

Uji Antimikroba Kombucha Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris*) sebagai Pengawet Alami Terhadap Mikroba Indigenus Daging Ikan Segar (*Clarias* sp. dan *Zeus* sp.)

Nadia Dewi Oktafiani¹, Kinanti Ayu Puji Lestari^{1*}

¹Akademi Farmasi Surabaya, Surabaya

*) E-mail: kinanti.biologi@gmail.com

Diterima : Agustus 2023

Disetujui : Januari 2024

ABSTRAK

Penggunaan bahan pengawet kimiawi pada produk pangan menimbulkan masalah kesehatan, sehingga penggunaan bahan pengawet alami lebih aman bagi kesehatan untuk mencegah kerusakan produk pangan. Studi modifikasi penggunaan bahan dasar kombucha dengan kulit apel manalagi sedikit dilaporkan oleh penelitian lain. Fermentasi kombucha yang menghasilkan asam asetat dapat menghambat pertumbuhan mikroba pada daging ikan. Kandungan polifenol kulit apel manalagi dan flavonoid dapat digunakan sebagai antibakteri dan antijamur. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui kemampuan kombucha kulit apel manalagi dalam menghambat pertumbuhan mikroba indigenus pada ikan segar. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kombucha kulit apel manalagi dengan kode KAM14 dengan lama fermentasi selama 14 hari dan KAM21 dengan lama fermentasi selama 21 hari yang dibuat dalam konsentrasi uji 50%, 75% dan 100% yang diujikan secara duplo. Sampel selanjutnya diujikan kepada mikroba indigenus pada daging ikan segar (*Clarias* sp. dan *Zeus* sp.) secara in vitro. Hasil dari penelitian ini adalah sampel KAM14 belum menunjukkan kemampuan hambatan, sedangkan sampel kombucha KAM21 mampu menghambat pertumbuhan bakteri maupun jamur indigenus pada kedua jenis ikan. Nilai hambatan bakteri indigenus dori tertinggi terlihat pada konsentrasi 100% sebesar 5,35 mm, sedangkan nilai hambatan jamur indigenus dori tertinggi juga terlihat pada konsentrasi 100% sebesar 3,9 mm. Nilai hambatan bakteri indigenus lele tertinggi terlihat pada konsentrasi 100% sebesar 5,1 mm, sedangkan nilai hambatan jamur indigenus lele tertinggi juga terlihat pada konsentrasi 100% sebesar 3,55 mm.

Kata kunci: Kombucha, Kombucha kulit apel manalagi, Pengawet berbahan kombucha, Uji antimikroba kombucha, Uji antimikroba kombucha kulit apel manalagi.

Antimicrobial Test of Manalagi Apple Peel (*Malus sylvestris*) Kombucha As A Natural Preservative Against Indigenous Microbes of Fresh Fish (*Clarias* sp. dan *Zeus* sp.) Meat

ABSTRACT

The chemical preservatives in food products cause health problems, so natural preservatives are safer for health to prevent damage to food products. Modification studies on the use of kombucha-based ingredients with manalagi apple peels have been little reported by other studies. Kombucha fermentation, which produces acetic acid, can inhibit microbial growth in fish meat. The polyphenol and flavonoid content of manalagi apple peel can be used as antibacterial and antifungal. This study aimed to determine the ability of manalagi apple peel kombucha to inhibit the growth of indigenous bacteria and fungi in fresh dori and catfish. The samples used in this research were Manalagi apple peel kombucha with code KAM14 with a fermentation time of 14 days and KAM21 with a fermentation time of 21 days, which were made in test concentrations of 50%, 75%, and 100% which were tested in duplicate. The samples were then tested in vitro for indigenous microbes in fresh fish meat (*Clarias* sp. dan *Zeus* sp.). The results of this study were that the KAM14 sample did not show inhibition ability. In contrast, the KAM21 sample inhibited the growth of indigenous bacteria and fungi in both types of fish. The highest inhibition value of indigenous dori bacteria was at a 100% concentration of 5,35 mm. The highest inhibition value for indigenous dori fungi was also seen at a 100% concentration of 3,9 mm. The highest inhibition value of indigenous catfish bacteria was at a 100% concentration of 5,1 mm. The highest inhibition value for indigenous catfish fungi was also seen at a 100% concentration of 3,55 mm.

