

SKRIPSI_20820078_ADINIVIC WANMA

by hafidernanda@gmail.com 1

Submission date: 02-Jul-2024 01:41PM (UTC+0530)

Submission ID: 2411568275

File name: SKRIPSI_20820078_ADINIVIC_WANMA.docx (662.42K)

Word count: 7208

Character count: 44665

1
**EFEK BUNGA KECOMBRANG (*Etilingera elatior*) SEBAGAI
PENGAWET DAGING SAPI DITINJAU DARI TOTAL
BAKTERI DAN CEMARAN *Salmonella Sp.***

ADINIVIC WANMA

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan simplisia bunga kecombrang (*Etilingera elatior*) sebagai pengawet daging sapi dilihat dari jumlah bakteri dan cemaran *Salmonella sp.* Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), yang terdiri dari lima perlakuan dan lima pengulangan. Pada perlakuan P0 sampel daging tidak diberi simplisia bunga kecombrang dan tanpa proses penyimpanan, P1 diberi simplisia bunga kecombrang dengan penyimpanan selama 1 jam, P2 diberi simplisia bunga kecombrang dengan penyimpanan selama 2 jam, P3 diberi simplisia bunga kecombrang dengan penyimpanan selama 3 jam, dan P4 diberi simplisia bunga kecombrang dengan penyimpanan selama 4 jam. Hasil penelitian ini menunjukkan perbedaan yang sangat nyata pada setiap perlakuan dimana P0 ($1,2 \times 10^6$ CFU/g), P1 ($2,8 \times 10^6$ CFU/g), P2 (5×10^6 CFU/g), P3 ($1,6 \times 10^6$ CFU/g), P4 ($2,5 \times 10^6$ CFU/g) dan hasil uji *Salmonella sp.* tidak ditemukan adanya cemaran *Salmonella sp.* pada sampel daging sapi disetiap perlakuan.

Kata Kunci : Daging sapi, *Salmonella sp.*, TPC, Bunga kecombrang

1
**EFEK BUNGA KECOMBRANG (*Etilingera elatior*) SEBAGAI
PENGAWET DAGING SAPI DITINJAU DARI TOTAL
BAKTERI DAN CEMARAN *Salmonella Sp.***

ADINIVIC WANMA

3
ABSTRACT

The aim of this research was to determine the effect of adding torch ginger simplicia (*Etilingera elatior*) as a beef preservative in terms of the number of bacteria and *Salmonella sp.* contamination. This research used a Completely Randomized Design (CRD), which consisted of five treatments and five repetitions. In treatment P0, beef samples were not given torch ginger simplicia and without any storage process, P1 was given torch ginger simplicia with storage for 1 hour, P2 was given torch ginger simplicia with storage for 2 hours, P3 was given torch ginger simplicia with storage for 3 hours, P4 given torch ginger simplicia and stored for 4 hours. The result of this study showed very significant differences in each treatment where P0 ($1,2 \times 10^6$ CFU/g), P1 ($2,8 \times 10^6$ CFU/g), P2 (5×10^6 CFU/g), P3 ($1,6 \times 10^6$ CFU/g), P4 ($2,5 \times 10^6$ CFU/g) and *Salmonella sp.* test result no *Salmonella sp.* contamination was found on beef samples in each treatment.

Keywords : Beef, *Salmonella sp.*, TPC, Torch ginger

1.1 Latar belakang

Daging sapi merupakan produk daging utama di Indonesia. Khususnya di Jawa Timur, tingkat produksi daging sapi tertinggi di Indonesia dengan nilai produksi sebesar berfluktuasi dari tahun ke tahun. Daging sapi merupakan salah satu bahan makanan pokok masyarakat Indonesia, dimana ia diproduksi dan perdagangan diatur oleh pemerintah (Maula *et al*, 2019). Menurut Badan Perencanaan Pembangunan Daerah Provinsi Jawa Timur (2017), Provinsi Jawa Timur adalah pusat produksi daging sapi di Indonesia, yang menyumbang 22% dari kebutuhan nasional. Daging merupakan produk peternakan yang paling berharga karena merupakan salah satu sumber protein utama yang dapat dikonsumsi manusia. Air secara kuantitatif merupakan komponen daging yang paling penting, mencapai 75% dari beratnya dan juga tersusun dari asam amino, asam lemak, vitamin, mineral, dan bahan penting lainnya (Geletu *et al.*, 2021). Daging sapi Bali memiliki kualitas yang baik dan tidak ada perbedaan baik berdasarkan usia maupun jenis kelamin (Mendrofa *et al*, 2019).

Mikroorganisme dapat berkembang biak dengan baik di dalam daging. Hal ini disebabkan oleh persentase air yang terkandung dalam daging sapi yang sangat tinggi, antara 68 dan 75 persen, dan pHnya, yang berkisar antara 5,3 dan 6,5, yang menguntungkan pertumbuhan mikroba. Banyak faktor, termasuk kualitas kimia, fisika, dan mikrobiologi, dapat menentukan kualitas daging. pH, kadar lemak, protein, dan air dalam daging adalah unsur-unsur yang menentukan kualitas

kimiaawi daging. (Supriyatin & Hery Prambudi, 2020).Bakteri dapat membuat makanan berbau tidak sedap dan menghasilkan lendir, dan semakin lama proses pengolahan makanan, semakin banyak bakteri yang tercemar. Di samping itu, air dan peralatan yang tidak bersih juga dapat menyebabkan lingkungan menjadi tidak sehat atau tercemar.. Salah satu bakteri yang mencemari daging yaitu bakteri *Salmonella sp.* Penyakit bawaan makanan dan salmonellosis menyebabkan gangguan pencernaan manusia dan menyebabkan kematian. Sekitar 11 hingga 20 juta orang di seluruh dunia terinfeksi penyakit ini dan sekitar 161.000 orang meninggal (Liur, 2020). Di seluruh dunia, penyakit bawaan makanan yang disebabkan oleh *Salmonella* non-tifoid, *S. aureus*, dan *E. coli* adalah masalah kesehatan masyarakat yang signifikan. Penyebaran patogen ini terutama terjadi melalui konsumsi makanan yang terkontaminasi. Jika organisme ini ada dalam produk daging mentah, ini dapat membahayakan kesehatan perusahaan yang terkontaminasi (Atlabachew & Mamo, 2021).

Industri makanan telah berkembang di seluruh dunia, menyebabkan peningkatan ancaman pencemaran pangan akibat mikroorganisme patogen, sisa bahan kimia, bahan tambahan pangan berbahaya dan toksin. Pertumbuhan mikroorganisme pembusuk dan penyebab penyakit harus dikendalikan untuk menjamin keamanan pangan. Oleh karena itu, teknik pengawetan pangan yang bertujuan untuk melindungi pangan dari bakteri patogen dan memperpanjang umur simpannya meliputi metode kimia, seperti penggunaan bahan pengawet; metode fisik seperti perlakuan panas, pengeringan, pembekuan dan pengemasan; dan metode biologis menggunakan mikroorganisme yang mempunyai efek antagonis

terhadap bakteri patogen dan menghasilkan bakteriosin (Matthews, 2017). Pengawet sintetik mempunyai kelebihan pengolahan daging karena biayanya yang rendah dan efek atau aktivitas antibakteri yang terjamin memperpanjang umur simpan dan memiliki sedikit pengaruh terhadap rasa, warna dan tekstur. Bahan pengawet sintesis cenderung kurang populer di kalangan konsumen makanan karena beberapa masalah kesehatan terkait efek sampingnya. Pengawet alami telah muncul sebagai alternatif pengganti bahan pengawet sintesis (Marrone *et al*, 2021). Pengawet alami telah menunjukkan potensi memberikan aktivitas antibakteri yang efektif sekaligus mengurangi efek negatif terhadap kesehatan. Daging dan produk daging yang mengandung bahan aditif sintesis menjadi perhatian utama bagi kesehatan manusia (Young *et al*, 2021).

Kecombrang merupakan salah satu ²tanaman yang populer di Indonesia dan banyak dimanfaatkan masyarakat sebagai obat dan penyedap makanan. Senyawa aktif pada bunga kecombrang antara lain alkaloid, perisa, dan tanin. Combrang memiliki sifat antibakteri yang membantu mencegah pertumbuhan bakteri, jamur dan ragi pada makanan (Yusuf & Dasir, 2014).

Berdasarkan gambaran umum dari ¹⁶latar belakang di atas maka diperlukan suatu penelitian khusus untuk mengetahui kemampuan daun kecombrang untuk mencegah atau memperlambat pertumbuhan bakteri secara umum dan khususnya *Salmonella sp.* pada daging sapi sebagai pengawet yang aman dan tidak membahayakan kesehatan.

41

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, masalah utama penelitian ini adalah bagaimana penggunaan Bunga kecombrang (*Etlingera elatior*) sebagai pengawet daging sapi berdampak pada kandungan bakteri dan *Salmonella* sp. dalam daging sapi yang disimpan dalam suhu ruangan selama berbagai waktu atau jam.

2

1.3 Tujuan penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek bunga kecombrang sebagai pengawet pada daging sapi ditinjau dari jumlah total bakteri dan cemaran *Salmonella* sp. yang disimpan pada suhu ruangan dengan waktu/jam berbeda.

1.4 Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah tersebut, hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

H₀: Tidak terdapat pengaruh efek bunga kecombrang (*Etlingera eliator*) sebagai pengawet daging sapi terhadap jumlah total bakteri dan cemaran *Salmonella* sp. yang disimpan pada suhu ruangan dengan waktu/jam yang berbeda.

H₁: Terdapat pengaruh efek bunga kecombrang (*Etlingera elatior*) sebagai pengawet daging sapi terhadap total bakteri dan cemaran *Salmonella* sp. pada suhu ruangan dengan waktu/jam yang berbeda.

