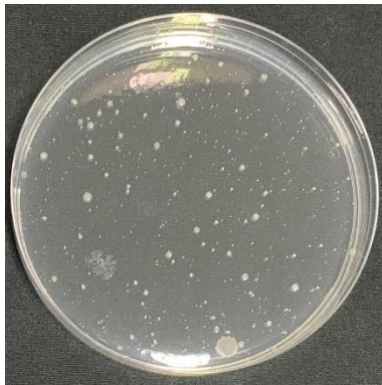


IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Hasil Uji Total Bakteri Daging Ayam

Hasil uji total bakteri metode *total plate count* pada daging ayam menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) menunjukkan terdapat pertumbuhan bakteri pada semua kelompok perlakuan. Prinsip dari TPC adalah apabila sel bakteri yang masih hidup ditumbuhkan pada media agar, maka sel tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop. Pertumbuhan bakteri pada media NA seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.1.



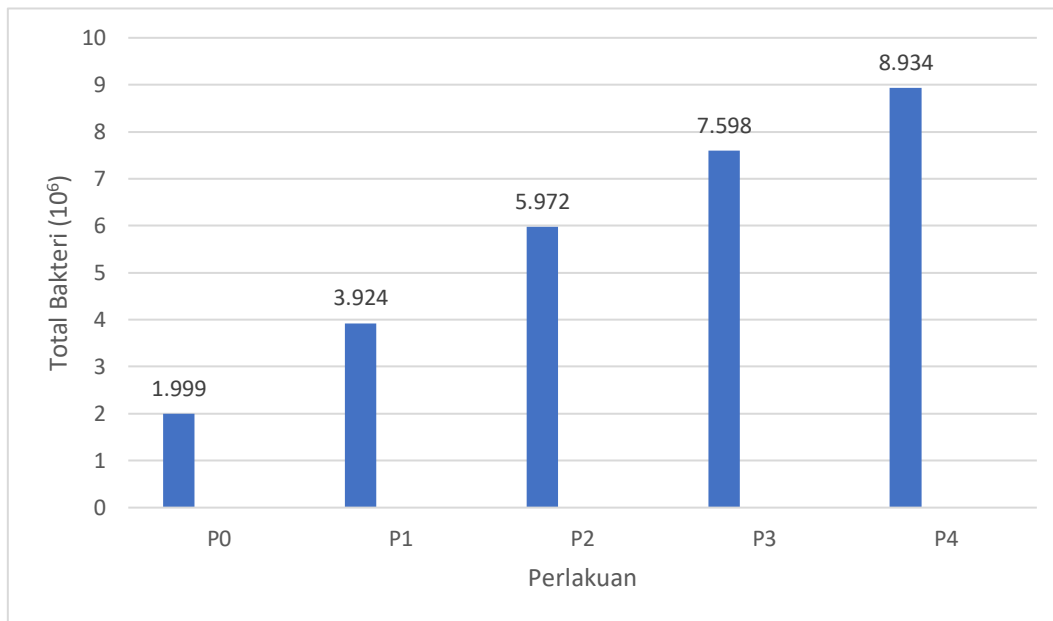
Gambar 4.1 Hasil penanaman daging ayam pada media *Nutrient Agar*

Hasil analisis total bakteri pada daging ayam menggunakan *Total Plate Count* (TPC) dengan perlakuan P0: daging ayam yang tidak diberi simplisia daun kecombrang dan tanpa proses penyimpanan, P1: daging ayam yang tidak diberi simplisia daun kecombrang dengan lama penyimpanan 1 jam, P2: daging ayam yang diberi simplisia daun kecombrang dengan lama penyimpanan 1 jam, P3: daging ayam yang diberi simplisia daun kecombrang dengan lama penyimpanan 2 jam dan P4: daging ayam yang diberi simplisia daun kecombrang dengan lama

penyimpanan 3 jam dapat dilihat pada Tabel 4.1 dan diagram pada Gambar 4.2.

