

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Data hasil penelitian dari Uji awal kebusukan merupakan data kualitatif yang akan diolah secara deskriptif, kemudian data Uji Total Koloni Bakteri (TPC) akan diolah dengan menggunakan uji *Analysis of Variance* (ANOVA).

4.1.1 Awal Pembedusan

Hasil pengujian awal pembedusan (eber) pada daging babi yang direndam menggunakan ekstrak daun mint dengan konsentrasi yang berbeda selama 24 jam menunjukkan hasil pada perlakuan kontrol (P0) sebesar 5/6, perlakuan perendaman dengan konsentrasi 5% sebesar 6/6, perlakuan perendaman dengan konsentrasi 15% sebesar 5/6 dan pada perlakuan perendaman dengan konsentrasi 25% sebesar 6/6. Tanda yang muncul untuk mengetahui hasil positif yaitu terdapatnya gas berwarna putih di sekitar daging pada dinding tabung reaksi. Hasil ditunjukkan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil Awal Pembedusan

| No. | Perlakuan | Reaksi positif / Ulangan |
|-----|-----------|--------------------------|
| 1. | P0 | 5/6 tabung |
| 2 | P1 | 6/6 tabung |
| 3 | P2 | 5/6 tabung |
| 4 | P3 | 1/6 tabung |

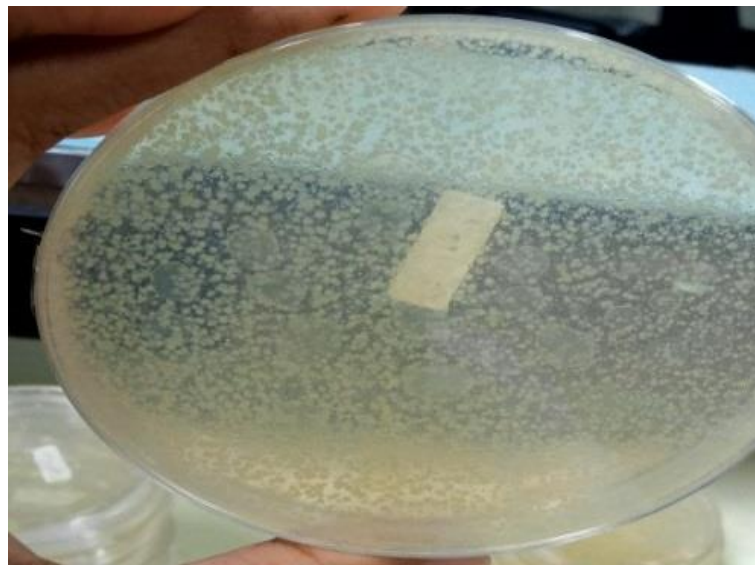
Hasil penelitian awal pembedusan pada 24 sampel daging terdapat 17 tabung reaksi yang menunjukkan reaksi positif dengan terbentuknya gas putih yaitu pada P0(1), P0(2), P0(3), P0(4), P0(5), P1(1), P1(2), P1(3), P1(4), P1(5), P1(6), P2(1), P2(2), P2(3), P2(4), P2(5), P3(3) (Lampiran).



Gambar 4.1 Hasil positif (kiri) dan Hasil negatif uji eber (kanan)

Hasil negatif ditandai dengan tidak terbentuknya gas berwarna putih disekitar daging pada dinding tabung dan terjadi pada 7 tabung reaksi lainnya yaitu P0(6) sebagai kontrol, tabung P2(6) pada daging dengan ekstrak daun mint 15%, dan pada tabung P3(1), P3(2), P3(4), P3(5), P3(6)) pada daging dengan ekstrak daun mint 25%.

4.1.2 Total Koloni Bakteri



Gambar 4.2 penampakan koloni bakteri yang tampak pada cawan petri.

Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri pada keempat perlakuan yaitu P0 (kontrol), P1(Ekstrak daun mint 5%), P2(Ekstrak daun mint 15%), dan P3(Ekstrak daun mint 25%) mendapatkan hasil lebih dari 300 koloni. Syarat perhitungan koloni yaitu berkisar antara 30-300.

Hasil analisis total koloni bakteri (TPC) pada daging babi yang direndam dengan menggunakan ekstrak daun mint (*Mentha arvensis*) kemudian diolah dengan menggunakan uji *Analysis of Variance* (ANOVA)

Tabel 4.2 . Rata-rata total koloni bakteri pada daging babi

| Perlakuan | Rata-rata ± SD (10⁶) |
|----------------------------|---|
| P0 (Kontrol) | 300,00 ± 0,00 |
| P1 (Ekstrak daun mint 5%) | 300,00 ± 0,00 |
| P2 (Ekstrak daun mint 15%) | 300,00 ± 0,00 |
| P3 (Ekstrak daun mint 25%) | 300,00 ± 0,00 |

Keterangan : Tidak terdapat perbedaan yang nyata ($P > 0,05$).