Keywords: Antimicrobial test, Antimicrobial test of kombucha, Manalagi apple peel kombucha, Manalagi apple peel kombucha, preservative by kombucha.

1. PENDAHULUAN

Bahan pangan hewani pada umumnya tidak memiliki daya tahan atau umur simpan yang lama, terutama bahan pangan segar [1]. Salah satu bahan makanan yang mudah rusak adalah daging ikan [2]. Daging ikan merupakan bahan pangan hewani yang memiliki nilai gizi tinggi dan banyak sumber protein karena mengandung 16-24% protein dan mengandung 0,2-2,2% lemak [3]. Daging ikan yang telah terkontaminasi bakteri akan berbahaya bagi tubuh manusia karena penyakit yang dibawa, oleh karena itu perlu dipilih proses pengawetan yang tepat untuk memperpanjang umur simpan bahan pangan hewani [4]. Jenis ikan air tawar seperti ikan lele (*Clarias sp.*) dan ikan Dori (*Zeus sp.*) mudah terkontaminasi dan mengalami pembusukan karena kandungan protein dan air yang tinggi. Pertumbuhan bakteri dan jamur tidak terlepas dari aktivitas enzimatik, sehingga akan mengubah komposisi kimiawi media [5].

Pengawetan merupakan salah satu cara untuk menjaga mutu produk pangan (hewani seperti daging dan ikan) dalam kondisi baik dan bersih bila disimpan dalam waktu lama dari kontaminasi bakteri dan jamur. Proses pengawetan makanan umumnya dilakukan dengan pendinginan, pengeringan, dengan penambahan bahan kimia, atau dengan penyinaran [6]. Penggunaan pengawet dari bahan alami diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur pada daging ikan [7]. Kombucha merupakan produk fermentasi air gula dengan penambahan teh dan mikroba berupa SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast). Proses fermentasi ini melibatkan peran simbiosis kelompok bakteri dengan kelompok jamur [8].

Kombucha yang difermentasi mengandung berbagai macam asam amino, vitamin, asam laktat, dan asam asetat. Kandungan asam organik (asam asetat, asam glukuronat, asam laktat, asam karbonat, asam folat, asam glukonat, kondroitin sulfat dan asam hialuronat), vitamin dan polifenol pada kombucha dapat berperan sebagai antibakteri dan antioksidan. Asam organik pada kombucha seperti asam asetat, asam laktat dan asam sitrat dengan konsentrasi bebas diketahui berfungsi sebagai antimikroba [9].

Salah satu bahan makanan yang dapat digunakan untuk bahan dasar pembuatan kombucha adalah apel. Varietas apel yang diunggulkan saat ini adalah apel Manalagi (*Malus sylvestris*), Anna, Wangli/Lali Jiwo, Pangeran Mulia dan Romebeauty

[10]. Kulit apel manalagi (*Malus sylvestris*) mengandung zat aktif berupa polifenol (katekin, quercetin dan asam klorogenat) dan fitokimia (flavonoid). Kulit apel manalagi (*Malus sylvestris*) memiliki kandungan yang lebih tinggi dan bermanfaat dibandingkan buahnya, maupun daging dengan buahnya [11]. Sedangkan, penelitian mengenai kombucha sebagai antimikroba telah banyak dibuktikan sebelumnya [12]. Perpaduan antara kulit apel manalagi sebagai bahan dasar pembuatan kombucha diasumsikan dapat menghambat pertumbuhan mikroba pengkontaminasi daging ikan yang lebih baik. Apalagi penelitian mengenai kombucha kulit apel manalagi sebagai antimikroba belum pernah dilaporkan, sehingga penelitian ini dirasa sangat perlu untuk dilakukan. Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat kombucha kulit apel Manalagi terhadap pertumbuhan mikroba daging ikan secara in vitro.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui hasil uji antimikroba dari kombucha kulit apel manalagi (*Malus sylvestris*) yang telah difermentasi selama 14 dan 21 hari terhadap mikroba indigenus pada daging ikan lele (*Clarias sp.*) dan ikan Dori (*Zeus sp.*) segar.