Tabel 4.1 Hasil analisis *Total Plate Count* (TPC) pada daging ayam

Perlakuan	Rata-rata \pm SD (10^6)
P0	1,999 \pm 1,749
P1	3,924 \pm 1,946
P2	5,972 \pm 2,035
P3	7,598 \pm 1,455
P4	8,934 \pm 2,952



Gambar 4.2 Diagram hasil analisis *Total Plate Count* (TPC) pada daging ayam

Hasil rata-rata *total plate count* pada daging ayam yang diberi simplisia daun kecombrang menunjukkan bahwa semua perlakuan tidak memenuhi standart SNI 3924:2009. Standart TPC daging ayam tidak lebih dari 1×10^6 CFU/g (BSN, 2009).

Berdasarkan hasil rata-rata TPC pada daging ayam yang diawetkan dengan simplisia daun kecombrang menunjukkan bahwa daun kecombrang tidak mampu menekan jumlah bakteri pada setiap perlakuan yaitu P2, P3 dan P4.

Sampel daging ayam yang belum dilakukan penyimpanan dan pemberian simplisia yaitu P0 dengan hasil rata-rata $1,999 \times 10^6$ CFU/g sebagai kontrol tidak

memenuhi syarat standart TPC. Sampel daging ayam yang belum dilakukan penyimpanan dan sudah diberi simplisia daun kecombrang yaitu P1 dengan hasil rata-rata $3,924 \times 10^6$ CFU/g tidak memenuhi standart TPC. Setelah itu, pada sampel daging ayam yang sudah dilakukan penyimpanan dan sudah diberi simplisia daun kecombrang yaitu P2 dengan hasil rata-rata $5,927 \times 10^6$ CFU/g, P3 dengan hasil rata-rata $7,598 \times 10^6$ CFU/g dan P4 dengan hasil rata-rata $8,934 \times 10^6$ CFU/g tidak memenuhi standart TPC dan tidak efektif sebagai pengawetan pada daging ayam.

Tabel 4.2 Hasil analisis statistik *Total Plate Count* (TPC) pada daging ayam

Perlakuan	Rata-rata \pm SD
P0	$1,999 \pm 1,749^a$
P1	$3,924 \pm 1,946^{ab}$
P2	$5,972 \pm 2,035^{bc}$
P3	$7,598 \pm 1,455^{cd}$
P4	$8,934 \pm 2,952^d$

Analisa data menggunakan uji ANOVA, diketahui bahwa nilai sig. 0,000 ($P < 0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata TPC yang nyata antar kelompok perlakuan (P0, P1, P2, P3 dan P4).

Pada Tabel 4.1, superskrip (a, b, c dan d) menunjukkan tingkat perbedaan rata-rata total bakteri (TPC) pada setiap perlakuan. Pada P1 dan P2 memiliki superskrip yang sama yaitu b, yang artinya antara P1 dan P2 tidak terdapat perbedaan total bakteri (TPC) yang signifikan. Pada perlakuan P0 memiliki superskrip a dan P4 memiliki superskrip d, yang artinya P0 dan P4 memiliki superskrip yang berbeda maka terdapat perbedaan total bakteri (TPC) yang signifikan antara P0 dan P4. Pada P1 memiliki superskrip ab, yang artinya P1 tidak terdapat perbedaan total bakteri (TPC) yang signifikan dengan P0 yang memiliki superskrip a dan P2 yang memiliki superskrip b. Pada P2 memiliki superskrip bc,

yang artinya P2 tidak terdapat perbedaan total bakteri (TPC) yang signifikan dengan P1 yang memiliki superskrip b dan P3 yang memiliki superskrip c. Pada P3 memiliki superskrip cd, yang artinya P3 tidak terdapat perbedaan total bakteri (TPC) yang signifikan dengan P2 yang memiliki superskrip c dan P4 yang memiliki superskrip d.