6

1.5 Manfaat penelitian

Penelitian ini bermanfaat sebagai penunjang edukasi dan upaya peralihan penggunaan pengawet sintetik menjadi pengawet alami dengan tetap memperhatikan aspek keamanan bahan pangan dari kontaminasi bakteri.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daging Sapi

2.1.1 Pengertian Daging Sapi

Daging didefinisikan sebagai otot Kerangka dan jaringan terkait dari mamalia, burung, reptil, amfibi, dan spesies akuatik yang biasanya dipanen untuk dikonsumsi oleh manusia (Dilger, 2022). Komposisi daging dan sifat fisik otot dikarakterisasi untuk menjamin kualitas rasa yang lebih baik. Beberapa ciri struktur daging, seperti jaringan ikat, serat otot, dan tendon yang menempelkan otot ke tulang, terlihat pada daging sendi jika diperiksa dengan mata telanjang. Secara kuantitatif, air merupakan komponen daging yang paling penting, menyumbang 75% dari beratnya. Daging juga terdiri dari asam amino, asam lemak, vitamin, mineral dan bahan penting lainnya. Faktor kualitas yang dirasakan oleh konsumen berhubungan dengan atribut sensorik (misalnya warna, rasa manis dan rasa), sifat gizi (misalnya kalori, kandungan vitamin dan komposisi asam lemak) dan penampilan (misalnya sekresi, marmer dan visibilitas) (Geletu *et al*, 2021).

Dampak dari peternakan terhadap metabolisme lipid jaringan dan kandungan asam lemak makanan terhadap pertumbuhan otot pada sapi telah diketahui. Kualitas daging sapi sangat bergantung pada jenis kelamin, usia hewan yang disembelih, dan sistem pemberian pakan. Semua faktor tersebut perlu diperhatikan dalam meningkatkan kualitas gizi daging sapi (Sakowski *et al*, 2022). Daging sapi segar rentan terhadap pembusukan oleh bakteri yang disebabkan oleh mikrobiota yang menetap dan menimbulkan perubahan pada daging sapi segar

selama prosesnya (Hwang *et al*, 2020). Pembusukan daging adalah proses ekologi mikroba kompleks yang melibatkan banyak interaksi mikroba spesifik. Hal ini berbahaya bagi kesehatan masyarakat dan menyebabkan pemborosan produk daging sehingga menimbulkan kerugian yang sangat besar. selama produksi, penyimpanan, transportasi dan pemasaran (Zhu *et al*, 2022).

2.1.2 Standar mutu daging sapi

Bahan tambahan pangan yang digunakan sebagai pengawet, penambah rasa bahkan pewarna untuk meningkatkan mutu harus diperhatikan dari segi kesehatan (Zulkarnain *et al*, 2021).

Dengan menggunakan senter untuk melihat permukaan otot daging sapi dan membandingkannya dengan standar warna daging sapi, daging sapi dapat dinilai untuk kualitasnya. ²Warna daging sapi terang diberi skor 1-5, warna merah kegelapan diberi skor 6-7, dan warna merah gelap diberi skor 8-9. Dengan menggunakan senter untuk melihat ²²warna lemak subkutis, penilaian warna lemak dilakukan dengan membandingkannya dengan standar warna daging sapi yang paling sesuai. Nilai standar warna mulai dari putih (1-3), putih kekuningan (4-6), dan kuning (7-9). *Marbling* (Lemak intra muscular) terdiri dari Warna putih (9-12), Warna putih kekuningan (5-8), Kuning (1-4). Penilaian ²²*Marbling* dilakukan dengan pengamatan pada intensitas *marbling* pada permukaan otot dengan bantuan senter dan menentukan nilai skor standar warna dengan membandingkannya dengan yang paling sesuai. Tekstur daging sapi diklasifikasikan menjadi halus, sedang dan kasar. pemeriksaan skor tekstur daging sapi dapat dilakukan dengan mengamati tekstur

dari daging sapi dengan bantuan senter dan menentukan nilai skornya berdasarkan standar penilaian tekstur daging yang paling sesuai (SNI 3932:2008).

2.2 *Salmonella* sp.

2.2.1 Klasifikasi *Salmonella* sp.

Salmonella mencakup dua spesies (*Salmonella enterica* dan *Salmonella bongori*) dan diklasifikasikan menjadi enam subspecies, *arizonae* (IIIa), *diarizonae*, (IIIb), *houtenae* (IV), *salamae* (II), *indica* (VI) dan *enterica* (I) (Chen *et al.*, 2021). Ada lebih dari 2.600 serotipe *Salmonella* yang telah diidentifikasi dan serotipe baru yang diidentifikasi. informasi mengenai serotipe *Salmonella* sangat penting guna penyelidikan wabah dan epidemiologis (Benerji *et al.*, 2020). *Salmonella* adalah bakteri motil tipis yang berbentuk batang, tidak membentuk spora, dan tidak berselubung (kecuali *S. pullorum* dan *S. gallinarum*). *S. typhi*, *S. paratyphi* AB dan C, *S. sendai*, *S. abortus* pada manusia, *S. gallinarum* dan *S. pullorum* pada unggas, *S. abortus* pada babi, *S. abortus* pada sapi, *S. abortus ovis* pada kambing dan domba, dan *S. abortus equi* pada kuda adalah beberapa jenis spesifik inang (Kementrian Pertanian Direktorat Perternakan Dan Kesehatan Hewan, 2014).

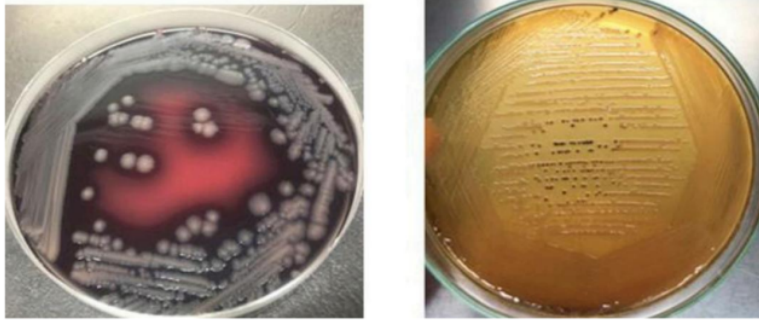
2.2.2 Morfologi dan ciri-ciri

Salmonella enterica adalah bakteri gram negatif, berbentuk batang, anaerobik fakultatif, biasanya berukuran panjang 2 hingga 5 mikron dan lebar 0,5 hingga 1,5 mikron, dan bergerak melalui flagela periciliary. Ukuran genom *Salmonella* bervariasi antar serovar, dengan kisaran 4.460 hingga 4.857 kb.

Salmonella termasuk dalam keluarga Enter-obacteriaceae dan merupakan patogen penting secara medis pada manusia dan hewan (Andino & Haning 2015).

Salmonella Typhi adalah basil gram negatif, tidak membentuk spora, anaerobik fakultatif, berukuran mulai dari 2 hingga 3,04 hingga 0,6 mm, bergerak dengan flagela periciliate. Berbeda dengan jenis *Salmonella* lainnya, *Salmonella* tidak menghasilkan gas selama fermentasi gula. Bakteri ini dicirikan oleh antigen flagellar H, antigen lipopolisakarida O 9 dan 12 dan antigen kapsul polisakarida Vi (untuk virulensi), yang ditemukan pada permukaan strain yang baru diisolasi. Antigen O dinding sel merupakan komponen lipopolisakarida (LPS) yang menyebabkan berbagai reaksi inflamasi. Antigen Vi terikat dengan peningkatan penularan dan virulensi, serta strain Vi-negatif dapat menyebabkan penyakit ini (Saporito *et al.*, 2017).

Strain *Salmonella* yang diisolasi dari sampel daging sapi mentah dikarakterisasi secara morfologi dengan pewarnaan Gram. Isolat *Salmonella* pada agar XLD menghasilkan koloni berwarna merah dengan bagian tengah berwarna hitam, sedangkan pada agar SS *Salmonella* menghasilkan koloni bening atau berwarna jerami dengan bagian tengah berwarna hitam. *Salmonella Enteritidis* berwarna merah muda, diwarnai Gram, aktif bergerak, dan warnanya beragam. Diameternya 0,3 hingga 1,6 mm dan berbentuk rantai tunggal/pendek. *S. Typhimurium* dan *S. Cholerasuis* memiliki ciri morfologi yang mirip dengan *S. Enteritidis* tetapi menghasilkan koloni hitam yang lebih sedikit pada agar XLD dan SS (Altaf Hussain, 2020).



Gambar 2.1 Bentuk Koloni *Salmonella sp* (Altaf Hussain, 2020).

2.2.3 Patogenesis

³² *Salmonella sp.* merupakan salah satu bakteri utama penyebab penyakit bawaan makanan (*foodborne disease*) dan sering digunakan sebagai indikator cocok atau tidaknya suatu makanan (Sari & Apridamayanti, 2014). Susunan genetik strain *Salmonella* memungkinkan mereka beradaptasi dengan berbagai lingkungan, termasuk manusia, hewan, dan inang non-hewan (Eng *et al*, 2015).

³⁷ *Salmonella* termasuk bakteri koliform, tersebar luas di alam dengan habitat utama di saluran cerna hewan ternak. Kehadiran sebagian besar bakteri koliform dalam makanan karena air yang tercemar, Penanganan dan pengobatan yang buruk

dan penyimpanan, kurangnya kebersihan dan kebersihan pribadi dan kontaminasi silang. Tingkat penularan salmonellosis tertinggi adalah melalui konsumsi makanan yang terkontaminasi. Serotipe nontifoidal *Salmonella* menyebabkan gastroenteritis pada manusia dan ditularkan melalui rantai makanan dari daging sapi dan susu yang terkontaminasi (Apriani *et al*, 2019). Kontaminasi makanan dengan *Salmonella* dapat menyebabkan salmonellosis ringan. *Salmonella*

dapat memfermentasi glukosa, manitol dan sorbitol tetapi tidak sampai pada tingkat yang mengancam jiwa tergantung pada patogenisitas strain bakteri dan dosis yang dikonsumsi. Gejala muncul dalam waktu 36 jam setelah mengonsumsi makanan yang terkontaminasi. Muntah, kram perut disertai diare, dan peningkatan suhu tubuh adalah tanda dan gejala salmonellosis yang paling umum (Huang *et al*, 2018).

