

**PENGARUH KONSENTRASI DAN LAMA PERENDAMAN LARUTAN
INFUSA DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) TERHADAP TOTAL
BAKTERI *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., DAN
KADAR PROTEIN PADA DAGING AYAM**

SKRIPSI

Oleh:
NASHIROTUL ULYA
NIM. 14620024



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**PENGARUH KONSENTRASI DAN LAMA PERENDAMAN LARUTAN
INFUSA DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) TERHADAP TOTAL
BAKTERI *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., DAN
KADAR PROTEIN PADA DAGING AYAM**

SKRIPSI

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si)

Oleh:
NASHIROTUL ULYA
NIM. 14620024

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**PENGARUH KONSENTRASI DAN LAMA PERENDAMAN LARUTAN
INFUSA DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) TERHADAP TOTAL
BAKTERI *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., DAN
KADAR PROTEIN PADA DAGING AYAM**

SKRIPSI

Oleh:
NASHIROTUL ULYA
NIM. 14620024

telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
tanggal: 4 Januari 2019

Pembimbing I

Ir. Liliek Harianie AR, M.P
NIP. 19620901 199803 2 001

Pembimbing II

Umaiyatus Svarifah, M.A
NIP. 19820925 200901 2 005



Bonardi, S., D.Sc
NIP. 198102012009011019

**PENGARUH KONSENTRASI DAN LAMA PERENDAMAN LARUTAN
INFUSA DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) TERHADAP TOTAL
BAKTERI *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, DAN
KADAR PROTEIN PADA DAGING AYAM**

SKRIPSI

Oleh:
NASHIROTUL ULYA
NIM. 14620024

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima
Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 4 Januari 2019

Penguji Utama	Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si NIP. 19650509 199903 2 002	
Ketua Penguji	Nur Kusmiyati, M.Si NIP. 19890816 20160801 2061	
Sekretaris Penguji	Ir. Liliek Harianie AR, M.P NIP. 19620901 199803 2 001	
Anggota Penguji	Umayyatus Syarifah, M.A NIP. 19820925 200901 2 005	



Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi
Romichan A.Si., D.Sc
NIP. 19810201 200901 1 019

HALAMAN PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillah atas segala nikmat yang telah Engkau berikan. Alhamdulillah atas keberkahan yang Engkau berikan. Syukur Alhamdulillah atas izin-Mu hamba dapat merasakan kesempatan yang terindah ini. Terimakasih ya Rabb atas taufik dan hidayah yang Engkau berikan akhirnya skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات

Special Thanks to:

1. *Mamak dan Bapak tercinta, Umamah dan Mulyono*
2. *Alm. Ibu Muflikha*
3. *Mbk Puput Senja Eka Sari dan adk A'yunda Fthrotus Sholikha*
4. *Keluarga besar tersayang*

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nashirotul Ulya

NIM : 14620024

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Larutan Infusa Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap Total Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., dan Kadar Protein pada Daging Ayam

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 4 Januari 2019

Yang membuat pernyataan,



Nashirotul Ulya
NIM. 14620024

MOTTO

“Utamakan urusan akhiratmu maka duniamu akan mengikuti dan Percayalah Allah maha tahu yang terbaik bagi Hamba-hambanya”

“Lek Ora Iso Dadi Wong Alim Dadio Wong Seng Istiqomah”

(KH. M. Chusaini Al-Hafidz)



**PENGARUH KONSENTRASI DAN LAMA PERENDAMAN LARUTAN INFUSA
DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) TERHADAP TOTAL BAKTERI
Staphylococcus aureus, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., DAN KADAR PROTEIN
PADA DAGING AYAM**

Nashirotul Ulya, Ir. Liliek Harianie AR, M.P dan Umaiatus Syarifah, M.A

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi dan lama perendaman larutan infusa daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap jumlah *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* dan kadar protein pada daging ayam. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAK) dengan dua faktor perlakuan. Faktor pertama adalah variasi lama perendaman yang terdiri dari 0 jam, 3 jam, dan 6 jam. Faktor kedua adalah variasi konsentrasi yaitu 0%, 50%, 75%, dan 100%. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan jika terdapat pengaruh nyata terhadap parameter maka dilakukan uji lanjut dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf kesalahan 5%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian variasi lama perendaman dan konsentrasi bertingkat memberikan pengaruh terhadap jumlah total bakteri dan kadar protein pada daging ayam. Perlakuan terbaik infusa daun salam terhadap jumlah total bakteri (TPC) yaitu pada perlakuan K3L1 dengan nilai 1×10^4 cfu/g, perlakuan terbaik *Staphylococcus aureus* terdapat pada perlakuan K1L1 dengan nilai 8×10^0 , perlakuan terbaik terhadap bakteri *Escherichia coli* ada pada perlakuan K2L1 dengan nilai 1×10^1 cfu/g, dan perlakuan terbaik *Salmonella* sp. terdapat pada perlakuan K0L0 dengan nilai 0 cfu/gram. Sedangkan perlakuan terbaik terhadap kadar protein terdapat pada perlakuan K3L1 dengan kadar protein sebesar 18,6%.

Kata kunci: daging ayam, larutan infusa daun salam, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., kadar protein.

**THE EFFECT OF CONCENTRATION AND SOAKING TIME OF INFUSA
CHEM SOLUTION OF BAY LEAVES (*Syzygium polyanthum*) ON TOTAL
BACTERIA *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* AND PROTEIN
CONTENT IN CHICKEN MEAT**

Nashirotul Ulya, Ir. Liliek Harianie AR, M.P dan Umairatus Syarifah, M.A

ABSTRACT

The aim of this research was to determine the effect of concentration and soaking time of infusa chem of bay leaves (*Syzygium polyanthum*) on the amount of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* and protein content in chicken meat. This research used a randomized block design (RBD) with two treatment factors. The first factor is the variation of soaking time consisting 0 hour, 3 hours and 6 hours. The second factor is the variation of concentration, consisting 0%, 50%, 75%, and 100%. The obtained data were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) and if there was a real effect on the parameters, further the next analyze with the Duncan Multiple Range Test (DMRT) test with an error rate of 5%. The result of this research indicate that giving variation of soaking time and multilevel concentration had an effect on the total number of bacteria and protein content in chicken meat. The best treatment of bay leaves infusion on total bacterial (TPC) was in the treatment of K3L1 with a value of 1×10^4 cfu / g, the best treatment of *Staphylococcus aureus* is in the K1L1 treatment with a value of 8×10^0 , the best treatment for *Escherichia coli* bacteria is K2L1 treatment with a value of 1×10^1 cfu / g, and the best treatment of *Salmonella sp.* found in the treatment K0L0 with a value of 0 cfu / gram. While the best treatment for protein content is found in the K3L1 treatment with a protein content of 18.6%.

Keywords: chicken meat, infusion solution of bay leaves, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonellasp.*, protein content.

علياء، ناصيرة. 2018. تأثير التركيز والنقع الطويل الحل *infusa* ورقة الخليج (*Syzygium polyanthum*) الى مجموع الجرثوم *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* و *Salmonella sp.* وبروتين في لحم الدجاج.

ناصرية علياء، ليليك هارياي الماحستير وأمية الشارفة الماحستير

مستخلص

يهدف هذا البحث إلى معرفة تأثير التركيز والنقع الطويل الحل *infusa* ورقة الخليج (*Syzygium polyanthum*) ضد كمية لحم الدجاج. وتستعمل الباحثة في هذا البحث تصميم عشوائية كاملة مع عاملين من العلاج. الأول هو الغمر التنوع الطويل الذي يتكون من 0 ساعة و 3 ساعات و 6 ساعات. والثاني هو الاختلاف في التركيز وهو 0% و 50% و 75% و 100%. وطريقة البيانات في هذا البحث بتحليل *anova* التباين. وإذا كان هناك تأثير حقيقي على المعلومات، فيتم إجراء المزيد من الاختبارات عن طريق الاختبار دنكان إختبار مدي متعددة مع مستوي الخطأ 5%. وأما النتيجة البحث حصلت الباحثة في هذا البحث يدل على منح التبيان الطويل في النقع وتركيز المدرجات مما يعطي تأثيرا علي كميته الجرثوم والبروتين في لحوم الدجاج. أفضل علاج *infusa* ضد العدد الإجمالي الجرثوم في العلاج K3L1 مع قيمة $10^4 \times 1$ /cfu ز وأفضل العلاج *Staphylococcus aureus* في العلاج K1L1 مع قيمة $10^8 \times 8$ /cfu ز وأفضل العلاج ضد الجرثوم *Escherichia coli* في العلاج K2L1 مع قيمة $10^6 \times 6$ /cfu ز وأفضل علاج *Salmonella Sp.* في العلاج K0L0 مع قيمة 0 /cfu ز وحين أفضل علاج ضد البروتين الموجد في البرتين K3L1 العلاج من 6% و 18%.

الكلمة الرئيسية: لحم الدجاج، *infusa* ورقة الخليج، *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *Salmonella Sp.*، بروتين.

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Dengan menyebut asma Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, penulis ucapkan syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Selanjutnya, shalawat serta salam semoga selalu terlimpahkan kepada Nabi Muhammad SAW, yang telah membimbing kita dari zaman kebodohan menuju zaman yang penuh dengan ilmu pengetahuan. Serta penulis haturkan ucapan terima kasih seiring do'a dan harapan kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M. Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si. D.Sc selaku Ketua Jurusan biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ir. Liliek Harianie AR, M.P dan Umaiyatus Syarifah, M.A selaku pembimbing skripsi dan pembimbing agama, yang telah banyak memberikan bimbingan selama melaksanakan penelitian dan penulisan skripsi.
5. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si dan Nur Kusmiyati, M.Si selaku penguji yang banyak memberi masukan.
6. Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc dan Retno Novitasari, M.Sc selaku kepala Laboratorium dan Laboran Mikrobiologi.
7. Bapak Mulyono dan Mamak Umamah yang saya cintai serta mbak saya yang senantiasa mendo'akan dan memotivasi penulis dalam menuntut ilmu.
8. Abah KH. M. Chusaini Al-Hafidz dan Umik Hj. Wardah yang telah menuntun saya menjadi pribadi yang kuat, medoakan saya dalam proses ujian skripsi
9. Teman-teman seperjuangan Biologi 2014 yang selalu memberikan dukungan.
10. Khodijah squad terimakasih banyak telah menjadi penyemangat, pendengar setia, membantu dan mendoakan saya.
11. Team antibakteri tante Lina dan Anita yang telah berjuang bersama-sama menyukseskan penelitian ini, sabar membantu saya, memberi tempat persinggahan selama kuliah.
12. Muhammad Farid Yahya yang telah menyemangati saya, mengerti saya, dan membantu dalam penyempurnaan naskah saya.
13. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materi maupun moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan, dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 4 Januari 2019

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGANTAR.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	vi
MOTTO.....	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
مستخلص.....	x
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan.....	7
1.4 Hipotesis.....	7
1.5 Manfaat Penelitian.....	7
1.6 Batasan Masalah.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Daging Ayam.....	10
2.1.1 Definisi Daging Ayam.....	10
2.1.2 Komponen Gizi Ayam.....	11
2.1.3 Aspek Mikrobiologis pada Daging Ayam.....	12
2.1.4 Batas Cemaran.....	13
2.1.5 Faktor Pertumbuhan Mikroorganisme pada Pangan.....	14
2.1.6 Pembusukan pada Daging.....	17
2.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	20
2.2.1 Patogenitas <i>Staphylococcus aureus</i>	21
2.3 <i>Escherichia coli</i>	22
2.3.1 Patogenitas <i>Escherichia coli</i>	23
2.4 <i>Salmonella</i> sp.....	23
2.4.1 Patogenitas <i>Salmonella</i> sp.....	25
2.5 Daun Salam.....	26
2.5.1 Kandungan Senyawa Daun Salam.....	28
2.6 Antibakteri.....	30
2.6.1 Definisi Antibakteri.....	30
2.6.2 Mekanisme Antibakteri.....	30
2.6.3 Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Bakteri.....	32

2.7	Teknik Isolasi Bakteri untuk Perhitungan Angka Kuman Sampel Padat Bahan Makanan	32
2.7.1	Teknik Dilution	32
2.7.2	Teknik Pour Plate	33
2.7.3	Teknik Spread Plate.....	33
2.7.4	Uji TPC (Total Plate Count).....	34
2.8	Uji Protein.....	35
2.8.1	Metode Biuret.....	35
2.8.2	Spektrofotometri.....	36
BAB III METODE PENELITIAN		
3.1	Rancangan Penelitian.....	37
3.2	Waktu dan Tempat.....	38
3.3	Variabel Penelitian.....	38
3.3.1	Variabel Bebas.....	38
3.3.2	Variabel Terikat.....	38
3.3.3	Variabel Terkontrol	38
3.4	Alat dan Bahan.....	39
3.4.1	Alat	39
3.4.2	Bahan	39
3.5	Prosedur Penelitian	39
3.5.1	Pembuatan Media	39
3.5.1.1	Pembuatan Media Buffer Pepton Water (BPW)	39
3.5.1.2	Pembuatan media Plate Count Agar (PCA)	40
3.5.1.3	Pembuatan Media Eosin Methylen Blue Agar (EMBA).....	40
3.5.1.4	Pembuatan media Mannitol Salt Agar (MSA)	41
3.5.1.5	Pembuatan Media Shigela Salmonella Agar (SSA).....	41
3.5.2	Sterilisasi Alat dan Bahan	41
3.5.3	Pengujian TPC pada Daging Ayam.....	42
3.5.4	Pembuatan Infusa Daun Salam.....	42
3.5.5	Pengujian Infusa Daun Salam terhadap Bakteri Uji.....	43
3.5.6	Uji TPC Setelah Perendaman Infusa Daun Salam	43
3.5.6.1	Pengujian Infusa Daun Salam terhadap Total Plate Count (TPC)	43
3.5.6.2	Pengujian Infusa Daun Salam Putih terhadap <i>Esherichia coli</i>	44
3.5.6.3	Pengujian Infusa Daun Salam terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	45
3.5.6.4	Pengujian Infusa Daun Salam terhadap <i>Salmonella</i>	46
3.5.7	Uji Kadar Protein.....	47
3.5.7.1	Pembuatan Kurva Standar	47
3.5.7.2	Analisis Kadar Protein Sampel.....	47
3.6	Analisis Data.....	47
3.7	Kerangka Konsep.....	48

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam terhadap Jumlah Bakteri dan Kadar Protein pada Daging Ayam	49
4.1.1 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>) terhadap Jumlah Bakteri	49
4.1.2 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	53
4.1.3 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam terhadap <i>Escherichia coli</i>	57
4.1.4 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam terhadap <i>Salmonella</i> sp.....	62
4.1.5 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam terhadap Kadar Protein	66

BAB V KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan	71
5.2 Saran	71

DAFTAR PUSTAKA	72
----------------------	----

LAMPIRAN	78
----------------	----



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	21
Gambar 2.2 <i>Escherichia coli</i>	22
Gambar 2.3 <i>Salmonella</i> sp (Anonim 2016).....	24
Gambar 4.1 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>) terhadap Jumlah Bakteri	49
Gambar 4.2 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	53
Gambar 4.3 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam terhadap <i>Escherichia coli</i>	58
Gambar 4.4 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam terhadap <i>Salmonella</i> sp.....	63
Gambar 4.5 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam terhadap Kadar Protein.....	66



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Gambaran Nilai Gizi Daging Ayam Potong (Broiler)	12
Tabel 2.2 Spesifikasi Persyaratan Mutu Batas Maksimum Cemaran Mikroba pada Daging	13
Tabel 3.1 Kombinasi Konsentrasi dengan Lama Perendaman Infusa Daun Salam	37



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Penelitian	78
Lampiran 2. Hasil SPSS	87
Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian	92
Lampiran 4. Gambar Hasil Penelitian	94



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bahan pangan berasal dari ternak yang memegang peran penting dalam pemenuhan gizi dan sebagai sumber protein salah satunya yaitu daging ayam. Daging ayam sangat diminati oleh masyarakat karena harganya yang ekonomis. Hal ini diketahui pada permintaan daging ayam yang terus meningkat. Wendar *et al.*, (2006) menyatakan daging ayam merupakan bahan pangan kaya akan sumber protein yang banyak dikonsumsi masyarakat. Pusat Informasi dan Pasar Unggas Nasional (PINSAR) menyatakan bahwa pada tahun 2014 produksi ayam potong nasional mencapai 2,4 miliar ekor. Pemilihan daging ayam sebagai bahan pangan karena tinggi akan protein, mudah dalam pengolahan, dan harganya yang murah.

Daging ayam dapat membahayakan kesehatan tubuh apabila daging ayam yang diperoleh tidak aman dikonsumsi. Hal ini mendapat perhatian dari Pemerintah Dinas Peternakan Provinsi Jawa Barat (2004) yang menyatakan tentang ketersediaan pangan yang diterapkan atau dilaksanakan melalui program ketahanan pangan, supaya pangan memiliki nilai gizi yang cukup, sehat, aman dan halal untuk dikonsumsi oleh masyarakat. Hal tersebut juga sesuai dengan firman Allah SWT surah al-Maidah (5): 88 yaitu:

﴿۸۸﴾ وَكُلُوا مِمَّا رَزَقَكُمُ اللَّهُ حَلالًا طَيِّبًا وَاتَّقُوا اللَّهَ الَّذِي أَنْتُمْ بِهِ مُؤْمِنُونَ ﴿۸۸﴾

Artinya: “Dan makanlah makanan yang halal lagi baik dari apa yang Allah telah rezezikkan kepadamu, dan bertaqwalah kepada Allah yang kamu beriman kepadanya”

Menurut al-Qurtubi pada ayat ini kata *al aklu* dipilih sebagai redaksi karena kata tersebut menyangkup maksud yang paling besar, juga mencangkup bentuk manfaat yang paling khusus bagi manusia. Allah SWT menganjurkan umatnya untuk memakan makanan halal dan baik. Halal berdasarkan Al-Jurjani berasal dari kata *الحل* yang berarti (*الفتح*) ”terbuka”. Istilah halal ini menunjukkan makna segala sesuatu yang tidak mendapatkan sanksi dalam penggunaannya atau suatu kegiatan yang bebas dilakukan berdasarkan syariat. Halal dalam hal ini telah diaplikasikan dalam proses penyembelihan daging ayam yang harus disertai atas nama Allah. Serta perlakuan ternak ayam sebelum penyembelihan harus dalam keadaan yang cukup istirahat sebab akan mengakibatkan peningkatan jumlah bakteri dibandingkan dengan kondisi ayam yang tidak cukup istirahat.

Kemudian untuk lafadz “*thayyib*” menurut Al-Hâfîzh Ibn Katsîr menjelaskan dalam ayat ini lafaz “*thayyib*” mengandung makna yang lezat bagi diri manusia tidak membahayakan terhadap kondisi kesehatan badan dan akal (Ali, 2016). Karakteristik daging ayam yang baik menurut kementerian dan kesehatan (2010) yaitu pertama dilihat dari penampakan yang cerah, bersih, dan mengkilat. Kedua dilihat dari warna yang putih kekuningan cerah, tidak gelap, tidak pucat, dan tidak terlalu merah. Ketiga dilihat dari baunya yang tidak menyengat, tidak bau amis dan tidak bau lendir. Keempat dilihat dari tekstur yang kenyal, elastis dan tidak lembek. Kemudian yang terakhir yaitu tidak terdapat lendir dan permukaan terasa lembab dan tidak kering.

Daging ayam merupakan bahan makanan yang memiliki substrat sangat baik dalam menunjang pertumbuhan mikroba karena dalam daging ayam terdapat

kadar air 68% hingga 75%, mengandung banyak zat nitrogen dan mineral. (Betty dan Yendri 2007). Kerusakan yang terjadi pada daging ayam sangat erat kaitannya dengan aktivitas mikroorganisme pembusuk maupun mikroorganisme patogen. Daging ayam dapat terkontaminasi mikroorganisme yang menyebabkan penyakit (*foodborne disease*), antara lain: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella* sp. (Dewantoro, 2011).

Sumber pencemaran bakteri patogen dapat disebabkan kontaminasi berasal dari lingkungan sekitar seperti cemaran lewat udara, air, debu, pernafasan manusia ataupun hewan. Murdiati dan Sendow (2006) juga mengungkapkan bahwa di Amerika pernah dilaporkan kasus pencemaran pada pangan (*foodborne disease*) sebanyak 58% berasal dari pangan asal hewan. Sebanyak 67% kasus *foodborne disease* disebabkan oleh virus, 30% oleh bakteri, dan 3% oleh parasit. Meskipun *foodborne disease* yang diakibatkan oleh bakteri hanya sebanyak 30% akan tetapi mengakibatkan penyebaran penyakit dengan angka kematian yang tinggi yaitu lebih dari 60% (Kusumaningsih, 2012). Cemaran berbagai bakteri pada produk pangan asal hewan dapat menimbulkan berbagai kerugian pada masyarakat yang mengkonsumsi.

Spesifikasi persyaratan mutu cemaran mikroba pada daging ayam yang perlu dilihat menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) 3924:2009 adalah total *plate count* (Maks. 1×10^6), *Escherichia coli* (Maks. 1×10^1), *Coliform* (Maks. 1×10^2), *Staphylococcus aureus* (Maks. 1×10^2) dan *Salmonella* (negatif). Daging ayam yang dikonsumsi masyarakat harus sesuai dengan standarisasi batas cemaran yang telah ditentukan oleh pemerintah.

Tingginya cemaran mikroorganisme pada daging dapat menurunkan kualitas daging dan dapat mengakibatkan gangguan kesehatan konsumen. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang tersebar pada setiap tempat. Sumber utama infeksi bakteri ini pada manusia dan hewan terutama pada individu yang sakit. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan berbagai macam penyakit antara lain keracunan makana, infeksi kulit, endokarditis, artitis, pneumonia dan encephalitis (Salasia *et al.*, 2009).

Escherichia coli merupakan bakteri *foodborne* yang dapat mengakibatkan berbagai gangguan saluran cerna. *Escherichia coli* menghasilkan toksin shiga yang dapat menimbulkan penyakit. *Escherichia coli* dijadikan sebagai indikator kontaminasi feses pada makanan (Rahadi, 2011).

Salmonella merupakan bakteri yang sangat mampu menginfeksi pada manusia. Penularan bakteri ini biasanya melalui *fecal-oral* yang ditularkan pada manusia melalui konsumsi makanan yang dicemari bakteri *Salmonella* sehingga menyebabkan penyakit salmonellosis (Rahadi, 2011).

Mikroba secara umum dipengaruhi oleh faktor lingkungan pada proses pertumbuhannya. Faktor lingkungan meliputi faktor abiotik seperti pengaruh pH, suhu dan pengaruh daya desinfektan dan faktor biotik yaitu antibiose. Pengaruh faktor ini akan menunjukkan peningkatan jumlah pertumbuhan sel yang berbeda-beda pada kurva pertumbuhan. Menurut Pleczar dan Chan (2006) keberhasilan berbagai tipe mikroba dalam kultivasinya dibutuhkan asosiasi antara nutreïn dengan faktor lingkungan yang sesuai.