Pada P0 memiliki superskrip yang juga dimiliki oleh P1 dan tidak dimiliki perlakuan lainnya (P2, P3 dan P4). Hal ini menunjukkan bahwa antara P0 dengan P1 tidak terdapat perbedaan total bakteri (TPC) yang signifikan, namun antara P0 dengan P1, P2 dan P3 terdapat perbedaan total bakteri (TPC) yang signifikan.

Berdasarkan grafik di atas, hasil uji TPC menunjukkan hasil rata-rata tertinggi terjadi pada P4 (daging ayam yang diberi simplisia daun kecombrang dengan lama penyimpanan 3 jam) dan rata-rata terendah pada P0 (daging ayam yang tidak diberi simplisia daun kecombrang dan tanpa proses penyimpanan).

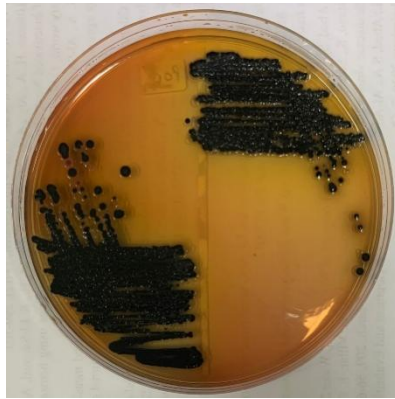
4.1.2 Hasil Uji Cemaran *Salmonella sp* pada Daging Ayam

Tabel 4.3 Hasil uji cemaran *Salmonella sp* pada daging ayam

Perlakuan	<i>Salmonella sp</i> (Ulangan)	
	(+)	(-)
P0	0	5
P1	0	5
P2	0	5
P3	1	4
P4	0	5

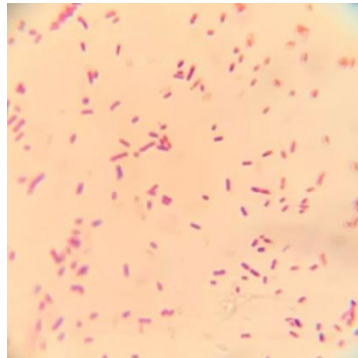
Penanaman daging ayam pada media *Salmonella Shigella Agar* (SSA) menunjukkan hasil positif jika koloni berbentuk bulat, elevasinya cembung dengan pinggiran rata, mengkilat, ada titik hitam dan adanya perubahan warna media, yaitu kuning pada *butt* (dasar) dan merah pada *slant* (permukaan miring). Hasil positif

Salmonella sp pada media SSA seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Hasil positif *Salmonella sp* pada media SSA

Koloni bakteri pada media SSA kemudian diuji pewarnaan Gram. Hasil uji pewarnaan Gram yang positif *Salmonella sp* menunjukkan bakteri yang berbentuk batang dan berwarna merah atau Gram negatif seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Hasil positif *Salmonella sp* pada pewarnaan Gram

Koloni bakteri pada media SSA kemudian diuji biokimia (TSIA, SIM, Urease, SCA, MR-VP). Hasil uji biokimia yang positif *Salmonella sp* menunjukkan pada TSIA berwarna kuning pada *butt* dan merah pada *slant*, seperti yang terlihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Hasil positif *Salmonella sp* pada penanaman di media TSIA

Hasil uji biokimia yang positif *Salmonella sp* menunjukkan pada SIM positif terdapat cincin berwarna merah, pertumbuhan bakteri menyebar dan tanpa menghasilkan H₂S, seperti yang terlihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Hasil positif *Salmonella sp* pada penanaman di media SIM

Hasil uji biokimia yang positif *Salmonella sp* menunjukkan pada SCA positif berwarna biru, seperti yang terlihat pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Hasil positif *Salmonella sp* pada penanaman di media SCA

Hasil uji biokimia yang positif *Salmonella sp* menunjukkan pada media urease negatif dengan tetap berwarna kuning, seperti yang terlihat pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8 Hasil positif *Salmonella sp* pada penanaman di media Urease