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa rata-rata yang sama dari keempat perlakuan yaitu P0,P1,P2, dan P3 yakni 300,00 sehingga tidak terdapat perbedaan yang nyata antara P0, P1 maupun P2 dan P3.

4.2 Pembahasan

4.2.1. Awal Pembusukan

Pengujian eber menunjukkan reaksi positif ditandai dengan munculnya kabut seperti awan putih disekitar dinding tabung reaksi. Hal ini sesuai dengan pendapat Antika, dkk. (2013) bahwa pengujian ini berprinsip pada gas NH₃ yang dihasilkan dari daging yang mengalami pembusukan akan bereaksi dengan reagen

eber dan membentuk gas NH_4CL sehingga akan terbentuk kabut seperti awan putih pada dinding tabung karena adanya pembusukan. Hasil penelitian Dangur, dkk. (2020) menunjukkan bahwa daging babi yang direndam dengan ekstrak daun kelor menunjukkan tanda positif pada jam 12-18 jam. Pembusukan pada daging terjadi karena protein yang merupakan nutrisi dari daging menjadi bagian pendukung untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Hal ini sesuai dengan pendapat (Suradi., 2012) bahwa pembusukan ialah protein yang terurai oleh bakteri penghasil senyawa seperti indol, skatol, merkaptan dan amin serta H_2S dan berbau busuk. Pengujian ini diharapkan menghasilkan reaksi negatif dikarenakan daging yang menunjukkan reaksi negatif berarti tidak mengalami pembusukan sedangkan daging yang menunjukkan reaksi positif menandakan telah terjadi pembusukan.

Berdasarkan penelitian awal pembusukan dari total 24 tabung reaksi diperoleh 17 menunjukkan reaksi positif dan 7 tabung menunjukkan reaksi negatif. Awal pembusukan daging terjadi paling banyak pada pada sampel daging tanpa perlakuan (P0) dan daging dengan pemberian ekstrak daun mint konsentrasi 5% dan 15% atau pada perlakuan P1 dan P2. Hal ini dapat disebabkan karena ketiga perlakuan tersebut mempunyai konsentrasi daun mint yang kecil sehingga senyawa antimikroba yang didapat juga lebih sedikit. Konsentrasi yang tergolong rendah yaitu 5% dan 15% pada kelompok P1 dan P2 membuat kandungan yang bersifat sebagai antimikroba seperti minyak atsiri, flavonoid dan juga tanin yang ada pada daun mint tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri yang memicu terjadinya hasil positif pada pengujian eber. Hal ini sesuai dengan pendapat

Rastina, dkk. (2015) yang mengatakan bahwa aktivitas antibakteri dapat dipengaruhi oleh faktor konsentrasi yang diberikan. Berdasarkan penelitian Marpaung, dkk. (2022) ekstrak buah andaliman dengan konsentrasi 25%, 50% dan 75% mampu menghambat awal kebusukan pada daging babi karena mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin yang memiliki aktivitas antimikroba yang potensial.

Pengujian eber pada kelompok kontrol menunjukkan 1 tabung yang mendapatkan hasil negatif yang ditandai dengan tidak terbentuknya gas. Hal itu disebabkan karena proses metabolisme yang lambat dari adaptasi. Hal ini menurut Franciska, dkk. (2018) disebabkan karena daging sudah mengalami proses metabolisme. Metabolisme daging menghasilkan senyawa-senyawa yang dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang. Namun pada pengujian eber ini mikroorganisme pada daging masih dalam tahap adaptasi atau penyesuaian dengan lingkungan dan perlakuan baru sehingga membuat metabolisme daging melambat sehingga tidak aktif menghasilkan gas NH_4Cl (ammonium klorida). Singkatnya yaitu mikroorganisme pada daging dalam 1 tabung perlakuan kontrol ini masih dalam proses adaptasi terhadap kondisi perlakuan sehingga tidak adanya aktivitas dalam menghasilkan gas NH_4Cl . Gas NH_4Cl sendiri terbentuk dari gas NH_3 atau amonia pada daging yang bereaksi dengan reagen eber (Saskiawan, dkk., 2017). Selain karena proses adaptasi dapat juga karena keadaan awal sampel dimana daging yang digunakan dalam perlakuan kontrol memiliki tingkat kesegaran yang berbeda yang membuat adanya variasi dalam hasil pengujian. Hal yang sama juga terjadi pada P2 dimana mulai terdapat

1 tabung yang negatif. Ini bisa disebabkan karena dilakukan pemberian ekstrak yang mampu memberikan hasil negatif dan juga karena daging memiliki tingkat kesegaran yang berbeda sehingga hasilnya pun bervariasi (Rosari, dkk., 2018).