Daging yang tercemar oleh bakteri patogen dapat menyebabkan perubahan fisik seperti kebusukan dan kimia (berkurangnya kandungan protein), sehingga daging ayam tidak baik dikonsumsi. Menurut Pura (2015), daging ayam akan mengalami pembusukan lima jam setelah pemotongan tanpa pengawetan. Proses kerusakan daging ayam terjadi jika enzim proteolitik menghidrolisis protein daging ayam sehingga terjadi penguraian menjadi asam amino dan senyawa peptida yang lebih sederhana dan pembentukan senyawa nitrogen larut disebabkan oleh pembentukan dari bakteri proteolitik (Muliati, 2014). Proses pembusukan pada daging ayam tidak dapat dihindari apabila tidak dilakukan suatu pengawetan yaitu dengan cara menekan pertumbuhan mikroba pada daging ayam tersebut.

Pengawetan adalah upaya yang dilakukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba pembusuk dan memperpanjang masa simpan daging. Menurut Kurnianto (2015) berdasarkan data yang diperoleh dari BPOM ada 50% daging ayam berformalin beredar di Banten. Formalin merupakan bahan tambahan makanan yang telah dilarang dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Bardana dan Montanaro (1991) menyatakan formalin merupakan zat karsinogenik yang dapat menimbulkan kanker pernafasan dan kanker mulut yang terjadi akibat terpapar formalin dalam jangka panjang. Oleh karena itu, penggunaan bahan pengawet berbasis bahan alami menjadi fokus utama dalam menjaga kualitas produk pangan, termasuk daging ayam.

Tanaman yang dapat digunakan sebagai bahan pengawet alami salah satunya yaitu daun salam. Menurut Kusumaningrum, (2013) daun salam termasuk jenis tanaman yang dapat digunakan antibakteri karena kemampuannya dalam

menekan aktivitas mikroba. Daun salam (*Syzygium polyanthum*) mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan triterpenoid. Senyawa-senyawa tersebut diduga memiliki sifat antibakteri (Sari, Y. D., 2010). Daun salam (*Syzygium polyanthum*) biasanya oleh masyarakat digunakan sebagai obat penyakit diare. Salah satu penyebab diare adalah bakteri *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli* (Ajizah 2004).

Suciari, (2017) mengungkapkan pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% memiliki perbedaan yang signifikan terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada masing-masing rebusan daun salam. Konsentrasi 100% merupakan konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Sedangkan menurut Pratama (2016) menyatakan konsentrasi daun salam sebesar 5% (P1), 10% (P2), 20% (P3), dan 40% tidak memiliki aktifitas hambatan terhadap *Escherichia coli*, sedangkan pada *Salmonella spp* keempat konsentrasi tersebut menunjukkan adanya aktifitas hambatan. Berdasarkan penelitian Septianty, (2016) menyatakan perendaman rebusan daun salam selama 30 menit tidak memberikan pengaruh terhadap TPC pada daging ayam. Susilowati (2017) menyatakan sampel yang direndam infusa daun salam dengan peningkatan konsentrasi mulai dari 0%, 3%, 5%, 7%, 9% menunjukkan adanya pengaruh terhadap kadar protein pada sampel.

Melihat hal tersebut maka diperlukan adanya konsentrasi dan perendaman yang paling optimum yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada daging ayam. maka penelitian ini menggunakan rebusan daun salam dengan perbandingan konsentrasi 50%, 75% dan 100% dan untuk lama perendaman menggunakan

perbandingan 1 jam, 2 jam, dan 3 jam. Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas maka peneliti ingin melakukan penelitian dengan judul “Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap Total Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella* sp., dan Kadar Protein pada Daging Ayam”.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah apakah ada pengaruh konsentrasi dan lama perendaman larutan infusa daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap total bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* dan kadar protein pada daging ayam?

1.3 Tujuan

Tujuan pada penelitian ini adalah mengetahui pengaruh konsentrasi dan lama perendaman larutan infusa daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap total bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* dan kadar protein pada daging ayam.

1.4 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah larutan infusa daun salam berpengaruh terhadap jumlah *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* dan kadar protein pada daging ayam.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah yang bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan keamanan pangan produk peternakan

ditinjau dari segi mikrobiologi pangan khususnya pertumbuhan *E.coli*, *Salmonella* dan *S. aureus* dengan variasi konsentrasi dan lama perendaman infusa daun salam (*Syzygium polyanthum*) pada daging ayam.

2. Penggunaan daun salam dengan senyawa antibakteri yang dimiliki dapat dijadikan untuk pengawet daging ayam alami dengan cara yang aplikatif yang dapat dimanfaatkan oleh masyarakat dengan mudah.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Daging ayam yang digunakan merupakan daging segar yang baru disembelih dan diambil pada bagian dada daging ayam di Jalan Raya Jetis Mulyoagung, Dau, Malang
2. Daun salam yang digunakan merupakan daun salam tua dan segar yang kemudian dikeringkan untuk dijadikan bubuk
3. Konstrasi ekstrak yang digunakan sebanyak 50%, 75% dan 100% dengan lama perendaman selama 1 jam, 3 jam dan 6 jam
4. Pengujian yang dilakukan yaitu berupa pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella*, kemudian selanjutnya diuji kadar protein daging ayam
5. Batas cemaran yang ditentukan untuk bakteri patogen daging ayam berdasarkan SNI 392 4.1:2009 tentang mutu daging ayam yaitu: *Staphylococcus aureus* 1×10^2 CFU/gram, *Escherichia coli* 1×10^1 CFU/gram dan *Salmonella* negatif.

6. Metode infusa dilakukan dengan memanaskan larutan pada suhu 90°C selama 15 menit
7. Perlakuan konsentrasi 0% yaitu perlakuan yang menggunakan aquades, sedangkan lama perendaman 0 jam yaitu perlakuan yang hanya dilakukan pencelupan.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daging Ayam

2.1.1 Definisi Daging Ayam

Allah SWT telah berfirman dalam surah an-Nahl (16): 5 sebagai berikut:

وَالْأَنْعَامَ خَلَقَهَا لَكُمْ فِيهَا دِفْءٌ وَمَنَافِعُ وَمِنْهَا تَأْكُلُونَ ﴿٥﴾

Artinya: “Dan dia telah menciptakan binatang ternak untuk kamu, padanya ada (bulu) yang menghangatkan dan berbagai-bagai manfaat, dan sebagiannya kamu makan”

Berdasarkan ayat diatas dapat diketahui lafadz *al-an'am* menunjukkan arti binatang ternak. Allah SWT menciptakan binatang ternak karena pada hewan ini terdapat berbagai manfaaf yang dapat diambil. Binatang ternak yang dimaksud dalam penelitian ini yaitu berupa ayam. Manfaat yang dapat diambil dari ayam yaitu berupa bulunya kemudian daging dan telur untuk dimakan. Pada penggalan وَمِنْهَا تَأْكُلُونَ yang artinya dan sebgaiian yang kamu makan. Menurut Qurtubi penyebutan manfaat memakan dalam ayat ini disendirikan karena memiliki manfaat yang sangat agung dibanding semua manfaat. Menurut Shihab (2002) didahulukannya lafadz وَمِنْهَا تَأْكُلُونَ memberikan penekanan khusus terhadap nikmat makanan tersebut. Sedangkan bentuk penggunaan mudhori' (kata kerja masa kini dan akan datang) mengisyaratkan bahwa kegiatan tersebut bersinambungan yang disana juga tersirat pengulangan dan kesinambungan nikmat Allah SWT. Kemudian juga menuntut kesinambungan bersyukur kepada Allah SWT.

Daging ayam merupakan bahan makanan yang memiliki nilai gizi tinggi, mudah diperoleh, baunya tidak terlalu amis, teksturnya empuk, rasanya enak, dan

disertai dengan harga yang ekonomis bagi masyarakat. Daging ayam juga sering dijadikan sebagai bahan utama dalam mengolah makanan. Menurut Fatimah (2017) daging ayam didalamnya terdapat protein yang baik yang terdiri atas asam amino esensial lengkap dengan perbandingan yang cukup. Selain itu karena daging ayam memiliki serat-serat yang tergolong ke dalam jenis yang pendek dan lunak sehingga mudah dicerna. Sifat fisik dan kimia pada daging ayam mengakibatkan terjadinya kebusukan sangat mudah sekali yang disebabkan oleh mikroba pembusuk.

Karakteristik daging ayam segar yang dapat dikonsumsi yaitu: daging menampakkan warna yang cerah, mengkilat, tidak pucat, tidak berbau busuk maupun asam, daging masih elastis, daging terasa segar atau basah, dan tidak lengket (Hadiwiyoto, 1983) dalam (Masita, 2016). Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-3924-2009 tentang mutu karkas dan daging ayam, kualitas karkas yang baik (mutu I) adalah keutuhan baik dan sempurna, perdagingan tebal, konformasinya sempurna, perlemakan banyak, serta bebas dari memar.

2.1.2 Komponen Gizi Ayam

Dilihat dari segi mutunya daging ayam memiliki mutu dan nilai gizi yang baik dibanding hewan ternak lain. Terhadap hewan ternak lain daging ayam mempunyai nilai gizi yang lebih tinggi. Protein mengandung asam amino esensial sehingga mudah dicerna dan diserap oleh tubuh. Protein adalah komponen bahan kering yang tersebar dalam daging. Komposisi kimia daging ayam secara umum terdiri atas air (75%), protein (18%), lemak (3,5%) dan zat-zat larut non protein (3,5%) (Lawrie, 2003). Nilai gizi protein ditentukan oleh daya cerna atau serap

amino esensial serta kandungannya. Prosentase nilai gizi daging ayam dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Gambaran Nilai Gizi Daging Ayam Potong (Broiler)

Sajian 100 g	Protein	Lemak	Kalori	Kolestrol	Zat besi	Sodium
Daging Utuh	23 g	4,1 g	134	76 mg	1 mg	73 mg
Daging Dada	24 g	1,5 g	116	72 mg	0,9 mg	63 mg
Paha Bawah	21 g	3,8 g	131	79 mg	1,1 mg	81 mg
Sayap	23 g	5,6 g	147	72 mg	1 mg	76 mg

Sumber: Dinas peternakan dan kesehatan hewan pemerintah lampung (2014)

2.1.3 Aspek Mikrobiologis pada Daging Ayam

Secara biologis mikroorganisme pangan ada yang memiliki peran menguntungkan dan ada pula yang merugikan. Mikroorganisme menguntungkan berperan dalam proses fermentasi makanan sedangkan mikroorganisme merugikan berperan dalam merusak makanan dan menyebabkan penyakit melalui (*foodborne disease*). Cemaran mikroba dapat menyebabkan kerusakan pada daging ayam melalui proses pemotongan, penyimpanan ataupun pemasaran. Faktor yang mempengaruhi aktivitas dan pertumbuhan mikroorganisme yaitu waktu, kadar air pada daging, suhu penyimpanan dan tersedianya oksigen (Rahardjo dan Santoso, 2005).

Faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas daging ayam yaitu pertama pada waktu hewan masih hidup dapat disebabkan oleh peraturan pelaksanaan pemeliharaan seperti kebersihan kandang, pemberian pakan, dan kesehatan ternak.

Kedua ketika hewan sudah dipotong atau disembelih maka kualitas daging dapat dipengaruhi cemaran bakteri melalui pendarahan (Murtidjo, 2003).

Awal kontaminasi bakteri pada daging ayam diakibatkan oleh pisau tidak steril yang digunakan penyembelihan sehingga mikroba masuk ke pembuluh darah saat proses penyembelihan. Menurut Jay *et al.* (2005), kontaminasi bakteri yang sering terjadi pada daging ayam terjadi saat pengolahan produk asal hewan pemotongan, pengepakan, dan pendistribusian. Sanitasi yang kurang baik dan pemakaian air saat perawatan ayam juga mengakibatkan meningkatnya cemaran pada daging ayam.

2.1.4 Batas Cemaran

Spesifikasi persyaratan mutu batas cemaran mikroba berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) 3924:2009 dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Spesifikasi Persyaratan Mutu Batas Maksimum Cemaran Mikroba pada Daging

No	Jenis Mikroba	Syarat Batas Cemaran
1	<i>Total plate count</i>	Maks. 1×10^6
2	<i>Colform</i>	Maks. 1×10^2
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	Maks. 1×10^2
4	<i>Salmonella sp</i>	Negatif
5	<i>Escherichia coli</i>	Maks. 1×10^1

Tabel 2.2 diatas dapat dilihat batas maksimum cemaran mikroba pada daging ayam (cfu/g) yang mengacu Standar Nasional Indonesia (SNI) 3924:2009. Mikroorganisme patogen yang didapatkan dari daging unggas meliputi *Aeromonas*

sp., *Campylobacter sp.*, *Clostridium perfringens*, *Listeria*, *Salmonella*, *Shigella*, *Streptococcus*, *S. aureus*, *Yersinia enterocolitica*, dan *E. coli* (Hargis *et al.*, 2001).

2.1.5 Faktor Pertumbuhan Mikroorganisme pada Pangan

Mikroorganisme memiliki faktor-faktor dalam menunjang pertumbuhan mikroba dan pengendaliannya. Faktor-faktor tersebut yaitu faktor yang berasal dari dalam sel mikroba (intrinsik), lingkungan (ekstrinsik), implisit dan pengolahan makanan.

1. Faktor Intrinsik
 - a. *Water Activity* (a_w)

Air berperan penting dalam pertumbuhan dan metabolisme mikroba yang mana sebagai parameter aktivitas mikroba pada pangan (*Water activity*). Kadar $a_w = 0.95 - 0.99$ pada pangan dapat ditumbuhkan oleh tiap jenis mikroba dan pertumbuhan bakteri lebih pesat dibandingkan dengan kapang dan khamir. Jenis makanan kering cenderung rusak oleh kapang dan khamir. Madu dan sirup seringkali rusak karena khamir (*Sacharomyces rouxii* dan *Schozisacharomyces octosporus*). Bahan pangan dengan kadar garam tinggi rusak oleh khamir jenis *Debaryomyces* dan bakteri halofilik (Zulaikha, 2005).

- b. Derajat Asam pH

Mikroba tumbuh pada tingkat pH yang berbeda. Mikroorganisme tumbuh pada kisaran pH 5 – 8. Jenis bakteri proteolitik, gram negatif berbentuk batang tidak tahan asam (buah), asinan, minuman berkarbon, produk fermentasi (yoghurt, keju, sauerkraut). Khamir lebih tahan terhadap asam, erat hubungan dengan

kerusakan buah-buahan, sari buah, dan minuman ringan berkarbon (*carbonated beverages*) (Zulaikha, 2005).

c. Kandungan Nutrisi

Nutrisi pangan berperan dalam penghasil energi bakteri, pembentukan sel dan aseptor electron dalam menghasilkan energi. Mikroba dalam pertumbuhannya memerlukan nutrisi seperti air, mineral, sumber aseptor electron, sumber nitrogen, dan faktor tumbuh khamir dapat menambahkan kandungan vitamin B dalam makanan, sedangkan *Lactobacillus* yang sangat membutuhkan zat gizi untuk pertumbuhan memanfaatkan vitamin yang dihasilkan. Selanjutnya bahan anti mikroba alami seperti minyak esensial, *tanin* (tumbuhan), *lysozyme* dan *avidin* dalam telur. Bahan anti mikroorganisme alami bersifat spesifik, sehingga bahan pangan masih bisa rusak oleh mikroba yang tahan terhadap bahan anti mikroorganisme alami yang ada (Zulaikha, 2005).

d. Potensial Reduksi Oksidasi

Proses reduksi oksidasi ini merupakan suatu proses bakteri dalam memperoleh energi. Oksidasi merupakan pelepasan elektron sedangkan reduksi adalah proses penangkapan elektron. Potensial redoks merupakan proses yang saling beriringan dengan reaksi oksidasi. Elektron terdapat dalam bentuk terikat sehingga pada saat proses reaksi oksidasi selalu diiringi proses reaksi reduksi sebagai penangkapan elektron (Zulaikha, 2005).

2. Faktor Ekstrinsik (Lingkungan)

a. Suhu

Suhu sangat berperan penting dalam aktifitas pertumbuhan mikroba. Lamanya fase lag, kecepatan pertumbuhan, kebutuhan nutrisi, konsentrasi sel,

komposisi sel, dan kegiatan enzimatik dipengaruhi oleh suhu. Mikroba dapat dibedakan menjadi empat kelompok berdasarkan kisaran suhu pertumbuhannya yaitu: termofil, mesofil, psikrofil dan psikrotrof (Zulaikha, 2005).

b. Kelembapan

Kelembapan udara ada kaitannya dengan aktivitas air (a_w). Nilai a_w yang rendah pada pangan jika diletakkan pada kondisi lingkungan dengan kelembapan udara yang relatif tinggi akan memudahkan terjadinya penyerapan air. Nilai a_w yang tinggi akibat dari penyerapan air akan mempermudah bakteri dalam merusak pangan. Sebaliknya, jika nilai a_w pada pangan tinggi dan diletakkan pada lingkungan dengan kelembapan yang relative rendah akan mengakibatkan penurunan nilai a_w karena terjadi kehilangan air pada pangan. Akan tetapi, hal ini berakibat menurunkan mutu pangan tersebut karena terjadi pengerutan (Zulaikha, 2005).

c. Susunan Gas

Karakteristik bakteri dalam kebutuhan oksigen untuk pertumbuhannya dibedakan menjadi empat golongan yaitu tumbuh jika terdapat oksigen bebas (aerobik), tumbuh jika tidak terdapat oksigen bebas (anaerobik), tumbuh baik pada kondisi ada maupun tidak ada oksigen (anaerobik fakultatif), dan tumbuh jika terdapat oksigen sedikit (mikroaerofilik) (Zulaikha, 2005).

3. Faktor Implisit

a. Sinergisme

Sinergisme adalah terjadinya suatu perubahan kimia yang diakibatkan oleh kemampuan organisme dalam melakukan kerjasama antara organisme satu dengan

yang lainnya. Faktor-faktor yang mempengaruhi terjadinya sinergisme adalah perubahan aktivitas air (a_w), nutrisi, perubahan nilai pH, penghilangan zat anti mikroba, perubahan potensial redoks dan kerusakan struktur biologis.

b. Antagonisme

Antagonisme adalah kemampuan dalam menghambat atau mematikan suatu organisme yang disebabkan oleh organisme lain yang mempengaruhi lingkungan pertumbuhan organisme pertama. Faktor faktor yang mempengaruhi antagonisme antara lain: perubahan nilai pH, penggunaan nutrisi, pembentukan zat-zat antimikroba, dan perubahan potensial redoks dan bakteriofag (Zulaikha, 2005).

4. Faktor pengolahan

Bahan makanan yang didalamnya terdapat mikroba spesifik dapat dihambat pertumbuhannya dengan berbagai metode pengolahan dan pengawetan pangan. Jenis-jenis pengolahan/pengawetan pangan yang berpengaruh terhadap kehidupan mikroba, antara lain suhu tinggi, suhu rendah, penambahan bahan pengawet, dan irradiasi (Zulaikha, 2005).

2.1.6 Pembedusan pada Daging

Daging ayam sebagai substrat yang sangat baik terhadap pertumbuhan mikroba. Daging ayam merupakan media yang baik untuk perkembangan bakteri. Bakteri yang bersifat tidak menguntungkan bagi substrat atau bakteri patogen maka akan mengakibatkan perubahan karakteristik daging berupa pembedusan dan dapat menimbulkan berbagai penyakit. Mudah-mudahan terjadi penurunan kualitas daging ayam disebabkan adanya penanganan yang kurang baik saat ayam masih hidup ataupun pada waktu penyimpanan yang kurang sempurna pada daging ayam potong

(Sams, 2001). Terjadinya kerusakan pada daging ayam disebabkan banyaknya cemaran mikroba pada daging yang mengalami aksi enzimatis dan reaksi kimia pada saat masa proses penyimpanan sehingga terjadi perubahan sifat fisik dari daging (Frazier dan Westhoff, 1978). Daging ayam akan mengalami awal kebusukan 6 jam pasca pemotongan (Anggara, 2011).

Kebusukan ditandai dengan terjadinya perubahan warna, bau, tekstur, dan munculnya lendir pada permukaan daging. Hal ini dinyatakan oleh Buckle, (2009) kebusukan pada daging ayam dapat ditandai dengan perubahan fisik sebagai berikut: a. Bau, bau yang tidak sedap yang pada daging diakibatkan produk akhir volatil yang dihasilkan dari aktivitas bakteri; b. Warna yang segar disebabkan oleh pigmen yang diproduksi bakteri atau disebabkan oksidasi alami seperti oksidasi yang berasal dari komponen daging ayam; c. Tekstur yang lunak yang disebabkan oleh proteinase; d. akumulasi gas, disebabkan oleh produksi CO₂, H₂, H₂S; e. Lendir yang muncul disebabkan karena banyaknya mikroba yang tumbuh atau produksi dekstran dan ekopolisakarida.; f. cairan, disebabkan oleh pecahnya struktur penahan hidrasi pada daging.

Kebusukan terjadi apabila populasi mikroorganisme mencapai 10⁷cfu/gram, apabila mencapai 10⁸cfu/gram maka terjadi perubahan bau dan pembentukan lendir. Penurunan aktifitas mikroba pada daging *broiler* yang direndam dalam larutan daun salam akan menghambat perubahan warna, bau, dan pembentukan lendir. Bagian daging ayam yang mengandung protein yaitu ada tiga: protein pada jaringan ikat, protein pada sarkoplas, dan protein pada miofibril (Soeparno, 2011).

Awal kerusakan protein akan menyebabkan terjadinya kebusukan yang disebabkan aktivitas bakteri dengan melakukan aktivitas fermentasi glukosa dan glikogen. Ketika karbohidrat yang terkandung dalam daging mulai habis maka bakteri akan melakukan fermentasi protein dengan memecah protein menjadi senyawa amonia H_2S , indol dan amania (Anggraeni, 2005).

Mikroorganisme penghasil enzim proteolitik dapat mendenaturasi protein pada proses pembusukan daging. Keluarnya cairan ke bahan pangan akibat dari kehilangan kemampuannya dalam mempertahankan cairan pada saat proses denaturasi protein. Cairan tersebut dijadikan sebagai sumber makanan untuk pertumbuhan bakteri karena mengandung banyak nutrein. Konsentrasi komponen dengan berat molekul rendah terlarut dalam daging digunakan oleh mikroba tertentu untuk menentukan onset waktu terjadinya pembusukan (Pelczar dan Chan, 2005).

Bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* mampu menghasilkan ezim proteolitik. *Staphylococcus aureus* menghasilkan toksin eksfoliatif mempunyai aktivitas proteolitik dan dapat melarutkan matriks mukopolisakarida epidermis, sehingga menyebabkan pemisahan intra epithelial pada ikatan sel di stratum granulosum. Toksin eksfoliatif merupakan penyebab *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome*, yang ditandai dengan melepuhnya kulit. Kemudian pada bakteri *Escherichia coli* dapat menghasilkan enzim proteolitik ekstraseluler yang diinduksi menggunakan protein sedimen (SPW, 2005).

Aroma yang timbul pada saat pembesukan daging merupakan gabungan dari senyawa hasil pembusukan. Enzim saat proses pembusukan daging menghasilkan

asam biurat dan gas metan dari hasil fermentasi karbohidrat untuk menjadi alkohol. Enzim proteasi dalam proses perombakan protein akan membentuk senyawa hidrogen sulfida dan amonia. Kemudian senyawa keton yang dihasilkan dari proses perombakan lemak ini apabila semua senyawa tersebut muncul secara bersamaan akan menimbulkan aroma busuk (Dwidjoseputro, 2005).

2.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus termasuk dalam bakteri gram positif, fakultatif anaerobik, memiliki bentuk bulat yang tersusun seperti buah anggur, tidak bersepora, diameter 0,7-1,2 mm, dan tidak bergerak. Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada suhu optimum 37 °C, tetapi untuk terbentuknya pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 °C). Pertumbuhan koloni pada media padat berbentuk bundar, menonjol, berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, halus, dan berkilau (Jawetz, 2005).

Menurut Todar (2005), klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Coccoi
Ordo	: Bacillales
Famili	: Satphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>



Gambar 2.1 *Staphylococcus aureus*

Koloni pada pembenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *Staphylococcus aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawetz dkk., 1995).

2.2.1 Patogenitas *Staphylococcus aureus*

S.aureus merupakan bakteri yang dapat ditemukan diberbagai tempat. Bakteri ini termasuk bakteri flora normal pada kulit, saluran pencernaan dan pernafasan. *S.aureus* patogen bersifat invasif yang mengakibatkan hemolisis dan koagulasi (Warsa, 1994). Menurut Ryan *et al* (1994) infeksi yang diakibatkan oleh bakteri *S.aureus* yaitu penyakit meningitis, penyakit kulit (bisul, jerawat), infeksi luka, impetigo, phlebitis, infeksi saluran kemih, mastitis, pneumonia, osteomilelitis dan endokarditis (Ryan *et al.*, 1994).

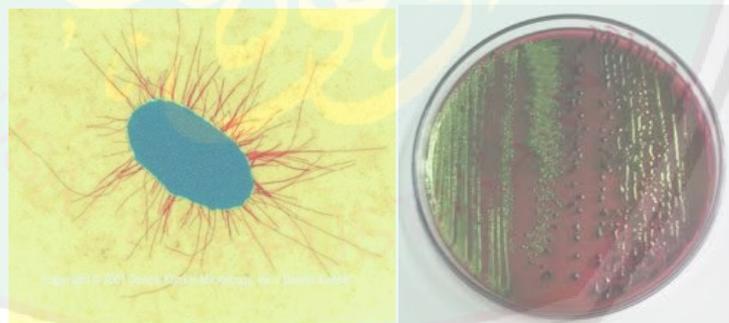
Staphylococcus aureus dapat menyebabkan infeksi nosokomial melalui kontaminasi pada luka terbuka atau infeksi setelah trauma dan meningitis setelah fraktur tengkorak (Jawetz *et al.*, 1995). Kontaminasi enterotoksin dari *Staphylococcus aureus* mengakibatkan keracunan pada makanan. Gejala keracunan yang diakibatkan oleh bakteri ini memiliki waktu onset yang pesat dan berbahaya pada kondisi imun dan banyaknya toksik yang masuk. Toksik dengan jumlah 1,0

mg/gr dapat mengakibatkan keracunan dengan efek rasa mual, diare dan muntah-muntah (Ryan *et al.*, 1994).

2.3 *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri berbentuk batang, gram negatif, mempunyai kapsul, tidak mempunyai spora, dan bergerak aktif dengan flagella peritrich, dan termasuk bakteri aerob dan anaerob fakultatif (Pestariati, 1995).

Kingdom : Procaryotae
 Phylum : Protophyta
 Kelas : Schzommycetes
 Ordo : Eurobacteriales
 Family : Enterobacteriaceae
 Genus : *Escherichia*
 Species : *Escherichia coli*



a. Morfologi *E.coli* b. *E.coli* pada media EMBA
 Gambar 2.2 *Escherichia coli*

Sumber : Kusuma, Sri Agung Fitri. *Escherichia coli*. 2010

Escherichia coli merupakan bakteri oportunistis yang banyak ditemukan dalam usus besar bagian dalam yang merupakan flora normal. Infeksi primer yang

disebabkan *E.coli* pada bagian usus yaitu diare pada anak dan juga dapat menimbulkan infeksi jaringan tubuh di luar (Jawetz, 2012).

2.3.1 Patogenitas *Escherichia coli*

Bakteri *E.coli* dapat menjadi patogen dalam saluran pencernaan atau diluar usus jika terdapat jumlah bakteri yang meningkat. *E.coli* berasosiasi dengan enteropatogenik menghasilkan enterotoksin pada sel epitel yang menyebabkan beberapa kasus diare (Jawetz *et al.*,1995).

Strain enteropatogenik *Escherichia coli* dapat dibedakan menjadi dua grup Berdasarkan sifat patogenik dan produksi toksinnya yaitu: Grup I: terdiri dari strain yang bersifat patogenik tetapi tidak memproduksi enterotoksin dan menyebabkan enterotoksigenik dengan cara menyerang sel-sel epitelium saluran usus dan menimbulkan gejala yang menyerupai penyakit kolera. Strain yang termasuk grup II : *Escherichia coli* enterotoksigenik tidak bersifat inovatif tetapi toksin yang dilepaskan, mengakibatkan sekresi elektrolit dan cairan ke saluran pencernaan yang berlebihan. Toksik yang dihasilkan dapat menyebabkan diare dari yang ringan (Supardi dan Sukamto, 1999). Bakteri *Escherichia coli* dapat menyebabkan beberapa gejala yaitu berupa demam, kram perut, mual, diare (pada beberapa kasus dapat timbul diare berdarah), dan muntah (Madigan *et al*, 1995).

2.4 *Salmonella sp.*

Salmonella sp., merupakan bakteri yang bersifat fakultatif anaerob dengan bentuk tubuh basillus dan berbentuk rantai filament panjang ketika mencapai suhu ekstrim yaitu 4-8°C atau suhu 54°C. Panjang rata-rata *Salmonella sp* 2-5 µm dengan lebar 0.8 – 1.5 µm. *Salmonella* dapat tumbuh pada kondisi lingkungan pada kisaran

suhu 5–45°C hingga suhu optimum 35–37°C dan dapat mati pada kondisi pH di bawah 4,1. *Salmonella* juga akan mati pada kondisi kadar garam yang tinggi dengan kadar garam diatas 9%. tidak tahan terhadap kadar garam tinggi dan akan mati jika berada pada media dengan kadar garam di atas 9%. (Jay *et al.*, 2005) dalam (Masita, 2015).

Taksonomi dari *Salmonella* sp adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
 Filum : Proteobacteria
 Class : Gamma proteobakteria
 Ordo : Enterobakteriales
 Family : Enterobacteriaceae
 Genus : Salmonella
 Spesies : *Salmonella* sp (D'aoust, 2001)



Gambar 2.3 *Salmonella* sp (Anonim 2016)

Salmonella merupakan bakteri gram negatif yang cara perkembang biakannya dengan membelah diri, resisten terhadap senyawa kimia tertentu, yang dapat menekan bakteri enterik lain, mudah tumbuh pada media sederhana. serta struktur sel bakteri *Salmonella* sp terdiri dari inti (*Nukleus*), *Sitoplasma*, dan dinding sel (Pratiwi, 2011).

2.4.1 Patogenitas *Salmonella* sp.

Bakteri *Salmonella* sp dikenal sebagai agen zoonosis dan merupakan peringkat kelima dalam zoonosis prioritas, sesuai Keputusan Menteri Pertanian nomor 4971/2012 tentang zoonosis prioritas. Bakteri *Salmonella* sp merupakan zoonosis yang banyak menyebabkan kasus pada manusia. Patogen *Salmonella* sp umumnya terkait dengan pencemaran tinja yang terdeteksi secara sporadis atau tidak sama sekali (Paola *et al* 2010). Mekanisme patogenesis *Salmonella* sp umumnya dengan proses infeksi sistemik. *Salmonella* sp dapat berasal dari usus kecil, serta jaringan ternak pedaging dan unggas tanpa menimbulkan tanda-tanda infeksi pada ternak. Sumber infeksi *Salmonellosis* adalah kontaminasi karkas dan daging. Proses kontaminasi dapat terjadi selama *processing* dan dapat juga berasal dari rekontaminasi daging dan bahan makanan lain. *Processing* termal pada temperatur 66°C selama 12 menit atau 60°C selama 30 menit dapat menghancurkan sebagian besar *Salmonella* sp (Frazier, 1967 dan Forest *et al.*, 1975) dalam (Soeparno, 2005).

Gejala infeksi *Salmonella* sp atau *Salmonellosis* umumnya adalah demam, diare, mual, muntah dan sakit perut. Dalam beberapa kasus, *Salmonellosis* dapat menyebar ke aliran darah yang mengakibatkan penyakit yang lebih berat seperti infeksi arteri, *Endokarditis*, dan *Arthritis* (Sartika, 2012). Strategi pencegahan penyakit *Salmonellosis* yang efektif adalah deteksi kasus, perbaikan sanitasi lingkungan, pencegahan kontaminasi dalam industri makanan, menekan angka reaktor *Salmonellosis*, pendidikan kesehatan masyarakat serta eliminasi sumber infeksi (Ariyanti dan Supar, 2005).

2.5 Daun Salam

Allah swt telah berfirman dalam Al-Quran surat As-syu'arah (26) : 7-9 sebagai berikut:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ ﴿٨﴾

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah dan kebanyakan mereka tidak beriman”.

Menurut tafsir Al- Qurtubi (2007) Ayat diatas menjelaskan bawa Allah SWT memperingati umatnya akan kebesaran dan kekuasaan-Nya. Kata *Az-Zauj* bermakna warna. Al Farra' menyatakan كَرِيمٌ bermakna baik dan mulia. Adapun asal kata *Al Karam* dalam bahasa arab adalah *AL fadhil* (keutamaan).

Maksudnya adalah segala macam warna yang baik.Segala macam warna baik disini menunjukkan Allah SWT dalam menciptakan segala sesuatu jenis dimuka bumi ini pastilah ada manfaatnya dan saling berkesinambungan antara makhluk satu dengan yang lainnya. Hal ini dapat diketahui Allah menumbuhkan tumbuhan yang baik diantaranya daun salam yang memiliki berbagai manfaat untuk manusia sebagai bumbu masak, obat herbal, antibakteri dan lain sebagainya.

Daun Salam merupakan tumbuhan tingkat tinggi yang mudah tumbuh pada daerah tropis. Tanaman daun salam dapat ditemukan di daerah dataran rendah sampai 1400 m dpl. Tanaman ini juga dapat ditemukan tumbuh liar di hutan, pegunungan atau ditanan di pekarangan atau disekitar rumah. Salam merupakan pohon dengan tinggi mencapai 25 m, Salam merupakan tumbuhan asli Indonesia

yang telah ditetapkan sebagai salah satu tumbuhan obat yang tergolong dalam klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Ordo : Myrtales
Famili : Myrtaceae
Genus : Syzygium
Spesies : *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. (Wulandari, 2006)

Daun salam (*Syzygium polyanthum*) memiliki sinonim yaitu dari *Eugenia polyantha* Wight., *Eugenia lucidula* Miq. (Tjitrosoepomo, 2002). Daun salam diketahui sebagai salah satu rempah-rempah yang dapat digunakan sebagai bumbu penyedap. Tanaman ini sering dimanfaatkan pada bagian daunnya. Karakteristik daun salam yaitu berdaun tunggal, berbentuk elips atau lonjong, pertulangan menyirip, berwarna hijau dan latak daun berhadapan. Panjang daun salam berkisar 5-15 cm, dengan tangkai yang panjangnya 0,5-1 cm dan lebar daun berkisar 3-8 cm. (Dewi, 2012).

Daun salam mengandung senyawa aktif seperti minyak atsiri, tanin, flavonoid dan eugenol yang berfungsi sebagai antioksidan dan antijamur. Kandungan gizi dalam 100 gram daun salam diantaranya 400,00 energi, 57,00 zat besi dan 8214,00 vitamin A. Daun ini sering dimanfaatkan masyarakat sebagai bumbu dapur serta dapat digunakan obat diare, diabetes, gatal-gatal,

gangguan pencernaan dan lemah lambung. Rebusan daun salam yang diminum setiap hari, dipercaya dapat menurunkan kolesterol darah (Sofiana *et al.*, 2013). Daun salam ditetapkan oleh POM sebagai salah satu dari sembilan tanaman obat yang unggul yang telah diuji secara klinis untuk menanggulangi masalah kesehatan tertentu.

Komposisi zat-zat makanan terkandung dalam daun salam terdiri atas 7,613 g protein, 74,965 g karbohidrat, 26,3 g serat, 8,362 g lemak, 834,25 mg kalsium, 5,436 g air, 120 mg magnesium, 43 mg besi, 112,333 mg fosfor, 22,17 mg sodium, 529,2 mg kalium, 3,7 mg seng, 0,416 mg tembaga, 28 μ g selenium, 8,167 mg mangan, 46,53 mg vitamin C, 61,85 IU vitamin A dan 180 μ g vitamin B folat (Kumalaningsih, 2008). Daun salam memiliki beberapa senyawa kimia yaitu flavonoid, minyak atsiri, saponin dan tanin yang mempunyai aktivitas dalam membunuh bakteri patogen, seperti *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Salmonella sp*, *B.Subtilis*, *bacillus cereus*, dan *Pseudomous fluorescens* (Setiawan, 2002).

2.5.1 Kandungan Senyawa Daun Salam

Berdasarkan penelitian Liliwirianis *et al.*, (2011) daun salam mengandung alkaloid, saponin, steroid, fenolik, flavonoid. Berdasarkan penelitian Pinatih *et al.*, (2011) daun salam menunjukkan adanya kehadiran senyawa flavonoid, terpenoid dan fenolik.

Tanin memiliki efek fisiologis dan farmakologis yang berasal dari senyawa kompleks yang didasari dari pembentukan rantai hidrogen dan interaksi hidrofobik antara tanin dan protein. Mekanisme kerja tanin tertuju pada peptidoglikan dinding

sel dengan mengaktivasi adesin sel mikroba pada permukaan sel sehingga mengakibatkan kerusakan pada dinding sel.

Tanin dengan konsentrasi rendah mampu menekan pertumbuhan kuman, sedangkan tanin dengan konsentrasi tinggi mampu dijadikan sebagai anti mikroba untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Kerja tanin sebagai antibakteri dengan cara mengkoagulasi protoplasma sehingga membentuk ikatan protein yang tidak stabil pada bakteri. Tanin diketahui dapat menggugurkan toksin pada saluran pencernaan.

Flavonoid mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Flavonoid memiliki gugus anti inflamasi, hidroksil, inhibisi enzim, aktivitas anti tumor sitotoksik, aktivitas alergi. Kerja flavonoid sebagai antibakteri dengan menghambat membran sitoplasma dengan cara mengurangi fluiditas dari dalam membran dan luar membran sel, sehingga terjadi kerusakan pada permeabilitas sel bakteri dan membran tidak dapat berfungsi normal atau tidak baik.

Minyak atsiri terdiri atas senyawa utama berupa terpenoid dengan kerangka karbon atom dari lima. Minyak atsiri merupakan gabungan dari berbagai persenyawaan organik yang mudah menguap pada kondisi suhu kamar dan larut dalam pelarut organik. Minyak atsiri dapat digunakan sebagai parfum, bahan obat-obatan, penyedap makanan, minuman dan pestisida. Minyak atsiri yang terkandung dalam tanaman mempunyai aktivitas biologis sebagai antijamur dan antibakteri. Sehingga minyak atsiri mampu dijadikan sebagai pengawet makanan dan antimikroba alami. Selain itu minyak atsiri juga memiliki aktivitas antioksidan dan antiseptik (Sumono dan Wulan, 2008).

Proses minyak atsiri dalam menekan pertumbuhan bakteri yaitu dengan mendenaturasi protein sehingga terjadi perubahan stabilitas molekul protein dan menyebabkan perubahan struktur protein dan mengalami proses koagulasi. Proses denaturasi protein ini akan mengakibatkan hilangnya aktifitas fisiologi, kemudian dinding sel mengalami peningkatan permeabilitas sel sehingga terjadi kurasan pada sel bakteri (Sumono dan Wulan, 2008).

2.6 Antibakteri

2.6.1 Definisi Antibakteri

Antibakteri merupakan obat yang mempunyai kinerja dalam membunuh bakteri terutama pada bakteri tidak menguntungkan bagi manusia. Antibakteri harus memiliki sifat toksisitas selektif yang tinggi terhadap bakteri tetapi relatif tidak toksik terhadap hospes. Antibakteri dapat dibedakan menjadi dua bagian berdasarkan efektivitas dalam membunuh bakteri yaitu senyawa antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik), senyawa antibakteri yang mampu membunuh pertumbuhan bakteri (bakterisid) (Setiabudy, 2011).

2.6.2 Mekanisme Antibakteri

Antibakteri adalah suatu senyawa yang dapat membunuh atau menghentikan pertumbuhan bakteri. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibagi menjadi 4, cara yaitu:

a. Penghambatan terhadap Sintesis Dinding Sel.

Bakteri memiliki dinding sel mengandung peptidoglikan yang secara kimia berisi polisakarida dan rantai peptida yang tinggi, polisakarida ini berisi gula aminoasam *acetylmuramic* dan *N-acetylglucosamine* (hanya ditemui pada bakteri)

(Jawetz *et al.*, 2005). Dinding berfungsi sebagai pelindung sel bakteri dari perbedaan tekanan osmotik yang tinggi baik dari dalam sel maupun luar sel. Antibakteri bereaksi pada enzim yang pembentukan dinding dibutuhkan pada proses sintesis, sehingga mengakibatkan terganggunya sel menjadi lemah dan menyebabkan osmotik pecah (Talaro, 2008).

b. Penghambatan terhadap Fungsi Membran Sel.

Membran sel berperan sebagai barrier permeabilitas selektif, memiliki fungsi transport aktif, dan kemudian mengontrol komposisi internal sel. Jika fungsi integritas dari membran sitoplasma dirusak akan menyebabkan keluarnya makromolekul anion dari sel, kemudian sel rusak atau terjadi kematian (Jawetz *et al.*, 2005). Antibakteri bekerja dengan cara berikatan pada membran fosfolipid yang mengakibatkan pemecahan basa nitrogen dan protein sehingga membrane bakteri mengalami kerusakan dan menyebabkan sel bakteri mati (Talaro, 2008).

c. Penghambatan terhadap Sintesis Protein

Protein, DNA dan RNA berperan penting dalam proses kehidupan sel. Jika terjadi gangguan pada pembentukan atau fungsi zat-zat tersebut maka dapat menyebabkan kerusakan total pada sel (Pelczar *et al.*, 1986). Kerja obat dalam menghambat translasi atau sintesis protein, bereaksi dengan ribosom RNA. Mekanisme kerjanya diantaranya dengan menghalangi terikatnya RNA pada tempat spesifik ribosom, selama pemanjangan rantai peptida (Pelczar *et al.*, 1986). Ribosom eukariotik berbeda dalam ukuran dan struktur dari prokariotik, sehingga menyebabkan aksi yang selektif terhadap bakteri.

d. Penghambatan terhadap Sintesis Asam Nukleat.

Pembentukan DNA dan RNA bakteri berperan penting dalam metabolisme protein. Antibakteri menginterferensi sintesis asam nukleat dengan menghentikan transkripsi menghambat sintesis nukleotida atau menghambat replikasi. Obat berikatan sangat kuat pada enzim *DNA Dependent RNA Polymerase* bakteri, sehingga menghambat sintesis RNA bakteri. Resistensi pada obat-obat ini terjadi akibat perubahan pada RNA *polymerase* akibat mutasi kromosom yang sangat sering terjadi (Talaro, 2008; Jawetz *et al.*, 2005)

2.6.3 Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Bakteri

Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri menurut Pelczar dan Chan (1986), McKane dan Kandel (1985), serta Woods dan Church (1999) yaitu : (1) konsentrasi atau intensitas antimikroba; (2) jumlah mikroorganisme (semakin banyak jumlah mikroorganisme dalam bahan pangan maka dibutuhkan perpanjangan waktu atau peningkatan dosis lebih tinggi untuk mencapai level dekontaminasi); (3) spesies mikroorganisme (setiap spesies menunjukkan kerentanan yang berbeda-beda terhadap antimikroba); (4) fase pertumbuhan mikroorganisme; (5) kondisi lingkungan berupa suhu, pH, kelembaban dan (6) lama penyimpanan bahan pangan.

2.7 Teknik Isolasi Bakteri untuk Perhitungan Angka Kuman Sampel Padat Bahan Makanan

2.7.1 Teknik Dilution

Teknik preparasi sampel dilakukan dengan cara menghancurkan sampel padat agar bakteri pada sampel baik dipermukaan maupun di dalam terlepas keluar. Prinsip teknik ini dengan melepaskan mikroba dari substratnya ke dalam air

sehingga lebih mudah penanganannya. Proses dilusi dilakukan dengan cara pengenceran bertingkat. Pengenceran bertingkat ini bertujuan untuk mengurangi mikroba yang tersuspensi dalam larutan. Digunakan perbandingan 1:9 untuk sampel dan pengenceran pertama dan selanjutnya, sehingga pengenceran berikutnya mengandung 1/10 sel mikroorganisma dari pengenceran sebelumnya.

2.7.2 Teknik Pour Plate

Teknik pour plate merupakan teknik penanaman yang dilakukan setelah pengenceran. Suspensi yang diambil dari pengenceran bertingkat biasanya digunakan untuk isolasi diambil beberapa tabung pengenceran terendah, sedangkan untuk perhitungan angka kuman pada suatu bahan makanan, suspensi diambil dari setiap tabung pengenceran. Teknik pour plate ini digunakan agar yang belum memadat (cair) untuk dituang bersama suspensi bakteri lalu dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Dalam pour plate, cawan petri yang telah berisi campuran media dan sampel tersebut kemudian diputar dengan lembut untuk memastikan bahwa media dan sampel bercampur secara merata.