Sumber penularan lainya juga melalui pedagang makanan, *Salmonella* dapat mengontaminasi peralatan makan yang digunakan saat menyiapkan atau menyajikan makanan. Pedagang daging menempatkan warung makannya di pinggir jalan, tanpa penutup atau penutup untuk menghindari serangga lingkungan mencemari makanan. Perangkat tersebut secara sadar dicuci dengan air yang sama dan disimpan dalam wadah besar (Damborg *et al*, 2016).

2.3 Uji TPC

Daging sapi rentan terhadap kontaminasi mikroba yang dapat menyebabkan penyakit bawaan makanan pada manusia. Daging yang terkontaminasi bakteri akan menurunkan kualitas daging (Sukmawati, 2018).

Salah satu cara untuk mendeteksi atau menganalisis jumlah bakteri pada daging adalah dengan menguji TPC (Total Plate Count) di laboratorium. Uji Total Plate Count (TPC) bertujuan untuk mengetahui jumlah bakteri yang ada pada daging dengan menghitung koloni bakteri yang tumbuh pada media agar (Merisa Yunita, 2015).

⁶
Tabel 2.1 Syarat mutu mikrobiologis daging sapi (SNI 3932:2008)

No	Jenis uji	Satuan	Persyaratan
1	Total Plate Count	cfu/g	maksimum 1×10^6
2	Coliform	cfu/g	maksimum 1×10^2
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	cfu/g per	maksimum 1×10^2
4	<i>Salmonella sp</i>	25 g	negatif
5	<i>Escherichia coli</i>	cfu/g	maksimum 1×10^1

2.4 Uji Kandungan ¹⁵ *Salmonella sp*

SSA (*Salmonella Shigella Agar*) merupakan media selektif untuk isolasi *Salmonella sp.* dan *Shigella sp.* dari sampel tinja, urin dan makanan (Fatiqin *et al.*, 2019).

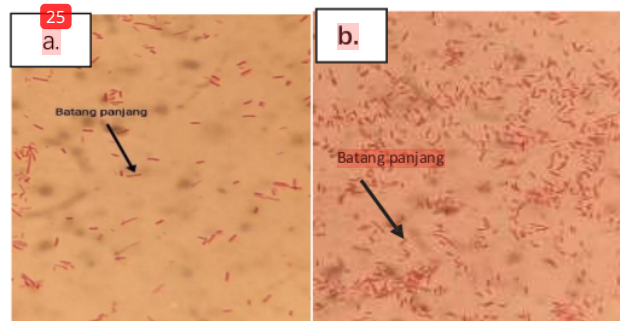
Sebelum diinokulasi ke dalam media SSA, sampel terlebih dahulu di maskan ke dalam media *Tetrathionate Broth* (TTB) yang telah di tuang ke dalam tabung reksi dan ditambahkan iodin, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Senyawa TTB terpilih, khususnya ²⁶ garam empedu, dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Tetrasiat terbentuk dalam medium karena penambahan kalium iodida (I₂KI). Bakteri *Salmonella sp.* dapat tumbuh pada medium TTB karena mengandung enzim tetrathionat reduktase (Rosdianah Ayu Aisiyah Putri *et al.*, 2021). Sampel yang diperkaya dengan dikumpulkan menggunakan ose dan kemudian dikikis ke permukaan media SSA dan ⁶³ Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Tuhumury *et al.*, 2022).

2.5 Pewarnaan gram¹⁵

Tujuan pewarnaan gram adalah untuk membedakan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif, dengan memberikan warna gram merah atau biru pada mereka. (Fitrah *et al.*, 2017). Fungsi pewarnaan¹⁶ adalah untuk memudahkan pengamatan bakteri dengan mikroskop, mengidentifikasi ukuran dan bentuknya, melihat struktur luar dan dalamnya, seperti dinding sel vakuola, dan menggunakan pewarna untuk mengidentifikasi ciri-ciri dan sifat kimia bakteri. Mikroorganisme dan lingkungannya. (Virgianti, 2017).

Berhasil Tidaknya pewarnaan sangat dipengaruhi oleh umur tanaman dan waktu pewarnaan. Media kultur yang digunakan dalam penelitian ini berkualitas tinggi karena berumur 24 jam atau dikenalkan pada usia muda. Perbedaan dalam respons yang disebabkan oleh mekanisme pewarnaan gram pada bakteri didasarkan pada bagaimana dinding sel bakteri disusun. Bakteri gram positif mengandung protein, sedangkan bakteri gram negatif mengandung lemak. Selain itu, warna bakteri gram negatif dipengaruhi oleh struktur dinding selnya. Dinding bakteri gram negatif terdiri dari tiga lapisan dan memiliki kandungan lipid yang lebih tinggi daripada dinding bakteri gram positif. Lapisan luarnya berupa lipopolisakarida (lipid) yang dapat tersapu oleh alkohol, sehingga bila diwarnai dengan safranin akan berwarna merah. Kehadiran Lugol yodium menyebabkan kristal violet berikatan dengan yodium, meningkatkan afinitasnya terhadap pigmen bakteri. Etanol absolut Penexon menyebabkan terbentuknya pori-pori pada Gram-negatif dengan banyak lapisan lemak (lipid larut dalam etanol), sehingga kompleks kristal yodium ungu tetap menempel pada dinding sel, sel Gram-negatif menjadi

transparan (Shaloma Salsabila Amin *et al.*, 2023). Berdasarkan analisa karakteristik bakteri *Salmonella sp.* gram menunjukkan bahwa koloni berbentuk bulat dan bening serta mempunyai bercak hitam yang disebabkan oleh karena bakteri tersebut dapat menghasilkan H₂S pada medium. Bila diamati menggunakan mikroskop dengan pewarnaan gram, bakteri ini ²⁷ berbentuk batang dan berwarna merah, membuktikan bahwa bakteri merupakan bakteri gram negatif (Yanestria *et al.*, 2021).



Gambar 2.2 Hasil pewarnaan Gram *Salmonella sp.* diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran (1000x). Keterangan: (a) Sampel ayam buras dan (b) Sampel ayam ras (Wahyuni *et al.*, 2022).

2.6 Uji Biokimia

¹² Setelah dilakukan pewarnaan Gram, selanjutnya dilakukan uji biokimia terhadap 9 isolat yang meliputi uji TSIA, uji ³⁸ Idol, uji urease, uji SCA, dan uji MR-VP. Pengujian biokimia untuk memastikan dugaan bakteri yang diisolasi adalah *Salmonella sp.* (Arweniuma Ikawikanti *et al.*, 2021).

2.6.1 Uji TSIA

Uji TSIA dimaksudkan untuk membedakan genera Enterobacteriaceae yang berbeda, yang semuanya merupakan bakteri gram negatif, mampu memfermentasi glukosa menghasilkan asam, dan juga dapat membedakan Enterobacteriaceae dengan basil enterik gram negatif lainnya (Fallo G & Sine, Y, 2016). Media TSIA mengandung 3 jenis gula: glukosa, laktosa dan sukrosa. Warna kuning pada bagian atas menunjukkan sedang terjadi reaksi asam. Warna kuning juga menunjukkan bahwa bakteri dapat memfermentasi glukosa dan tidak dapat memfermentasi laktosa dan sukrosa (Aini, F, 2018).

2.6.2 Uji Indol

Uji produksi indol untuk mengetahui kemampuan bakteri menguraikan asam amino triptofan. SIM (*Sulfide Indole Motility*) merupakan media diferensial yang digunakan untuk menguji kemampuan bakteri dalam melakukan hal tertentu, khususnya menguraikan belerang serta menghasilkan indol dan motilitas (gerakan). Hasilnya antara lain produksi H₂S berlabel dukungan hitam, dengan produksi indole yang dapat diamati. Setelah reagen Kovak diteteskan ke dalam medium, jika indolnya positif maka akan terbentuk cincin merah. Bakteri memberikan reaksi negatif terhadap uji Indol yang ditandai dengan tidak terbentuknya cincin merah. Keberadaan indol dapat dideteksi dengan pereaksi Kovak yang membentuk lapisan atau cincin berwarna merah pada permukaan medium. Uji indol juga dapat digunakan untuk melihat motilitas bakteri. Dengan menggunakan dudukan SIM, pergerakan bakteri dapat ditentukan. Jika pertumbuhan bakteri menyebar dari gigitan, hal ini bisa dikatakan positif untuk mobilitas (Tuhumury *et al.*, 2022).

2.6.3 Uji Urease

Uji urea dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri yang mampu menghidrolisis urea menggunakan enzim urease. Hal ini sering digunakan untuk membedakan genus *Proteus* dari bakteri enterik lainnya. Munculnya warna kuning hingga merah cerah atau merah muda cerah dalam waktu 15 menit hingga 24 jam disebut urea (+ve), menunjukkan adanya *Proteus spp*, *Helicobacter pylori*, *Cryptococcus spp*, *Corynebacter spp*, *Yersinia spp*, *Brucella spp*. Sedangkan munculnya warna kuning (tidak berubah) disebut urease (-ve). Hal ini menunjukkan adanya *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella* (Dass et al., 2021).