2.1. Pembuatan Kombucha Kulit Apel Manalagi

Kombucha kulit apel manalagi dibuat dengan cara mencampurkan air, gula dan serbuk kulit apel manalagi dengan starter kombucha yang telah diaklimatisasi selama 2 minggu. Persentase bahan dan komposisi pembuatan kombucha kulit apel manalagi mengikuti komposisi pembuatan yang dilakukan oleh Lestari, *et al.* [13] dengan kadar kulit apel manalagi sebesar 20%. Kombucha kulit apel manalagi diinkubasi selama 14 hari yang selanjutnya diberi kode KAM14 dan 21 hari yang selanjutnya diberi kode KAM21 pada toples yang berbeda. Kombucha yang telah melewati masa fermentasi selanjutnya dibuat 3 konsentrasi uji yaitu 50%, 75% dan 100%. Aquades steril digunakan sebagai pembanding atau control negatif dan diberi kode konsentrasi 0%.

2.2. Persiapan daging ikan segar

Ikan yang akan dijadikan sebagai sampel uji adalah ikan dori dan ikan lele segar tanpa kulit.

Masing-masing ikan dibeli dari pasar tradisional setempat kemudian dibersihkan dengan air mineral mengalir. Ikan selanjutnya dikuliti dan diambil bagian dagingnya saja.

2.3. Persiapan mikroba indigenus daging ikan segar

Mikroba indigenus yang ingin diamati dalam penelitian ini adalah bakteri dan jamur indigenus pada masing-masing daging ikan segar. Mikroba indigenus didapatkan dengan cara melakukan prosedur pengenceran hingga 10^{-6} [14] pada media NB dan PDB 9 mL. Masing-masing daging segar yang telah disiapkan ditumbuk menggunakan mortar dan stamper steril hingga halus kemudian masing-masing ditimbang dengan berat 1 gram. Daging ikan halus selanjutnya dimasukkan pada pengenceran 10^{-1} pada masing-masing media pengenceran dan divorteks hingga homogeny. Proses pengenceran dilanjutkan hingga 10^{-6} pada masing-masing media pengenceran.

2.4. Pengujian antimikroba

Uji aktivitas antimikroba dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode Kirby Bauer secara duplo. Media uji yang digunakan adalah NA untuk menumbuhkan bakteri indigenus pada masing-masing sampel ikan sedangkan kapang indigenus dari masing-masing sampel ikab ikan ditumbuhkan pada media PDA.

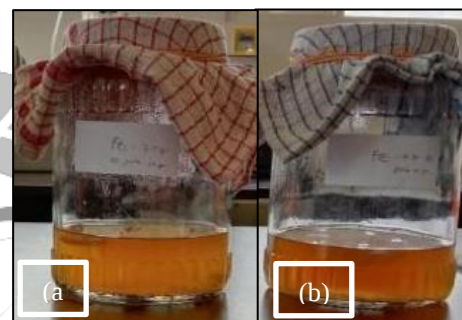
Masing-masing suspensi ikan pada media NB pengenceran 10^{-6} (500 μ L) dimasukkan pada media NA steril (20 mL) yang telah memadat dan diratakan dengan metode *spread plate*. Kertas cakram steril direndam dalam masing-masing konsentrasi uji kombucha kulit apel manalagi yang telah disiapkan sebelumnya kurang lebih 10 menit. Proses perendaman dimaksudkan agar konsentrasi uji meresap sempurna pada kertas cakram. Kertas cakram selanjutnya ditempelkan pada media NA uji. Proses tersebut dilakukan juga pada suspensi ikan yang berada dalam media PDB yang diinkubasi dalam media uji PDA (20 mL). Rerata hasil uji antimikroba selanjutnya diinterpretasikan kekuatan hambatannya mengikuti Susanto dan Ruga [15].

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Kombucha diketahui memiliki kemampuan antimikroba [16] Kombucha yang telah diinkubasi selama 14 hari memiliki warna kuning kecoklatan, tekstur cair, dan berbau khas kombucha dan seperti

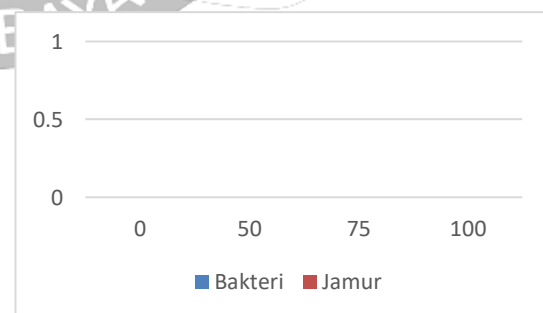
cuka apel. Kenampakan kombucha yang telah diinkubasi selama 14 hari terlihat pada Gambar 1.a. Sampel kombucha ini selanjutnya diberi kode KAM14.