2.7.3 Teknik Spread Plate

Spread plate adalah teknik menanam dengan menyebarkan suspensi bakteri dipermukaan agar yang telah memadat, sedangkan pada metode pour plate suspensi bakteri dicampurkan terlebih dahulu pada media yang belum memadat sebelum dituangkan ke cawan petri. Alasan diteteskannya bakteri sebanyak 0,1 ml untuk spread plate dan 1 ml untuk pour plate karena spread plate ditujukan untuk menumbuhkan bakteri hanya pada permukaan media saja, sedangkan pour plate digunakan untuk menumbuhkan bakteri pada permukaan dan

bagian tengah media sehingga membutuhkan ruang yang lebih luas untuk penyebarannya maka diberikan lebih banyak suspensi sampel.

2.7.4 Uji TPC (Total Plate Count)

Metode Total Plate Count (TPC) digunakan sebagai pengamatan biologis untuk menentukan kualitas hasil bahan pangan dengan menghitung populasi bakteri (Liviawaty dan Afrianto, 2010). Prosedur penghitungan TPC menurut Ministry of Health of the People's Republic of China (2010) yaitu dengan melakukan seleksi jumlah koloni bakteri pada tiap cawan Petri dengan pengenceran yang diperlukan terlebih dahulu. Cawan Petri yang digunakan adalah cawan Petri dengan jumlah koloni 30-300 Colony Forming Units (CFU) dan cawan Petri yang ditumbuhi koloni di bawah 30 CFU. Cawan Petri dengan jumlah koloni di atas 300 CFU dicatat sebagai terlalu banyak untuk dihitung (TBUD).

Apabila jumlah koloni pada cawan Petri dengan pengenceran yang diperlukan melampaui 300 CFU, maka penghitungan pada tingkat pengenceran tertinggi yang diambil. Apabila cawan Petri dengan pengenceran yang diperlukan tercatat memiliki jumlah koloni di bawah 30 CFU, maka jumlah rata-rata koloni pada tingkat pengenceran terendah dikalikan dengan jumlah pengenceran. Angka yang dilaporkan berupa angka desimal dengan satuan CFU/ml atau CFU/gr (Ministry of Health of the People's Republic of China, 2010).

Koloni yang memanjang seperti rantai terhitung sebagai satu koloni, sedangkan koloni yang tumbuh sangat besar tidak termasuk dalam hitungan. Apabila hanya terdapat satu tingkat pengenceran yang memenuhi syarat penghitungan, maka dua cawan Petri dari pengenceran yang sama (duplo) tersebut

dirata-rata (Ministry of Health of the People's Republic of China, 2010). Apabila terdapat dua tingkat pengenceran yang memenuhi syarat hitungan, maka seluruh jumlah koloni pada cawan Petri dengan pengenceran yang diperlukan dapat dihitung menggunakan rumus dari Fardiaz (1992), yaitu:

$$\Sigma \text{ Koloni pada cawan} = \Sigma \text{ koloni pada cawan} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

Semakin sedikit jumlah koloni bakteri atau tidak lebih dari 5×10^5 koloni/gr, maka sesuai dengan standar yang telah ditetapkan oleh Badan Standardisasi Nasional Indonesia (BSNI) (2009) yang menyatakan bahwa batas maksimum cemaran mikroba dalam ikan segar adalah 5×10^5 koloni/gr. Penghitungan terhadap koloni dilakukan karena koloni menunjukkan pertumbuhan mikroba pada media kultur padat dan semi padat yang dapat dilihat secara visual (BSNI, 2009).

2.8 Uji Protein

2.8.1 Metode Biuret

Kadar protein dapat ditetapkan dengan pengujian metode biuret. Metode biuret mempunyai prinsip terbentuknya warna ungu yang disebabkan oleh adanya ikatan peptide dengan ditambahi garam kupri sulfat pada kondisi basa (carprette, 2005). Biuret merupakan larutan yang digunakan untuk mendeteksi protein dalam jumlah besar dengan ditandai adanya perubahan warna ungu. Samsip yang diuji kadar proteinnya jika mengandung 2 ikatan peptide lebih maka akan menimbulkan warna ungu pada larutan. Timbulnya warna ini karena adanya pembentukan ikatan dengan yang kompleks antara atao Cu dengan 4 ataom nitrogen yang berasal dari ikatan peptide (Clark, 1964).

2.8.2 Spektrofotometri

Menurut Nelson dan Cox (2005), spektrofotometri merupakan prosedur yang dilakukan dalam deteksi dan identifikasi molekul serta pengukuran konsentrasinya dalam suatu larutan menggunakan cahaya yang diserap oleh spektrofotometer. Prinsip kerja dari spektrofotometri ini adalah pemecahan cahaya yang terserap oleh suatu larutan akan memberikan suatu nilai panjang gelombang yang berhubungan dengan ketebalan lapisan serapan dan konsentrasi dari larutan yang menyerap cahaya tersebut. Hal ini sesuai dengan Hukum Lambert Beer yang menyatakan bahwa: $\log [I_0/I] = \epsilon cl$, dimana I_0 merupakan intensitas cahaya yang diserap, I ialah cahaya yang ditransmisikan, ϵ adalah koefisien ekstinsi molar, c adalah konsentrasi dari lapisan penyerap dan l adalah panjang cahaya dari sampel.

Cara kerja dari spektrofotometri ialah cahaya yang dikeluarkan oleh sumber cahaya di sepanjang papan spectrum akan diseleksi oleh monokromator dan ditransmisikan dalam bentuk panjang gelombang yang sesuai. Cahaya monokromatik ini akan melewati sampel yang diletakkan pada tabung cuvet dan akan diserap oleh sampel sesuai dengan konsentrasi dari larutan penyerap tersebut. Cahaya yang terserap ini akan diukur oleh detector (Nelson dan Cox, 2005).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri atas dua faktor perlakuan. Faktor pertama yaitu konsentarsi bertingkat dengan empat taraf perlakuan (0%, 50%, 75%, dan 100%). Faktor kedua adalah variasi lama perendaman yang terdiri dari tiga taraf perlakuan (0 jam, 3 jam, dan 6 jam). Dengan demikian dalam penelitian ini terdapat 4x3 kombinasi atau 12 kombinasi seperti pada Tabel 3.1. Selanjutnya, setiap perlakuan dalam penelitian ini masing-masing dilakukan dalam 3 kali ulangan, sehingga secara keseluruhan menghasilkan 36 kombinasi perlakuan, yaitu 3x12 kombinasi perlakuan.

Tabel 3.1 Kombinasi Konsentrasi dengan Lama Perendaman Infusa Daun Salam

Konsentrasi (K)	Lama Perendaman (L)		
	L0	L1	L2
K0	K0L0	K0L1	K0L2
K1	K1L0	K2L2	K2L3
K2	K2L0	K2L1	K2L2
K3	K3L0	K3L1	K3L2

Keterangan:

Faktor I (K) : Variasi konsentrasi air rebusan daun salam

K0 : Konsentrasi 0%

K1 : Konsentrasi 50%

K2 : Konsentrasi 75%

K3 : Konsentrasi 100%

Faktor II (L) : Variasi lama perendaman

L0 : Lama perendaman 0 jam

L1 : Lama perendaman 3 jam

L2 : Lama perendaman 6 jam

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2018 di Laboratorium Mikrobiologi dan Genetika Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi infusa daun salam (0%, 50%, 75%, dan 100%) dan variasi lama perendaman (0 jam, 3 jam, dan 4. jam).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah total bakteri (TPC), *Staphylococcus aureus*, *Esherichia coli*, *Salmonella* dan Kadar protein

3.3.3 Variabel Terkontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah suhu inkubasi dan lama inkubasi, konsentrasi ekstrak, dan lama perendaman.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan analitik, pisau, kompor, sendok, panci, gelas plastik, mortal dan alu, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, mikropipet, erlenmeyer, gelas ukur, beaker glass, cawan petri, inkubator, autoklaf, bunsen, pinset, hot plate, stirrer, Laminar Air Flow (LAF), batang L, vortex, nampan, kertas label, kapas, spektrofotometer, tabung reaksi, kasa, plastik wrap, alumunium foil, dan alat tulis.

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sampel daging ayam, bawang putih, aquades, alkohol 96%, spirtus, *Plate Count Agar* (PCA), *Buffer Pepton Water* (BPW), *Mannitol Salt Agar* (MSA), dan *Eosin Metyhlen Blue Agar* (EMBA), *Salmonella Shigella Agar* (SSA), Biuret, larutan Bovin Serum Albumin (BSA).

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pembuatan Media

3.5.1.1 Pembuatan Media Buffer Pepton Water (BPW)

Media BPW ini digunakan untuk pertumbuhan bakteri secara umum pada media cair. Pembuatan media BPW yaitu dengan menimbang bahan serbuk media BPW x 25,5 gram x 1000 ml aquades dengan perlakuan yang sama sebanyak empat kali (sesuai kebutuhan). Kemudian serbuk BPW dan air dimasukkan ke dalam wadah untuk dilarutkan dan direbus hingga mendidih dengan magneticstirrer. Selanjutnya media yang sudah jadi dimasukkan ke dalam autoklaf untuk disterilkan

dengan temperatur 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Langkah terakhir yaitu media yang telah disterilkan dibiarkan hingga dingin kemudian dapat disimpan dalam lemari es dan siap untuk digunakan.

3.5.1.2 Pembuatan media Plate Count Agar (PCA)

Media PCA digunakan sebagai pertumbuhan bakteri umum pada media padat. Pembuatan media PCA dilakukan dengan cara menimbang 20 gram bubuk media PCA kemudian dilarutkan ke dalam aquades sampai volume 1 liter. Media yang telah larut diletakkan pada hot plate untuk dipanaskan hingga mendidih dan dihomogenkan dengan stirrer. Setelah larutan media tampak bening atau homogen, kemudian dituang media ke dalam erlenmeyer dan ditutup dengan kapas yang dibungkus kasa dan disterilisasi pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit menggunakan autoklaf. Setelah sterilisasi media siap digunakan.

3.5.1.3 Pembuatan Media Eosin Methylen Blue Agar (EMBA)

Media EMBA digunakan untuk pertumbuhan bakteri *E.coli*. Pembuatan media EMBA dilakukan dengan cara menimbang bahan media EMBA x 12,75 gram x 500 ml aquadest (sesuai kebutuhan). Media yang telah dicampur dengan aquades diletakkan pada hot plate untuk dididihkan dan dididihkan dengan menggunakan magnetik stirrer supaya homogen. Setelah homogen dilanjutkan sterilisasi dengan autoklaf pada temperature 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah sterilisasi media siap digunakan.

3.5.1.4 Pembuatan media Mannitol Salt Agar (MSA)

Media MSA digunakan sebagai tempat pertumbuhan bakteri *S.aureus*. Pembuatan media MSA dilakukan dengan cara menimbang bahan media MSA 108 gram x 1000 ml aquadest (sesuai kebutuhan). Kemudian media dipanaskan dan dilarutkan dengan menggunakan stirer hingga homogen dan mendidih. Setelah homogen dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada temperature 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah sterilisasi media siap digunakan.

3.5.1.5 Pembuatan Media Shigela Salmonella Agar (SSA)

Media SSA digunakan sebagai tempat pertumbuhan bakteri *Salmonella*. Pembuatan media SSA dilakukan dengan cara menimbang bahan media MSA 60 gram x 1000 ml aquades (sesuai kebutuhan). Kemudian media dipanaskan dan dilarutkan dengan menggunakan stirer hingga homogen dan mendidih. Setelah homogen dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada temperature 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah sterilisasi media siap digunakan.

3.5.2 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan untuk penelitian harus disterilisasi terlebih dahulu. Langkah sterilisasi alat dilakukan dengan cara dibungkus alat-alat yang terbuat dari kaca dengan kertas koran dan dibungkus lagi dengan plastik. Alat dan bahan yang telah terbungkus dimasukkan ke dalam autoklaf untuk dilakukan sterilisasi dengan suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Alat yang bahannya terbuat dari plastik maka atau tidak tahan panas maka dapat disterilisasi dengan alkohol 96% (Utami, 2004).

3.5.3 Pengujian TPC pada Daging Ayam

Pengujian TPC dilakukan dengan cara mengambil sampel daging ayam segar yang baru disembelih. Daging ayam yang telah di ambil dilakukan pemotongan sebanyak 2,5 gr. Selanjutnya dihaluskn daging ayam 2,5 gr dan di tambahkan BPW sebanyak 22,5 ml (pengenceran 10^{-1}) dengan perbandingan 1: 9. Dilakukan pengambilan 1 ml suspensi pada pengenceran 10^{-1} selanjutnya dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi BPW 9 ml (pengenceran 10^{-2}) dilakukan hal yang sama sampai pengenceran 10^{-6} . Suspense yang telah diencerkan 10^{-1} - 10^{-6} masing-masing diambil 1ml dan dimasukkan kedalam cawan petri steril kemdian dimasukkan media PCA (pour plate). Selanjutnya diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24- 48 jam.

Langkah selanjutnya untuk mengetahui TPC *E.coli*, *S.aureus* dan *Salmonella* dilakukan pengambilan suspense pada pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} masing-masing 1 ml. kemudian 1 ml suspense yang telah diambil dimasukkan kedalam cawan petri steril dan dimasukkan media MBA untuk bakteri *E.coli*, selanjutnya dimasukkan media MSA untuk bakteri *S.areus* dan dimasukkan media SSA untuk *Salmonella* selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam.

3.5.4 Pembuatan Infusa Daun Salam

Penelitian ini menggunakan larutan infusa daun salam karena caranya yang mudah, hemat waktu dan biaya (dibandingkan maserasi) serta senyawa aktif daun salam yang didapat sudah mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Langkah awal yang perlu disiapkan untuk pembuatan infusa daun salam yaitu daun salam yang telah diambil dari pohon dicuci bersih kemudian daun salam dioven dengan

suhu 50 °C untuk pengeringan selama 1 hari. Kemudian daun salam yang telah kering dihancurkan hingga halus.

Pembuatan konsentrasi ekstrak yang akan dibuat menurut Ditjen POM RI (1995) dalam Kusumaningrum (2013) dengan cara menimbang serbuk daun salam sesuai kebutuhan. Untuk pembuatan kadar konsentrasi infusa 50%, maka dibutuhkan 150 g serbuk daun salam dan ditambahkan air 300 ml, kemudian untuk kadar 75 % menggunakan daun salam sebanyak 175 g ditambah air 300 ml kemudian konsentrasi 100% menggunakan daun salam sebanyak 300 g ditambah air 300 ml. Selanjutnya serbuk daun salam yang telah diukur sesuai konsentrasinya dipanaskan sampai suhu 90-98°C (waktu selama 15 menit); setelah dipanaskan dilakukan penyaringan dan larutan daun salam siap digunakan.

3.5.5 Pengujian Infusa Daun Salam terhadap Bakteri Uji

Pengujian infusa daun salam dilakukan dengan menuangkan larutan dengan konsentrasi ekstrak 50%, 75% dan 100% ke dalam gelas plastik yang telah berisi 2,5 gr sebanyak 50 ml. kemudian ditutup dengan plastik dan diikat dengan karet gelang.

3.5.6 Uji TPC Setelah Perendaman Infusa Daun Salam

3.5.6.1 Pengujian Infusa Daun Salam terhadap Total Plate Count (TPC)

Pengujian TPC dilakukan dengan cara menimbang sampel daging ayam sebanyak 5 gram dan ditambahkan 45 ml larutan BPW kemudian dihomogenkan menggunakan stomacher sehingga diperoleh larutan dengan pengenceran 10^{-1} . Diambil sebanyak 1 ml suspensi pengenceran 10^{-1} menggunakan pipet dan dimasukkan suspensi ke dalam 9 ml larutan BPW untuk mendapatkan pengenceran

10^{-2} . Dilakukan pengenceran dengan cara yang sama hingga diperoleh pengenceran 10^{-6} . Selanjutnya sebanyak 1 ml dari masing-masing pengenceran diinokulasikan ke dalam cawan petri steril dan dimasukan media Plate Count Agar (PCA). Dihomogenkan dengan menggoyangkan cawan petri membentuk angka delapan. Setelah homogen media dibiarkan medat kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam dengan posisi terbalik. Setelah diketahui tumbuh, dilakukan perhitungan koloni pada cawan petri. Jumlah koloni yang dapat dihitung pada cawan petri yaitu dengan jumlah koloni bakteri antara 30-300. Koloni yang telah dihitung selanjutnya secara manual selanjutnya duhitung menggunakan rumus sebagai berikut (Fardiaz, 1993):

$$\Sigma \text{ Koloni pada cawan} = \Sigma \text{ koloni pada cawan} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

3.5.6.2 Pengujian Infusa Daun Salam Putih terhadap *Escherichia coli*

Pengujian *Escherichia coli* dilakukan dengan cara menimbang sampel daging ayam sebanyak 5 gram dan ditambahkan 45 ml larutan BPW kemudian dihaluskan menggunakan stomacher sehingga diperoleh larutan dengan pengenceran 10^{-1} . Diambil 1 ml suspensi pengenceran 10^{-1} dengan pipet steril dan dimasukkan ke dalam 9 ml larutan BPW untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} . Dilakukan hal yang sama hingga di peroleh pengenceran 10^{-6} . Selanjutnya sebanyak 1 ml dari 3 pengenceran $10^{-1} - 10^{-6}$ diinokulasikan pada cawan petri kemudian dituang media Eosin Methylen Blue Agar (EMBA). Dihomogenkan dengan menggoyangkan cawan petri membentuk angka delapan. Setelah homogen media dibiarkan medat kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam dengan posisi terbalik. Setelah diketahui tumbuh, dilakukan perhitungan koloni pada cawan

petri. Jumlah koloni yang dapat dihitung pada cawan petri yaitu dengan jumlah koloni bakteri antara 30-300. Tumbuhnya koloni *E.coli* yang pada media EMBA menunjukkan warna hijau metalik. Koloni yang tumbuh di hitung secara manual terlebih dahulu selanjutnya dimasukkan ke dalam rumus sebagai berikut (Andrew, 2001):

$$\Sigma \text{ Koloni pada cawan} = \Sigma \text{ koloni pada cawan} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

3.5.6.3 Pengujian Infusa Daun Salam terhadap *Staphylococcus aureus*

Pengujian *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan cara menimbang sampel daging ayam sebanyak 5 gram dan ditambahkan 45 ml larutan BPW kemudian dihomogenkan menggunakan stomacher sehingga diperoleh larutan dengan pengenceran 10^{-1} . Sebanyak 1 ml suspensi pengenceran 10^{-1} dipindahkan dengan pipet steril ke dalam 9 ml larutan BPW untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} . Dilakukan pengenceran dengan cara yang sama hingga diperoleh pengenceran 10^{-6} . Pengenceran yang digunakan pada pengujian *Staphylococcus aureus* adalah pengenceran 10^{-1} - 10^{-3} . Masing-masing pengenceran diambil 1 ml dengan pipet kemudian diinokulasikan pada cawan petri dan dituang media Mannitol Salt Agar (MSA). Dihomogenkan dengan menggoyangkan cawan petri membentuk angka delapan. Setelah homogen media dibiarkan medat kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam dengan posisi terbalik. Setelah diketahui tumbuh, dilakukan perhitungan koloni pada cawan petri. Jumlah koloni yang dapat dihitung pada cawan petri yaitu dengan jumlah koloni bakteri antara 30-300. Koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada media MSA berwarna kuning dihitung

secara manual terlebih dahulu selanjutnya dimasukkan ke dalam rumus sebagai berikut (Malelak, 2015):

$$\Sigma \text{ Koloni pada cawan} = \Sigma \text{ koloni pada cawan} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

3.5.6.4 Pengujian Infusa Daun Salam terhadap *Salmonella*

Pengujian *Salmonella* dilakukan dengan cara menimbang sampel daging ayam sebanyak 5 gram dan ditambahkan 45 ml larutan BPW kemudian dihomogenkan menggunakan stomacher sehingga diperoleh larutan dengan pengenceran 10^{-1} . Diambil 1 ml suspensi dengan pipet pada pengenceran 10^{-1} ke dalam 9 ml larutan BPW untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} . Dilakukan hal yang sama hingga diperoleh pengenceran 10^{-6} . Pengenceran yang digunakan pada pengujian *Salmonella* adalah pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3} . Masing-masing pengenceran dipipet 1 ml dan diinokulasikan pada cawan petri yang berisi media Shigela Salmonella Agar (SSA). Dihomogenkan dengan menggoyangkan cawan petri membentuk angka delapan. Setelah homogen media dibiarkan medat kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam dengan posisi terbalik. Setelah diketahui tumbuh, dilakukan perhitungan koloni pada cawan petri. Jumlah koloni yang dapat dihitung pada cawan petri yaitu dengan jumlah koloni bakteri antara 30-300. Koloni *Salmonella* yang tumbuh pada media SSA berwarna hitam dihitung secara manual terlebih dahulu selanjutnya dimasukkan ke dalam rumus sebagai berikut (Malelak, 2015):

$$\Sigma \text{ Koloni pada cawan} = \Sigma \text{ koloni pada cawan} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

3.5.7 Uji Kadar Protein

3.5.7.1 Pembuatan Kurva Standar

Kurva standar dibuat menggunakan larutan Bovin Serum Albumin (BSA) dengan konsentrasi 0: 0,1: 0,2: 0,4: 0,6: 0,8: 1 ml. BSA di pipet sesuai dengan konsentrasi dan masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Setelah itu ditambahkan aquades sampai dengan volume 4 ml lalu ditambahkan biuret sebanyak 6 ml dan dibiarka selama 6 ml dan dibiarkan selama 30 menit. Setelah 30 menit larutan akan berwarna ungu. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan gelombang 520nm. Nilai absorbansi yang diperoleh dibuat kurva standar (Sudarmadji, 2008).

