice (negative control), 5% concentration of ethanol extract of neem leaves (K1), 10% concentration of ethanol extract of neem leaves (K2), 15% concentration of ethanol extract of neem leaves (K3). The mackerel were soaked for two hours, then stored at room temperature. The measurement of pH and TPC were done at 0 hour, 2 hours, 7 hours, and 12 hours. The result of this study showed that pH and TPC values gradually increased along with the length of time of observation. The ethanol leaf extract of neem (<i>Azadiractha indica</i>) as preservatives on the mackerel had storability for 2-7 hours. It can be concluded that the higher concentration of ethanol leaf extract of neem, the higher inhibitory effect on bacterial growth will be.</i></p>
<p>Keywords: <i>neem leaves, preservatives, cob</i></p>	
<p>Korespondensi : nemayndanong@gmail.com</p>	

PENDAHULUAN

Ikan tongkol (*Auxis thazard*) memiliki kandungan gizi yang cukup lengkap dan sangat bermanfaat bagi tubuh manusia seperti vitamin, karbohidrat dan mineral (Dwiari dkk., 2008). Namun memiliki kekurangan yakni cepat mengalami kebusukan jika dibiarkan pada suhu kamar. Hal ini dikarenakan kandungan air yang cukup tinggi pada tubuh ikan merupakan media yang cocok untuk kehidupan dan pertumbuhan bakteri pembusuk. Adanya bakteri pembusuk dalam tubuh ikan inilah yang akhirnya berperan penting dalam mempersingkat daya simpan ikan tersebut (Suriawiria, 2005, cit. Kurniawan dkk., 2012). Rendahnya kemampuan dalam memperpanjang masa simpan ikan karena kurangnya pengetahuan masyarakat tentang penanganan ikan mengakibatkan banyak nelayan maupun pedagang yang memutuskan menggunakan formalin sebagai bahan pengawet yang murah. Formalin merupakan senyawa yang apabila dikonsumsi dalam jangka waktu yang panjang dapat menyebabkan dampak buruk bagi kesehatan manusia. Beberapa penelitian menyatakan bahwa formalin bersifat karsinogenik. Bila dikonsumsi dalam waktu yang panjang dapat menyebabkan timbulnya kanker (IARC, 2006). Penggunaan formalin sebagai pengawet bahan makanan termasuk ikan ini bukan merupakan kasus baru di Indonesia maupun di Kota Kupang sendiri. Kasim (2015) dalam penelitiannya di Kota Kupang, menemukan bahwa 19,27% dari total 192 sampel ikan segar positif mengandung formalin, dan diantara berbagai jenis ikan yang ada di pasaran, ikan tongkol adalah ikan yang paling banyak diawetkan dengan formalin. Untuk mencegah penggunaan bahan pengawet seperti formalin, dapat menggunakan pengawet alami seperti ekstrak etanol daun nimba (*Azadirachta indica*)

Daun nimba (*Azadirachta indica*) merupakan salah satu bahan pengawet alami yang sudah lama dikenal dan digunakan oleh masyarakat Indonesia. Sejauh ini penggunaan perasan daun nimba sebagai pengawet makanan baru dimanfaatkan dalam industri pengawetan tahu (Astuti dan Izzati, 2009). Ekstrak etanol daun nimba diketahui mengandung nimbin dan nimbidin (Drabu dkk., 2012) yang dapat berperan sebagai antibiotik (Apristiani & Astuti, 2005) dan antivirus (Hurley dkk., 1992). Selanjutnya, penelitian yang dilakukan Mohapatra dkk. (2014) juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun nimba turut mengandung saponin dan flavonoid yang dapat berfungsi sebagai zat antibakteri. karena banyaknya kandungan zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri inilah maka daun

nimba (menjadi salah satu alternatif bahan pengawet alami yang potensial digunakan pada ikan.

Berdasarkan alur pemikiran di atas maka penelitian dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak etanol daun nimba (*Azadirachta indica*) sebagai bahan pengawet pada ikan tongkol (*Auxis thazard*).