Pada kelompok P3 dengan pemberian ekstrak daun mint konsentrasi 25% merupakan konsentrasi yang efektif dalam mengurangi pembusukan daging dilihat dari banyaknya tabung dengan hasil negatif yang didapat. Hal ini sesuai dengan penelitian Hidayah, dkk. (2021) yang mana penggunaan konsentrasi yang sama yaitu sebesar 25% ekstrak daun salam juga merupakan konsentrasi efektif yang berpengaruh terhadap awal pembusukan dengan kandungan yang terdapat pada daun salam yang bersifat sebagai antimikroba seperti minyak atsiri, flavonoid dan tanin. Hasil uji awal pembusukan menunjukkan dari keenam tabung terdapat 5 tabung yang mendapatkan hasil negatif. Hal ini dikarenakan daun mint memiliki konsentrasi yang cukup sebagai antibakteri seperti minyak atsiri, tanin dan flavonoid yang mampu melawan berbagai bakteri dan juga dapat dijadikan sebagai bahan pengawet (Hartati, 2012). Berdasarkan hasil penelitian Safrijal, dkk. (2017) bahwa ekstrak daun kari konsentrasi 25% dan 50% efektif digunakan sebagai pengawet bahan pangan karena menghambat laju pertumbuhan mikroorganisme dengan kandungan yang dimilikinya sama dengan kandungan pada daun mint salah satunya ialah flavonoid. Salah satu tabung pada kelompok P3 menunjukkan hasil positif. Berdasarkan pendapat Aulia, dkk., (2022) dan Wibisono.,(2014) hal ini disebabkan karena beberapa faktor kontaminasi yaitu kontaminasi pada alat dan bahan yang digunakan seperti tabung yang belum steril dan sampel daging yang sudah tercemar oleh kondisi lingkungan pasar. Selain itu

juga peningkatan awal pembusukan disebabkan karena waktu daging belum benar-benar kering atau pengeluaran darah daging yang belum berlangsung sempurna. Darah yang belum keluar sempurna mengakibatkan terdapatnya hemoglobin di dalam daging dan juga darah merupakan media yang sangat bagus untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba sehingga membuat proses pembusukan cepat terjadi (Ulfa, dkk., 2019).

Awal pembusukan terjadi karena daging telah mengalami kontaminasi dengan udara luar sehingga membuat aktifitas bakteri pembusuk meningkat. Hal ini sesuai dengan pendapat Susanti, dkk.(2017) bahwasannya aktivitas dari mikroorganisme, ketersediaan oksigen dari lingkungan tempat menyimpan daging dan nutrisi yang terkandung dalam daging merupakan penyebab daging mengalami pembusukan. Selain itu Menurut Estoepangestie, dkk.(2011) terdapat dua faktor yang juga berpengaruh pada pembusukan daging yaitu faktor instrinsik dan ekstrinsik. Faktor instrinsik meliputi kualitas air, Ph, nilai nutrisi daging ,potensi reduksi. Air yang tercemar mikroorganisme dapat mempercepat pembusukan daging. pH daging yang normal berdasarkan SNI dalam Merthayasa, dkk. (2015) yaitu antara 5,4-5,8. Nilai pH yang tinggi membuat daging lebih rentan untuk pertumbuhan mikroba (Haq, dkk. 2015). Sedangkan faktor ekstrinsik meliputi suhu, kelembapan, oksigen dan bentuk atau struktur daging. Suhu lingkungan menentukan laju pertumbuhan dari bakteri yang mana tumbuh pada temperatur $10^0 - 40^0$ C(Afrina,dkk. 2018). Menurut (ANZFA ,2001) batas waktu untuk menyimpan daging pada suhu optimal pertumbuhan bakteri disarankan berkisar 2 sampai 4 jam dan tidak melebihi batas waktu tersebut. Suhu

yang rendah pada daging akan membuat pertumbuhan bakteri semakin lambat dan jika suhu tinggi akan membuat fase adaptasi menjadi lebih panjang. Artinya suhu tinggi dapat merusak DNA bakteri yang dapat menyebabkan mutasi dan kematian sel. Hal ini dapat mengganggu proses adaptasi bakteri dengan membuatnya lebih sulit untuk beradaptasi dengan lingkungan baru (Nurilmala, dkk., 2021).