3.5.7.2 Analisis Kadar Protein Sampel

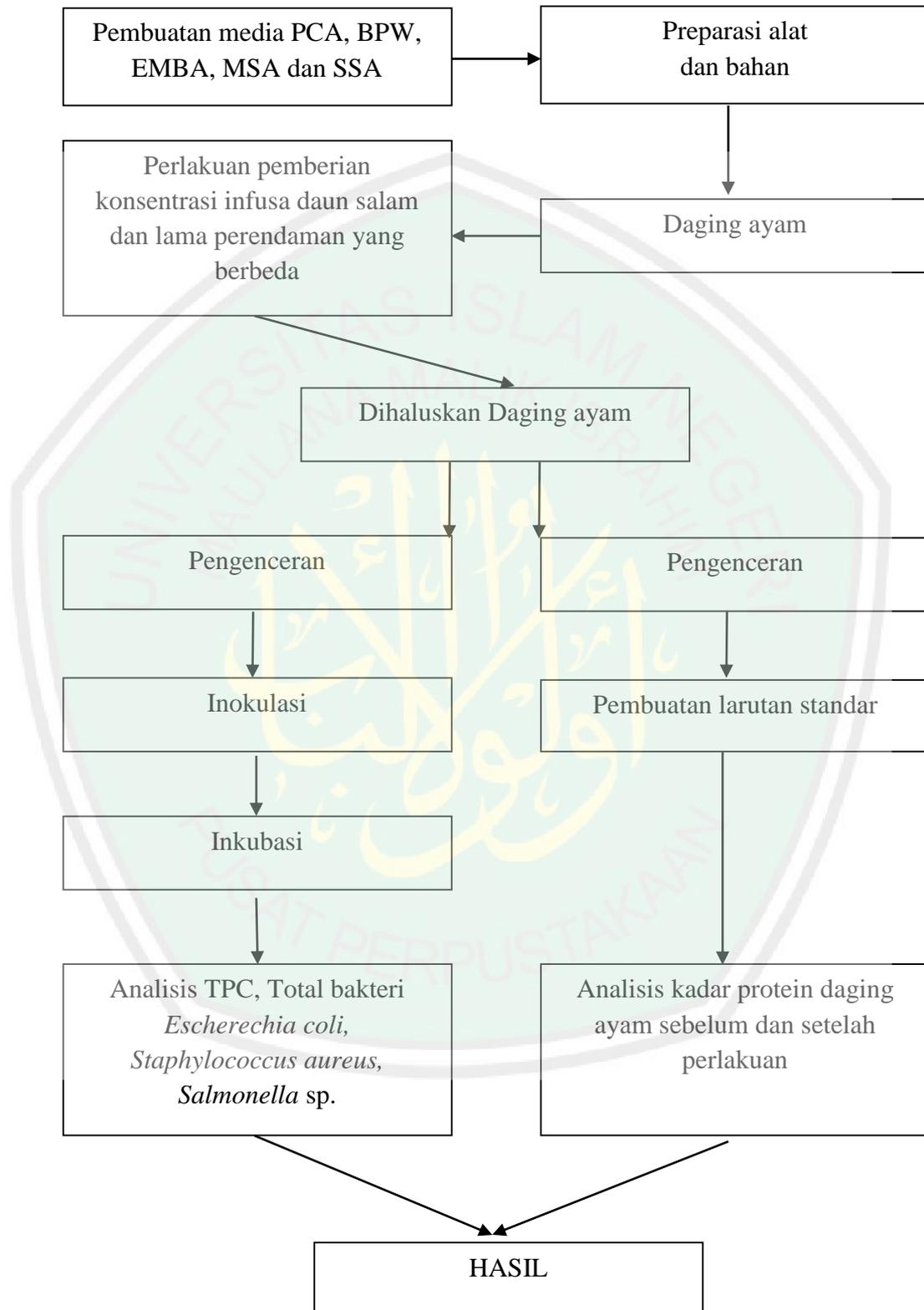
Pengujian kadar protein pada daging ayam yaitu diambil 1 gram daging ayam dan ditumbuk hingga hancur (halus), kemudian ditambahkan 2 ml aquades dan dimasukkan ke dalam labu ukur, selanjutnya ditambakan aquades sampai tanda batas labu ukur dan dihomogenkan. Diambil 1 ml sampel kemudian ditambahkan 3 ml aquades dan 6 ml reagen Biuret, selanjutnya diukur absorbansinya pada $\lambda = 250$ nm dan dihitung kadar protein.

$$\text{kadar protein} = \frac{\text{konsentrasi protein kurva standar}}{\text{faktor pengencerankonsentrasi sampel}} \times fp \times 100\%$$

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakantwo way ANOVA. Jika F hitung $\geq F$ tabel, maka dapat dikatakan terdapat pengaruh yang signifikan dan dilanjutkan uji DMRT (Duncan multiple range) dengan taraf 5%.

3.7 Kerangka Konsep



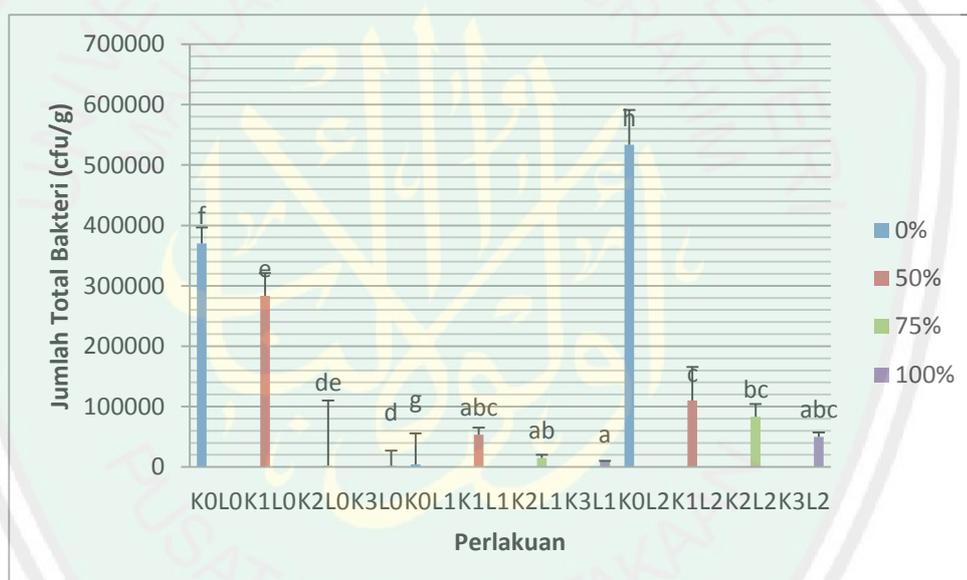
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam terhadap Jumlah Bakteri dan Kadar Protein pada Daging Ayam

4.1.1 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap Jumlah Bakteri

Berdasarkan penelitian ini dilakukan perhitungan jumlah bakteri cemaran daging ayam yang ditumbuhkan pada media PCA. Hasil perhitungan rata-rata jumlah total koloni bakteri dapat dilihat pada Gambar 4.1



Gambar 4.1 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap Jumlah Bakteri

Berdasarkan hasil penelitian (Gambar 4.1) data yang menunjukkan jumlah pertumbuhan bakteri tertinggi terdapat pada perlakuan K0L0, K0L1 dan K0L2. Perlakuan perendaman daging ayam dalam aquades (larutan tanpa pemberian infusa daun salam) dengan peningkatan lama perendaman yang menunjukkan adanya

pengaruh aktivitas pertumbuhan jumlah bakteri pada daging ayam. Air dalam pertumbuhan mikroba berperan mempermudah penyerapan nutrisi daging ayam. Barus (2017) menyatakan daya awet makanan terhadap cemaran mikroba dipengaruhi oleh kandungan air dalam bahan makanan. Kandungan air bebas pada bahan makanan (a_w) digunakan bakteri untuk proses pertumbuhan bakteri. Pertumbuhan bakteri sering dipengaruhi oleh faktor kelembaban dan kadar air. Pada perlakuan K0L0 diperoleh jumlah bakteri $3,7 \times 10^5$ cfu/g, K0L1 dengan jumlah bakteri $4,5 \times 10^5$ cfu/g, dan K0L2 dengan jumlah bakteri $5,3 \times 10^5$ cfu/g (Lampiran 1).

Perlakuan kombinasi lama perendaman 0-6 jam dengan konsentrasi bertingkat menunjukkan perbandingan yang signifikan terhadap kontrol (K0L0). Perlakuan konsentrasi (50%, 75% dan 100%) yang diberikan terhadap penurunan jumlah bakteri daging ayam tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Penurunan jumlah bakteri terendah diperoleh pada perlakuan rendaman larutan infusa daun salam dengan konsentrasi 100% yaitu K3L0, K3L1 dan K3L2.

Hal ini dikarenakan semakin tingginya konsentrasi pada larutan infusa daun salam maka semakin tinggi pula kandungan senyawa antibakteri pada larutan infusa daun salam. Menurut Pura (2015) tingginya konsentrasi larutan daun salam maka akan diikuti dengan meningkatnya senyawa tanin dan flavanoid pada daun salam, sehingga kemampuan dalam menghambat bakteri lebih baik. Untuk mengetahui pengaruh signifikansi nilai total bakteri maka dilakukan analisis statistik menggunakan ANOVA yang dapat dilihat di Hasil SPSS Total Bakteri (Lampiran 2) pada tabel ANOVA.

Berdasarkan uji analisis menggunakan two way ANOVA dengan taraf $\alpha=0,05$ diketahui nilai signifikan setiap variabel yang ditunjukkan kurang dari 0,05. Setelah diperoleh hasil yang signifikan maka dilakukan uji lanjut Duncan Multiple Range (DMRT) dengan taraf 5% yang dapat dilihat di Hasil SPSS Total Bakteri (Lampiran 2) pada tabel Duncan.

Hasil penurunan jumlah bakteri terbaik diketahui pada perlakuan K3L1 dengan jumlah bakteri 1×10^4 . Semakin rendah jumlah bakteri, menunjukkan kualitas daging ayam yang semakin baik. Menurut SNI 01/7388/2009, batas maksimal jumlah total bakteri pada daging ayam sebesar 1×10^6 cfu/g. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada penelitian ini, semua perlakuan yang diberikan menunjukkan hasil jumlah bakteri yang memenuhi standar SNI (Lampiran 1).

Perlakuan kombinasi konsentrasi bertingkat dengan lama perendaman 6 jam yaitu (K1L2 ($1,1 \times 10^5$), K2L2 ($8,3 \times 10^4$) dan K3L2 ($4,2 \times 10^4$)) menunjukkan hasil peningkatan jumlah bakteri dibandingkan dengan perlakuan kombinasi bertingkat dengan lama perendaman 3 jam yaitu (K1L1 ($5,3 \times 10^4$), K2L1 ($1,5 \times 10^4$) dan K3L1 (1×10^4)) (Lampiran 1). Hal ini kemungkinan terjadi karena habisnya senyawa antibakteri infusa daun salam yang telah digunakan pada lama perendaman 3 jam. Sehingga pada perendaman 6 jam senyawa antibakteri sudah tidak dapat menghambat bakteri dengan baik. Menurut Fatimah (2017) meningkatnya pembelahan bakteri mengakibatkan ketidakseimbangan dengan senyawa yang terkandung pada rimpang lengkuas yang digunakan sebagai antibakteri pada jam ke 4 dan 5.

Penelitian Kusumaningrum (2013) menunjukkan jumlah bakteri tertinggi yaitu pada daging ayam dengan perlakuan kontrol (tanpa rendaman infusa) dan mengalami penurunan setelah diberi konsentrasi bertingkat dan lama waktu perendaman. Pada konsentrasi 5% dan 10% setelah diuji secara statistik infusa daun salam menunjukkan perbandingan dengan kontrol tapi keduanya tidak menunjukkan perbedaan.

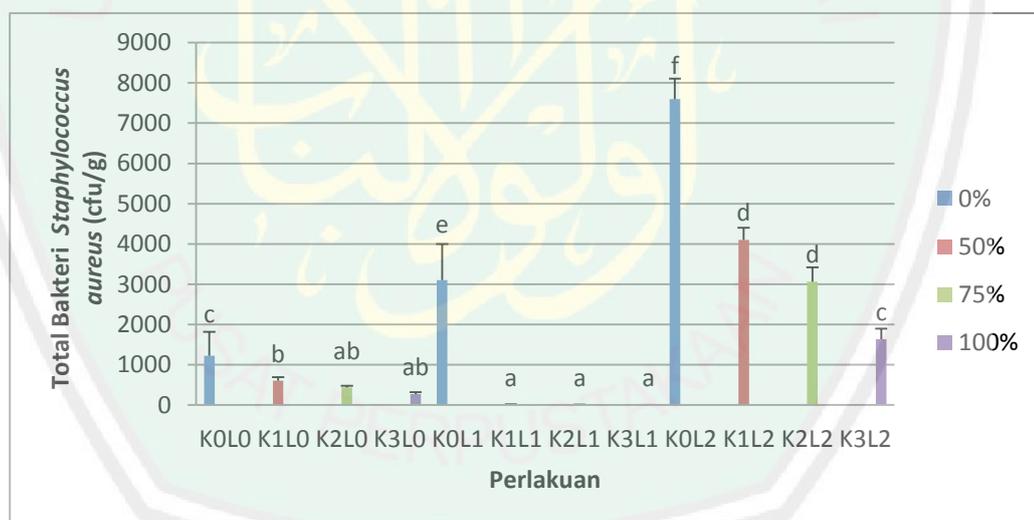
Berdasarkan hasil penelitian Pura (2015) diketahui pada perendaman daun salam dengan konsentrasi (10%, 15%, 20% dan 25%) menunjukkan awal kebusukan yang paling lama terdapat pada perendaman 20% dengan awal kebusukan 718,75 menit, pH 5,75, jumlah total bakteri terendah ($12,25 \times 10^5$ cfu/g). Kemudian untuk akseptabilitas warna tidak berpengaruh terhadap daging ayam sebab pada konsentrasi tersebut warna yang dihasilkan tidak terlalu pekat, kemurnian akseptabilitas rasa panelis lebih menyukai rasa daging ayam broiler pada perlakuan perendaman konsentrasi 20%, sehingga penggunaan perendaman daun salam yang optimal terdapat pada konsentrasi 20% sebab jika meningkat pada konsentrasi 25% terjadinya penurunan rasa suka oleh panelis. Kemudian untuk aroma tidak menunjukkan perubahan aroma pada daging. Konsentrasi infusa daun salam 20% secara akseptabilitas diterima oleh panelis.

Menurut Suharti (2008), senyawa bioaktif dalam daun salam dapat bersifat bakterisidal, bakteriostatik, fungisidal, dan germinal atau menghambat germinal spora bakteri. Tanin termasuk senyawa fenol yang memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan mendenaturasi protein dan menurunkan tegangan permukaan. Denaturasi protein dapat mengakibatkan permeabilitas

bakteri meningkat dan mengganggu proses reaksi enzimatik pada bakteri sehingga menyebabkan pertumbuhan sel bakteri terhambat dan akhirnya dapat menyebabkan kematian sel (Harlinawati, 2006).

4.1.2 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam terhadap *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan penelitian ini dilakukan perhitungan koloni cemaran bakteri *Staphylococcus aureus* dari sampel daging ayam segar yang ditumbuhkan pada media MSA (*Mannitol Salt Agar*). Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dinyatakan berbahaya pada makanan apabila melebihi batas cemaran dengan total 1×10^2 . Hasil analisis kuantitatif sampel daging ayam cemaran bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam terhadap *Staphylococcus aureus*

Hasil rata-rata perhitungan total bakteri *Staphylococcus aureus* pada Gambar 4.2 diketahui pada perlakuan (K0L0, K0L1 dan K0L2) terjadi peningkatan total bakteri *Staphylococcus aureus*. . Perlakuan perendaman daging ayam dalam aquades (larutan tanpa pemberian infusa daun salam) dengan peningkatan lama

perendaman yang diberikan memberikan pengaruh aktivitas pertumbuhan jumlah bakteri pada daging ayam. Air dalam pertumbuhan mikroba berperan mempermudah penyerapan nutrisi daging ayam. Barus (2017) menyatakan daya awet makanan terhadap cemaran mikroba dipengaruhi oleh kandungan air dalam bahan makanan. Kandungan air bebas pada bahan makanan (a_w) digunakan bakteri untuk proses pertumbuhan bakteri. Pertumbuhan bakteri sering dipengaruhi oleh faktor kelembaban dan kadar air. Pada perlakuan K0L0 diperoleh jumlah bakteri $1,2 \times 10^3$ cfu/g, K0L1 dengan jumlah bakteri $3,1 \times 10^3$ cfu/g, dan K0L2 dengan jumlah bakteri $6,9 \times 10^3$ cfu/g (Lampiran 1).

Kontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* pada penelitian daging ayam yang digunakan lebih banyak dibandingkan total kontaminasi bakteri *Escherichia coli*. Hal ini karena menurut Gundogan, (2005) kontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* dapat berasal dari manusia melalui pernafasan, tangan, dan tenggorokan. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan mikroflora utama pada jaringan kulit hewan. Keberadaan *Staphylococcus aureus* pada daging ayam mengindikasikan adanya kontaminasi langsung antara daging ayam dengan tangan pekerja yang tidak higienis atau melalui bersin dan batuk.

Perlakuan kombinasi lama perendaman 0-6 jam dengan konsentrasi bertingkat menunjukkan perbandingan yang signifikan terhadap kontrol (K0L0). Perlakuan konsentrasi (50%, 75% dan 100%) yang diberikan terhadap penurunan jumlah bakteri daging ayam menunjukkan perbedaan yang tidak nyata. Penurunan jumlah bakteri terendah diperoleh pada perlakuan rendaman infusa daun salam dengan konsentrasi 100% yaitu K3L0, K3L1 dan K3L2.

Hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin tinggi pula hambatan yang dihasilkan. Fitri (2007), menyatakan bahwa penambahan konsentrasi daun salam yang semakin tinggi mengakibatkan semakin terhambatnya pertumbuhan bakteri bakteri *Staphylococcus aureus* pada telur asin. Sehingga diketahui pada penelitian ini bahwa daun salam memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Untuk mengetahui pengaruh signifikansi nilai total bakteri maka dilakukan analisis statistik menggunakan ANOVA yang dapat dilihat pada Hasil SPSS Bakteri *Staphylococcus aureus* (Lampiran 2) tabel ANOVA.

Berdasarkan uji analisis menggunakan *two way* ANOVA dengan taraf $\alpha=0,05$ diketahui nilai signifikan setiap variabel yang ditunjukkan kurang dari 0,05. Setelah diperoleh hasil yang signifikan maka dilakukan uji lanjut Duncan Multiple Range (DMRT) dengan taraf 5% yang dapat dilihat di Hasil SPSS Total Bakteri (Lampiran 2) pada tabel Duncan.

Hasil penurunan jumlah bakteri terbaik diketahui pada perlakuan K1L1 dengan jumlah bakteri 8×10^0 cfu/g. Hal ini dilihat pada konsentrasi terendah 50% yang mampu menghasilkan nilai hambatan terkecil dengan rata-rata nilai 8×10^0 cfu/g dan tidak berbeda nyata terhadap konsentrasi 75% dan 100%. Dipilihnya K1L1 menjadi perlakuan terbaik pada penelitian ini karena pada konsentrasi 50% senyawa yang terkandung dalam daun salam sudah mampu menghambat secara efektif terhadap pertumbuhan bakteri.

Perlakuan K1L1 pada penelitian ini sudah mampu menghambat pertumbuhan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini dikarenakan

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang memiliki struktur tubuh sederhana sehingga sensitive terhadap senyawa kimia. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang tersusun atas peptidoglikan, sedikit lipid dan asam teiokid pada membran sel. Asam teiokat merupakan polimer yang larut dalam air dan bersifat polar. Sehingga senyawa aktif yang bersifat polar seperti flavonoid mampu menembus dinding sel dengan mudah (Jawezt, 2005).

Semakin rendah jumlah bakteri, menunjukkan kualitas daging ayam yang semakin baik. Menurut SNI 01/7388/2009, batas maksimal jumlah total bakteri *Staphylococcus aureus* pada daging ayam sebesar 1×10^2 cfu/g. berdasarkan hasil penelitian ini daging ayam yang aman untuk dikonsumsi terdapat pada perlakuan KILI, K2L2 dan K3L1 (Lampiran 1).

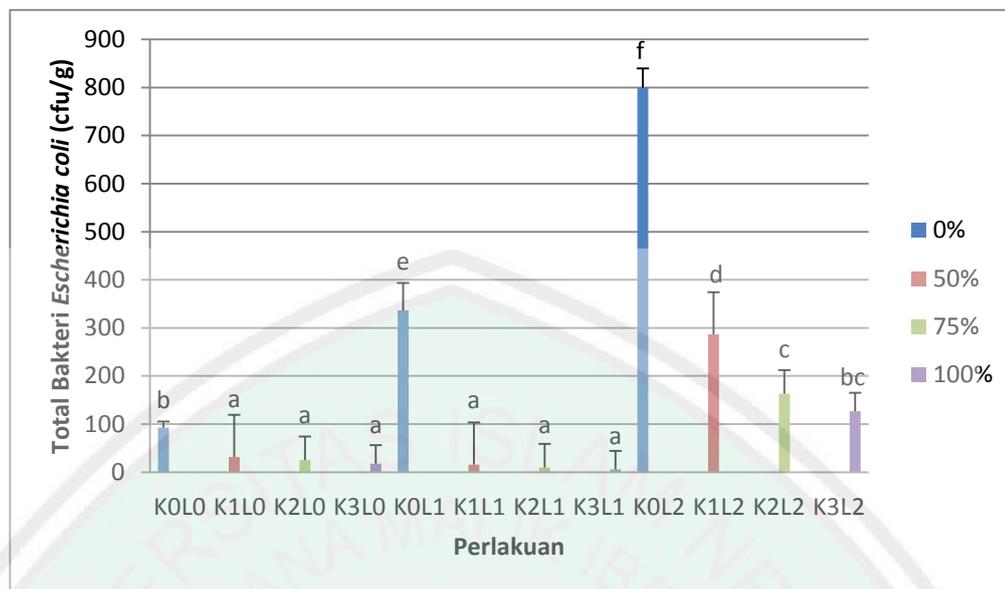
Perlakuan kombinasi konsentrasi bertingkat dengan lama perendaman 6 jam yaitu (K1L2 ($2,9 \times 10^3$), K2L2 ($2,4 \times 10^3$) dan K3L2 ($1,4 \times 10^3$)) menunjukkan hasil peningkatan jumlah bakteri dibandingkan dengan perlakuan kombinasi bertingkat dengan lama perendaman 3 jam yaitu (K1L1 (8×10^0), K2L1 (6×10^0) dan K3L1 (3×10^0)) (Lampiran 1). Hal ini kemungkinan terjadi karena habisnya senyawa antibakteri infusa daun salam yang telah digunakan pada lama perendaman 3 jam. Sehingga pada perendaman 6 jam senyawa antibakteri sudah tidak dapat menghambat bakteri dengan baik. Menurut Fatimah (2017) meningkatnya pembelahan bakteri mengakibatkan ketidakseimbangan dengan senyawa yang terkandung pada rimpang lengkuas yang digunakan sebagai antibakteri pada jam ke 4 dan 5.

Penelitian Apriani (2014) menyatakan semakin besar konsentrasi daun salam yang diberikan maka semakin lebar atau besar zona hambat yang dihasilkan yaitu dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 5,00 mm pada konsentrasi 60%, rata-rata diameter zona hambat sebesar 15,00 mm pada konsentrasi 70%, rata-rata diameter zona hambat sebesar 17,00 mm pada konsentrasi 80%, rata-rata diameter zona hambat sebesar 19,00 mm pada konsentrasi 90%, dan rata-rata diameter zona hambat sebesar 21,00 mm pada konsentrasi 100%.

Infusa daun salam dapat menghambat pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh adanya senyawa kimia yang memiliki efek antibakteri diantaranya tanin dan flavonoid. Tanin memiliki aktifitas dapat mengerutkan dinding sel. Rusaknya dinding sel ini akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel bakteri, dan pada akhirnya bakteri akan mati. Flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan melakukan denaturasi protein dan merusak membrane sitoplasma sehingga mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan bakteri (Prajitno, 2007).