Hasil uji biokimia yang positif *Salmonella sp* menunjukkan pada media MR positif berwarna merah, seperti yang terlihat pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9 Hasil positif *Salmonella sp* pada penanaman di media MR

Hasil uji biokimia yang positif *Salmonella sp* menunjukkan pada media VP negatif dengan tetap berwarna kuning, seperti yang terlihat pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10 Hasil positif *Salmonella sp* pada penanaman di media VP

4.2 Pembahasan

4.2.1 Uji Total Bakteri Daging Ayam

Hasil uji total bakteri (TPC) pada daging ayam menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara rata-rata *Total Plate Count* (TPC) kelompok perlakuan (P0, P1, P2, P3 dan P4). Semua perlakuan pada daging ayam memiliki hasil total bakteri (TPC) tidak memenuhi standar SNI. Pada P0 memiliki rata-rata total bakteri $1,999 \times 10^6$ CFU/g, P1 memiliki rata-rata total bakteri $3,924 \times 10^6$ CFU/g, P2 memiliki rata-rata total bakteri $5,972 \times 10^6$ CFU/g, P3 memiliki rata-rata total bakteri $7,598 \times 10^6$ CFU/g dan P4 memiliki rata-rata total bakteri $8,934 \times 10^6$ CFU/g. Menurut SNI 3924:2009, standar TPC daging ayam tidak lebih dari 1×10^6 CFU/g (BSN, 2009).

Sampel daging ayam yang belum dilakukan penyimpanan dan pemberian simplisia yaitu P0 dengan hasil rata-rata $1,999 \times 10^6$ CFU/g sebagai kontrol tidak memenuhi syarat standar TPC. Hal ini dapat dikarenakan kurangnya penerapan hygiene dan sanitasi oleh pedagang di pasar. Karkas ayam dapat tercemar bakteri dari berbagai sumber seperti air untuk mencuci karkas, tempat pencabutan, pisau, talenan dan peralatan lainnya (Rizaldy dan Zelpina, 2020). Kontrol sanitasi pada proses pra-penyembelihan, pemrosesan, penanganan dan konsumsi menentukan total dan jenis mikroba yang dapat mengkontaminasi permukaan daging. Kurangnya hygiene personal juga dapat menyebabkan jumlah bakteri tinggi pada daging ayam (Rizaldy dkk., 2022). Pedagang di Pasar Babaan atau Pesapen Surabaya tidak memiliki fasilitas cuci tangan, tangan penjual hanya dicuci dengan air di bak dan tidak mengalir serta tidak menggunakan sabun. Pedagang juga tidak dilengkapi dengan apron.

Daging ayam di Pasar Babaaan atau Pesapen Surabaya diletakkan di atas meja untuk berjualan dan tidak memiliki fasilitas penyimpanan rantai dingin. Menurut Zuanita dkk., (2014), sistem rantai dingin harus diterapkan untuk mencegah berkembangnya bakteri pada daging ayam. Bakteri dapat tumbuh setia detikanya jika disimpan pada suhu ruang lebih dari 20 menit (Manullang dkk., 2020).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah bakteri semakin meningkat bersamaan dengan lamanya waktu penyimpanan meskipun telah diberi simplisia daun kecombrang. Jumlah bakteri pada daging ayam yang diberi simplisia daun kecombrang dengan lama penyimpanan 3 jam lebih banyak jika dibandingkan dengan lama penyimpanan 1 jam. Simplisia daun kecombrang pada penelitian ini terbukti tidak efektif untuk menekan bakteri pencemar yang ada pada daging ayam.