Kombucha yang telah diinkubasi selama 21 hari memiliki warna kuning kecoklatan dengan warna yang lebih pekat daripada sapel kombucha hari ke-14, tekstur cair, dan berbau khas kombucha dan seperti cuka apel yang lebih menyengat. Kenampakan kombucha yang telah diinkubasi selama 14 hari terlihat pada Gambar 1.b. Sampel kombucha ini selanjutnya diberi kode KAM21. Kedua sampel uji selanjutnya siap digunakan untuk pengujian.



Gambar 1. (a) Kombucha kulit apel manalagi KAM14; (b) Kombucha kulit apel manalagi KAM21

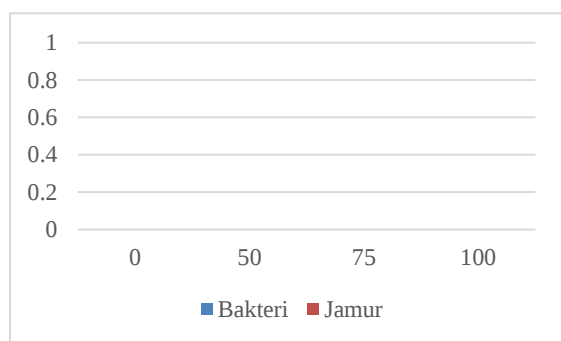
Hasil pengujian antimikroba kombucha kulit apel manalagi KAM14 terlihat pada Gambar 2. yang menunjukkan hasil daya hambat terhadap kelompok bakteri dan jamur indigenus ikan dori dan Gambar 3. menunjukkan hasil uji atau daya hambat terhadap kelompok jamur ikan lele.



Gambar 2. Hasil Uji Antimikroba Kombucha Kulit Apel Manalagi KAM14 terhadap mikroba indigenus pada daging ikan dori

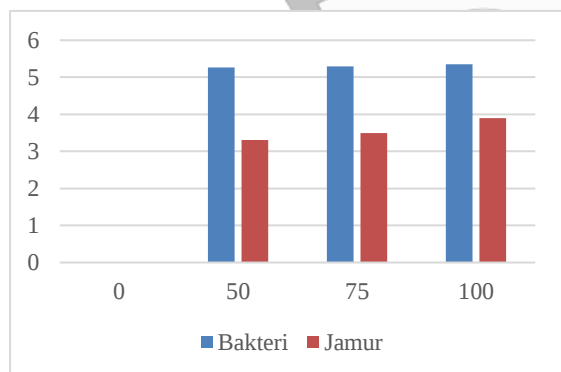
Berdasarkan hasil yang terlihat dalam Gambar 2 dan Gambar 3 diketahui kombucha kulit apel manalagi KAM14 belum dapat menghambat pertumbuhan dari mikroba indigenus baik pada daging ikan dori segar maupun pada daging ikan lele

segar. Hasil berbeda terlihat pada penelitian sebelumnya mengenai daya hambat teh kombucha terhadap pertumbuhan bakteri pada ikan Nila dimana pada sampel kombucha yang telah diinkubasi pada hari ke-12 dapat menghambat pertumbuhan bakteri indigenus ikan Nila dengan kekuatan hambatan kuat (11,5 mm). Namun hasil penelitian ini serupa dengan penelitian tersebut dimana pada sampel kombucha yang telah diinkubasi pada hari ke-12 tidak dapat menghambat pertumbuhan jamur indigenus ikan Nila [13].



Gambar 3. Hasil Uji Antimikroba Kombucha Kulit Apel Manalagi KAM14 terhadap mikroba indigenus pada daging ikan lele

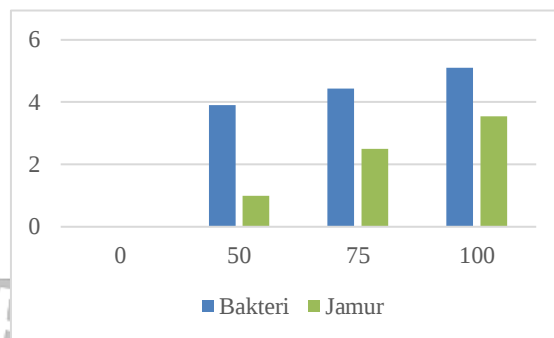
Data hasil uji antimikroba kombucha kulit apel manalagi KAM21 terlihat pada Gambar 4. yang menunjukkan hasil daya hambat terhadap kelompok bakteri dan jamur indigenus ikan dori dan Gambar 5. menunjukkan hasil uji atau daya hambat terhadap kelompok jamur ikan lele