2.6.4 Uji SCA

Uji Sitrat Simmon bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri menggunakan natrium sitrat sebagai sumber karbon. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna medium dari hijau menjadi biru yang berarti bakteri dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Bakteri yang mampu menggunakan sitrat akan menggunakan garam amonium dan menghasilkan amonia sehingga asam akan dikeluarkan dari lingkungan dan meningkatkan pH. Peningkatan pH ini akan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru. *Salmonella sp.* dan *Shigella spp.* positif menggunakan sitrat (Sari & Apridamayant, 2014).

2.6.5 Uji MR-VP

Kemampuan bakteri untuk mengoksidasi glukosa dan menghasilkan asam dalam konsentrasi tinggi diuji dengan MR-VP (Methyl Red Voges-Proskauer). Uji MR positif ditunjukkan dengan warna larutan menjadi merah yang menandakan

fermentasi asam bercampur, sedangkan uji VP ³ positif ditandai dengan larutan berwarna merah muda menandakan asam (Atriana, N, 2014).

2.7 Karakteristik dan kandungan unga Kecombrang (*Etilingera eliator*)



Gambar 2.3 Morfologi Tanaman Kecombrang (Silalahi, 2016)

Kecombrang, atau *Etilingera eliator*, adalah anggota keluarga Zingiberaceae yang populer di Indonesia, Thailand, Vietnam, Malaysia, ³⁷ dan negara-negara Asia Selatan lainnya. Ini juga disebut honje di Indonesia. (Pulungan *et al.*, 2018). Taksonomi diklasifikasikan keadaam: kerajaan: ⁵ *Plantae*, Divisi: *Magnoliophyta*, Kelas : *Liliopsida*, Ordo: *Zingerberales*, Famili: *Zingerberaceae*, Genus : *Etilingera*, Spesies: *E. eliator* (Windasari *et al.*, 2021). Tanaman herba ini dapat mencapai 5 meter tinggi. Batang pohon jengger emas berbentuk ²⁴ bulat dengan pangkal yang membesar dan tumbuh tegak membentuk tandan. Rimpang kecombrang berwarna merah muda dan berbentuk silindris dengan diameter 3–4 cm. Daun jengger semasa muda berwarna kemerahan dan mempunyai tangkai daun sepanjang ²⁴ 2,5 – 3,5 cm. Bunga khas kecombrang berwarna merah dengan tepi kuning dan pucuk berbentuk kerucut, panjang 1,8 sampai 2 cm dan lebar 0,8 cm (Choon & Ding, 2017). Orang

sering mengklasifikasikan bunga berwarna merah tidak cemerlang sebagai bunga merah jambu. Sebenarnya warna pink yang dimaksud memiliki banyak variasi, antara lain punch, fuscia, light pink, hot pink, dan lain-lain. Berdasarkan pengamatan ditemukan varian warna merah jambu yang tergolong merah muda tua dan merah muda terang menunjukkan variasi yang kuat dengan bentuk merah muda muda, putih, merah muda dan fuscia. Forma merupakan tingkat takson yang lebih rendah dibandingkan variasi klasifikasi tumbuhan (Tjitrosoedirdjo And Tatik, 2014)



Gambar 2.4 Variasi warna bunga kecombrang: a) putih, b) pink pale, c) fuscia, d) pink, e) punch (Br.Pasaribu *et al.*, 2018).

Tanaman kecombrang telah lama dimanfaatkan secara tradisional oleh masyarakat dalam berbagai olahan makanan, serta sebagai bumbu dan penyedap makanan (Isyanti *et al.*, 2019). Kecombrang, juga dikenal sebagai *Etilingera elator*, dapat berguna sebagai antimikroba. Antimikroba adalah zat yang dapat

menghentikan pertumbuhan bakteri, kapang, dan khamir pada makanan. dari ekstrak bunga kecombrang yang terbuat dari etanol dan etil asetat, yang dapat menghentikan pertumbuhan bakteri seperti *Bacillus cereus*, *S. thymurium*, dan *P. areuginosa*. (Yusuf & Dasir, 2014).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 12 sampai 26 Februari 2023 dengan menggunakan daging sapi yang di peroleh dari pasar Dukuh Kupang Surabaya. Penelitian *Total Plate Count* dan kandungan *Salmonella sp.* pada daging sapi yang diberi simplisasi bunga Kecombrang (*Etilingera elatior*) akan dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya.

3.2 Materi dan Metode

3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah daging sapi 500 gram daging sapi bagian paha atau thigh yang diperoleh dari pasar Dukuh Kupang Surabaya. Bahan lainnya adalah simplisasi bunga kecombrang (*Etilingera elatior*) Sebanyak 250 gram, Media Nutrient Agar (NA) dan Nacl untuk keperluan Uji TPC. *Tetrationate Broth*, *Iodine*, *Salmonella shigella Agar*, *Kristal Violet*, *Lugol*, *Safranin*, *Alkohol 70%*, *Media Tripel Sugar Iron Agar*, *Media SIM*, *Urea Agar*, dan *Simmon Citrate Agar*, *MR-VP Broth* Untuk uji Kandungan *Salmonella sp.*, *KOH 3%*, *Reagen Kovac*, dan oil emersi.

3.2.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan adalah gloves, masker, mikroskop, inkubator, pisau, talenan, cawan petri, tabung reaksi, object glass, labu erlenmayer 250 ml, gelas ukur 25 ml dan 50 ml, rak tabung reaksi, pipet tetes, pinset, batang pengaduk,

bunsen, autoklaf, aluminium foil, vortex, spuit 1 cc, *cotton swab*, sumbat karet, karet gelang, kapas, bak pewarna, ose jarum, bulat, toples, kertas/kain saring.

44 3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental laboratoris dengan desain rancangan acak lengkap (RAL). Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah total bakteri dan kandungan *Salmonella sp.* pada daging sapi.

3.3.1 Variabel Penelitian

9 Variabel dalam penelitian ini terdiri dari variabel terikat yaitu total bakteri dan kandungan *Salmonella sp.* Variabel bebas yaitu daging sapi dan variabel kendali yaitu suhu penyimpanan daging dalam berbagai perlakuan saat penelitian, lama penyimpanan (jam) penelitian. 5

3.3.2 Teknik Pengambilan Sampel

Penelitian ini menggunakan teknik *Simpel Random sampling*. Sampel didapatkan dari populasi daging sapi di pasar Dukuh Kupang Surabaya. Sampel dalam penelitian ini yang telah diperoleh pada daging sapi kemudian diteliti dengan rumus pengulangan (Kusriningrum, 2019).

$$\begin{aligned}
 2 \quad t(n-1) &\geq 15 \\
 t(n-1) \geq 15 &= 5(n-1) \\
 &= 5n-5 \geq 15 \\
 &= 5n \geq 15+5 \\
 &= 5n \geq 20 \\
 &= n \geq 4 \text{ Pengulangan}
 \end{aligned}$$

Keterangan :

n : Banyak perlakuan

t : Jumlah perlakuan

Berdasarkan perhitungan diatas $n \geq 4$ maka penelitian memiliki 5 kali pengulangan. bahan utama penelitian ini adalah 1 kg daging sapi yang diperoleh secara acak dari populasi, sehingga didapatkan 25 sampel dari lima perbandingan daging sapi dari pasar dukuh kupang surabaya, penelitian ini menggunakan lima perlakuan yang terdiri dari :

- 1) P0 daging sapi yang tidak diberi simplisasi bunga kecombrang dan tanpa proses penyimpanan (sebagai kontrol).
- 2) P1 daging sapi yang diberi simplisasi bunga kecombrang dengan lama penyimpanan 1 jam.
- 3) P2 daging sapi yang diberi simplisasi bunga kecombrang dengan lama penyimpanan 2 jam.
- 4) P3 daging sapi yang diberi simplisasi bunga kecombrang dengan lama penyimpanan 3 jam.
- 5) P4 daging sapi yang diberi simplisasi bunga kecombrang dengan lama penyimpanan 4 jam.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan Simplisasi Bunga Kecombrang

Untuk memisahkan bunga kecombrang dari batang, bagian bunga yang sudah kering, dan kotoran, sampel disortasi basah dan kering. Setelah itu, sampel dirajang tipis dan dikeringkan dengan menggunakan oven . Pengeringan oven pada wadah dengan suhu 50°C selama 150 menit hingga merata. ketika bunga telah

kering selanjutnya di bunga dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi bubuk simplisia yang siap digunakan (Soemarie *et al.*, 2019).

¹ 3.4.2 Persiapan Penelitian

Sebelum dilakukannya pengujian peralatan dicuci terlebih dahulu, berbahan kaca seperti *Object glass*, tabung reaksi, cawan petri agar bersih lalu dikeringkan kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Vishal & Shukshith, 2016). Setelah diperoleh daging dari pasar dukuh kupang sebanyak 3 kilo, daging kemudian di potong dan di bagi kedalam 5 wadah steril yang sudah disiapkan untuk selanjutnya diberi perlakuan. masing masing wadah yang sudah diberi lebel P1, P2, P3 dan P4 kemudian dilumuri simplisia bunga kecombrang hingga merata dan sampel siap untuk dilakukan pengujian sesuai dengan waktu penyimpanannya.

² 3.4.3 Uji Total Plate Count (TPC)

Pengujian *Total Plate Count* (TPC) dimaksudkan untuk mengidentifikasi total bakteri pada daging sapi dengan menggunakan metode *Spread plate*. Timbang daging sebanyak 1 gram lalu tumbuk hingga hancur menggunakan mortar dan stemper lalu ditambahkan aquadest steril secukupnya.