4.1.3 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam terhadap *Escherichia coli*

Berdasarkan penelitian ini dilakukan perhitungan koloni cemaran bakteri *Escherichia coli* dari sampel daging ayam segar yang ditumbuhkan pada media EMBA (*Eosin Methylen Blue Agar*). Bakteri *Escherichia coli* dapat dinyatakan berbahaya pada makanan apabila melebihi batas cemaran dengan total 1×10^1 . Hasil analisis kuantitatif sampel daging ayam cemaran bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 4.3



Gambar 4.3 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam terhadap *Escherichia coli*

Hasil rata-rata perhitungan total bakteri *Escherichia coli* pada Gambar 4.3 diketahui terjadi peningkatan jumlah bakteri *Escherichia coli* pada perlakuan (K0L0, K0L1, dan K0L2). Perlakuan perendaman daging ayam dalam aquades (larutan tanpa pemberian infusa daun salam) dengan peningkatan lama perendaman yang diberikan memberikan pengaruh aktivitas pertumbuhan jumlah bakteri pada daging ayam. Air dalam pertumbuhan mikroba berperan mempermudah penyerapan nutrisi daging ayam. Barus (2017) menyatakan daya awet makanan terhadap cemaran mikroba dipengaruhi oleh kandungan air dalam bahan makanan. Kandungan air bebas pada bahan makanan (a_w) digunakan bakteri untuk proses pertumbuhan bakteri. Pertumbuhan bakteri sering dipengaruhi oleh faktor kelembaban dan kadar air. Pada perlakuan K0L0 diperoleh jumlah bakteri $9,3 \times 10^1$ cfu/g, K0L1 dengan jumlah bakteri $3,4 \times 10^2$ cfu/g, dan K0L2 dengan jumlah bakteri 8×10^2 cfu/g (Lampiran 1).

Peningkatan total pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada perlakuan K0L0, K0L1 dan K0L2 diduga karena bakteri *Escherichia coli* mampu tumbuh dengan baik pada substrat daging ayam. Sebab daging ayam mengandung nutrisi yang baik untuk pertumbuhan bakteri. Barus (2017) menyatakan daya awet makanan terhadap cemaran mikroba dipengaruhi oleh kandungan air dalam bahan makanan. Kandungan air bebas pada bahan makanan (a_w) digunakan bakteri untuk proses pertumbuhannya bakteri. Pertumbuhan bakteri sering dipengaruhi oleh faktor kelembaban dan kadar air.

Escherichia coli dapat mengkontaminasi daging ayam ketika proses pemotongan dan pada tahap pengeluaran organ dalam (*eviscerating*). Hal ini dikarenakan bakteri ini merupakan mikroflora normal dalam saluran pencernaan bawah hewan. Menurut Supardi (1999), selama eviserasi, mikroorganisme yang berada di dalam saluran pencernaan hewan dapat berpindah ke daging ayam melalui tangan pekerja atau pisau.

Perlakuan kombinasi lama perendaman 0-6 jam dengan konsentrasi bertingkat menunjukkan perbandingan yang signifikan terhadap kontrol (K0L0). Perlakuan konsentrasi (50%, 75% dan 100%) yang diberikan terhadap penurunan jumlah bakteri daging ayam menunjukkan perbedaan yang tidak nyata. Penurunan jumlah bakteri terendah diperoleh pada perlakuan rendaman infusa daun salam dengan konsentrasi 100% yaitu K3L0, K3L1 dan K3L2.

Menurut Pura (2015) tingginya konsentrasi larutan daun salam maka akan diikuti dengan meningkatnya senyawa tanin dan flavanoid pada daun salam, sehingga kemampuan dalam menghambat bakteri lebih baik. Untuk mengetahui

pengaruh signifikansi nilai total bakteri maka dilakukan analisis statistik menggunakan ANOVA yang dapat dilihat pada Hasil SPSS Total Bakteri *Escherichia coli* (Lampiran 2) tabel ANOVA.

Berdasarkan uji analisis menggunakan two way ANOVA dengan taraf $\alpha=0,05$ diketahui nilai signifikan setiap variabel yang ditunjukkan kurang dari 0,05. Setelah diperoleh hasil yang signifikan maka dilakukan uji lanjut Duncan Multiple Range (DMRT) dengan taraf 5% yang dapat dilihat di Hasil SPSS Total Bakteri (Lampiran 2) pada tabel Duncan.

Hasil penurunan jumlah bakteri terbaik diketahui pada perlakuan K2L1 dengan jumlah bakteri 1×10^1 cfu/g. Hal ini dilihat pada konsentrasi terendah 75% yang mampu menghasilkan nilai hambatan terkecil dengan rata-rata nilai 1×10^1 cfu/g dan tidak berbeda nyata terhadap konsentrasi 100%. Dipilihnya K2L1 menjadi perlakuan terbaik pada penelitian ini karena pada konsentrasi 75% senyawa yang terkandung dalam daun salam sudah mampu menghambat secara efektif terhadap pertumbuhan bakteri.

Semakin rendah jumlah bakteri, menunjukkan kualitas daging ayam yang semakin baik. Menurut SNI 01/7388/2009, batas maksimal jumlah total bakteri *Escherichia coli* pada daging ayam sebesar 1×10^1 cfu/g. berdasarkan hasil penelitian ini daging ayam yang aman untuk dikonsumsi terdapat pada perlakuan K2L1 dan K3L1 (Lampiran 1).

Aktifitas senyawa pada konsentrasi 50% dengan lama perendaman 3 jam (K1L1) mampu menghambat dengan baik jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* sedangkan tidak mampu menghambat jumlah bakteri *Escherichia coli*. Hal ini

dikarenakan *Escherichia coli* termasuk dalam golongan bakteri Gram negatif yang memiliki kemampuan permeabilitas yang tinggi terhadap senyawa antibakteri. Hal ini dikarenakan pada bakteri *Escherichia coli* memiliki struktur tubuh yang kompleks. Struktur tubuh bakteri Gram negatif seperti *Escherichia coli* tersusun atas banyak lipid dan sedikit peptidoglikan, terdiri atas membran lipidbilayer sebagai pertahanan terhadap senyawa-senyawa kimia yang mengakibatkan toksik secara selektif. Menurut Jawez (1996) membran luar *Escherichia coli* terdiri dari fosfolipid (lapisan dalam), lipopolisakarida (lapisan luar) tersusun atas lipida yang bersifat non polar.

Penelitian ini tidak sesuai dengan hasil penelitian Dewanti *et al*, (2011) yang menunjukkan konsentrasi bertingkat 10% - 100% infusa daun salam terhadap menghambat aktivitas bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro* yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*.

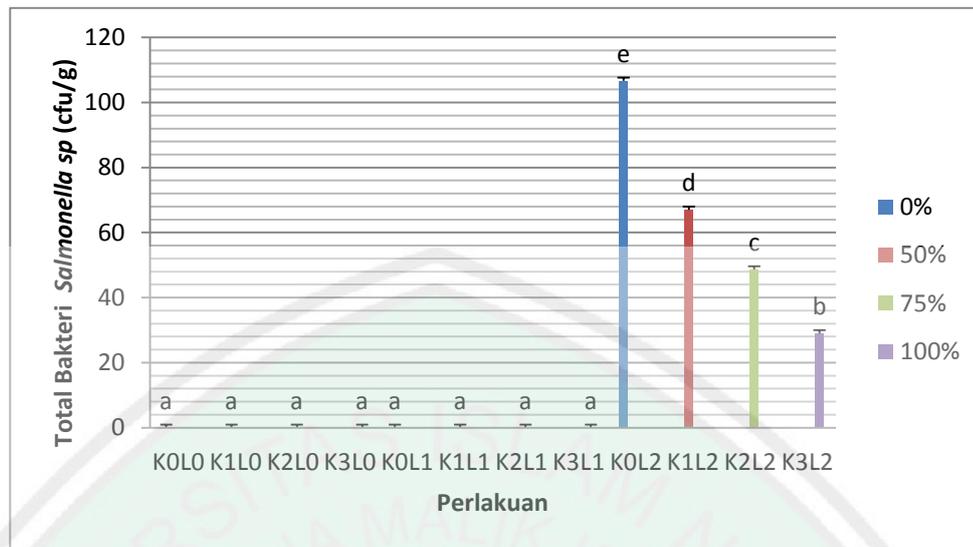
Perlakuan kombinasi konsentrasi bertingkat dengan lama perendaman 6 jam yaitu (K1L2 ($2,9 \times 10^2$), K2L2 ($1,6 \times 10^2$) dan K3L2 ($1,3 \times 10^2$)) menunjukkan hasil peningkatan jumlah bakteri dibandingkan dengan perlakuan kombinasi bertingkat dengan lama perendaman 3 jam yaitu (K1L1 ($1,5 \times 10^1$), K2L1 (1×10^1) dan K3L1 (6×10^0)) (Lampiran 1). Hal ini kemungkinan terjadi karena habisnya senyawa antibakteri infusa daun salam yang telah digunakan pada lama perendaman 3 jam. Sehingga pada perendaman 6 jam senyawa antibakteri sudah tidak dapat menghambat bakteri dengan baik. Menurut Fatimah (2017) meningkatnya pembelahan bakteri mengakibatkan ketidakseimbangan dengan senyawa yang

terkandung pada rimpang lengkuas yang digunakan sebagai antibakteri pada jam ke 4 dan 5.

Senyawa antibakteri yang terkandung dalam daun salam seperti flavanoid, tanin, minyak atsiri mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif maupun positif. Pada daun salam senyawa yang paling tinggi yaitu tannin. Kandungan tannin 7,82% yang diekstrak dengan air selama 17 menit mampu menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Sukardi, 2007). Tannin mampu menghambat pertumbuhan bakteri karena tannin sebagai grow inhibitor sehingga banyak mikroorganisme yang dapat dihambat pertumbuhannya oleh tanin (Hendradjatin, 2009).

4.1.4 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam terhadap *Salmonella* sp.

Berdasarkan penelitian ini dilakukan perhitungan koloni cemaran bakteri *Salmonella* dari sampel daging ayam segar yang ditumbuhkan pada media SSA. Bahan makanan dinyatakan bahaya apabila tercemar oleh bakteri tersebut, indikator cemaran bakteri *Salmonella* yang didasarkan pada SNI 3924 : 2009 menyatakan bahwa ditetapkan daging ayam potong segar tidak boleh mengandung *Salmonella* (negatif). Hasil analisis kuantitatif sampel daging ayam cemaran bakteri *Salmonella* dapat dilihat pada gambar 4.4



Gambar 4.4 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam terhadap *Salmonella* sp.

Hasil rata-rata perhitungan total bakteri *Salmonella* pada diagram di atas diketahui pada perlakuan konsentrasi bertingkat (0%, 50%, 75% dan 100%) dengan lama perendaman (0-3 jam) tidak mengalami pertumbuhan bakteri *Salmonella*. Pertumbuhan total bakteri *Salmonella* dapat terlihat pada perlakuan lama perendaman 6 jam. Konsentrasi bertingkat pada lama perendaman 6 jam menunjukkan adanya penurunan total bakteri *Salmonella*.

Bakteri *Salmonella* merupakan bakteri penyebab infeksi gastrointestinal dan termasuk bakteri enteropatogenik. Secara umum bakteri enteropatogenik bersifat sangat infeksiif dengan jumlah yang sedikit pada makanan. Pada uji kuantitatif, bakteri ini kadang-kadang tidak dapat tumbuh karena tertutup oleh bakteri lain yang ada pada makanan (Putriana, 2017).

Kontaminasi bakteri *Salmonella* sp., dapat terjadi melalui fases melauai saluran pencernaan. (D'Aoust 2000; Sams 2001), namun dengan penanganan dan proses yang baik serta memenuhi standar, maka Salmonellosis jarang ditemukan

pada daging ternak yang disembelih (Siagian 2002). Untuk mengetahui pengaruh signifikansi nilai total bakteri maka dilakukan analisis statistik menggunakan ANOVA yang dapat dilihat pada Hasil SPSS Total Bakteri *Salmonella* sp., (Berdasarkan uji analisis menggunakan two way ANOVA dengan taraf $\alpha=0,05$ diketahui nilai signifikan setiap variabel yang ditunjukkan kurang dari 0,05. Setelah diperoleh hasil yang signifikan maka dilakukan uji lanjut Duncan Multiple Range (DMRT) dengan taraf 5% yang dapat dilihat di Hasil SPSS Total Bakteri (Lampiran 2) pada tabel Duncan.

Tidak munculnya bakteri *Salmonella* sp., pada perendaman 0-3 jam ini diduga karena adanya bakteri lain yang menghalangi pertumbuhannya. Menurut Sukanto (1999) bakteri *Salmonella* sp., yang mempunyai sifat hidup anaerobik fakultatif umumnya tidak dapat berkompetisi secara baik dengan mikroba-mikroba yang umumnya yang terdapat dalam makanan, misalnya bakteri pembusuk, bakteri genus lainnya dalam familia *Eschericeae* dan bakteri asam laktat.

Perlakuan pada lama perendaman 6 jam menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Salmonella* sp. Hal ini diduga karena terjadi pertumbuhan bakteri yang melimpah sehingga terjadi ketidakseimbangan antara senyawa antibakteri dalam daun salam. Menurut Fatimah (2017) meningkatnya pembelahan bakteri sehingga terjadi ketidakseimbangan dengan senyawa yang terkandung pada rimpang lengkuas yang digunakan sebagai antibakteri. Hal ini diperkuat oleh Ardiansyah (2016) pada konsentrasi terakhir senyawa anti bakteri bawang putih sudah tidak aktif dalam menghambat bakteri sehingga mengalami pertumbuhan bakteri yang

cukup tajam. Hal ini terjadi karena adanya bakteri yang bisa bertahan dan berkembang biak sehingga menimbulkan dalam keadaan banyak.

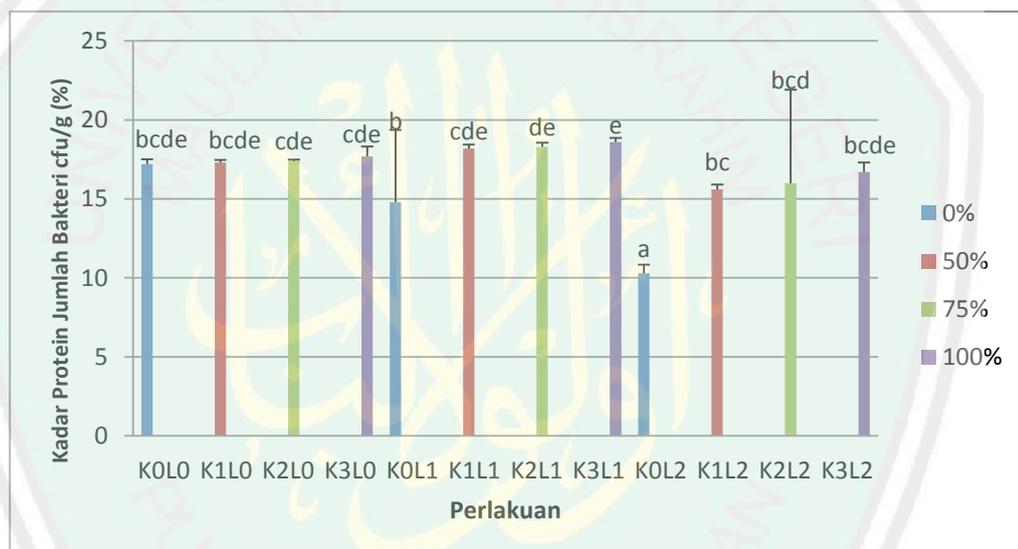
Berdasarkan perlakuan yang dilakukan terhadap jumlah *Salmonella* sp., pada daging ayam menunjukkan hasil yang terbaik pada perlakuan KOL0 yaitu negatif (tidak terdapat kontaminasi). Hal ini juga telah dinyatakan oleh Standar Nasional Indonesia (SNI) 3924:2009 yang telah ditetapkan batas maksimal cemaran bakteri *Salmonella* sp., yaitu negatif (Lampiran 1).

Penelitian Pratama (2016) dengan konsentrasi 5% (P1), 10% (P2), 20% (P3), dan 40% daun salam menunjukkan adanya aktifitas *Salmonella* dan pada penelitian Mita (2017) juga menyatakan ekstrak daun salam pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% menunjukkan adanya aktifitas antibakteri dengan adanya zona hambat mulai dari konsentrasi terendah sampai konsentrasi tertinggi yaitu dengan nilai lebar zona hambat 11,6 mm, 16 mm, 18 mm, 19 mm dan 21 mm. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun salam maka semakin tinggi pula lebar zona hambat yang terbentuk.

Daya hambat terhadap bakteri *Salmonella* sp., disebabkan karena adanya kandungan zat aktif daun salam (*Syzygium polyanthum*) yaitu flavonoid, tanin dan Saponin (Nurchayati, 2014). Tanin dan flavanoid termasuk dalam senyawa fenol yang memiliki mekanisme menghambat bakteri dengan cara denaturasi dan koagulasi protein. Pada kadar yang tinggi senyawa fenolik mampu mempengaruhi permeabilitas membran sehingga mengakibatkan kebocoran dan kehilangan senyawa intraseluler (Kuswandi, 2000).

4.1.5 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam terhadap Kadar Protein

Berdasarkan penelitian ini dilakukan perhitungan kadar protein pada daging ayam segar yang telah diberi perlakuan kombinasi konsentrasi bertingkat infusa daun salam dengan lama perendaman berbeda. Uji kadar protein ini ditujukan untuk mengetahui infusa daun salam selain berpengaruh sebagai antibakteri apakah juga berpengaruh juga terhadap kadar protein pada daging ayam. Hasil pengujian kadar protein pada daging ayam yang diberi perlakuan dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Salam terhadap Kadar Protein

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat dilihat pada gambar 4.5 yang diketahui pada perlakuan (K0L0, K0L1 dan K0L2) menunjukkan adanya penurunan kadar protein pada daging ayam. Penurunan kadar protein pada perlakuan ini terjadi karena degradasi protein yang dilakukan bakteri sebagai proses pertumbuhannya. Hal ini dapat dilihat pada penelitian total bakteri pada pembahasan sebelumnya yang mana menunjukkan peningkatan jumlah bakteri

pada perlakuan (K0L0, K0L1 dan K0L2). Petalia (2017) menyatakan semakin cepat pertumbuhan mikroba, maka akan mengakibatkan semakin cepat pula terjadinya denaturasi protein sehingga kadar protein akan semakin menurun.

Penurunan kadar protein disebabkan karena mikroorganisme membutuhkan nutrisi dalam masa pertumbuhannya, salah satunya adalah berupa protein. Unsur-unsur dasar tersebut adalah karbon, nitrogen, sulfur, fosfor, zat besi, dan sejumlah logam kecil lainnya (Jawezt, 2001).

Kadar protein awal daging ayam pada penelitian ini didapat dengan rata-rata total nilai 17.2%. Menurut Lawrie (1991) kadar total protein daging ayam menunjukkan nilai 18%. Sedangkan menurut Rosmas *et al.*, (1994) kadar protein daging ayam menunjukkan nilai 20%. Jumlah kadar protein dalam daging ayam dapat berubah bila hewan digemukkan, karena akan menurunkan presentasi air dan protein serta meningkatkan presentase lemak.

Konsentrasi bertingkat infusa daun salam (50%, 75% dan 100%) menunjukkan adanya kemampuan dalam mempertahankan protein. Untuk mengetahui pengaruh perbedaan perlakuan yang telah diberikan terhadap kadar protein dapat dilakukan uji lanjut analisis two way anova untuk mengetahui signifikansi hasil kadar protein yang dapat dilihat pada Hasil SPSS Kadar protein (Lampiran 2) tabel ANOVA.

Berdasarkan uji analisis menggunakan two way ANOVA dengan taraf $\alpha=0,05$ diketahui nilai signifikan setiap variabel yang ditunjukkan kurang dari 0,05. Setelah diperoleh hasil yang signifikan maka dilakukan uji lanjut Duncan Multiple

Range (DMRT) dengan taraf 5% yang dapat dilihat di Hasil SPSS Total Bakteri (Lampiran 2) pada tabel Duncan.

Hasil perlakuan terbaik terhadap total kadar protein terdapat pada perlakuan K3L1 dengan jumlah kadar protein 18,6%. Agustina, (2017) menyatakan senyawa metabolit sekunder seperti flavanoid yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan sehingga dapat menghambat atau memperlambat proses oksidasi terhadap protein daging ayam sehingga mampu mempertahankan nilai kadar proteinnya. Sari, (2017) menyatakan tannin merupakan zat antimikroba yang memiliki kemampuan untuk berikatan dengan protein dan menurunkan degradasi protein. Terhambatnya degradasi protein daging akibat adanya zat antinutrisi dalam daun salam dapat mengakibatkan proses glikolisis anaerob menjadi terlambat karena menurunnya aktivitas enzim ATP-ase.

Lamanya waktu perendaman konsentrasi infusa daun salam selama 6 jam mengakibatkan penurunan protein yang terdapat pada daging ayam. Hal ini diduga karena habisnya senyawa antibakteri infusa daun salam yang telah digunakan pada lama perendaman 3 jam. Sehingga pada perendaman 6 jam senyawa antibakteri sudah tidak dapat menghambat bakteri dengan baik. Menurut Fatimah (2017) meningkatnya pembelahan bakteri mengakibatkan ketidakseimbangan dengan senyawa yang terkandung pada rimpang lengkuas yang digunakan sebagai antibakteri pada jam ke 4 dan 5.

Menurut Soeparno (2011), ketidakseimbangan ion positif dan ion negatif akan menyebabkan bertambahnya jarak antar miofilamen yang menyebabkan daya ikat air meningkat dan daya ikat air yang tinggi akan berdampak terhadap kadar air

yang semakin meningkat. Menurut Buckle *et al.* (1987), terdapat hubungan terbalik antara kadar air dan kadar protein, yaitu semakin tinggi kadar air maka semakin rendah kadar protein.

