

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. Warna 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 warna 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 *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).

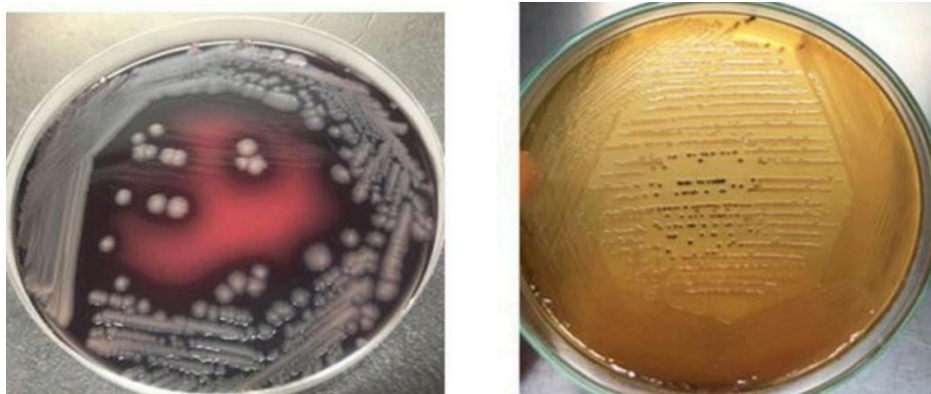
2.2.2 Morfologi dan ciri-ciri

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 *Enterobacteriaceae* 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, 0,4 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

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).

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).

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

No	Jenis uji	Satuan	Persyaratan
1	<i>Total Plate Count</i>	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 *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).

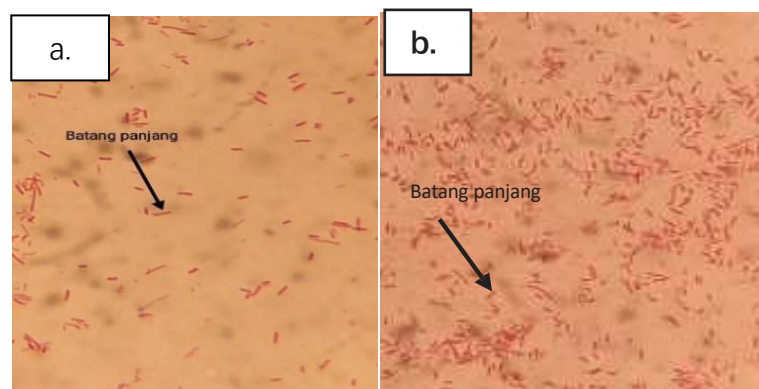
Sebelum diinokulasi ke dalam media SSA, sampel terlebih dahulu di maskan ke dalam media *Tetrathionate Broth* (TTB) yang telah di tuang ke dalam tabung reksi dan ditambahkan iodine, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Senyawa TTB terpilih, khususnya garam empedu, dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram 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 Aisyah Putri *et al.*, 2021). Sampel yang diperkaya dengan dikumpulkan menggunakan ose dan kemudian dikikis ke permukaan media SSA dan Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Tuhumury *et al.*, 2022).

2.5 Pewarnaan gram

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 pewarnaan 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 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 perbesaran (1000x). Keterangan: (a) Sampel ayam buras dan (b) Sampel ayam ras (Wahyuni *et al.*, 2022).

2.6 Uji Biokimia

Setelah dilakukan pewarnaan Gram, selanjutnya dilakukan uji biokimia terhadap 9 isolat yang meliputi uji TSIA, uji 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

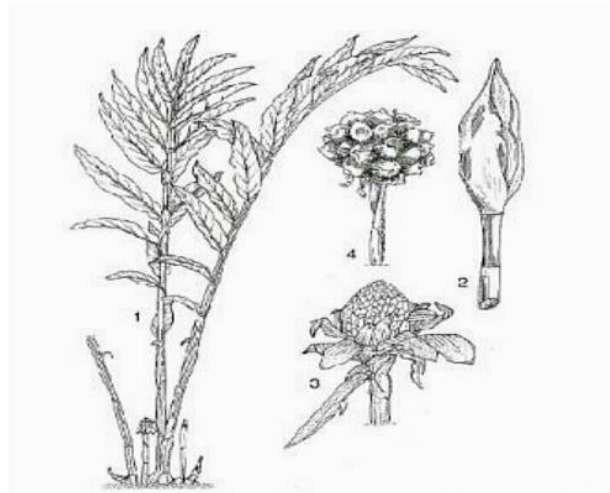
Uji Sitrat Simmon bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri menggunakan natrium sitrat sebagai sumber karbon. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna medium dari hijau menjadi biru yang berarti bakteri dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Bakteri yang mampu menggunakan sitrat 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 positif ditandai dengan larutan berwarna merah muda menandakan asam (Atriana, N, 2014).