Pembuatan pengenceran dilakukan dengan mengambil 1 gram daging sapi yang telah di tumbuk ke dalam tabung reaksi pertama yang berisi 9 ml aquadest steril sehingga terbentuk pengenceran 10^{-1} . Pengenceran kedua dilakukan dalam tabung reaksi kedua yang berisi 9 ml aquadest steril sehingga terbentuk pengenceran 10^{-2} . Pengenceran dilanjutkan dengan cara yang sama hingga diperoleh pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} . Dari pengenceran 10^{-4} dan 10^{-5} Sebanyak

0,1 ml diinokulasikan ke dalam media *Nutrient agar* dalam cawan petri. Setelah itu diratakan dengan menggunakan batang kaca bengkok, Media didiamkan hingga memadat dan berbentuk agar. Cawan petri diinkubasikan dalam inkubator dengan posisi terbalik pada suhu 37° selama 24 jam.

Koloni bakteri yang tumbuh pada tiap cawan sampel dihitung dengan menggunakan *Colony counter*, jumlah koloni mikroba yang dianalisis ialah rentang antara 30-300 koloni cfu/g. Rumus jumlah koloni yang terdapat dalam sampel dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{koloni gr} = \sum \text{koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{Pengenceran}} \quad (\text{Azizah \& Soesetyaningsih, 2020}).$$

3.4.4 Uji Kandungan *Salmonella sp.*

Pengujian *Salmonella sp.* dilakukan untuk mengetahui keberadaan bakteri *Salmonella sp.* Pada daging sapi. Pengujian diawali dengan sterilisasi semua alat, karena proses penelitian harus dilakukan dalam kondisi steril agar tidak terkontaminasi oleh bakteri lain.

Tahap pengujian *Salmonella sp.* dimulai dari tahap pengayaan (*Enrichment*) pada media selektif, yaitu *Tetrathionate Broth* (TTB) agar dapat memperbanyak biakan murni dari bakteri *Salmonella sp.* (Apelabi *et al.*, 2015). Pembuatan media pengayaan selektif dimulai dari tahap percampuran *Tetrathionate Broth Base* sebanyak 77kg dengan NaCl, kemudian dipanaskan hingga mendidih, lalu didinginkan hingga suhunya menjadi dibawah 45°C untuk dapat ditambahkan larutan iodine sebanyak 20ml, kemudian media dibagi dalam takaran 10ml dalam tabung reaksi. sebanyak 1 gram daging sapi yang menjadi sampel pengujian

Salmonella sp. dihaluskan terlebih dahulu, lalu dalam Tetrathionate Broth yang telah dibuat, kemudian dihomogenkan hingga tercampur sepenuhnya, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Setelah Proses inkubasi selesai, sampel pada media *Tetrathionate Broth* diambil dengan menggunakan ose untuk digores secara kuadran pada *Salmonella Shigella Agar*. Bakteri *Salmonella sp.* yang tumbuh pada permukaan media SSA berbentuk cembung dengan pinggiran rata dan bulat, serta ditandai dengan terjadinya warna media, yaitu pada butt atau dasar menjadi kuning, dan merah pada slant. fermentasi glukosa oleh bakteri ini merupakan faktor terjadinya perubahan warna. hasil positif bakteri *Salmonella sp.* dapat ditunjukkan dengan pembentukan ruang udara di bawah media sehingga terangkat ke atas (Kartika *et al.*, 2014).

3.4.5 Pewarnaan gram

Cawan yang positif *Salmonella sp.* diambil isolasi koloni terpisahnya untuk dilakukan pewarnaan gram. Tahap awal identifikasi dan karakterisasi isolasi bakteri adalah pewarnaan gram. Setelah preparat ulas diletakkan di atas bunsen, diberikan pewarnaan kristal violet selama satu menit, kemudian bilas dengan pipet tetes. Selanjutnya, preparat ditambahkan iodine dan diamkan selama satu menit. Selanjutnya, ditambahkan alkohol 96% selama satu menit, dan bilas lagi dengan air. Terakhir, pewarnaan safranin ditetaskan pada preparat dan dibiarkan selama 30 detik, kemudian dibilas lagi dengan air. Setelah preparat kering, minyak emersi ditambahkan dan kemudian diamati dengan mikroskop. (Suryanti *et al.*, 2018). pada pewarnaan gram, bakteri positif akan berwarna violet, sedangkan bakteri gram

negatif berwarna merah (Rokhim, 2023). Apabila pada uji pewarnaan diketahui terdapat bakteri *Salmonella sp.* maka akan dilanjutkan dengan uji biokimia.

3.4.6 Uji TSIA

Untuk menguji TSIA, isolat bakteri diinokulasi pada media Triple Sugar Iron Agar (TSIA). Ini dilakukan dengan memasukkan isolat bakteri tegak lurus pada bagian butt dan menggores sinambung pada bagian slant. Selama 24 jam setelah viakan diinkubasi selama 37°C, warna media dapat diamati. Jika bagian slant media berwarna merah dan bagian butt berwarna kuning, isolat bakteri dapat memfermentasikan glukosa. Jika bagian slant dan butt media berwarna kuning, isolat bakteri dapat memfermentasikan laktosa, sukrosa, dan glukosa. (Kursia *et al.*, 2020).

3.4.7 Uji Indol

Uji indol dilakukan dengan isolasi bakteri yang dimasukkan ke dalam motilitas Sulfida Cindole (SIM), yang kemudian disimpan selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil uji diamati dengan menambahkan 10 tetes reagen kovac. Terbentuknya lapisan berwarna merah di atas biakan menunjukkan hasil uji motilitas. Ini dilakukan dengan menginokulasikan suhu koloni isolat bakteri ke dalam media SIM, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37° Celcius. Bakteri yang berkembang di sekitar tusukan menunjukkan hasil yang negatif, tetapi bakteri yang menyebar di media menunjukkan hasil yang positif.

3.4.8 Uji SCA

Koloni diambil dari SSA positif dengan ose, diinokulasikan ke media SCA dengan digores pada media agar miring, dan diinkubasi selama 24 jam pada 37°C. Hasil uji positif menunjukkan pertumbuhan koloni, sedangkan hasil uji negatif tidak menunjukkan perubahan warna. (Abrori *et al.*, 2022).

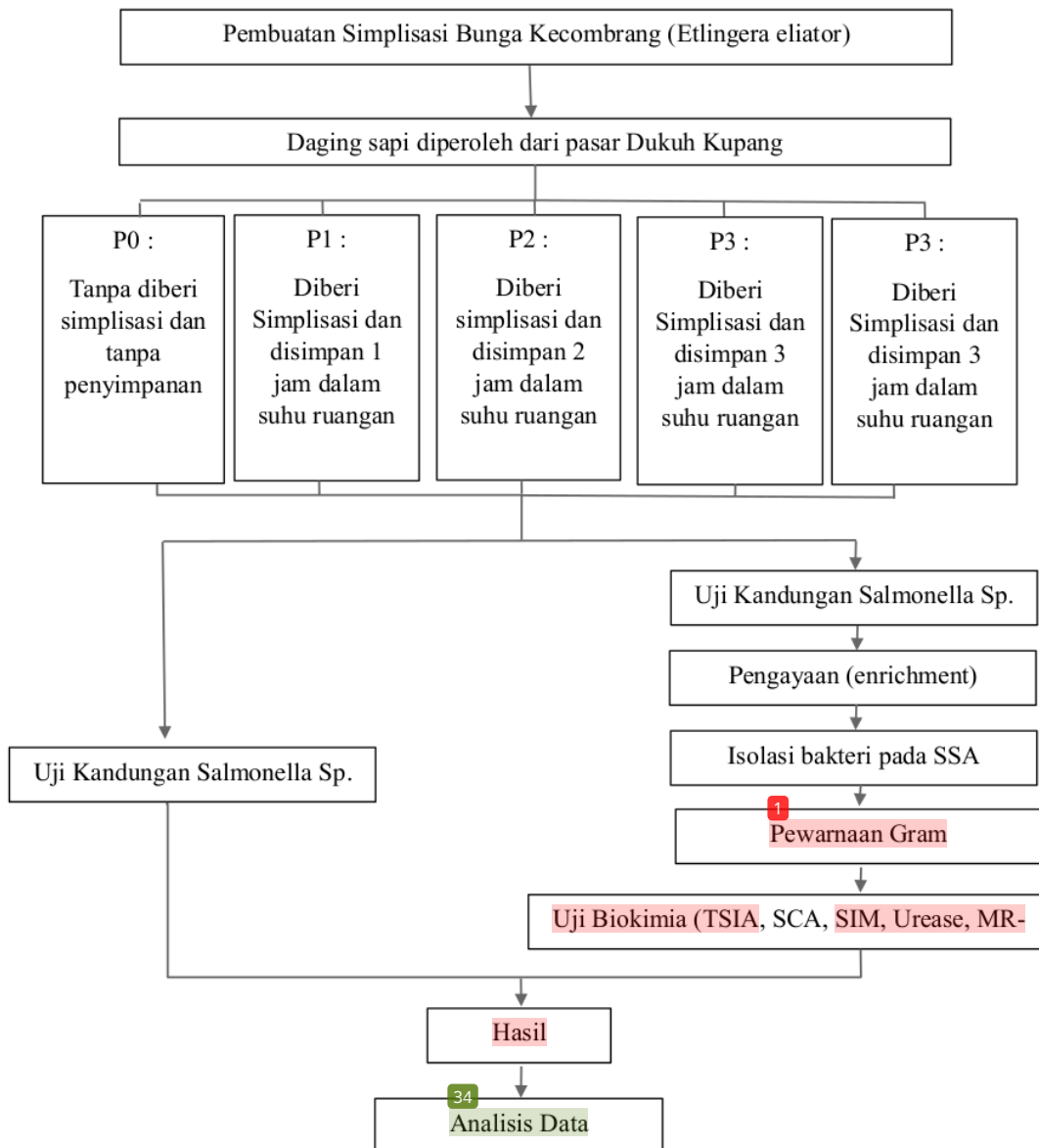
3.4.9 Uji Urease

Uji Urease dilakukan dengan koloni ose yang diambil dari positif SSA. Koloni ini kemudian diinkubasi ke media SCA dengan digores pada media agar miring dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°. Hasil uji positif ditandai dengan warna pink hingga merah pada media, sedangkan hasil uji negatif ditandai dengan warna kuning tetap pada media. (Abrori *et al.*, 2022).