Hasil uji infusa daun salam pada penelitian ini diketahui mampu menghambat pertumbuhan cemaran mikroba dan mampu mempertahankan kadar protein daging ayam. Daun salam memiliki senyawa kimia berupa flavanoid, dan tanin yang mampu berkerja sebagai antibakteri. Cemaran bakteri pada daging ayam dapat menimbulkan dampak negatif (penyakit) bagi orang yang mengkonsumsinya jika jumlah bakteri melebihi batas maksimum ketentuan SNI. Dari Ibnu Mas'ud Rasullallah SAW telah bersabda dalam sebuah hadist yang menyatakan:

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عِلْمَهُ مَنْ عِلِمَهُ وَجَهْلَهُ مَنْ جَهْلَهُ

Artinya: *“Sesungguhnya Allah tidak menurunkan sebuah penyakit melainkan menurunkan pula obatnya, obat itu bisa diketahui oleh orang yang mengetahui dan tidak dikehui oleh orang tidak bisa mengetahuinya”* (HR. Ahamad, ibnu majjah, dan Al-Hakim, beliau menshahihkan dan disepakati oleh Adz-Dzahabi. Al-Bushiri menshahihkan hadists ini dalam Zawaidnya. Lihat takhrij Al-arnauth atas Zadul Ma'ad, 4/12-13)

Hadist diatas menjelaskan bahwa segala penyakit yang menimpa mahluk hidup maka Allah SWT akan memberikan penawarnya. Penawar suatu penyakit tersebut hanya dapat diketahui oleh orang yang berfikir. Manfaat penelitian ini untuk mengetahui keefektifan konsentrasi infusa daun salam dan lama perendaman yang diberikan dalam menghambat jumlah cemaran mikroba yang terdapat di dalam daging ayam. Sehingga dapat diketahui seberapa besar daya hambat daun salam terhadap pertumbuhan cemaran bakteri daging ayam. Allah SWT telah berfirman di dalam al-Quran surat al-Furqon (25): 2 yaitu:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَسْجُدْ وَوَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمَلِكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ
فَعَدَّهُ تَقْدِيرًا ﴿٢﴾

Artinya: “Yang kepunyaan-Nya lah kerajaan langit dan bumi dan Dia tidak mempunyai anak dan tidak ada sekutu baginya dalam kekuasaan-Nya, dan dia telah menciptakan segala sesuatu dan dia telah menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya.”

Menurut al-Qurtubi (2009), kalimat *فَعَدَّهُ تَقْدِيرًا* maksudnya adalah “menetapkan segala sesuatu dari apa yang diciptakan-Nya sesuai dengan hikmah yang diinginkannya dan segala sesuatu berjalan sesuai dengan ketentuan-Nya”. Apabila dikorelasikan terhadap daya hambat total pertumbuhan bakteri pada daging ayam maka dicari nilai pertumbuhan bakteri yang terendah dalam setiap peningkatan konsentrasi infusa daun salam serta lama perendaman yang berbeda. Dengan demikian dapat diketahui konsentrasi infusa daun salam manakah yang ampuh atau efektif dalam menghambat pertumbuhan cemaran mikroba dalam daging ayam.

Perlakuan hambatan jumlah cemaran bakteri daging ayam yang terbaik menunjukkan nilai hambatan yang berbeda-beda. Hambatan terbaik pada bakteri jumlah bakteri yaitu pada kombinasi perlakuan K3L1 dengan nilai 1×10^4 cfu/g, kemudian untuk hambatan pertumbuhan bakteri *S.aureus* terdapat pada perlakuan kombinasi K1L1 dengan nilai 8×10^0 cfu/g, hambatan pertumbuhan *E.coli* terdapat pada perlakuan kombinasi K2L1 dengan nilai 1×10^1 cfu/g dan hambatan pertumbuhan bakteri *Salmonella* dengan nilai terendah pada kombinasi perlakuan K0L0 dengan nilai 0 cfu/g (negatif). Sedangkan untuk kadar protein diketahui hasil yang terbaik yaitu pada perlakuan K3L1 18,6%.

BAB V

KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu kombinasi konsentrasi bertingkat daun salam dan lama waktu perendaman yang berbeda berpengaruh dalam menurunkan bakteri dengan perlakuan terbaik yaitu jumlah total bakteri (TPC) pada K3L1 (1×10^4), *Staphylococcus aureus* pada K1L1 (8×10^0), *Escherichia coli* pada K2L1 (1×10^1), *Salmonella* sp pada K0L0 (0) dan kadar protein pada K3L1 (18,6%).

5.2 Saran

Daging ayam segar pasca proses penyembelihan sebaiknya direndam dalam larutan infusa daun salam dengan konsentrasi 100% selama 3 jam untuk menurunkan jumlah total bakteri, total bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada daging ayam. Sedangkan untuk menghindari pertumbuhan *Salmonella* sp. sebaiknya perendaman daging ayam dalam infusa daun salam tidak dilakukan terlalu lama (maksimal 3 jam) namun dengan konsentrasi yang tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abustam, E. dan H.M. Ali. 2007. *Bahan Ajar Ilmu dan Teknologi Pengolahan Daging*. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Agustina, W., dan Yuniastuti. 2012. Efek perendaman infusa daun salam (*syzygium polyanthum*) terhadap kualitas daging ayam *postmortem*. *Jurnal Biosaintifika*. 4 (2): 78 – 82.
- Ajizah, A. 2004. *Sensitivitas Salmonella thypimyurium Terhadap Ekstrak Psidium guajava L. Bioscientiae Vol 1 No1 Januari*. Hal 31-38
- Al Qurthubi, Abu Abdillah Yusuf. 1989. *The Holy Quran Translation and Commentary*. Brentwood: Amana Corp.
- Ali, Muchtar. 2016. Konsep Mkanan Halal Dalam Tujuan Syariah dan Tanggung Jawab Produk Atas Produsen Indunstri Halal. *Ahkam*. Vol. xvi, No. 2
- Andrew WH, Flowers RS, Silliker J, Bailey SJ. 2001. *Staphylococcus aureus, Escherichia coli*. Di dalam: Downes FP, Ito K, editor. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food. Ed ke-4*. Washington: American Public Health Association
- Anggara, N. 2011. Kualitas daging ayam di pasar ditemukan proses pembusukan. http://surabaya.detik.com/read/2011/08/22/120227/1708157/466/ku_alitasdaging-ayam-di-pasar-ditemukan-proses-pembusukan. [Diakses pada tanggal 9 Maret 2017].
- Anggara, N. 2011. Kualitas daging ayam di pasar ditemukan proses pembusukan. http://surabaya.detik.com/read/2011/08/22/120227/1708157/466/ku_alitasdaging-ayam-di-pasar-ditemukan-proses-pembusukan. [Diakses pada tanggal 9 Maret 2017].
- Ardiansyah. 2016. Pertumbuhan *Salmonella Sp.* Dengan Variasi Konsentrasi Bawang Putih (*Allium Sativum*) Pada Telur Asin. *Skripsi*. Jurusan Ilmu Peternakan Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar
- Ariyanti, T., Supar. 2005. *Cemaran Salmonella Enteritidis pada Ternak dan Roduknya. Lokakarya Nasional Keamanan Pangan Produk Peternakan. Jurnal Penelitian*.
- Ath-Tahabari, Abu Ja'far Muhammad bin Jarir. 2009. *Tafsif Ath-Tabari. Terjemahan oleh Misbah*. Jakarta: Pustaka Azam

- Badan Standar Nasional. 2009. (SNI 01/7388/2009). *Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional
- Badan Standar Nasional. 2010. *Ayam Brioler (SNI 01-4258-2010)*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional
- Barus, Joyevan Giba., Purnama Edy Santosa, dan Dian Septinova. 2017. Pengaruh Lama Perendaman Dengan Menggunakan Larutan Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Sebagai Pengawet Terhadap *Total Plate Count* dan *Salmonella* Daging Broiler. *Jurnal Riset dan Inovasi Peternakan Vol 1(3):42-47*
- Black, J.M. and Jacobs, E.M. 1993. *Medical Surgical Nursing 4th Edition*. Philadelphia: Saunders Company
- Bone, K., and Mills, S., 2013, *Principles and Practice of Phytotherapy*, Second Edition, Churchill Livingstone Elsevier, New York.
- Brooks, G. F. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC
- Brooks, GF., Carrol, KC., Butel, JS., Morse., SA., Mietzner, TA. *Mikrobiologi Kedokteran*, In Jawetz, Melnick & Adelberg (Eds.). Jakarta: EGC. 2012
- Buckle, K.A. 2007. *Ilmu Pangan*. Jakarta: UI Press
- Buckle, K.A., R.A. Edwards, G.H. Fleet, and M. Wooton. 2009. *Ilmu Pangan*. Terjemahan Hari Purnomo dan Adiono. UI Press. Jakarta.
- Clark, J. M. 1964. *Experimental Biochemistr*. W. H. Freeman Company. USA
- D'Aoust JY. 2000. The microbiological safety and quality of food. *J Sci Food* 1(2):13-17.
- D'aoust, J. V. 2001. *Salmonella. Di dalam: Labbe' RG, Garcia S, editor. Guide to Foodborne Pathogens*. New York, A John Wiley & Sons, Inc., Publication.
- Dinas Peternakan Dan Kesehatan Hewan Pemerintah Lampung. Teknik Pengolahan Daging Ayam. www.disnakkeswan.lampungprov.go.id/pengolahan_ayam.pdf. Diakses Pada 20 Oktober 2014
- Dwidjoseputro. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan. Malang.

- Fatimah., Siti, Fitri Nadifah, Urfiyah Lisa Azizah. 2017. Pengaruh Angka Kuman pada Daging Ayam dengan Pemberian Peraturan Rimpang Lengkuas Putih (*Alpinia galangal Linn Swartz*). Jurnal Teknologi Laboratorium. Vol.6, No.1
- Forrest, J. C., E. D. Aberle, H. B. Hedrick, M. D. Judge, and R. A. Merkel. 1975. Principle of Meat Science. W. H. Freeman and Co. San Francisco.
- Frazier, W.C., dan D.C. Westhoff. 1998. Food microbiology 4th ed. Mc GrawHill Book Co. New Delhi.
- Gundogan, N. 2005. A Note on the Indicende and Antibiotic Resistance of *Staphylococcus aureus* Isolated from Meat and Chicken Samples. *Meat Science*. Volume 69
- Harlinawati, Y. 2006. Terapi Jus Untuk Kolesterol Dan Ramuan Cetakan ke- 1. Puspa Swara. Jakarta.
- Hendradjatin, A.A. 2009. Efek antibakteri infusa Daun Slam (*Eugenia polyantha*) secara in vitro terhadap *V. Cholera* dan *E.coli Entero pathogen*. Majalah Kedokteran Bandung 36 (2)
- Jawetz E., J. L. Melnick, E. A. Adelberg, G. F. Brooks, J. S. Butel, L. N. Ornston, 2005, Mikrobiologi Kedokteran, ed. 20, University of Califo
- Jawetz E., J. L. Melnick, E. A. Adelberg, G. F. Brooks, J. S. Butel, L. N. Ornston, 1995, Mikrobiologi Kedokteran, ed. 20. Jakarta: EGC.
- Kusuma, I. W., H. Kuspradini, E. T. Arung, F. Aryani, Y. Min, J. Kim, Y. Kim. 2011. Biological Activity and Phytochemical Analysis of Three Indonesian Medicinal Plants, *Murraya koenigii*, *Syzygium polyanthum* and *Zingiberpurpurea*. *J Acupunct Meridian Stud.*, 4(1):75-79.
- Kusumaningrum. A, P Widiyaningrum, I Mubarak. 2013. Penurunan Total Bakteri Daging Ayam Dengan Perlakuan Perendaman Infusa Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*). *Jurnal Mipa*. 36 (1): 14-19
- Lawrie. 1995. Ilmu Daging. Penerjemah Parakkasi. UI Press. Jakarta.
- Liliwirianis, N., N. L. W. Musa, W. Z. W. M. Zain, J. Kassim, dan S. A. Karim. 2011. Preliminary Studies on Phytochemical Screening of Ulam and Fruit from Malaysia. *E- Journal of Chemistry* 8 (S1).
- Malelak, Marlin Cindy Claudya. 2015. Tingkat Cemar *Staphylococcus aureus* pada Ikan Asin di Pasar Tradisional Kota Kupang. *Jurnal Kajian Veteriner*. Volume 3. Nomor 2

- Masita, I. A. 2015. *Deteksi Salmonella sp. pada Daging Sapi Di Pasar Tradisional dan Pasar Modern Di Kota Makassar*. Skripsi.
- Mukartini S, C. Jehne, B. Shay, C. M. L. Harfe. 1995. Microbiological status of beef carcass meat in Indonesia. *J Food Safety* 15: 291-303.
- Mukono. 2010. Pengaruh Kualitas Udara Dalam Ruangan Ber-Ac Terhadap Gangguan Kesehatan.
- Muliati, K., N. Harijani, dan T.V. Widiyatno. 2014. Potensi enzim protease dari *pediococcus pentosaceus* sebagai pengempuk dan gambaran histologist daging. *Jurnal Veterineria Medika*. 7 (3): 240 – 247.
- Murhadi., Suharyono., Susilawati. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanta*) dan Daun Panda (*Pandanus Amarylifolius*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan Universitas Lampung*. 2007;18(1).
- Nelson, D. L., dan M. M. Cox. 2005. *Lehninger: Principal of Biochemistry* 4th Edition. W.H. Freeman Company. New York
- Nickerson, J. T. and A. J. Sinskey. 1972. *Microbiology of foods and food processing*. American Elseiere Publishing Co. Inc New York.
- Nurchayati, E. (2014). *Khasiat Dahsyat Daun Salam*. Jakarta: Jendela Sehat
- Pelczar MJ dan Chan ECS. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi* (2). UI Press. Jakarta.
- Pinatih, G. N. I., N.T. Suryadhi, A. Santosa, dan I. K. G. Muliarta. 2011. Phytochemical Content and Antioxidant Activity In Tradisional Balinese Babi-Guling Spices.
- Pratiwi, Sylvia. T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Pura, E. A., K. Suradi, L. Suryaningsih. 2015. Pengaruh berbagai konsentrasi daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap daya awet dan akseptabilitas pada karkas ayam broiler. *Jurnal Ilmu Ternak*, 15 (2): 33-38.
- Putriana., Armenia Eka, Saifuddin Sirajuddin, Ulfa Najamuddin. 2017. Pengaruh Konsentrasi Garam Dan Lama Penyimpanan Terhadap Kandungan Mikroba Telur Asin. *Skripsi*. Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kesehatan Kota Makassar Universitas Hasanuddin
- Safitri, Edi. 2010. Keamanan Pangan dalam Perspektif Ormas Keagamaan di Indonesia (Studi Kasus di NTB dan Jogjakarta). *UNISIA*. Vol XXXIII. No 73

- Salehurrahman. 2009. Pengaruh Perasan Rimpang Kunyit (*Curcuma domesticae*) terhadap Total Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella* pada Tahu. *Skripsi*. Malang. Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Sams, R. A. 2001. *Poultry Meat Processing*. CRC Press. Texas.
- Sari, Y.D., (2006), *Uji Aktivitas Antibakteri Infusa daun Sirsak (Annona muricata L.) secara in vitro terhadap Staphylococcus aureus ATCC 25923 dan Escherichia coli 35218 serta Profil Kromatografi Lapis Tipis*, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.
- Sartika, Dewi. 2016. Identifikasi Cemaran *Salmonella* sp. pada Ayam Potong dengan Metode Kuantifikasi di Tiga Pasar Tradisional dan Dua Pasar Modern di Kota Bandar Lampung. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. Volume 21. Nomor 2
- Septianty, D., D.S. Sutardjo. R. L. Balia. 2016. Pengaruh konsentrasi perendaman sari daun salam (*syzygium polyanthum*) terhadap daya awet daging ayam petelur afkir. *Jurnal Ilmu Ternak*, 5 (4): 1-10.
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sholaikah, M. I. 2015. Profil Protein Jaringan Otot Daging Ayam Potong Pra-Penyembelihan *Electrical Stunning* dan *Non Electrical Stunning*. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri (UIN) Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Siagian A. 2002. Mikroba pathogen pada makanan dan sumber pencemarannya. *J Mikrobiologi*. FKM USU 1(2)
- Soeparno. 2005. *Ilmu dan Teknologi Daging. Edisi Ke-4*. Gadjah Mada. University Press, Yogyakarta.
- SPW, Herlinah. 2005. Sistem Induksi untuk Memproduksi Enzim Proteolitik Ekstra Selular oleh Sel *E.coli* Salah Satu Cara dalam Penanggulangan Limbah Tambak yang Berupa Protein Sedimen. *Jurnal Sains Kimia*. Vol. 9, NO. 2
- Suciari, Luh Kadek., Nyoman Mastra, Cok. Dewi Widhya HS. 2017. Perbedaan zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada Berbagai Konsentrasi Rebusan Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Secara In Vitro. *Meditory*. Vol. 5, No. 2,
- Sudarmadji, S. 2007. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty
- Suharti S., A. Banowati, W. Hermana dan K.G. Wiryawan. 2008. Komposisi dan kandungan kolesterol karkas ayam *broiler* diare yang diberi tepung

daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) dalam ransum. J Peternakan. 31(2)

Sukardi, A. R., Mulyarto, dan W. Safera. 2007. Optimasi Waktu Ekstrak Terhadap Kandungan Tanin Pada Bubuk Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium folium*) seta Biaya Produksinya. Jurnal Teknologi Pertanian. 8 (2)

Sumono A, Wulan A. Kemampuan air rebus daun salam (*Eugenia polyantha w*) dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *streptococcus sp.* Majalah Farmasi Indonesia, 20 (3), 112-7, 2009

Todar, K. 2002. *Todar's Online Textbook of Bacteriology; Streptococcus Pyogenes.* Department of Bacteriology Universitas of Wisconsin, Madison

Winarto, W. P. dan T. Karyasari. 2003. *Memfaatkan Bumbu Dapur untuk Mengatasi Aneka Penyakit.* Jakarta: AgroMedia Pustaka.

Winedar, H., Listyawati S., Sutarno. 2006. Daya Cerna Protein Pakan, Kandungan Protein Daging, dan Pertambahan Berat Badan Ayam Boiler setelah Pemberian Pakan Yang Difermentasi dengan Efefective Microorganims-4 (EM-4) Universitas Sebelas Maret (UNS). Surakarta. 3 (1)

Zahara, N. 2006. Pengaruh Ekstrak *Syzygium polyanthum* Terhadap Produksi Nitrit Oksida (NO) Makrofag Pada Mencit Balb/c Yang Diinokulasi *Salmonella typhimurium*. *Undergraduate thesis*, Faculty of Medicine.

Zulaikha, Siti Tomas. 2005. Analisis Faktor-Faktor yang Berhubungan Dengan Pencemaran Mikroba Pada Jamu Gendong Di Kota Semarang. *Tesis*. Program Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Penelitian

1. Data Jumlah Total Bakteri (TPC) pada Daging Ayam

Konsentrasi (K)	Lama Perendaman (L)	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-Rata (cfu/g)
0%	0 Jam	$3,5 \times 10^5$	4×10^5	$3,6 \times 10^5$	$3,7 \times 10^5$
50%		$2,4 \times 10^5$	3×10^5	$3,1 \times 10^5$	$2,8 \times 10^5$
75%		$2,7 \times 10^5$	1×10^5	3×10^5	$2,2 \times 10^5$
100%		$2,1 \times 10^5$	$1,8 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$	$1,8 \times 10^5$
0%	3 Jam	4×10^5	5×10^5	$4,7 \times 10^5$	$4,6 \times 10^5$
50%		6×10^4	6×10^4	4×10^4	$5,3 \times 10^4$
75%		1×10^4	2×10^4	$1,5 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$
100%		1×10^4	1×10^4	1×10^4	1×10^4
0%	6 Jam	5×10^5	5×10^5	6×10^5	$5,3 \times 10^5$
50%		$1,7 \times 10^5$	1×10^5	6×10^4	$1,1 \times 10^5$
75%		9×10^4	6×10^4	1×10^5	$8,3 \times 10^4$
100%		5×10^4	$5,7 \times 10^4$	$4,3 \times 10^4$	$4,2 \times 10^4$

2. Data Total Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Daging Ayam

Konsentrasi (K)	Lama Perendaman (L)	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-Rata (cfu/g)
0%	0 Jam	$1,9 \times 10^3$	1×10^3	$7,8 \times 10^2$	$1,2 \times 10^3$
50%		$6,7 \times 10^2$	$6,4 \times 10^2$	5×10^2	6×10^2
75%		$4,8 \times 10^2$	$4,3 \times 10^2$	4×10^2	$4,4 \times 10^2$
100%		3×10^2	3×10^2	$2,3 \times 10^2$	$2,8 \times 10^2$
0%	3 Jam	$2,2 \times 10^3$	$3,1 \times 10^3$	4×10^3	$3,1 \times 10^3$
50%		0	$2,5 \times 10^1$	0	8×10^0
75%		2×10^1	0	0	6×10^0
100%		0	1×10^1	0	3×10^0
0%	6 Jam	7×10^3	$6,4 \times 10^3$	$7,4 \times 10^3$	$6,9 \times 10^3$
50%		$2,6 \times 10^3$	3×10^3	$3,2 \times 10^3$	$2,9 \times 10^3$
75%		$2,1 \times 10^3$	$2,8 \times 10^3$	$2,4 \times 10^3$	$2,4 \times 10^3$
100%		$1,2 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$

3. Data Total Bakteri *Escherichia coli* pada Daging Ayam

Konsentrasi (K)	Lama Perendaman (L)	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-Rata (cfu/g)
0%	0 Jam	$7,8 \times 10^1$	1×10^2	1×10^2	$9,3 \times 10^1$
50%		5×10^1	0	$4,4 \times 10^1$	$3,1 \times 10^1$
75%		$3,5 \times 10^1$	0	4×10^1	$2,5 \times 10^1$
100%		$2,6 \times 10^1$	0	$2,7 \times 10^1$	$1,8 \times 10^1$
0%	3 Jam	$2,9 \times 10^2$	4×10^2	$3,2 \times 10^2$	$3,4 \times 10^2$
50%		0	$4,7 \times 10^1$	0	$1,5 \times 10^1$
75%		0	3×10^1	0	1×10^1
100%		0	$1,8 \times 10^1$	0	6×10^0
0%	5 Jam	$7,6 \times 10^2$	8×10^2	$8,4 \times 10^2$	8×10^2
50%		$3,1 \times 10^2$	$2,8 \times 10^2$	$2,7 \times 10^2$	$2,9 \times 10^2$
75%		$1,6 \times 10^2$	2×10^2	$1,3 \times 10^2$	$1,6 \times 10^2$
100%		$1,3 \times 10^2$	$1,1 \times 10^2$	$1,4 \times 10^2$	$1,3 \times 10^2$

4. Data Total Bakteri *Salmonella* sp. pada Daging Ayam

Konsentrasi	Lama Perendaman	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-Rata (cfu/g)
0%	0 Jam	0	0	0	0
50%		0	0	0	0
75%		0	0	0	0
100%		0	0	0	0
0%	3 Jam	0	0	0	0
50%		0	0	0	0
75%		0	0	0	0
100%		0	0	0	0
0%	6 Jam	1×10^2	$1,2 \times 10^2$	1×10^2	1×10^2
50%		6×10^1	$7,7 \times 10^1$	$6,4 \times 10^1$	7×10^1
75%		$4,4 \times 10^1$	$5,6 \times 10^1$	$4,6 \times 10^1$	5×10^1
100%		3×10^1	$3,6 \times 10^1$	$2,1 \times 10^1$	3×10^1

➤ Contoh Perhitungan Total Bakteri:

Jumlah koloni pada cawan = 30

Faktor pengenceran = $10^{-5} \times 1$ ml

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Total Bakteri} &= \text{Jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \text{ cfu/g} \\
 &= 30 \times \frac{1}{10^{-5}} \text{ cfu/g} \\
 &= 3 \times 10^6 \text{ cfu/g}
 \end{aligned}$$