Pembusukan daging juga dapat disebabkan karena terdapat kontaminasi bakteri pembusuk. Bakteri atau mikroorganisme pembusuk melakukan aktivitas yang menyebabkan terjadinya degradasi protein daging menjadi asam amino dan menyebabkan sel-sel daging menjadi busuk. Bakteri-bakteri yang ada pada daging ini tidak semuanya menyebabkan pembusukan. Beberapa jenis bakteri pembusuk yang sering ditemukan pada daging segar adalah *Aeromonas*, *Enterococcus*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Chromobacterium*, dan *Pseudomonas* dan termasuk kedalam bakteri gram negatif terkecuali bakteri *Enterococcus* (Yulistiani., 2010). Bakteri-bakteri ini memiliki tingkat berbahayanya masing-masing namun yang paling berbahaya ialah bakteri *Pseudomonas*. Ekstrak daun mint hanya mempengaruhi bakteri pembusuk ini sedangkan jenis bakteri lain tidak terpengaruh namun tetap terdeteksi pada uji total koloni bakteri.

Selain itu mikroba sendiri dapat berkembang biak dengan baik jika tingginya komposisi air. Hal ini sesuai dengan pendapat Sakti, dkk. (2016) bahwa bahan makanan yang memiliki kandungan air yang banyak dapat mempengaruhi lamanya penyimpanan dari sebaran mikroba. Kadar air yang tinggi mengakibatkan produk lebih mudah mengalami kerusakan dikarenakan mikroba memanfaatkan banyaknya air di dalam produk bagi pertumbuhannya.

4.2.2 Total Koloni Bakteri

Hasil penelitian dan perhitungan Tpc untuk setiap perlakuan yaitu P0 (kontrol), P1 (ekstrak daun mint 5%), P2 (Ekstrak daun mint 15%), dan P3 (Ekstrak daun mint 25%) sesudah diinkubasi menunjukkan total koloni bakteri yang besar dan sudah melebihi dari batas maksimal SNI yaitu 1×10^6 CFU (Colony Forming Unit) dan tidak terjadinya penurunan bakteri pada setiap perlakuan. Hal ini dapat disebabkan karena pada penelitian ini konsentrasi 5%, 15% dan 25% yang diberikan masih tergolong rendah dan zat aktif yang bersifat antimikroba yang terkandung di dalam daun mint seperti minyak atsiri, flavonoid, dan tanin juga tergolong kecil sehingga tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi 25% belum efektif dalam menekan pertumbuhan koloni bakteri ditinjau dari tidak terjadinya penurunan jumlah bakteri. Hal ini sesuai dengan pendapat Rosari, dkk. (2018) bahwa konsentrasi ekstrak dalam penggunaannya perlu diberikan dalam jumlah besar agar zat bioaktif yang terkandung juga mampu menghambat aktivitas bakteri.

Berdasarkan hasil penelitian Siregar, dkk. (2021) menunjukkan bahwa konsentrasi dan waktu terbaik dalam mengawetkan daging yaitu konsentrasi ekstrak daun salam 60% yang direndam selama 2 jam. Senyawa tanin dan flavonoid akan mampu menghambat pertumbuhan bakteri jika ekstrak yang dipakai dalam konsentrasi tinggi. Menurut penelitian Widyawati, dkk. (2020) daging ayam yang direndam dengan ekstrak daun pala 40% memiliki jumlah bakteri yang rendah dan konsentrasi 20% memiliki total bakteri yang tinggi. Hal ini berarti untuk menurunkan total koloni bakteri pada daging perlu konsentrasi

yang tinggi sehingga zat aktif dari ekstrak yang dipakai akan mencegah pertumbuhan bakteri. Penelitian Yanestria,dkk. (2020) juga menyatakan bahwa ketika ikan bandeng direndam dengan menggunakan ekstrak daun salam dengan konsentrasi 5%, 10%, 15% dan 20% mampu menghambat bakteri ditinjau dari hasil koloni bakteri yang masih dibawah batas maksimal dan pada konsentrasi ekstrak daun salam 20% paling efektif sebagai pengawet alami ikan dan mempertahankan kesegaran ikan. Hal ini juga dipengaruhi oleh kandungan pada ekstrak daun salam yang bersifat sebagai antimikroba seperti flavonoid, minyak atsiri, tanin, saponin dan juga polifenol.