Daun kecombrang terbukti mengandung falovonoid, saponin dan asam klorogenat. Total fenol dan minyak atsiri dalam daun merupakan yang paling tinggi disusul oleh rimpang, bunga dan batang. Zat-zat aktif inilah yang membuat daun kecombrang memiliki kemampuan antibakterial (Farida dan Maruzy, 2016). Hal ini didukung oleh hasil penelitian Nasution dkk. (2023) yang menunjukkan bahwa daun kecombrang memiliki daya hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Namun pada penelitian ini menunjukkan hasil yang berbeda bahwa daun kecombrang tidak efektif dalam menekan total bakteri. Hal ini diduga karena kualitas simplisia daun kecombrang yang kurang baik.

Kualitas simplisia yang kurang baik pada penelitian ini diduga karena suhu pemanasan yang tidak tepat pada proses pengeringan. Proses pengeringan pada pembuatan simplisia merupakan proses yang paling penting karena dapat

mempengaruhi kualitas produk simplisia, baik dari segi warna maupun zat aktif yang terkandung di dalam bahan. Pengeringan yang baik menghasilkan produk simplisia dengan mutu yang baik yang ditandai dengan tidak terjadinya perubahan zat aktif yang terkandung di dalam bahan (Fahmi dkk., 2019). Pengeringan kering angin dilakukan dengan memanfaatkan aliran udara pada udara segar atau suhu ruang untuk menguapkan air pada bahan sehingga kadar air berkurang. Pengeringan ini merupakan cara yang paling sederhana dan murah, namun membutuhkan waktu yang lama. Pengeringan dapat juga dilakukan dengan bantuan oven sehingga suhu dapat diatur sesuai kebutuhan dan waktu yang diperlukan relatif cepat. Pengeringan oven terjadi dengan memanaskan bahan secara tertutup melalui perambatan panas dari sumber panas api menuju ke permukaan bahan. Pengeringan yang tidak tepat juga mengakibatkan simplisia tidak tahan lama dalam penyimpanan (Fardi dan Raharjo, 2022).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, mutu simplisia yang terbaik terbukti didapatkan melalui pengeringan kering (suhu 25°C) selama 3 hari dan oven (suhu 150°C) selama 50 menit. Pengeringan oven pada suhu 150°C selama 50 menit menghasilkan simplisia yang terbaik karena sirkulasi udara lebih sempurna dan pengeringan lebih merata (Dharma, 2020). Pada penelitian ini, pengeringan daun kecombrang dilakukan dengan sinar matahari selama 1 hari dan pengeringan oven 150°C selama 30 menit. Kurang lamanya proses pengeringan daun kecombrang pada penelitian ini diduga menyebabkan kualitas simplisia daun kecombrang kurang baik. Simplisia yang kurang kering (kadar air lebih besar dari 10%) akan terjadi proses enzimatik dan kerusakan oleh mikroba. Enzim (seperti hidrolase,

oksidase dan polymerase) akan merubah kandungan kimia yang ada dalam bahan menjadi produk lain yang tidak lagi memiliki efek farmakologi seperti senyawa asalnya. Hal ini tidak akan terjadi jika kadar air dalam bahan rendah (Wahyuni dkk., 2014).

4.2.2 Cemaran *Salmonella sp* pada Daging

Hasil penelitian menunjukkan terdapat satu sampel pada P3 yang positif *Salmonella sp*. Bakteri *Salmonella sp* tumbuh pada media SSA dengan koloni berbentuk bulat, cembung dengan pinggiran rata, mengkilat, ada titik hitam dan adanya perubahan warna pada media, yaitu berwarna kuning pada bagian *butt* (dasar) dan merah pada bagian *slant* (permukaan miring). Perubahan warna tersebut terjadi karena *Salmonella sp* mampu memfermentasi glukosa. Terdapat titik hitam (*black center*) pada koloni karena *Salmonella sp* mampu menghasilkan H₂S (Amiruddin dkk., 2017).