3.4.10 Uji MR-VP

Uji MR-VP menggunakan isolat bakteri yang diinkubasi ke dalam media MR-VP. Media ini kemudian disimpan pada suhu 37° Celcius selama 48 jam. Untuk melakukan pengamatan magnetik resonansi (MR), tiga tetes reagen MR ditambahkan ke dalam media. Untuk melakukan uji VP, tiga tetes KOH 3% dan lima tetes alfanol ditambahkan, dan media dikocok selama 30 detik. Salmonela sp biasanya menunjukkan hasil uji VP negatif, yang berarti bahwa media tidak mengalami perubahan warna; sebaliknya, uji MR menunjukkan hasil positif dengan difusi warna merah ke dalam media, dan uji MR negatif dengan difusi warna kuning. Perubahan warna pink menjadi merah delima menunjukkan bahwa terbentuk asam. (Abrori *et al.*, 2022)

3.5 Kerangka Oprasional



3.6 Analisa data

Data yang telah didapatkan setelah proses penelitian terhadap daging sapi yang diberi simpliasi bunga kecombrang (*Elingera eliator* dan didiamkan dalam suhu ruangan dengan waktu satu jam, dua jam, tiga jam empat jam dan dibandingkan dengan daging aya tanpa diberi ekstrak bunga kecombrang (*Elingera eliator*), kemudian dilakukan perbandingan peninjauan dengan metode deskriptif untuk uji kandungan bakteri *Salmonella sp.* Metode *Analysis of Variant (ANOVA)* yang dilanjutkan dengan uji Non parametrik pada metode pengolahan data Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney digunakan dalam analisis data pada uji *Total Plate Count (TPC)*.

3

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

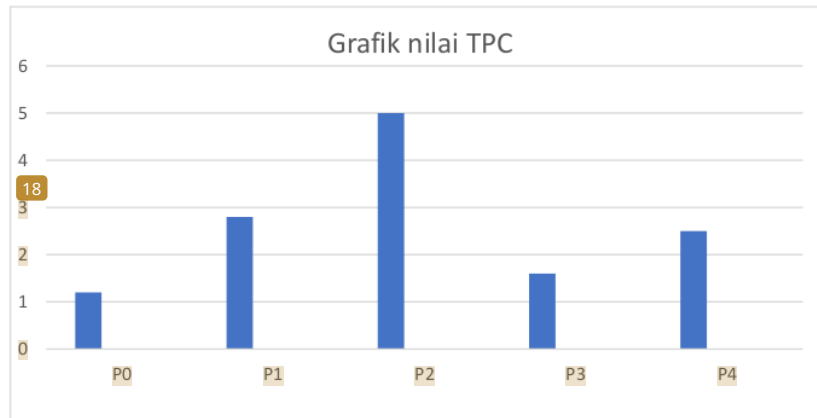
4.1.1 TPC

1

Tabel 4.1 Rata-rata hasil uji Total Plate Count (TPC)

Sampel	Rata rata jumlah koloni (CFU/g)
P0	$1,2 \times 10^6$
P1	$2,8 \times 10^6$
P2	5×10^6
P3	$1,6 \times 10^6$
P4	$2,5 \times 10^6$

Rata-rata nilai dari hasil uji TPC adalah (P0) = $1,2 \times 10^6$, (P1) = $2,8 \times 10^6$, (P2) = 5×10^6 dan (P4) = $2,5 \times 10^6$. Berdasarkan hasil ini maka dapat disimpulkan bahwa P2 merupakan sampel dengan tingkat mikrobiologis tertinggi (5×10^6 CFU/g), sedangkan P0 memiliki tingkat mikrobiologis terendah ($1,2 \times 10^6$).
23
Tabel di atas menunjukkan bahwa lima sampel melampaui batas SNI 7388-2009 untuk kontaminasi mikroba, yang menyatakan bahwa daging segar tidak boleh memiliki lebih dari 1×10^6 CFU/g kontaminasi mikroba.



Gambar 4.1 Grafik rata-rata nilai TPC

Namun demikian, terlihat penurunan jumlah bakteri untuk daging yang diberi simplisia bunga kecombrang. Terdapat perbedaan jumlah bakteri yang tampak pada P2 dan P3 yang menggambarkan penurunan jumlah bakteri pada daging yang diberi simplisia bunga kecombrang selama 3 jam menunjukkan adanya pengaruh dari simplisia bunga kecombrang pada daging sapi. Hasil ini didukung juga dengan uji ANOVA.

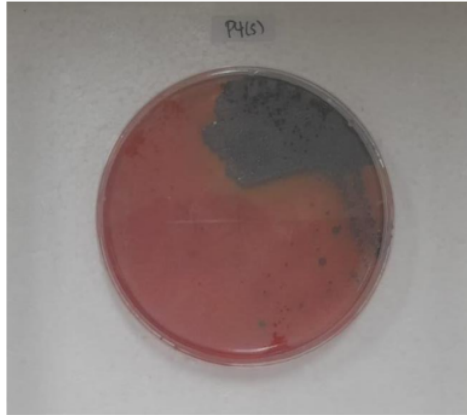
Kelompok Perlakuan	Mean±Stadar Deviasi
P0	335,40±240,56 ^a
P1	1190,60±868,92 ^{ab}
P2	1940,00±741,96 ^b
P3	633,00±59,14 ^a
P4	887,60±964,16 ^a

34

Tabel 4.2 Hasil uji ANOVA

Hasil uji lanjutan Duncan 5% Total Plate Count daging sapi P0 (kontrol) memperlihatkan perbedaan dengan P1 (1 jam) dan P2 (2 jam) dan tidak memperlihatkan perbedaan dengan P3 (3jam) dan P4 (4 jam) (tabel 4.2).

4.1.2 Uji salmonella sp.

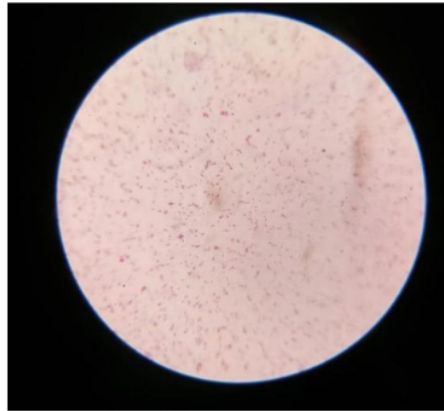


Gambar 4.2 Hasil kultur media SSA terdapat koloni bakteri

Uji kandungan Salmonella sp. menunjukkan ciri-ciri hasil positif yang tampak pada media SSA, ditandai dengan koloni cembung dan berwarna hitam.

Sampel	Positif	Negatif
P0 kontrol (tanpa perlakuan)	0	5
P1 diberi simplisia bunga kecombrang disimpan 1 jam	0	5
P2 diberi simplisia bunga kecombrang disimpan 2 jam	0	5
P3 diberi simplisia bunga kecombrang disimpan 3 jam	0	5
P4 diberi simplisia bunga kecombrang disimpan 4 jam	0	5

Ciri-ciri hasil positif tersebut terlihat pada setiap sampel pada media SSA yang diuji. Berdasarkan hasil yang terdapat pada media SSA, maka uji kandungan *Salmonella* sp. dilanjutkan dengan pewarnaan gram, pengamatan mikroskopis



Gambar 4.3 Hasil positif pewarnaan gram dengan perbesaran 1000x.

pada pewarnaan gram, bakteri gram positif berwarna biru violet, sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah. Pada pewarnaan gram didapatkan hasil bakteri berwarna merah dan berbentuk batang yang merupakan ciri-ciri biakan *Salmonella* sp., maka dilanjutkan dengan uji biokimia.



Gambar 4.4 Foto Hasil Uji Biokimia : A.TSIA, B.SCA, C.Urease, D.SIM, E.MR, F.VP.

Berdasarkan hasil pengujian Biokimia menunjukkan hasil Uji TSIA Positif yang dengan perubahan warna kuning pada slant. Uji SIM menunjukkan negatif uji indol dan bersifat motil, serta menunjukkan adanya gas H₂S. Uji SCA menunjukkan Hasil Negatif dengan perubahan warna hijau. Hasil uji urease positif yang menunjukkan warna merah muda. Uji MR Negatif dengan menunjukkan Perubahan warna sedangkan Uji VP negatif dengan tidak adanya perubahan warna.

4.2 Pembahasan

4.2.1 TPC

Jumlah bakteri yang ditemukan dalam daging sapi, baik tanpa perlakuan maupun dengan perlakuan simplisia bunga kecombrang, menunjukkan bahwa daging tidak memenuhi SNI total bakteri sebesar 1×10^6 cfu/gr. Hal ini disebabkan oleh proses pemotongan sapi yang tidak bersih dan higienis, yang menyebabkan tingkat kontaminasi mikroba yang tinggi pada daging sapi. Namun, jumlah bakteri dalam daging yang diberi simplisia bunga kecombrang. Terdapat perbedaan jumlah bakteri yang tampak pada P2 dan P3 yang menggambarkan penurunan jumlah bakteri pada daging yang diberi simplisia bunga kecombrang selama 3 jam menunjukkan adanya pengaruh dari simplisia bunga kecombrang pada daging sapi. Kecombrang berfungsi sebagai antimikroba yang mencegah pertumbuhan bakteri, kapang dan khamir. Senyawa yang terdapat dalam bunga kecombrang yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin (Muhamad, 2015).