Kandungan atau senyawa kimia pada ekstrak daun mint setelah dianalisis fitokimia menurut penelitian Biswas, dkk. (2014) yaitu menunjukkan adanya flavonoid dan tanin yang bersifat sebagai antibakteri. Selain itu pada penelitian Thawkar, dkk. (2016) juga terdapat kandungan minyak atsiri yang memiliki aktivitas antibakteri yang menjanjikan terhadap bakteri. Kerja senyawa antibakteri adalah merusak dinding sel, hal ini mengakibatkan gangguan permeabilitas sel dan penurunan kemampuan sel bakteri untuk mempertahankan keutuhan struktur sel (Lestari, dkk. 2019). Kandungan minyak atsiri yang ada pada daun mint yaitu sebesar 1,2-1,5% namun belum mampu membunuh bakteri. Ratna, dkk. (2011) menyatakan bahwa untuk menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri diperlukan kandungan minyak atsiri minimal 2%. Cara kerja minyak atsiri yaitu dengan mengganggu keseimbangan membran sel bakteri dan menyebabkan hilangnya bahan sitoplasma (Dewi., 2015). Berdasarkan penelitian Rosari, dkk., (2018) flavonoid dan tanin mampu menghambat bakteri dengan kandungan yang

dimiliki yaitu flavonoid sebanyak 0,106% dan tanin sebanyak 1,018%. Mekanisme kerja flavonoid ialah dengan cara merusak dinding sel bakteri. Flavonoid akan bereaksi dengan lipid dan asam amino di dinding sel bakteri, dinding sel bakteri kemudian rusak dan memungkinkan flavonoid masuk ke dalam inti sel dan kemudian akan bereaksi dengan DNA pada inti sel bakteri. Perbedaan kepolaran antara flavonoid dengan DNA menyebabkan kerusakan struktur lipid DNA dan menyebabkan lisis atau pecahnya sel bakteri (Sholikhatin, 2014). Tanin yang terkandung dalam daun mint juga memiliki kemampuan untuk menginaktivasi enzim yang penting bagi metabolisme bakteri. Tanin bersifat bersifat spasmolitik yang berarti dapat mengecilkan dinding sel sehingga membuat bakteri sulit untuk tumbuh dan berkembang yang nantinya akan menyebabkan aktivitas bakteri terhambat dan bakteri mengalami kematian (Mentari, dkk., 2016).

Faktor-faktor yang menyebabkan terjadinya pertumbuhan koloni bakteri pada daging babi ialah lama penyimpanan, suhu, struktur daging dan daya ikat air, serta kontaminasi. Daging babi yang disimpan lebih lama akan membuat pola pertumbuhan bakteri semakin meningkat. Hal ini sesuai dengan penelitian Kusumaningrum, dkk. (2013) bahwa daging ayam dengan lama penyimpanan 12 jam setelah perendaman menggunakan infusa daun salam menunjukkan total bakteri yang semakin besar. Menurut penelitian Patty, dkk. (2015) dikatakan bahwa suhu dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Suhu optimal pertumbuhan bakteri yaitu 10°C - 40°C . Suhu yang semakin rendah membuat bakteri mengalami laju pertumbuhan yang lambat dan ketika suhunya tinggi

maka akan merusak DNA bakteri yang dapat menyebabkan mutasi dan kematian sel. Pengaruh suhu terhadap pertumbuhan bakteri terlihat jelas pada siklus pertumbuhannya, terutama pada pemanjangan atau pemendekan masa adaptasi yang bergantung pada tinggi atau rendahnya suhu. Fase adaptasi membutuhkan waktu lebih lama karena suhu yang tinggi (Nurilmala, dkk., 2021). Struktur daging dan daya ikat air juga dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri dan menyebabkan koloni bakteri tinggi. Daging babi memiliki serat daging yang tebal dan termasuk kedalam daging merah yang memiliki lebih banyak lemak. Otot yang memiliki lebih banyak lemak cenderung mempunyai daya ikat air yang tinggi dibandingkan dengan otot yang lemaknya kurang karena lemak melemaskan struktur mikro serta otot sehingga memberikan ruang yang cukup bagi protein untuk mengikat air (Daniswara., 2018).

Faktor terakhir yang mempengaruhi pertumbuhan koloni bakteri yaitu adanya kontaminasi. Kontaminasi dapat terjadi pada tempat pemotongan, alat pemotongan hingga pemotongannya yang kurang bersih dan steril. Hernando, dkk. (2015) menyatakan bahwa kebersihan atau sanitasi dan higienitas yang kurang baik menyebabkan kontaminasi mikroba, dimana sistem kebersihan dan higiene memburuk maka tingkat kontaminasi mikroba meningkat.