Gambar 4. Hasil Uji Antimikroba Kombucha Kulit Apel Manalagi KAM21 terhadap mikroba indigenus pada daging ikan dori

Hasil pada Gambar 4 dan Gambar 5 memperlihatkan adanya hambatan pada pertumbuhan bakteri dan jamur indigenus pada ikan dori maupun ikan lele. Rerata hasil uji antimikroba kombucha kulip apel manalagi terhadap bakteri indigenus daging ikan dori menunjukkan daya hambat sampel kombucha KAM21 pada bakteri dan

jamur masuk dalam kategori hambatan rendah. Hasil hambatan bakteri indigenus daging ikan dori oleh sampel kombucha KAM21 tertinggi pada konsentrasi uji 100% yakni sebesar 5,35 mm, sedangkan hambatan jamur indigenus daging ikan dori oleh sampel kombucha KAM21 tertinggi juga terdapat pada konsentrasi uji 100% yakni sebesar 3,9 mm.



Gambar 5. Hasil Uji Antimikroba Kombucha Kulit Apel Manalagi KAM21 terhadap mikroba indigenus pada daging ikan lele

Data pada Gambar 5 menunjukkan bahwa sampel kombucha KAM21 mampu menghambat pertumbuhan bakteri maupun jamur indigenus pada daging ikan lele. Rerata hasil uji menunjukkan bahwa masing-masing konsentrasi uji masuk dalam kategori hambatan rendah. Hasil hambatan bakteri indigenus pada daging ikan lele oleh sampel kombucha KAM21 tertinggi pada konsentrasi uji 100% yakni sebesar 5,1 mm, sedangkan hambatan jamur indigenus pada daging ikan lele oleh sampel kombucha KAM21 tertinggi juga terdapat pada konsentrasi uji 100% yakni sebesar 3,55 mm.

Berdasarkan hasil yang didapatkan diketahui bahwa waktu fermentasi mempengaruhi jumlah kadar senyawa kimia kombucha kulit apel manalagi yang dapat dihasilkan. Peningkatan kandungan asam disebabkan bakteri pada kombucha telah mengalami fase pertumbuhan logaritmik, pada saat yang sama bakteri yang terkena mensintesis alkohol menjadi asam yang ditambahkan jumlahnya [16] Selama proses fermentasi, ragi dan bakteri dimetabolisme. sukrosa, menghasilkan asam organik seperti asetat dan asam glukonat, sehingga konsentrasi asam asetat kombucha akan meningkat seiring dengan penambahan waktu fermentasi. Perbedaan hasil hambatan dari bakteri maupun jamur indigenus pada ikan dori dan lele dapat dipengaruhi oleh faktor jenis dan jumlah mikroba indigenus yang berbeda pada masing-masing ikan. Asam organik yang dihasilkan dari metabolisme

kombucha serta kandungan senyawa fenolik yang dibawa oleh bahan dasar memperkuat sifat antimikroba dalam sediaan ini [17]. Mekanisme hambatan dilakukan dengan cara mengganggu komponen peptidoglikan pada sel mikroba, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk utuh dan menyebabkan kematian sel [18].

4. KESIMPULAN

Kombucha kulit apel manalagi KAM14 tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri dan jamur indigenus pada daging ikan dori dan lele segar sedangkan kombucha kulit apel manalagi KAM21 mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur indigenus pada daging ikan dori dan lele segar. Perbedaan hasil hambatan dari bakteri maupun jamur indigenus pada ikan dori dan lele dapat dipengaruhi oleh faktor jenis dan jumlah mikroba indigenus yang berbeda pada masing-masing ikan.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Seluruh penulis mengucapkan terimakasih kepada Akademi Farmasi Surabaya yang telah memberikan tempat untuk melakukan penelitian dan telah memberikan dana yang telah membantu dalam proses penelitian.

6. PENDANAAN

Penelitian ini didanai oleh sumber dana penelitian internal Akademi Farmasi Surabaya.

7. KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sukmawati, Ratna, Fahrizal A. Analisis cemaran mikroba pada daging ayam broiler di kota Makassar. *Scr Biol.*;5(1):51–3. 2018.
2. Berlian Z, Fatiqin A, Agustina E. Penggunaan Jeruk Jeruk (*Citrus aurantifolia*) Dalam Menghambat Bakteri *Escherichia coli* Pada Makanan. *J Bioilmi.* 2(1):51–7. 2016.
3. Widowati I, Efiyati S, Wahyuningtyas S. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*moringa oleifera*) Terhadap Bakteri Pembusuk Ikan Segar (*Pseudomonas aeruginosa*). *Pelita-Jurnal Riset Mahasiswa UNY.* 9(2):146–57. 2014.
4. Aprillia D, Susanto WH. Pembuatan Sari Apel (*Malus sylvestris* Mill) dengan Metode Ekstraksi Osmosis (Studi Varietas Apel dan Waktu Osmosis). *Jurnal Pangan dan Agroindustri.* 2(1):86–96. 2013.
5. Priharsanti AHT. Populasi Bakteri dan Jamur pada Daging Sapi dengan Penyimpanan Suhu Rendah. *Ilmu Pembiakan.* 2016;7(2):66.
6. Suprayitno E. *Pelestarian Dasar*. Malang: Brawijaya Press University. 2017.
7. Sulasmi dan Manurung, RN. Kemampuan Daun Sirih (*Piper beetle*) dalam Pengawetan Ikan Tenggiri. *Jurnal Sutolipu,* 18, 7. 2018.
8. Hyang, PC. Aktivitas Antibakteri Kombucha Salak Suwaru (*Salacca zalacca*) (Studi Penambahan Konsentrasi Gula dan Kultur). Disertasi doktoral. Malang: Universitas Brawijaya. 2017.
9. Yanti NA, Ambardini S, Ardiansyah A, Marlina WO, Cahyanti KD. Aktivitas Antibakteri Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Dengan konsentrasi Gula Berbeda. *Berkala Sainstek.* 1 Juli;8(2):35-40. 2020.
10. Liviawaty, E dan Afrianto, E. Proses Penanganan Ikan Segar yang Menurun dan Cara Menjaga Kesegaran Ikan. *Widya Padjadjaran.* Bandung. 2010.
11. Taufik dan Ismail. Pembuatan dan Uji Mutu Fisik Semprotan Wajah Berbahan Dasar Ekstrak Etanol Kulit Apel Fuji (*Malus pumila* mill). *J Health Yamasii Makassar.*4(1):58–64. 2020.
12. Lestari, KAP, dan Wulansari, SA. Antibacterial Potention and pH Analysis of Kombucha with Anna Apple (*Malus domestica*) Peel as Its Substrate. *Biota: Biologi dan Pendidikan Biologi.* 15(1). 51-59. 2022.
13. Lestari, KAP., Yuliarni, FF., Anindya, WD. Physical and Chemical Study of Manalagi Apple Peel (*Malus sylvestris*) Kombucha on 7 Days Fermentation Time. *J of pharmacy and science.* 8 (2). 191-195. 2023.
14. Winandari OP, Utami WI, Kamelia M, Widiani N. Daya Hambat Teh Kombucha Terhadap Pertumbuhan Bakteri Dan Jamur Pada Bahan Pangan Hewani. *Semin Nas Biol.* 2021.
15. Dwi Susanto, Ritbey Ruga S. Studi kandungan bahan aktif tumbuhan meranti merah (*shorea leprosula* miq) sebagai sumber senyawa antivakteri. Samarinda: Universitas Mulawarman. 2013.
16. Afifah N. Analisis Kondisi dan Potensi Lama Fermentasi Media Kombucha (Kopi, Rosela) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Patogen (*Vibrio cholerae* dan *Bacillus cereus*). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. 2010.
17. Lestari, K.A.P., Pranoto, P.P., Sofiyah, Musyirah, M., Pratiwi, F.I. Antibacterial Activity of Beluntas (*Pluchea Indica* L.) Leaves Extract Using Different Extraction Methods. *Jurnal Riset Biologi dan Aplikasinya.* Vol. 2. No. 2. 2020.
18. Lestari, K.A.P. dan Sadiyah, L. Karakteristik Kimia dan Fisik Teh Hijau Kombucha pada Waktu Pemanasan yang Berbeda. *PHARMASCI (Journal of Pharmacy and Science).* 5(1):15-21. 2020.