Hasil TPC pada P3 (rata-rata $0,04 \times 10^6$). Jumlah bakteri yang sedikit dikarenakan P3 menggunakan simplisia bunga kecombrang yang disimpan selama 3 jam. Penelitian ini menunjukkan hasil penurunan jumlah bakteri. Flavonoid

berperan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada bahan pangan. Efek antioksidan dari flavonoid dapat menjaga stabilitas makanan dari waktu ke waktu dan memberikan perlindungan terhadap jamur nekrotrofik dan penyakit bawaan makanan. Kapasitas antioksidan flavonoid dalam sistem pangan dikaitkan dengan kemampuannya mencegah autoksidasi lipid sebagai penyebab utama penurunan kualitas pangan dan penurunan umur simpan. Flavonoid mampu menyumbangkan atom hidrogen ke radikal lipid, sehingga menghasilkan radikal antioksidan yang lebih stabil dan kurang rentan terhadap autoksidasi. Mekanisme aksi antioksidan dari flavonoid meliputi penangkapan ROS secara langsung, penghambatan pembentukan ROS melalui penghambatan enzim penghasil radikal bebas dan aktivasi pertahanan antioksidan (Wang *et al.*, 202). Menurut analisa statistik, hasil rata-rata standar deviasi antara P2 dan P3 menunjukkan perbedaan yang sangat nyata karena pada P3 mikroba tidak dapat berkembang secara optimal akibat adanya faktor penghambat yang terdapat pada bunga kecombrang. Perlakuan pada P0 dengan P2, P3, dan P4 juga menunjukkan perbedaan yang sangat nyata karena pada P0 langsung mengalami proses pengujian, sehingga perkembangbiakan bakteri pada perlakuan P0 dapat terjadi secara signifikan.

Hasil statistik pada perlakuan P2 mengalami peningkatan jumlah bakteri, karena pada perlakuan P2 daging sapi bisa mengalami kontaminasi silang yang dapat terjadi melalui penggunaan peralatan seperti talenan, pisau, atau alat potong lainnya, dan melalui tangan pedagang yang tidak steril (Novianti *et al.*, 2021). Kontaminasi tambahan yang terjadi pada P2 menyebabkan hasil statistik mengalami peningkatan.

Berbeda dengan perlakuan P4 yang menunjukkan rata-rata yang paling rendah, sehingga antara perlakuan P3 dan P4 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Senyawa terdapat pada bunga kecombrang salah satunya ialah senyawa tanin dan saponin. Tanin merupakan metabolit sekunder tanaman, yang ditandai dengan berbagai efek biologis seperti aktivitas antikanker, anti-inflamasi, anti-mutagenik, anti-trombosit, anti-bakteri, dan antivirus. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri yaitu dengan menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Tanin memiliki aktivitas antibakteri terkait dengan kemampuannya mengaktifkan adhesi sel mikroba, mengaktifkan enzim, dan mengganggu pengangkutan protein pada lapisan dalam sel (Made Rai Rahayu Dkk., 2021).

4.2.2 Uji *Salmonella* sp.

Bakteri bening yang tidak menghasilkan laktosa, seperti *Salmonella* sp., memiliki warna hitam di bagian tengahnya. Warna hitam di bagian tengah menunjukkan bahwa *Salmonella* menghasilkan H₂S, yang akan membedakan *Salmonella* dari *Shigella*. Bakteri Gram positif dan beberapa bakteri Gram negatif lainnya dapat dibunuh oleh garam empedu dan hijau terang media SSA. Karena kemampuan mereka untuk menghasilkan H₂S, koloni *Salmonella* sp berwarna hitam. Namun, ini adalah karakteristik dari banyak bakteri lain selain *Salmonella*. Koloni bakteri *Salmonella* sp dan *Proteus* sp juga ditemukan pada media SSA.

Salah satu karakteristik morfologis bakteri *Salmonella* sp adalah warnanya yang merah jambu dan bentuknya yang menyerupai batang panjang. Karena sel bakteri tidak dapat mempertahankan warna primer (kristal violet) ketika

dimasukkan ke dalam larutan pemutih (alkohol) dan mengambil zat warna sekunder (safranin), sel bakteri terlihat merah dan merah muda ketika dilihat menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100 kali. Didasarkan pada bagaimana dinding sel bakteri berbentuk dan terdiri, reaksi bakteri terhadap mekanisme pewarnaan gram berbeda. Bakteri gram positif memiliki protein, sedangkan bakteri gram negatif memiliki presentasi lipid yang lebih tinggi dan dinding sel yang tipis. Selama prosedur pewarnaan bakteri, etanol atau alkohol menyebabkan ekstraksi lipid, yang meningkatkan permeabilitas dinding sel. Bakteri gram negatif, di sisi lain, mengalami dehidrasi dinding sel akibat perlakuan alkohol, pori-pori mengkerut, dan daya rembes dinding sel dan membran menurun. Pewarna safranin masuk ke dalam sel bakteri gram positif dan mengubah sel menjadi merah. Ini menghasilkan kristal violet berwarna ungu. Dasar bakteri gram positif berwarna ungu, sedangkan dasar bakteri gram negatif berwarna merah. (Trianie & Rustanti, 2014).

Hasil uji biokimia TSIA menunjukkan adanya H₂S, berwarna merah pada butt dan slant media TSIA. Pada media TSIA positif bakteri Salmonella sp. ditandai dengan perubahan warna kuning pada slant diakibatkan pembentukan asam laktat yang dihasilkan dalam konsentrasi lebih tinggi (Kursia et al., 2020). Hasil uji biokimia pada media SIM menunjukkan negatif uji indol dan bersifat motil, serta menunjukkan adanya gas H₂S. Hasil pada media SCA negatif dengan tidak terjadi perubahan warna pada media SCA yaitu tetap berwarna hijau. Pada uji SCA bakteri Salmonella sp. akan menunjukkan hasil positif dengan berubahnya warna hijau menjadi biru (Jadhey et al., 2020). Hasil positif pada uji media urease ditandai dengan perubahan warna menjadi merah muda. Uji urease merupakan pembeda

bakteri *Salmonella* sp. dengan bakteri yang lain karena bakteri *Salmonella* sp. tidak dapat menghasilkan urease. Pada uji MR menghasilkan perubahan warna menjadi merah yang artinya negatif dan pada uji VP menunjukkan hasil negatif dengan tidak adanya perubahan warna. Umumnya *Salmonella* sp. memberikan hasil negatif untuk uji VP (tidak terjadi perubahan warna pada media) sedangkan untuk MR menunjukkan hasil uji positif (Abrori *et al.*, 2022).

Hasil semua uji yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa tidak terdapatnya bakteri *Salmonella* sp. Ciri-ciri bakteri yang ditemukan diduga berasal dari *Proteus* sp., karena hasil urease menunjukkan hasil positif karena bakteri ini memiliki kemampuan untuk mengubah urea menjadi amonia. Uji ini sering digunakan untuk membedakan *Salmonella* sp. dengan *Proteus mirabilis* karena morfologi dan hasil biokimia yang mirip.

Proteus adalah batang gram negatif berukuran 0,4-0,6 μm x 1-3 μm , motil (peritrich), tidak membentuk spora, dan tidak ada kapsul khas yang terdeteksi. Membran bakteri dari genus *Proteus* hampir tidak dapat dibedakan dalam organisasi ultrastrukturalnya dari membran sel mikroorganisme lain dalam famili tersebut Enterobacteriaceae. Struktur permukaan bakteri dari genus *Proteus* diwakili oleh flagela dan fimbriae. Struktur lain (duri, ikal) juga ditemukan (Gahlot *et al.*, 2022). Bakteri *Proteus mirabilis* biasanya memfermentasi xilosa, tetapi tidak memfermentasi laktosa, manitol, dulcitol, adonitol, sorbitol, arabinosa, dan rhamnosa. Bakteri *Proteus* sp. dapat menghasilkan enzim urease, yang berfungsi sebagai katalis untuk menghidrolisis urea menjadi amonia dan karbamat setrat; uji oksidase negatif, urease positif, dan lisin dekarboksilase negatif menunjukkan

bahwa proteus sp. menghasilkan hidrogen sulfide. Bakteri ini juga dapat menghasilkan enzim hidrolisis, yang menghasilkan amoniak dan asam karbonat. Bakteri ini biasanya ada secara alami di usus manusia, berbagai jenis hewan, tinja, tanah, dan air yang tercemar.

Kondisi sanitasi pasar yang³⁸ buruk sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan⁴⁷ penyebaran bakteri kontaminan. Menurut Kepmenkes RI No 519/MENKES/SK/VI/2008, variabel bangunan pasar meliputi: pembagian area yang sesuai peruntukannya (zoning), seperti pemisahan area basah dan kering, pemotongan unggas dan penjualan unggas hidup, pembagian zona yang diberi identitas. Toko daging dan ikan harus ditempatkan di lokasi tertentu. Toko bahan makanan basah juga harus memiliki meja penjualan dan lubang pembuangan air. Toko bahan makanan kering juga harus memiliki meja penjualan dan Produk daging sapi mudah terkontaminasi mikroorganisme karena sifatnya yang bergizi dan karakteristik kondusif yang mendukung pertumbuhan bakteri. Berbagai faktor dapat berkontribusi terhadap peningkatan kontaminasi bakteri pada produk daging sapi di pasar basah. Salah satu faktor penyebab utama adalah suhu dimana paparan suhu yang tidak aman dalam waktu lama akan meningkatkan pertumbuhan mikroorganisme pada produk daging sapi. sebagian besar pedagang daging sapi di pasar basah memajang produk dagingnya terbuka mulai pagi hari hingga tutup pada sore hari, sehingga menyebabkan produk daging sapi terkena suhu lingkungan dan lingkungan selama beberapa waktu dengan jangka waktu yang lama (Zulfakar *et al.*, 2017).