Media SSA merupakan media selektif yang digunakan untuk mengisolasi dan membedakan tipe pertumbuhan *Salmonella sp* dan *Shigella sp*. Sifat selektif medium SSA diperantarai oleh adanya komposisi laktosa, neutral red dan Ferric citrate. Laktosa difermentasi oleh bakteri dan menghasilkan asam. Neutral red sebagai indicator warna bereaksi dengan asam dan menghasilkan warna merah muda pada koloni bakteri. Bakteri *Salmonella sp* tidak mampu memfermentasi laktosa, namun menghasilkan hydrogen sulfida. Koloni *Salmonella sp* tampak berwarna bening atau transparan dengan warna hitam di tengah koloni, seperti yang terlihat pada Gambar 4.3. Bakteri *Shigella sp* tidak mampu memfermentasi laktosa dan tidak menghasilkan hydrogen sulfida sehingga koloninya hanya tampak

berwarna bening atau transparan. Bakteri lain seperti *Escherichia coli*, *Enterobacter* dan *Klebsiella* mampu memfermentasi laktosa, namun tidak menghasilkan hydrogen sulfida sehingga koloninya tampak berwarna merah muda (Faizah dan Tridayanti, 2022).

Koloni bakteri yang positif diduga *Salmonella sp* pada media SSA dilanjutkan dengan pengujian pewarnaan Gram. *Salmonella sp* berbentuk batang dan termasuk dalam bakteri Gram negatif sehingga berwarna pink pada pewarnaan Gram. Warna pink ini disebabkan pada dinding bakteri Gram negatif memiliki kandungan lipopolisakarida yang tebal sehingga pewarnaan pertama dengan kristal violet hanya melekat pada lipopolisakarida dan pada saat tahapan *decolorizing* menggunakan alkohol 95% menjadi tidak berwarna. Pada saat dilakukan pewarnaan kedua dengan safranin, tahapan ini menghasilkan warna merah yang menandakan bakteri tersebut Gram negatif secara mikroskopis (Amiruddin dkk., 2017).

Bakteri selanjutnya dilakukan uji biokimia untuk identifikasi *Salmonella sp*. Hasil uji pada TSIA menunjukkan pada *butt* berwarna kuning yang menunjukkan bahwa bakteri mampu memfermentasi glukosa, sedangkan ada *slant* berwarna merah yang menunjukkan bahwa bakteri tidak mampu memfermentasi laktosa dan sukrosa. Bagian bawah tabung reaksi terlihat agar ternagkat ke atas yang menunjukkan bahwa terbentuk gas H₂ dan CO₂ sebagai hasil fermentasi (Amiruddin dkk., 2017). Ciri bakteri *Salmonella sp* adalah terjadi perubahan warna menjadi kuning pada bagian *butt* dengan atau tanpa adanya warna hitam (H₂S) dan bagian *slant* tetap berwarna merah (Safitri dkk., 2019).

Hasil uji pada media SIM menunjukkan hasil positif yaitu terdapat pertumbuhan bakteri menyebar dan tanpa menghasilkan H₂S. Pertumbuhan bakteri menyebar menandakan bahwa bakteri mampu bergerak (motil). Umumnya *Salmonella sp* menghasilkan positif pada SIM dengan ada atau tanpa pembentukan H₂S (Afriyani dkk., 2016).

Hasil uji pada media SCA menunjukkan hasil positif dengan adanya perubahan warna media dari hijau menjadi biru. Hal ini terjadi karena *Salmonella sp* mampu memanfaatkan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon pada media SCA (Afriyani dkk., 2016).

Hasil pada uji MR menunjukkan hasil positif berwarna merah. Umumnya *Salmonella sp* memberikan hasil positif pada pengujian MR karena memiliki kemampuan untuk mengoksidasi glukosa dengan hasil akhir berupa asam konsentrasi tinggi. Sedangkan pada Uji VP menunjukkan hasil negatif dengan tetap berwarna kuning. *Salmonella sp* umumnya memberikan hasil negatif pada pengujian VP karena tidak mampu menghasilkan asetoin dari hasil fermentasi glukosa (Lamatokan dkk., 2023)