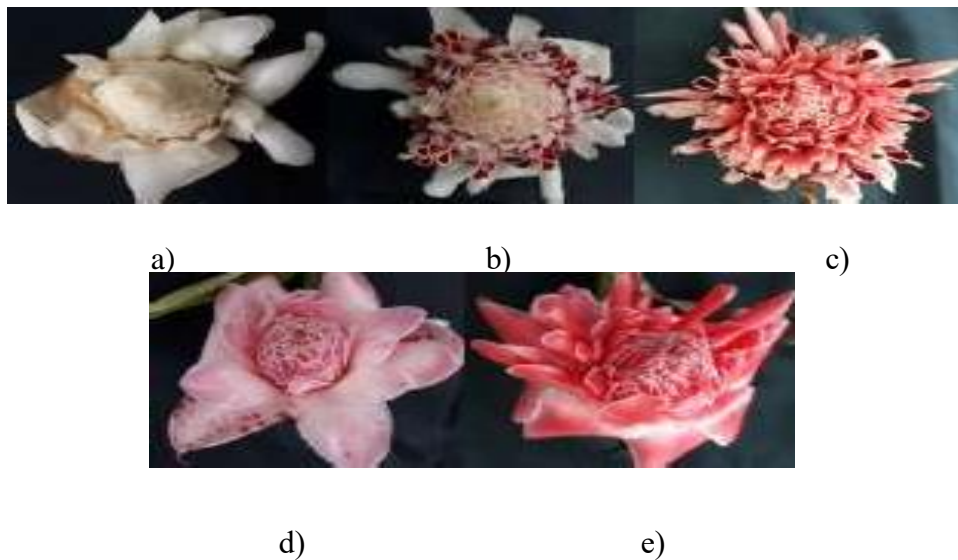
2.7 Karakteristik dan kandungan unga Kecombrang (*Etilingera eliator*)



Gambar 2.3 Morfologi Tanaman Kecombrang (Silalahi, 2016)

Kecombrang, atau *Etilingera eliator*, adalah anggota keluarga Zingiberaceae yang populer di Indonesia, Thailand, Vietnam, Malaysia, dan negara-negara Asia Selatan lainnya. Ini juga disebut honje di Indonesia. (Pulungan *et al.*, 2018). Taksonomi diklasifikasikan ke dalam: kerajaan: *Plantae*, Divisi: *Magnoliophyta*, Kelas : *Liliopsida*, Ordo: *Zingeriberales*, Famili: *Zingerberaceae*, Genus : *Etilingera*, Spesies: *E. eliator* (Windasari *et al.*, 2021). Tanaman herba ini dapat mencapai 5 meter tinggi. Batang pohon jengger emas berbentuk 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 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 *Etlingera 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. thypimurium*, dan *P. areuginosa*. (Yusuf & Dasir, 2014).

Penelitian oleh Salman dan Indriana (2021) menunjukkan bahwa bunga kecombrang segar, simplisia, dan ekstrak etanol bunga kecombrang mengandung flavonoid, alkaloid, Saponin, glikosida, serta minyak atsiri. Saponin merupakan senyawa yang memiliki sifat menurunkan tegangan permukaan yang kuat yang menimbulkan busa bila dikocok dalam air. Sifat saponin seperti sabun (dalam bahasa latin *sapo*: sabun). Saponin berperan aktif sebagai antimikroba dengan cara mengganggu kestabilan membran sel bakteri dan akhirnya membuat sel bakteri menjadi lisis (pecah). Flavonoid memiliki efek antimikroba lewat kemampuannya membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein yang dapat larut serta dengan dinding sel bakteri . Berdasarkan hasil skrining fitokimia golongan senyawa yang terkandung dalam bentuk simplisia bunga kecombrang adalah alkaloid, flavanoid, saponin. Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang mempunyai sifat meningkatkan permeabilitas sel, dapat menghambat mikroorganisme karena kemampuannya membentuk senyawa kompleks dengan protein dengan rusaknya protein maka aktivitas metabolisme mikroba menjadi terganggu sehingga mengakibatkan kematian mikroba. Saponin memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri yaitu menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar