

**PENGARUH KONSENTRASI DAN LAMA PERENDAMAN SARI BUAH
BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP TOTAL
BAKTERI *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp.
DAN KADAR PROTEIN PADA DAGING AYAM**

SKRIPSI

Oleh:

**HERLINA NUR CAHYANI
NIM.14620042**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

**PENGARUH KONSENTRASI DAN LAMA PERENDAMAN SARI BUAH
BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP TOTAL
BAKTERI *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp.
DAN KADAR PROTEIN PADA DAGING AYAM**

SKRIPSI

Oleh :
HERLINA NUR CAHYANI
NIM. 14620042

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

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

**PENGARUH KONSENTRASI DAN LAMA PERENDAMAN SARI BUAH
BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP TOTAL
BAKTERI *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp.
DAN KADAR PROTEIN PADA DAGING AYAM**

SKRIPSI

Oleh:
HERLINA NUR CAHYANI
NIM. 14620042

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 14 November 2018

Dosen Pembimbing I

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

Dosen Pembimbing II

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

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



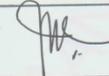
Bismillah, M.Si. D.Sc
NIP. 19810201 200901 1 019

**PENGARUH KONSENTRASI DAN LAMA PERENDAMAN SARI BUAH
BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP TOTAL
BAKTERI *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp.
DAN KADAR PROTEIN PADA DAGING AYAM**

SKRIPSI

Oleh:
HERLINA NUR CAHYANI
NIM. 14620042

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 14 November 2018

Penguji Utama	<u>Dr.Hj. Ulfah Utami, M.Si</u> NIP. 19650509 199903 2 002	
Ketua Penguji	<u>Nur Kusmiyati, M.Si</u> NIP. 19890816 20160801 2 061	
Sekretaris Penguji	<u>Ir. Liliek Harianie AR, M.P</u> NIP. 19620901 199803 2 001	
Anggota Penguji	<u>Umaiyatus Svarifah, M.A</u> NIP. 19820925 200901 2 005	



Mengotahui,
Ketua Jurusan Biologi

Romaidi, M.Si, D.Sc
NIP. 19810201 20090 1 019

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Herlina Nur Cahyani

NIM : 14620042

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Skripsi : Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Sari Buah

Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) 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 sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil 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, 2 November 2018

Yang membuat pernyataan,



Herlina Nur Cahyani
NIM. 14620042

MOTTO

خَيْرُ النَّاسِ أَنْفَعُهُمْ لِلنَّاسِ

“Sebaik-Baik Manusia Adalah Yang Paling Bermanfaat Bagi Orang Lain”

(HR. Thabrani dan Daruquthni)

“Jika kau melihat ada seseorang yang mengunggulimu dalam urusan dunia, maka unggulilah dia dalam urusan akhirat.

Sungguh, dunia mereka akan hilang dan akhirat akan kekal”

(Hasan Al-Bashri)

“Ilmu itu bukan yang dihafal, akan tetapi yang memberi manfaat”

(Imam Syafi’i)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Segala puji syukur saya ucapkan kepada Allah SWT, Tuhan semesta alam karena atas ridho dan karunia-Nya telah memberikan kesempatan yang sangat mulia kepada hamba-hambaNya untuk terus berfikir, berdzikir, dan beramal saleh yang merupakan kenikmatan luar biasa dari-Nya. Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah membawa umatnya menuju jaman yang penuh ilmu pengetahuan.

Karya yang penuh dengan perjuangan ini tidak akan selesai jika tanpa dukungan serta doa dari orang-orang tercinta. Karya ini dipersembahkan penulis sebagai rasa terimakasih yang mungkin tidak bisa membalas apa yang telah diberikan baik secara moral maupun material. Kepada orang tua penulis yaitu Bapak Hariono dan Ibu Arlikah yang telah mendoakan, memberikan kasih sayang, dan memberikan dukungan setiap harinya. Kepada Mas Taufiq Suahya dan Mas Rudi Prastya yang juga telah membantu serta selalu memberi semangat untuk menyelesaikan karya ini. Selanjutnya, kepada keluarga besar Biologi angkatan 2014, teman-teman Biologi B, Srikandi squad (Mother Ana, Yanti, Umay, Anita), teman-teman Mikrobiologi, serta partner penelitian (Anita dan Uul), terimakasih telah menjadi sahabat sekaligus keluarga yang telah mendukung dan menjadi tempat berbagi suka maupun duka.

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamu 'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Penulis ucapkan syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Total Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan Kadar Protein pada Daging Ayam”. Selanjutnya, shalawat serta salam semoga selalu terlimpahkan kepada Nabi Muhammad SAW, yang telah membimbing kita dari zaman kegelapan menuju zaman yang penuh ilmu pengetahuan.

Penyusunan skripsi ini tentu tidak lepas dari bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak, sehingga dengan hormat penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si, D.Sc selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Kholifah Holil, M.Si selaku dosen wali yang telah memberikan semangat dan motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan perkuliahan ini.