Adanya bakteri *Salmonella sp* pada daging ayam dapat disebabkan kontaminasi dari fasilitas tempat penjualan di Pasar Babaan atau Pesapen Surabaya. Berdasarkan hasil pengamatan, kondisi tatalaksana dan pengelolaan penjualan daging ayam di pasar masih kurang baik. Para pedagang di pasar tersebut tidak mengenakan masker, penutup kepala dan sarung tangan, tempat sampah tidak terjaga kebersihannya, lantai pasar becek, tidak ada kontrol suhu ruangan dan tidak dilakuakn pengendalian hama seperti lalat. Menurut Safitri dkk. (2019), kondisi

pasar yang tidak menjaga hygiene dan sanitasi diduga menjadi sebab kontaminasi *Salmonella sp* pada daging ayam.

Bakteri *Salmonella* pada daging ayam juga bisa disebabkan kontaminasi ketika proses pemotongan ayam. Daging ayam melalui proses pemotongan yang panjang, pemotongan yang tidak hygiene menyebabkan kontaminasi bakteri fekal baik saluran pencernaan ayam itu sendiri maupun dari lingkungan (Rouger *et al.*, 2017). Proses pencabutan bulu dapat berkontribusi menyebarkan bakteri antar ayam maupun dari peralatan sehingga menyebabkan jumlah bakteri meningkat pada daging ayam (Hasrawati, 2017).

Daging unggas sangat cocok sebagai media perkembangan mikroba, karena unggas cenderung berada di lingkungan yang kotor. *Salmonella sp* biasanya ditemukan pada bahan pangan yang mengandung protein cukup tinggi sebagai media yang baik bagi pertumbuhan mikroorganisme. Cemaran bakteri daging unggas jugadisebabkan oleh rendahnya tingkat pengetahuan peternak, kebersihan kandang, serta sanitasi air dan pakan. Faktor lain yang menjadi penyebab adanya bakteri *Salmonella sp* pada daging ayam, diduga disebabkan karena kondisi yang sangat mendukung pertumbuhan bakteri *Salmonella sp* yaitu pengambilan sampel dilakukan pada musim panas dimana kondisi suhu ruang relatif tinggi sekitar 37°C sehingga mempercepat pertumbuhan bakteri tersebut. Perkembangan bakteri *Salmonella sp* terbilang sangat cepat, setiap selnya mampu membelah diri setiap 20 menit sekali pada suhu hangat. Karena itu, infeksi *Salmonella sp* lebih banyak terjadi pada musim panas (Nida dkk., 2016)

Menurut SNI 3925:2009, persyaratan *Salmonella sp* dalam daging ayam adalah negatif karena bakteri ini merupakan penyebab zoonosis yang sebagian besar ditularkan melalui makanan. Infeksi *Salmonella sp* melalui daging ayam yang terkontaminasi dilaporkan sebesar 37,3%. Bakteri pada hewan maupun manusia dapat menyebabkan salmonellosis dengan gejala gangguan pada saluran pencernaan dan banyak diantaranya hingga menyebabkan kematian (Darmawan dkk., 2020).

Bakteri *Salmonella enterica serotipe typhi (Salmonella typhi)* merupakan bakteri penyebab penyakit demam tiploid. Demam tiploid yaitu suatu penyakit infeksi sistemik dengan gambaran demam yang berlangsung lama, adanya bakterimia disertai inflamasi yang dapat merusak usus dan organ-organ hati. World Health Organization (2017) melaporkan bahwa di seluruh dunia terjadi kasus demam tiploid akibat infeksi *Salmonella sp* pada manusia sebesar 11 -20 juta orang yang 128,000 – 161,000 diantaranya meninggal dunia. Tentunya ini menjadi problem kesehatan masyarakat bagi negara-negara berkembang, termasuk Indonesia. Salah satu hal yang disarankan adalah dengan perbaikan kondisi hygiene dan sanitasi lingkungan di pasar tradisional.