5. Nilai Absorbansi Sampel Daging Ayam

Konsentrasi (K)	Lama Perendaman (L)	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
0%	0 Jam	0,086	0,093	0,090
50%		0,077	0,079	0,081
75%		0,077	0,077	0,075
100%		0,076	0,075	0,076
0%	3 Jam	0,078	0,069	0,074
50%		0,075	0,070	0,070
75%		0,069	0,070	0,073
100%		0,069	0,069	0,070
0%	6 Jam	0,078	0,070	0,070
50%		0,065	0,065	0,063
75%		0,062	0,064	0,062
100%		0,061	0,062	0,062

6. Data Kadar Protein pada Daging Ayam

Konsentrasi (K)	Lama Perendaman (L)	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-Rata (%)
0%	0 Jam	16,9	17,2	17,5	17,2
50%		17,2	17,5	17,2	17,3
75%		17,5	17,3	17,5	17,4
100%		17,5	17,3	18,4	17,7
0%	3 Jam	17,5	17,2	9,7	14,8
50%		17,9	18,1	18,4	18,1
75%		18,4	17,9	18,4	18,2
100%		18,4	18,4	18,9	18,6
0%	6 Jam	9,7	10,8	10,3	10,3
50%		16	15,5	15,4	15,6
75%		15,8	15,7	16,4	16
100%		16,1	16,6	17,3	16,7

Pembuatan Larutan BSA (*Bovin Serum Albumin*):

$$\text{Larutan BSA} = \frac{20 \text{ mg}}{4 \text{ ml}} = \frac{20000 \mu\text{g}}{4 \text{ ml}} = 5000 \text{ ppm}$$

Perhitungan Kurva Standar:

- Konsentrasi 50 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 5000 = 10 \times 50$$

$$V_1 = \frac{500}{5000}$$

$$V_1 = 0,1 \text{ ml BSA dalam } 3,9 \text{ ml aquades}$$

- Konsentrasi 100 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 5000 = 10 \times 100$$

$$V_1 = \frac{1000}{5000}$$

$$V_1 = 0,2 \text{ ml BSA dalam } 3,8 \text{ ml aquades}$$

- **Konsentrasi 200 ppm**

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 5000 = 10 \times 200$$

$$V_1 = \frac{2000}{5000}$$

$$V_1 = 0,4 \text{ ml BSA dalam } 3,6 \text{ ml aquades}$$

- **Konsentrasi 300 ppm**

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 5000 = 10 \times 300$$

$$V_1 = \frac{3000}{5000}$$

$$V_1 = 0,6 \text{ ml BSA dalam } 3,4 \text{ ml aquades}$$

- **Konsentrasi 400 ppm**

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 5000 = 10 \times 400$$

$$V_1 = \frac{4000}{5000}$$

$$V_1 = 0,8 \text{ ml BSA dalam } 3,2 \text{ ml aquades}$$

- **Konsentrasi 500 ppm**

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 5000 = 10 \times 500$$

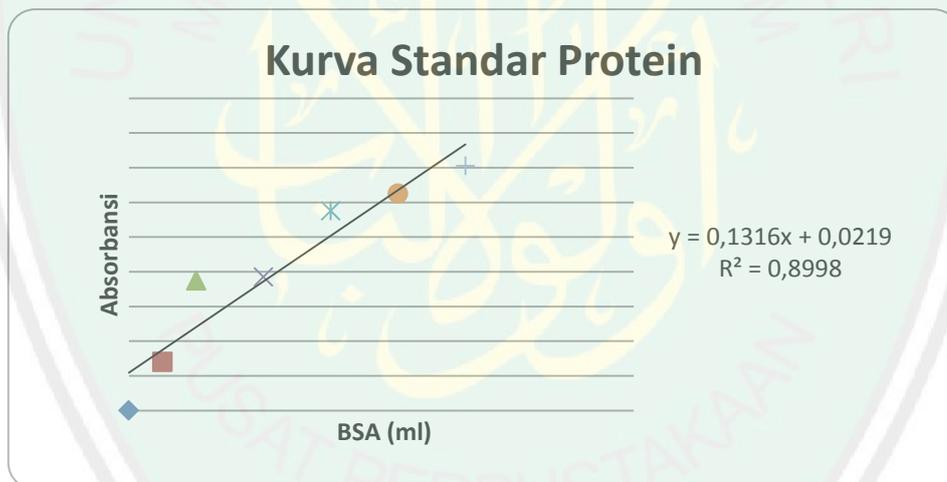
$$V_1 = \frac{5000}{5000}$$

$$V_1 = 1 \text{ ml BSA dalam } 3 \text{ ml aquades}$$

Nilai Absorbansi BSA (*Bovin Serum Albumin*)

Konsentrasi BSA (mg/ml)	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
0,1	0,141	0,141	0,141	0,141
0,2	0,115	0,127	0,132	0,125
0,4	0,123	0,126	0,095	0,115
0,6	0,069	0,084	0,078	0,077
0,8	0,080	0,091	0,056	0,075
1	0,044	0,005	0,034	0,028

Grafik Kurva Standar Protein



Perhitungan Kadar Protein Sampel

Rumus Perhitungan Kadar Protein:

- Konsentrasi Protein (x) = $\frac{\text{Absorbansi sampel}(y) - 0,0219}{0,1316}$
- Konsentrasi Sampel = $\frac{\text{Massa} \times 1000 \text{ (mg)}}{20 \text{ (ml)}}$
- Kadar Protein (%) = $\frac{\text{Konsentrasi Protein}}{\text{Konsentrasi sampel}} \times \text{fp} \times 100\%$

Contoh:

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi Protein} &= \frac{\text{Absorbansi sampel} - 0,0219}{0,1316} \\ &= \frac{0,086 - 0,0219}{0,1316} \end{aligned}$$

$$= 0,4871$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi Sampel} &= \frac{\text{Massa} \times 1000 \text{ (mg)}}{20 \text{ (ml)}} \\ &= \frac{1 \times 1000 \text{ (mg)}}{20 \text{ (ml)}} \end{aligned}$$

$$= 50$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar Protein (\%)} &= \frac{\text{Konsentrasi Protein}}{\text{Konsentrasi sampel}} \times \text{fp} \times 100\% \\ &= \frac{0,4871}{50} \times 10 \times 100\% \\ &= 9,7\% \end{aligned}$$

Lampiran 2. Hasil SPSS

1. Hasil SPSS Total Bakteri (TPC)

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:JumlahTPC

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.050E12 ^a	13	8.079E10	37.952	.000
Intercept	1.406E12	1	1.406E12	660.574	.000
Konsentrasi	8.056E11	3	2.685E11	126.144	.000
Lama Perendaman	1.036E11	2	5.179E10	24.328	.000
Konsentrasi * LamaPerendaman	1.397E11	6	2.329E10	10.941	.000
Ulangan	1.382E9	2	6.910E8	.325	.726
Error	4.683E10	22	2.129E9		
Total	2.503E12	36			
Corrected Total	1.097E12	35			

a. R Squared = .957 (Adjusted R Squared = .932)

JumlahTPC

Duncan

interaksi	N	Subset							
		1	2	3	4	5	6	7	8
K3L1	3	1.00E4							
K2L1	3	1.50E4	1.50E4						
K3L2	3	4.23E4	4.23E4	4.23E4					
K1L1	3	5.33E4	5.33E4	5.33E4					
K2L2	3		8.33E4	8.33E4					
K1L2	3			1.10E5					
K3L0	3				1.83E5				
K2L0	3				2.23E5	2.23E5			
K1L0	3					2.83E5			
K0L0	3						3.70E5		
K0L1	3							4.57E5	
K0L2	3								5.33E5
Sig.		.294	.101	.104	.289	.117	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 203705555.556.

2. Hasil SPSS Total Bakteri *Staphylococcus aureus*

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:JumlahSA

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.354E8 ^a	13	1.041E7	69.424	.000
Intercept	9.365E7	1	9.365E7	624.264	.000
Konsentrasi	5.677E7	3	1.892E7	126.136	.000
LamaPerendaman	5.923E7	2	2.962E7	197.417	.000
Konsentrasi * LamaPerendaman	1.926E7	6	3210747.935	21.403	.000
Ulangan	127326.056	2	63663.028	.424	.659
Error	3300279.944	22	150012.725		
Total	2.323E8	36			
Corrected Total	1.387E8	35			

a. R Squared = .976 (Adjusted R Squared = .962)

JumlahSA

Duncan

interaksi	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
K3L1	3	3.33					
K2L1	3	6.66					
K1L1	3	8.33					
K3L0	3	276.67	276.67				
K2L0	3	436.67	436.67				
K1L0	3		603.33				
K0L0	3			1226.67			
K3L2	3			1400.00			
K2L2	3				2433.33		
K1L2	3				2933.33	2933.33	
K0L1	3					3100.00	
K0L2	3						6933.33
Sig.		.218	.328	.579	.118	.594	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 142816.917.

3. Hasil SPSS Total Bakteri *Escherichia coli*

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:JumlahEC

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.755E6 ^a	13	135000.848	167.282	.000
Intercept	913617.361	1	913617.361	1.132E3	.000
Konsentrasi	770912.750	3	256970.917	318.416	.000
LamaPerendaman	630376.389	2	315188.194	390.554	.000
Konsentrasi * LamaPerendaman	352489.167	6	58748.194	72.796	.000
Ulangan	1232.722	2	616.361	.764	.478
Error	17754.611	22	807.028		
Total	2686383.000	36			
Corrected Total	1772765.639	35			

a. R Squared = .990 (Adjusted R Squared = .984)

JumlahEC

Duncan

interaksi	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
K3L1	3	6.00					
K2L1	3	10.00					
K1L1	3	15.67					
K3L0	3	17.67					
K2L0	3	25.00					
K1L0	3	31.33					
K0L0	3		92.67				
K3L2	3		126.67	126.67			
K2L2	3			163.33			
K1L2	3				286.67		
K0L1	3					336.67	
K0L2	3						800.00
Sig.		.341	.152	.123	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 791.139.

4. Hasil SPSS Total Bakteri *Salmonella* sp.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:JumlahSal

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	41614.278 ^a	13	3201.098	158.752	.000
Intercept	15792.111	1	15792.111	783.178	.000
Konsentrasi	3284.111	3	1094.704	54.290	.000
LamaPerendaman	31584.222	2	15792.111	783.178	.000
Konsentrasi * LamaPerendaman	6568.222	6	1094.704	54.290	.000
Ulangan	177.722	2	88.861	4.407	.025
Error	443.611	22	20.164		
Total	57850.000	36			
Corrected Total	42057.889	35			

a. R Squared = .989 (Adjusted R Squared = .983)

JumlahSal

Duncan

interaksi	N	Subset				
		1	2	3	4	5
K0L0	3	.00				
K1L0	3	.00				
K2L0	3	.00				
K3L0	3	.00				
K0L1	3	.00				
K1L1	3	.00				
K2L1	3	.00				
K3L1	3	.00				
K3L2	3		29.00			
K2L2	3			48.67		
K1L2	3				67.00	
K0L2	3					106.67
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 25.889.

5. Hasil SPSS Kadar Protein

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:kadarprotein

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	169.636 ^a	13	13.049	6.920	.000
Intercept	9794.401	1	9794.401	5.194E3	.000
Konsentrasi	71.343	3	23.781	12.612	.000
LamaPerendaman	62.349	2	31.174	16.533	.000
Konsentrasi * LamaPerendaman	35.127	6	5.854	3.105	.023
Ulangan	.817	2	.409	.217	.807
Error	41.483	22	1.886		
Total	10005.520	36			
Corrected Total	211.119	35			

a. R Squared = .804 (Adjusted R Squared = .687)

Kadarprotein

Duncan

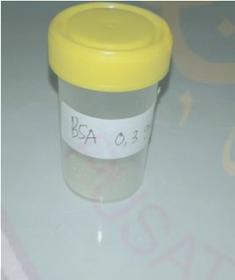
interaksi	N	Subset				
		1	2	3	4	5
K0L2	3	10.267				
K0L1	3		14.800			
K1L2	3		15.633	15.633		
K2L2	3		15.967	15.967	15.967	
K3L2	3		16.667	16.667	16.667	16.667
K0L0	3		17.200	17.200	17.200	17.200
K1L0	3		17.300	17.300	17.300	17.300
K2L0	3			17.433	17.433	17.433
K3L0	3			17.733	17.733	17.733
K1L1	3			18.133	18.133	18.133
K2L1	3				18.233	18.233
K3L1	3					18.567
Sig.		1.000	.051	.056	.081	.141

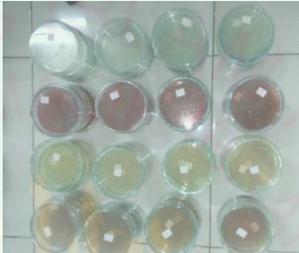
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1.763.

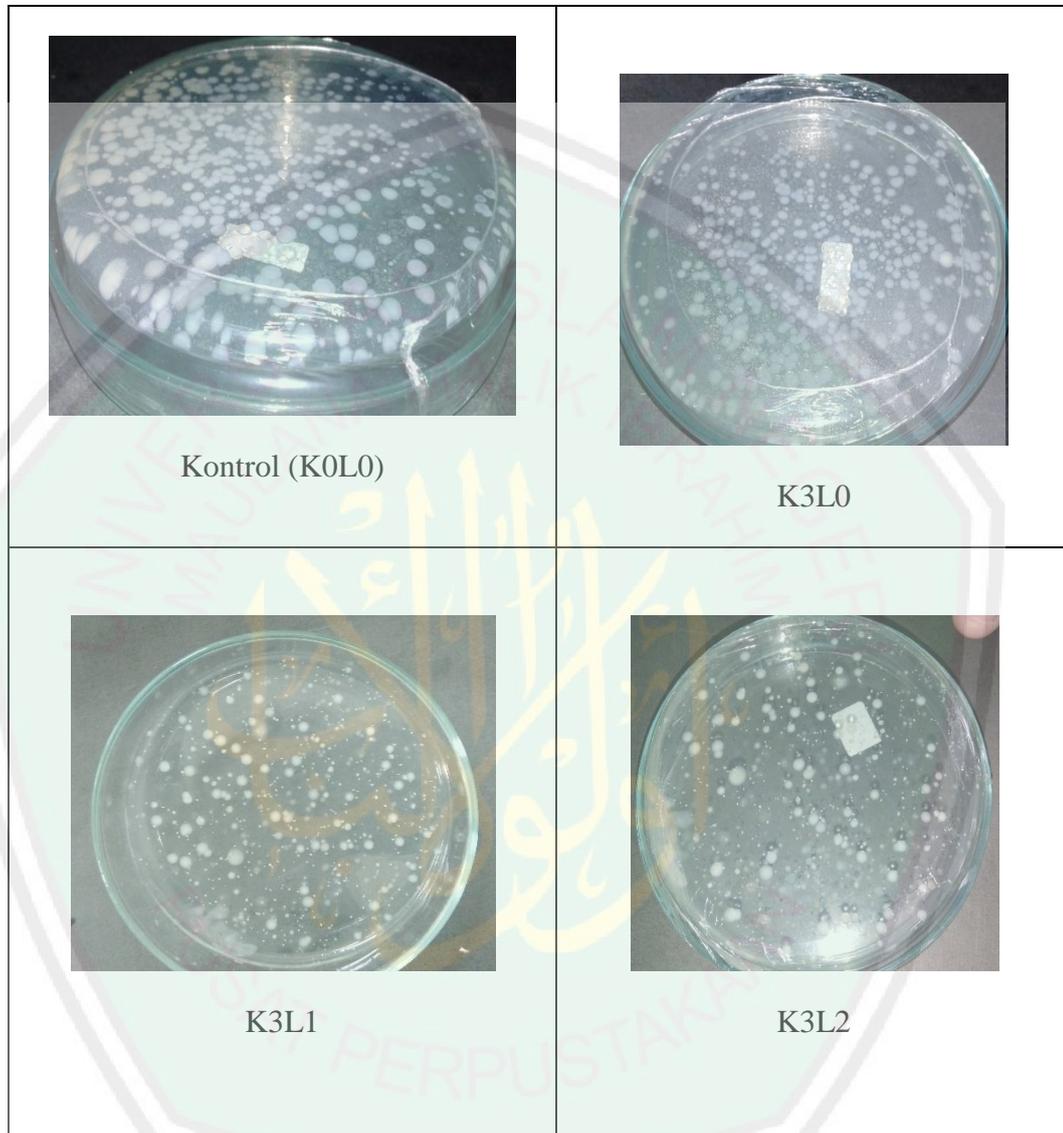
Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian

 <p>Media PCA</p>	 <p>Media EMBA</p>	 <p>Media SSA</p>
 <p>Media BPW</p>	 <p>Media MSA</p>	 <p>Daging ayam</p>
 <p>BSA</p>	 <p>Biuret</p>	 <p>Daun Salam</p>
 <p>Penimbangan daging ayam</p>	 <p>Perendaman daging ayam</p>	 <p>Pengenceran bertingkat</p>

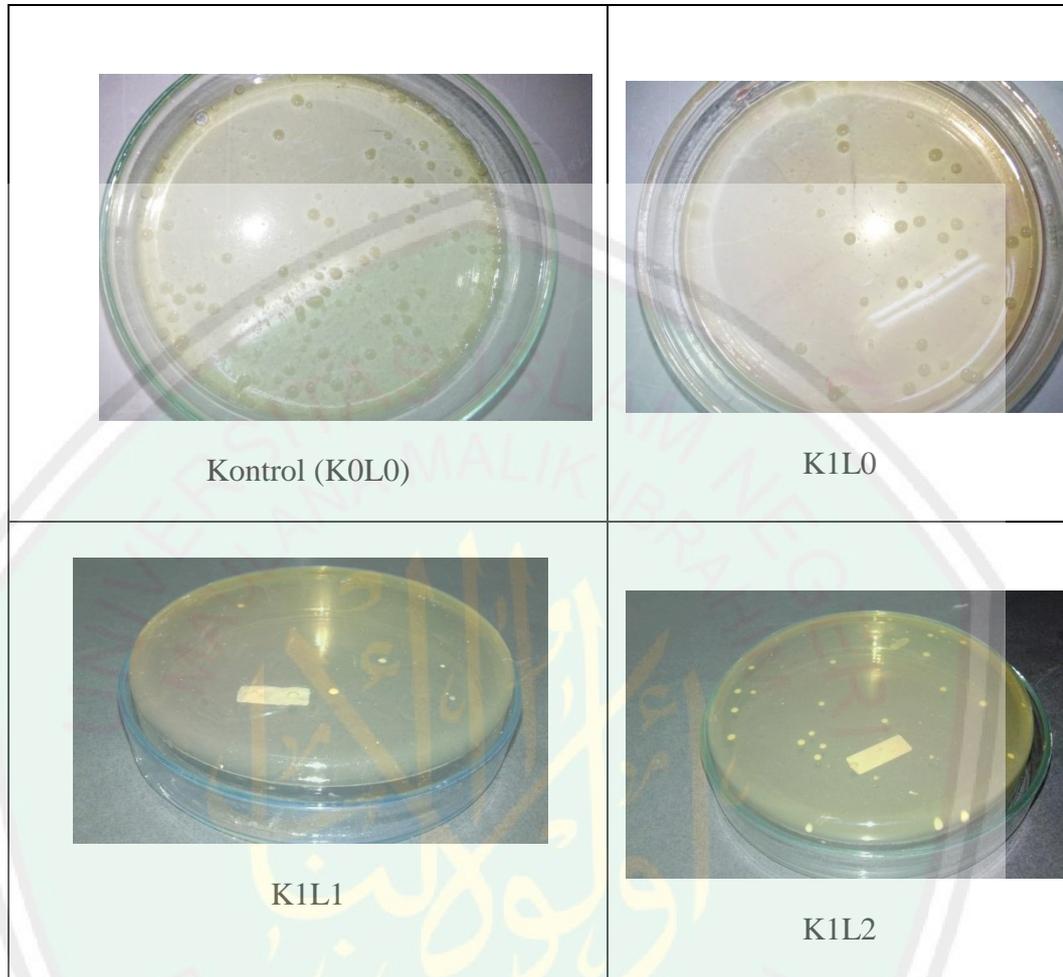
 <p>Penghomogenan sampel</p>	 <p>Inokulasi sampel</p>	 <p>Penuangan media</p>
 <p>Inkubasi</p>	 <p>Perhitungan total bakteri</p>	 <p>Pembuatan larutan standar protein</p>
 <p>Penghalusan daging ayam</p>	 <p>Penambahan biuret pada sampel</p>	 <p>Perhitungan absorbansi</p>

Lampiran 4. Gambar Hasil Penelitian

1. *Total Plate Count (TPC)*



2. *Staphylococcus aureus*



3. *Escherichia coli*



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Nashirotul Ulya
NIM : 14620024
Program Studi : Biologi
Semester : Ganjil TA. 2018/2019
Pembimbing : Ir. Liliek Harianie AR, M.P
Judul Skripsi : Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Larutan Infusa Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap Total Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., dan Kadar Protein pada Daging Ayam

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	TTD. Pembimbing
1.	21 Maret 2018	Konsultasi Bab I	1. H
2.	6 April 2018	Konsultasi Bab II	2. H
3.	2 Mei 2018	Konsultasi Bab III	3. H
4.	25 September 2018	Konsultasi Bab IV	4. H
5.	29 Oktober 2018	Revisi Bab IV	5. H
6.	2 November 2018	Revisi Bab IV	6. H
7.	22 November 2018	Konsultasi Bab V	7. H
8.	3 Desember 2018	Revisi Bab IV dan V	8. H
9.	21 Desember 2018	ACC Keseluruhan	9. H

Pembimbing Skripsi,

Ir. Liliek Harianie AR, M.P
NIP. 19620901 199803 2 001

Malang, 21 Desember 2018



Romaidi, Si., D.Sc
NIP. 19810201 200901 1019



**KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI**

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Nashirotul Ulya
 NIM : 14620024
 Program Studi : S1 Biologi
 Semester : Ganjil TA. 2018/2019
 Pembimbing : Umayiyatus Syarifah, M.A
 Judul Skripsi : Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Larutan Infusa Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap Total Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., dan Kadar Protein pada Daging Ayam

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	TTD. Pembimbing
1.	24 April 2018	Konsultasi Bab I	1.
2.	3 Mei 2018	Konsultasi Bab II	2.
3.	28 Novemver 2018	Konsultasi Bab I, II, dan III	3.
4.	7 Desember 2018	Konsultasi Bab IV	4.
5.	14 Desember 2018	ACC Bab I, II, dan IV	5.

Pembimbing Skripsi,

Umayiyatus Syarifah, M.A.
NIP. 19820925 200901 2 005

Malang, 21 Desember 2018



Romdhoni M. S., D. Sc.
NIP. 196201200901 1 019