

Efek Bunga Kecombrang (*Etilingera elatior*) Sebagai Pengawet Daging Sapi Ditinjau Dari Total Bakteri dan Cemaran *Salmonella Sp.*

Adinivic Wanma^{1*}

^{1*} Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya
email: aaadinivic@gmail.com

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

PENDAHULUAN

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 kimiawi 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 sintetis 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 sintetis cenderung kurang populer di kalangan konsumen makanan karena beberapa masalah kesehatan terkait efek sampingnya. Pengawet alami telah muncul sebagai alternatif pengganti bahan pengawet sintetis (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 sintetis menjadi perhatian utama bagi kesehatan manusia (Young *et al*, 2021).

Kecombrang merupakan salah satu tanaman 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 latar 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.

MATERI DAN METODE

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 (*Etlingera elatior*) akan dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya.

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 (*Etlingera 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.

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.

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

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.

Penelitian ini menggunakan teknik *Simpler 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).

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

Pengulangan

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.

Prosedur Penelitian

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).

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.

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:

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

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 gramdaging 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).

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 diteteskan 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.

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).

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.

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).

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).

Uji MR-VP menggunakan isolat bakteri yang diinkubasi ke dalam meda MR-VP. Meda 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).

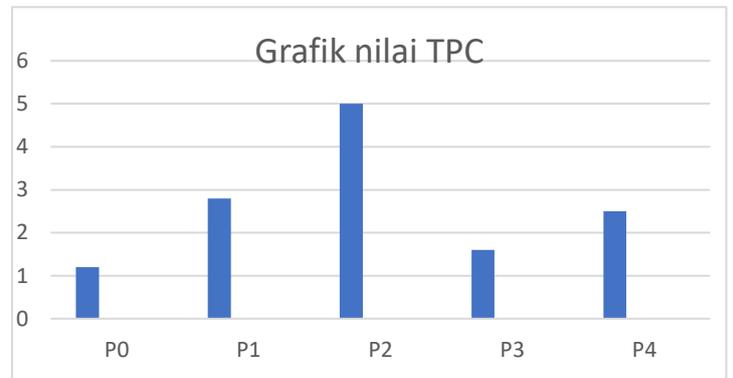
HASIL

Sampel	Rata rata jumlah koloni (CFU/g)
P0	1,2 x 10 ⁶
P1	2,8 x 10 ⁶
P2	5 x 10 ⁶
P3	1,6 x 10 ⁶
P4	2,5 x 10 ⁶

Tabel 1 Rata-rata hasil uji Total Plate Count (TPC)

Rata-rata nilai dari hasil uji TPC adalah (P0) = 1,2 x 10⁶, (P1) = 2,8 x 10⁶, (P2) = 5 x 10⁶ dan (P4) = 2,5 x 10⁶. Berdasarkan hasil ini maka dapat disimpulkan bahwa P2 merupakan sampel dengan tingkat mikrobiologis tertinggi (5 x 10⁶CFU/g), sedangkan P0 memiliki tingkat mikrobiologis terendah (1,2 x 10⁶). 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 1x10⁶ CFU/g kontaminasi mikroba.



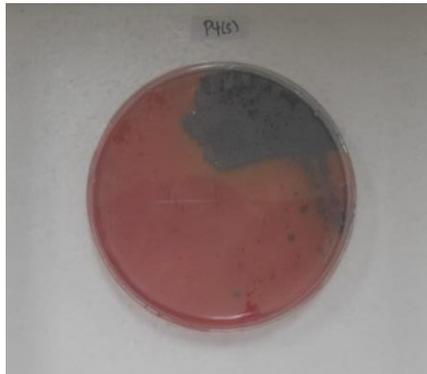
Gambar 1 Grafik rata-rata nilai TPC

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

Tabel 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 2).



Gambar 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.



Gambar 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.

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

Tabel 3 Hasil perlakuan

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

Berdasarkan hasil pengujian Biokimia menunjuka 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 menunjukan Hasil Negatif dengan perubahan warna hijau. Hasil uji urease positif yang menunjukan warna merah

muda. Uji MR Negatif dengan menunjukkan Perubahan warna sedangkan Uji VP negatif dengan tidak adanya perubahan warna.

PEMBAHASAN

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.*, 2022). 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).

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 $0,4-0,6 \mu\text{m} \times 1-3 \mu\text{m}$, 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 yang buruk sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan 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, pematangan 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 *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 lalat 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, 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).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh penambahan bunga kecombrang sebagai pengawet alami terhadap jumlah total bakteri pada daging sapi. Tidak ditemukannya cemaran bakteri *Salmonella* sp. pada sampel daging sapi yang diperoleh dari pasar Dukuh Kupang Surabaya.

REFERENSI

- Atlabachew, T., & Mamo, J. 2021. *Microbiological quality of meat and swabs from contact surface in Butcher shops in Debre Berhan, Ethiopia*. Journal of Food Quality, 2021, 1-11.
- Eng, S., Pusparajah, P., Ab Mutalib, N., Ser, H., Chan, K., & Lee, L. 2015. *Salmonella: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance*. Frontiers in Life Science, 8(3), 284-293.
- Geletu, U. S., Usmael, M. A., Mammed, Y. Y., & Ibrahim, A. M. 2021. *Quality of cattle meat and its compositional constituents*. Veterinary Medicine International, 2021, 1-9.
- Liur, I. J. 2020. *Kualitas kimia dan mikrobiologis daging ayam broiler pada pasar tradisional kota Ambon*. Al-Hayat: Journal of Biology and Applied Biology, 3(2), 59.
- Marrone, R., Smaldone, G., Ambrosio, R. L., Festa, R., Ceruso, M., Chianese, A., & Anastasio, A. 2021. *Effect of beetroot extract on Black Angus burgers shelf life*. Italian Journal of Food Safety, 10(1).
- Mendrofa, V. A., Priyanto, R., & Komariah, K. 2016. *Sifat fisik dan mikroanatomi daging kerbau dan sapi pada umur yang berbeda*. Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan, 4(2), 325-331.
- Supriyatin, & Hery Prambudi. 2020. *Kajian kualitas kimia daging sapi tenderloin dan sirloin di RPH tradisional di kabupaten Cirebon*. Jurnal Health Sains, 1(3), 169-177.
- Vishal, N., & Shukshith, K. S. 2016. *Qualification of autoclave*. International Journal of Pharm Teach Reaserch, 9(4), 220-226.
- Yusuf, & Dasir. 2014. *Mempelajari pengaruh penambahan tepung bunga kecombrang (Nicolaia spesiosa Horan) sebagai pengawet alami terhadap daya simpan bakso ikan gabus*. Jurnal Penelitian Ilmu-Ilmu Teknologi Pangan Faculty of Agriculture, Universitas Muhamamdiyah Palembang, 3(1).