

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

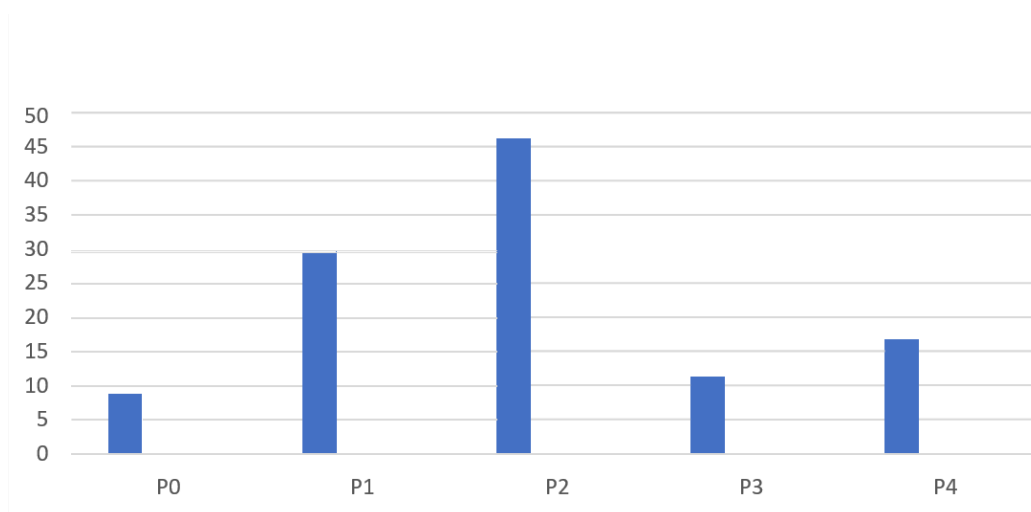
4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 TPC

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

Sampel	Rata-rata koloni 10^6
P0	$8,676 \times 10^6$
P1	$26,96 \times 10^6$
P2	$46,28 \times 10^6$
P3	$11,29 \times 10^6$
P4	$16,77 \times 10^6$

Rata-rata nilai dari hasil uji TPC adalah (P0) = $8,676 \times 10^6$, (P1) = $26,96 \times 10^6$, (P2) = $46,28 \times 10^6$, (P3) = $11,29 \times 10^6$ dan (P4) = $16,77 \times 10^6$. Berdasarkan hasil ini maka dapat disimpulkan bahwa P2 merupakan sampel dengan tingkat mikrobiologis tertinggi ($46,28 \times 10^6$ CFU/g), sedangkan P0 memiliki tingkat mikrobiologis terendah ($8,676 \times 10^6$). 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

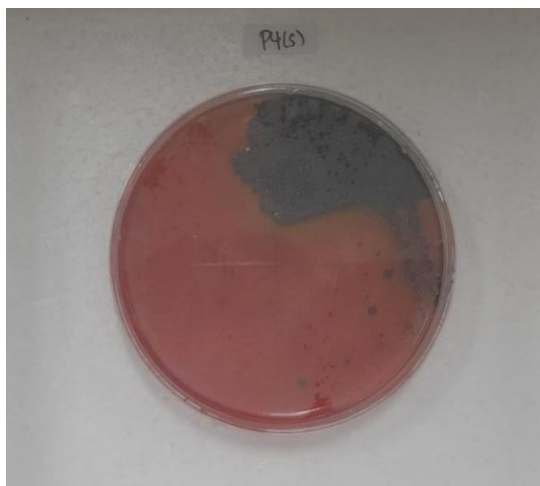
Namun demikian, terlihat penurunan jumlah bakteri untuk daging yang diberi simplisia bunga kecombrang. Terdapat perbedaan jumlah bakteri yang tampak pada P2 dan P3 yang menggambarkan penurunan jumlah bakteri pada daging yang diberi simplisia bunga kecombrang selama 3 jam menunjukkan adanya pengaruh dari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

Kelompok Perlakuan	Mean (10 ⁶) ± SD
P0	8,676±18,96 ^a
P1	26,96±154,88 ^{ab}
P2	46,28±334,16 ^b
P3	11,29±68,83 ^a
P4	16,77±116,61 ^a

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).

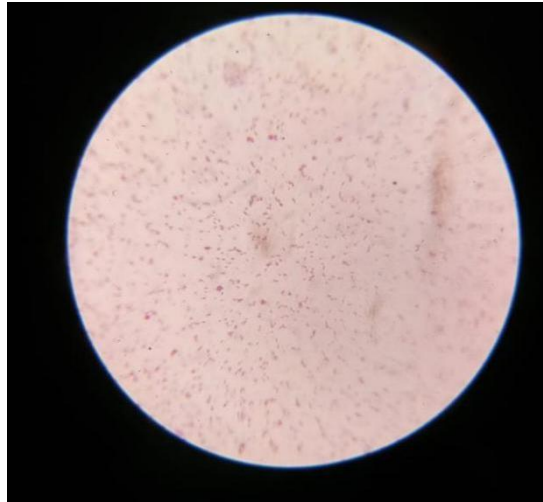
4.1.2 Uji *salmonella sp.*



Gambar 4.2 Hasil kultur media SSA terdapat koloni bakteri

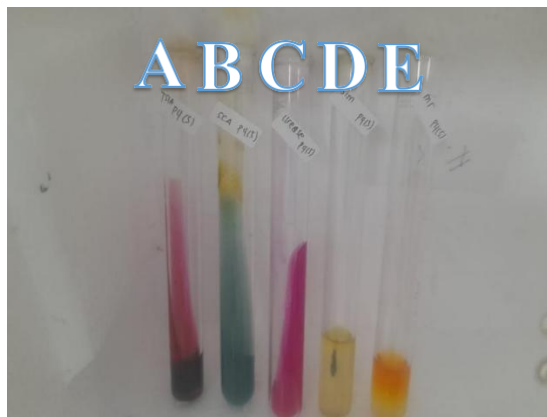
Uji SSA menunjukkan pertumbuhan koloni dengan ciri yang kecil tak berwarna bening dengan inti hitam . Koloni berwarna hitam menunjukkan bakteri mampu menghasilkan H₂S. Namun, bakteri *Salmonella* bukan satu-satunya bakteri yang menunjukkan koloni berwarna hitam. Selain bakteri *Salmonella sp.*, Kelompok bakteri *Proteus sp* dan *Enterobacter sp* juga memperlihatkan koloni yang sama pada media SSA.

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

Tabel 4.3 Cemaran *Salmonella* pada daging sapi

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

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.

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, antibakteri, 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).

Pengujian menunjukkan 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. *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 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, 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 *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).