MATERI DAN METODE

Pembuatan ekstrak daun nimba (*Azadirachta indica*) dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Nusa Cendana, dan uji potensi daya awet ikan menggunakan ekstrak etanol daun nimba dilakukan di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana. Alat yang digunakan dalam penelitian adalah timbangan analitik (Ohaus®), cool box, saringan, cawan petri, pH meter, tabung reaksi, botol media, gunting, pinset, pembakar bunsen, pengocok tabung (vortex), inkubator (electra®), penangas air (maspion®), autoklaf (memmert®), lemari pendingin, kertas saring, evaporator (Jencons®) dan magnetic stirrer. Bahan yang digunakan yakni daun nimba yang telah dikeringkan, etanol 96%, ikan tongkol (*Auxis thazard*), buffered pepton water dan es batu.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorik menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial 5x4 dengan 3 kali ulangan. Terdapat 5 perlakuan yakni formalin 10% (kontrol positif), es batu (kontrol negatif), konsentrasi 5% ekstrak etanol daun nimba (K1), konsentrasi 10% etanol daun nimba (K2) dan konsentrasi 15% etanol daun nimba (K3). Ikan tongkol direndam selama 2 jam, kemudian ikan akan disimpan pada suhu ruang. Pengukuran pH dan TPC dilakukan pada 0 jam, 2 jam, 7 jam dan 12 jam.

Pembuatan ekstrak daun nimba (*Azadirachta indica*)

Daun nimba segar yang digunakan berasal dari Kelurahan Kayu Putih, Kecamatan Oebobo, Kota Kupang. Daun nimba dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan pada suhu ruang selama 1 minggu. Dilakukan proses ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Daun nimba (*Azadirachta indica*) yang telah kering diblender sehingga terbentuk serbuk atau simplisia. Simplisia direndam dalam etanol 96% kemudian dilakukan beberapa kali pengadukan selama 30 menit. Wadah ditutup rapat dan diamkan selama 10 jam pada suhu ruangan dan dilakukan remaserasi sebanyak 3 kali. Filtrat diuapkan dengan vacuum rotary evaporator pada suhu 70°C. Hasil filtrat (ekstrak kental) daun nimba yang

telah jadi dilanjutkan dengan membuat konsentrasi ekstrak etanol daun nimba 5%, 10% dan 15%.

Pengambilan sampel ikan tongkol (*Auxis thazard*)

Sampel ikan tongkol yang digunakan diperoleh dari nelayan di Pantai Oeba, dimasukkan ke dalam *cool box* yang diisi es secukupnya untuk mempertahankan kesegaran ikan dan di bawa ke laboratorium. Pengambilan sampel menggunakan metode *purposive sampling*.

Perlakuan perendaman

Setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan dan setiap kelompok dibutuhkan 3 ekor ikan tongkol sehingga jumlah total sampel yang digunakan sebanyak 45 ekor. Sampel ikan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang akan direndam masing-masing dimasukkan ke dalam box. Box kelompok kontrol positif diberi formalin 10%, kelompok kontrol negatif diberi es batu dan kelompok perlakuan diberi ekstrak etanol daun nimba yang dibekukan dengan konsentrasi yang telah ditentukan. Perendaman sampel dilakukan selama 2 jam, kemudian dikeluarkan dan disimpan pada suhu ruang.

Uji pH

Pengukuran pH dilakukan dengan mengambil 3 gr sampel ikan tongkol yang dihancurkan dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer lalu ditambahkan 27 ml aquades. Campuran daging ikan dan aquades (ekstrak) didiamkan selama 15 menit, setelah itu disaring. Ekstrak daging ikan tersebut lalu diukur pHnya menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi.

Pengujian Bakteri (SNI 2897:2008)

Daging ikan tongkol ditimbang sebanyak 20 gr ditambahkan *buffered peptone water* 0,1% sebanyak 180 ml dihomogenkan. Kemudian diencerkan 10-1 diambil menggunakan mikropipet, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml pepton, sehingga pengenceran sampel pada tahap ini sudah mencapai 10-2, pengenceran tersebut terus dilakukan sampai mencapai nilai pengenceran 10-4. Mengambil 1 ml suspensi dari pengenceran terakhir dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril yang ditambahkan media *Plate Count Agar* (PCA) cair sesuai dengan kebutuhan atau sekitar ± 15 ml. Cawan petri kemudian digoyang-goyang supaya larutan teraduk merata. Berikutnya, cawan petri didiamkan agar campuran sampel dalam cawan petri membeku. Cawan petri dimasukkan ke dalam inkubator dalam posisi terbalik, dan disimpan dalam suhu sekitar $\pm 35^\circ\text{C}$ selama ± 24 jam

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Nilai derajat keasaman (pH)

Tabel 1. Hasil uji pH pada ikan tongkol (*Auxis thazard*).

Pengamatan	Perlakuan					
	K0a	K0b	K1	K2	K3	Rata-rata
0 jam	6.31	6.23	6.24	6.27	6.24	6.25
2 jam	6.16	6.37	6.28	6.28	6.25	6.26
7 jam	6.02	6.61	6.50	6.42	6.37	6.38
12 jam	6.03	6.90	6.84	6.68	6.61	6.61

Ket: K0a (formalin 10%), K0b (es batu), K1 (konsentrasi 5%), K2 (konsentrasi 10%), K3 (konsentrasi 15%)

Tabel 1 menunjukkan adanya peningkatan pH seiring dengan lamanya waktu pengamatan kecuali pada kelompok K0a. Pada pengamatan 0 jam rata-rata pH pada semua kelompok kontrol maupun perlakuan 6.25 yang mana pH tertinggi diperoleh pada kelompok K0a yakni 6.31 dan pH terendah yaitu pada kelompok K0b yakni 6.23. Pengukuran pH pada pengamatan 2 jam memiliki pH yang bervariasi, adapun pH tertinggi terdapat pada kelompok K0b yaitu 6.37 dan terendah berada pada kelompok K0a dengan nilai 6.16. Selanjutnya pada pengamatan 7 jam terjadi peningkatan pH yang cukup signifikan pada kelompok K0b dan K1 yang mana pHnya berkisar antara 6.50 hingga 6.61 dan pH terendah terdapat pada kelompok K0a. Adapun nilai pH tertinggi diperoleh pada ikan tongkol kelompok K0b pada pengamatan 12 jam dengan pH 6.90 dan pH terendah terdapat pada ikan tongkol kelompok K0a dengan pH 6.03. Setelah 12 jam pengamatan kelompok perlakuan yang menggunakan ekstrak etanol daun nimba memiliki perbedaan nilai pH, yang mana K3 dengan pH 6.61, K2 dengan pH 6.68 dan K1 dengan pH 6.84.

Total Koloni Bakteri (TPC)

Tabel 2. Nilai rata-rata total koloni bakteri (TPC) pada ikan tongkol (*Auxis thazard*)

Pengamatan	Perlakuan (koloni/ml)				
	K0a	K0b	K1	K2	K3
0 jam	2.98 $\times 10^4$	2.50 $\times 10^4$	2.60 $\times 10^4$	2.80 $\times 10^4$	2.60 $\times 10^4$
2 jam	4.34 $\times 10^4$	1.87 $\times 10^5$	1.88 $\times 10^5$	1.80 $\times 10^5$	1.33 $\times 10^5$
7 jam	5.62 $\times 10^4$	2.73 $\times 10^6$	2.70 $\times 10^6$	2.67 $\times 10^6$	2.47 $\times 10^6$
12 jam	2.54 $\times 10^5$	5.04 $\times 10^6$	4.70 $\times 10^6$	4.60 $\times 10^6$	4.41 $\times 10^6$

Ket: K0a (formalin 10%), K0b (es batu), K1 (konsentrasi 5%), K2 (konsentrasi 10%), K3 (konsentrasi 15%)

Nilai rata-rata total koloni bakteri (TPC) pada Tabel 2. menunjukkan bahwa terjadi pertumbuhan bakteri seiring dengan lamanya waktu pengamatan. Pada pengamatan 0 jam rata-rata TPC pada semua kelompok masih berada dibawah ambang batas cemaran mikroba yakni 2.69×10^4 , yang artinya sampel ikan tongkol belum mengalami kebusukan. Adapun standar maksimum cemaran mikroba pada bahan pangan yakni 5×10^5 (SNI 7388:2009). Pada pengamatan 2 jam terjadi peningkatan TPC pada semua kelompok perlakuan, tetapi masih berada dibawah ambang batas cemaran mikroba. Akan tetapi, pada pengamatan 7 jam, nilai TPC pada kelompok K0b, K1, K2 dan K3 telah melewati ambang batas maksimum cemaran mikroba yang artinya sampel ikan tongkol tidak layak untuk dikonsumsi, terlihat nilai TPC telah mencapai 10^6 dengan nilai TPC tertinggi berada pada kelompok K0b yakni 5.04×10^6 dan nilai TPC terendah berada pada kelompok K0a 2.54×10^5 . Oleh karena itu, pada kelompok K0a memiliki daya simpan hingga pengamatan 12 jam, sedangkan pada kelompok K0b, K1, K2 dan K3 memiliki daya simpan berkisar antara pengamatan 2 jam hingga 7 jam.

Pembahasan

Nilai pH daging ikan ketika masih hidup umumnya memiliki pH netral yaitu 7,4 (Dwiari dkk., 2008) pada saat terjadinya fase rigor mortis nilai pH akan semakin menurun seiring dengan banyaknya asam laktat yang terbentuk dan penurunan ATP. Setelah fase rigor mortis berakhir, pH ikan naik secara bertahap dan semakin banyak produk-produk senyawa bersifat basa yang

terbentuk maka semakin cepat kenaikan pH ikan (Aprianti, 2011) dan kenaikan pH ini akan terus berlangsung hingga terjadi proses pembusukan yang sempurna.

Menurut Berkel dkk. (2004) ikan segar mulai mengalami kerusakan setelah penangkapan. Proses kerusakan atau kebusukan ikan pada daerah tropis terjadi setelah 12 jam penangkapan. Oleh karena itu, ikan yang tidak menggunakan pengawet dan disimpan pada suhu ruang, memiliki daya simpan yang singkat dan cepat mengalami pembusukan.

Berdasarkan hasil analisis total koloni bakteri (TPC) menggunakan metode statistik *Analisis of variance* (ANOVA) diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol daun nimba berpengaruh nyata terhadap total koloni bakteri atau dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol daun nimba dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Akan tetapi, efektivitas ekstrak etanol daun nimba (*Azadirachta indica*) tidak mampu memperpanjang masa simpan ikan tongkol (*Auxis thazard*) hingga 12 jam pengamatan. Hal ini dikarenakan laju pertumbuhan bakteri yang cepat sehingga tidak dapat dihambat oleh senyawa antimikroba dalam jumlah kecil. Dengan demikian nilai TPC terus meningkat seiring dengan lamanya waktu pengamatan.

Dari semua hasil pengamatan berdasarkan indikator pH dan TPC diketahui rata-rata tiap perlakuan memiliki daya simpan tidak lebih dari 7 jam atau berada pada kisaran 2-7 jam kecuali pada perlakuan menggunakan formalin 10%. Hal ini diduga terjadi karena ikan yang digunakan telah melewati fase rigor mortis atau telah memasuki fase post rigor mortis dimana proses pembusukan sudah mungkin terjadi. Hal ini ditandai dengan nilai pH pada pengamatan 0 jam yang telah mencapai 6.25. Sejalan dengan pernyataan Liviawaty dan Afrianto (2014) yang menyatakan bahwa nilai pH fase post rigor mortis yang diperoleh pada 12 jam hingga 14 jam pasca ikan mati rata-rata 6,26-6,32. Selain itu, ciri-ciri ikan yang telah berada pada fase post rigor mortis ditandai dengan otot ikan yang kembali melunak dan peningkatan hasil penguraian oleh bakteri yang diindikasikan dengan meningkatnya pH (Dwiari dkk., 2008) pada pengamatan dari 0 jam hingga 12 jam. Nilai rerata pH yakni 6.25, merupakan nilai pH yang optimal untuk pertumbuhan bakteri sesuai pernyataan Bawinto dkk. (2015). Nilai pH yang baik untuk pengawetan ikan berkisar antara 2.2-5.5, sedangkan pH 6.0-8.0 merupakan media yang baik untuk pertumbuhan

mikroorganisme. Oleh karena itu peningkatan pertumbuhan bakteri dan peningkatan pH berjalan bersamaan.

Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Pandey dkk. (2014), diketahui bahwa dalam ekstrak etanol daun nimba terdapat senyawa saponin, flavonoid, fenol, tanin dan alkaloid yang mana senyawa-senyawa tersebut merupakan antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa perendaman ikan tongkol (*Auxis thazard*) pada kelompok ekstrak etanol daun nimba (*Azadirachta indica*) dengan konsentrasi yang berbeda berpotensi sebagai bahan pengawet pada ikan tongkol dilihat dari kedua parameter yakni pH dan TPC karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun nimba, semakin besar daya hambatnya terhadap pertumbuhan mikroba dan menurunkan nilai pH.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, T. dan Izzati, M. 2009, 'Pengaruh Perendaman Perasan Daun Mimba (*Azadirachta indica*), Mengkudu (*Morinda citrifolia* L), Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap Keawetan Tahu', Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Apristiani, D. dan Astuti, P., 2005, Isolasi Komponen Aktif Antibakteri Ekstrak Kloroform Daun Nimba (*Azadirachta Indica* A. Juss.) Dengan Bioautografi. *Biofarmasi*. 3(2); 43-46.
- Berkel, B.M., Boogaard, B.V.D. and Heijnen, C. 2004, Preservation of fish and meat, Agromisa Foundation, Wageningen.
- Drabu, S., Khatri, S. and Babu, S. 2012, Neem: Healer of All Ailments. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 3: 120-126
- Dwiari, S.R., Asadayanti, D.D., Nurhayati., Sofyaningsih, M., Yudhanti, S.F.A.R. dan Yoga, I.B.K.W. 2008. *Teknologi Pangan*. Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta.
- Habibah, T.P.Z. 2013, Identifikasi Penggunaan Formalin pada Ikan Asin dan Faktor Perilaku Penjual di Pasar Tradisional Kota Semarang, *Unnes Journal of Public Health*, 2 (3): 1-10.
- Hurley, J., Ruskin, F.R., Mouzo, E. and Zimpson, B. 1992, *Neem The Tree For Solving Global Problems*. National Academy Press. Washington, D.C
- IARC. 2006, Formaldehyde, 2-butoxyethanol and 1-tert-butoxypropan-2-ol. World Health Organization. 88
- Kasim N.A.I. 2015. 'Identifikasi Kadar Formalin Pada Ikan Laut Segar Yang Dijual Di Kota Kupang', Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Nusa Cendana. Kupang
- Liviawaty, E dan Afrianto, E. 2014. Penentuan Waktu Rigor Mortis Ikan Nila Merah (*Oreochromis Nilaticus*) Berdasarkan Pola Perubahan Derajat Keasaman. *Jurnal akuatika*, 5 :(40-44)
- Mohapatra, A., Kanchana, P., Ranjan, M., Monica, S.H., Kavita. dan Priyanka. 2014, Antimicrobial Activity of Neem (*Azadirachta Indica*) Leaf Extracts, *International Journal of Research in Agricultural Sciences*, 1: 143-148.
- Pandey, G., Verma, K. and Singh, M. 2014, Evaluation Of Phytochemical, Antibacterial And Free Radical Scavenging Properties Of *Azadirachta Indica* (Neem) Leaves, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 6 : 444-447
- Suriawiria. 2005. *Pengujian Mutu Hasil perikanan yang aman bagi Kesehatan*. Jasa Boga. Jakarta, cit.
- Kurniawan, R., Yoswaty, D. dan Nedi, S. 2012, 'Analisis Bakteri Pembentuk Histamin Pada Ikan Tongkol Di Perairan Pasie Nan Tigo Koto Tengah Padang Sumatera Barat', Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Riau, Sumatera Barat.