Hasil negatif cemaran ² *Salmonella sp.* pada sampel daging sapi yang diuji menunjukkan bahwa kondisi Pasar Dukuh Kupang Surabaya cukup baik, sehingga tidak terjadinya cemaran dari bakteri *Salmonella sp.* Meskipun demikian, kondisi Pasar Dukuh Kupang Surabaya belum mencapai ukuran sanitasi yang baik, karena selain terdapat banyak alat yang hinggap dan lingkungan yang kotor, di pasar tersebut juga terdapat banyak genangan air.

Air dapat berfungsi sebagai transportasi dan penyebaran bakteri patogen seperti *Salmonella* dan *E. coli*, serta bahan kimia seperti besi, mangan, timbal, dan racun, ⁵⁷ yang dapat membahayakan kesehatan tubuh manusia. Selain itu, kontaminasi juga dapat terjadi melalui kontaminasi silang dari permukaan yang bersentuhan dengan daging karena bakteri dapat terakumulasi pada alat atau peralatan penanganan dan kemudian berpindah ke daging sapi (Zulfakar *et al.*, 2017).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Terdapat pengaruh penambahan bunga kecombrang sebagai pengawet alami terhadap jumlah total bakteri pada daging sapi
2. Tidak ditemukannya cemaran bakteri *Salmonella* sp. pada sampel daging sapi yang diperoleh dari pasar Dukuh Kupang Surabaya.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, diharapkan pada peneliti menambah metode waktu simpan pada daging sapi yang diberi simplisia bunga kecombrang.

ORIGINALITY REPORT

30%
SIMILARITY INDEX

29%
INTERNET SOURCES

11%
PUBLICATIONS

10%
STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	erepository.uwks.ac.id Internet Source	5%
2	repository.ub.ac.id Internet Source	3%
3	docplayer.info Internet Source	1%
4	journal.uin-alauddin.ac.id Internet Source	1%
5	text-id.123dok.com Internet Source	1%
6	repository.its.ac.id Internet Source	1%
7	ojs.ejournalunigoro.com Internet Source	1%
8	semnas.biologi.fmipa.unp.ac.id Internet Source	1%
9	core.ac.uk Internet Source	1%

10	etheses.uin-malang.ac.id Internet Source	1 %
11	journal.poltekkes-mks.ac.id Internet Source	1 %
12	www.jim.unsyiah.ac.id Internet Source	1 %
13	Submitted to UC, San Diego Student Paper	1 %
14	digilib.unimed.ac.id Internet Source	<1 %
15	jim.unsyiah.ac.id Internet Source	<1 %
16	dokumen.tips Internet Source	<1 %
17	digilib.uinsby.ac.id Internet Source	<1 %
18	repository.ar-raniry.ac.id Internet Source	<1 %
19	ojs.udb.ac.id Internet Source	<1 %
20	repository.unair.ac.id Internet Source	<1 %
21	docobook.com Internet Source	<1 %

22	es.scribd.com Internet Source	<1 %
23	journal-jps.com Internet Source	<1 %
24	Submitted to Universitas PGRI Semarang Student Paper	<1 %
25	journal.ugm.ac.id Internet Source	<1 %
26	Rosdyanah Ayu Aisyah Putri, Wiwiek Tyasningsih, Faisal Fikri. "Uji Cemaran Salmonella sp. pada Susu Segar Kambing Sapera di Kecamatan Siliragung Kabupaten Banyuwangi", Prosiding Seminar Nasional Pembangunan dan Pendidikan Vokasi Pertanian, 2021 Publication	<1 %
27	Submitted to Universitas Muhammadiyah Surakarta Student Paper	<1 %
28	Khairani Khairani, Kartika Manalu. "Isolasi dan Identifikasi Bakteri Lipolitik dari Limbah Cair Kelapa Sawit (<i>Elaeis quineensis</i> Jacq.)", BIOEDUSAINS:Jurnal Pendidikan Biologi dan Sains, 2023 Publication	<1 %
29	idoc.pub Internet Source	<1 %

30	www.researchgate.net Internet Source	<1 %
31	123dok.com Internet Source	<1 %
32	eprints.undip.ac.id Internet Source	<1 %
33	ojs.unud.ac.id Internet Source	<1 %
34	id.123dok.com Internet Source	<1 %
35	id.thpanorama.com Internet Source	<1 %
36	forester-untad.blogspot.com Internet Source	<1 %
37	doku.pub Internet Source	<1 %
38	repository.uin-alauddin.ac.id Internet Source	<1 %
39	etd.auburn.edu Internet Source	<1 %
40	repository.ipb.ac.id Internet Source	<1 %
41	repository.unej.ac.id Internet Source	<1 %

42	rozi-fpk.web.unair.ac.id Internet Source	<1 %
43	Submitted to UIN Maulana Malik Ibrahim Malang Student Paper	<1 %
44	blogs.unpad.ac.id Internet Source	<1 %
45	download.garuda.ristekdikti.go.id Internet Source	<1 %
46	Kadek D. Ariesthi, Utma Aspatria, Anna H. Talahatu. "ANALISIS JUMLAH CEMARAN MIKROBA DAN IDENTIFIKASI Salmonella sp. DAN Escherichia coli PADA DAGING AYAM DI BEBERAPA TEMPAT PEMASARAN WILAYAH KOTA KUPANG", Jurnal Pangan Gizi dan Kesehatan, 2011 Publication	<1 %
47	Submitted to Sriwijaya University Student Paper	<1 %
48	repository.upnjatim.ac.id Internet Source	<1 %
49	www.scribd.com Internet Source	<1 %
50	Gitanjali Dass, Vrishty Sharma, Muneer Ahmad Malla, Sally Lukose, Rajesh Kumar Kori. "Prevalence and Recovery of	<1 %

Microorganisms from Containers used for the Collection of Forensic Biological Samples",
The Open Microbiology Journal, 2021

Publication

51

Insun Sangadji. "LAMA PENYIMPANAN DAGING SAPI TERHADAP ALT BAKTERI",
Biosel: Biology Science and Education, 2013

Publication

<1 %

52

Melia Soniman. "EFEKTIVITAS SENYAWA AKTIF KOMBINASI KENCUR KAEMPFERIA GALANGA DAN ILALANG IMPERATA CYLINDRICA SECARA IN VITRO TERHADAP BAKTERI GRAM POSITIF DAN BAKTERI GRAM NEGATIF",
Journal of Aquatropica Asia, 2022

Publication

<1 %

53

klikskripsidotcom.blogspot.com

Internet Source

<1 %

54

miumikro.blogspot.com

Internet Source

<1 %

55

repository.usd.ac.id

Internet Source

<1 %

56

bappedantb.go.id

Internet Source

<1 %

57

digilib.poltekkesdepkes-sby.ac.id

Internet Source

<1 %

58

digilib.unhas.ac.id

Internet Source

<1 %

59

id.scribd.com

Internet Source

<1 %

60

pt.scribd.com

Internet Source

<1 %

61

repositori.usu.ac.id

Internet Source

<1 %

62

repositori.uin-suska.ac.id

Internet Source

<1 %

63

repositori.uinjkt.ac.id

Internet Source

<1 %

64

Alfath Rusdhi, Tengku Gilang Pradana, Muhammad Sadiqulamin. "Kualitas Daging Domba Berdasarkan Keragaman, Jumlah Dan Cemaran Bakteri Di Pasar Tradisional Desa Klambir V Kecamatan Hamparan Perak Kabupaten Deli Serdang", Journal of Pharmaceutical and Sciences, 2023

Publication

<1 %

65

Benika Naibaho, Rosnawyta Simanjuntak, Mika Silalahi. "Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan Terhadap Sifat Kimia, Total Koloni Bakteri dan Organoleptik Dadih", JURNAL BIOS LOGOS, 2023

Publication

<1 %

66	adoc.pub Internet Source	<1 %
67	journal.amikveteran.ac.id Internet Source	<1 %
68	repository.uinsu.ac.id Internet Source	<1 %
69	Eva Safitri, Nur Annis Hidayati, Rossy Hertati. "PREVALENSI BAKTERI Salmonella PADA AYAM POTONG YANG DIJUAL DI PASAR TRADISIONAL PANGKALPINANG", EKOTONIA: Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi dan Mikrobiologi, 2019 Publication	<1 %
70	Vazza Navtra Tylova, Syamsul Bahri, Boy Riza Juanda, Alchemi Putri Juliantika Kusdiana. "Eksplorasi Bakteri Endofit Terhadap Cendawan Pestalotiopsis microspora Penyebab Penyakit Gugur Daun Pada Tanaman Karet (Hevea brasiliensis Muell. Arg.)", Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia, 2023 Publication	<1 %
71	repository.setiabudi.ac.id Internet Source	<1 %
72	jurnal.unimus.ac.id Internet Source	<1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography Off

SKRIPSI_20820078_ADINIVIC WANMA

PAGE 1

PAGE 2

PAGE 3

PAGE 4

PAGE 5

PAGE 6

PAGE 7

PAGE 8

PAGE 9

PAGE 10

PAGE 11

PAGE 12

PAGE 13

PAGE 14

PAGE 15

PAGE 16

PAGE 17

PAGE 18

PAGE 19

PAGE 20

PAGE 21

PAGE 22

PAGE 23

PAGE 24

PAGE 25

PAGE 26

PAGE 27

PAGE 28

PAGE 29

PAGE 30

PAGE 31

PAGE 32

PAGE 33

PAGE 34

PAGE 35

PAGE 36

PAGE 37

PAGE 38

PAGE 39

PAGE 40

PAGE 41

PAGE 42

PAGE 43