5. Ir. Liliek Harianie AR, M.P selaku Dosen Pembimbing I yang dengan penuh kesabaran dan keikhlasan telah banyak memberikan ilmu, bimbingan, arahan, dan motivasi kepada penulis hingga terselesainya penulisan skripsi ini.
6. Umairyatus Syarifah, M.A selaku Dosen Pembimbing II bidang integrasi sains dan Islam yang telah banyak memberikan ilmu dan pemahaman agama Islam selama bimbingan hingga terselesainya penulisan skripsi ini.
7. Dr.Hj. Ulfah Utami, M.Si dan Nur Kusmiyati M.Si selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan kritik yang membangun hingga terselesaikannya skripsi ini.
8. Segenap Bapak dan Ibu Dosen, Laboran Jurusan Biologi, serta Staf Jurusan Biologi yang telah banyak membantu dan memberikan ilmu yang bermanfaat.

Semoga kebaikan-kebaikan yang telah diberikan selama ini dibalas oleh Allah SWT dan hasil penulisan skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada para pembaca, masyarakat umum, dan khususnya bagi penulis secara pribadi.

Wassalamu 'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Malang, 2 November 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
ABSTRAK	xvii
ABSTRACT	xviii
الملخص.....	xix
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	10
1.3 Tujuan	10
1.4 Hipotesis	10
1.5 Batasan Masalah	10
1.6 Manfaat Penelitian.....	11
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Daging Ayam	12
2.1.1 Definisi Daging Ayam.....	12
2.1.2 Komponen Gizi Daging Ayam.....	13
2.1.3 Batas Kontaminasi Mikroorganisme pada Daging Ayam	14

2.1.4 Dampak Keberadaan Bakteri pada Daging Ayam.....	14
2.1.5 Faktor Pertumbuhan Mikroorganisme pada Bahan Pangan	18
2.2 Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.).....	22
2.2.1 Morfologi Buah Belimbing Wuluh.....	23
2.2.2 Kandungan Buah Belimbing Wuluh	24
2.2.3 Manfaat Belimbing Wuluh	26
2.3 <i>Escherichia coli</i>	27
2.3.1 Morfologi <i>Escherichia coli</i>	28
2.3.2 Patogenesis <i>Escherichia coli</i>	30
2.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	31
2.4.1 Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	31
2.4.2 Patogenesis <i>Staphylococcus aureus</i>	33
2.5 <i>Salmonella</i> sp.	34
2.5.1 Morfologi <i>Salmonella</i> sp.	34
2.5.2 Patogenesis <i>Salmonella</i> sp.	35
2.6 <i>Total Plate Count</i>	36
2.7 Antibakteri.....	38
2.7.1 Definisi Antibakteri	38
2.7.2 Mekanisme Antibakteri	38
2.7.3 Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Antibakteri	42
2.8 Kadar Protein	44
 BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Rancangan penelitian	48
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	49
3.3 Variabel Penelitian	49
3.3.1 Variabel Bebas	49
3.3.2 Variabel Terikat	49
3.3.3 Variabel Terkontrol	49
3.4 Alat dan Bahan.....	50
3.4.1 Alat.....	50
3.4.2 Bahan	50
3.5 Prosedur Penelitian	50
3.5.1 Pembuatan Media.....	50

3.5.1.1 Pembuatan Media <i>Buffer Pepton Water</i> (BPW).....	50
3.5.1.2 Pembuatan Media <i>Plate Count Agar</i> (PCA)	51
3.5.1.3 Pembuatan Media <i>Eosin Methylen Blue Agar</i> (EMBA).....	51
3.5.1.4 Pembuatan Media <i>Mannitol Salt Agar</i> (MSA)	52
3.5.1.5 Pembuatan Media <i>Salmonella Shigella Agar</i> (SSA).....	52
3.5.2 Sterilisasi Alat dan Bahan	52
3.5.3 Preparasi Sari Buah Belimbing Wuluh	53
3.5.4 Pengujian Sari Buah Belimbing Wuluh terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , dan <i>Salmonella sp</i>	53
3.5.5 Pengujian <i>Total Plate Count</i> (TPC) pada Daging Ayam.....	54
3.5.5.1 Pengujian Total Plate Count (TPC).....	54
3.5.5.2 Pengujian Total Bakteri <i>Escherichia coli</i>	54
3.5.5.3 Pengujian Total Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	55
3.5.5.4 Pengujian Total Bakteri <i>Salmonella sp.</i>	56
3.6 Uji Kadar Protein Daging Ayam	57
3.6.1 Pembuatan Kurva Standar	57
3.6.2 Penetapan Kadar Protein dalam Sampel	57
3.7 Analisis Data	58

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.) dan Lama Perendaman terhadap Jumlah Total Bakteri, Total Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella sp.</i> dan Kadar Protein pada Daging Ayam.....	59
4.1.1 Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.) dan Lama Perendaman terhadap Jumlah Total Bakteri pada Daging Ayam	59
4.1.2 Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.) dan Lama Perendaman terhadap Total Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> pada Daging Ayam	65
4.1.3 Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.) dan Lama Perendaman terhadap Total Bakteri <i>Escherichia coli</i> pada Daging Ayam	70
4.1.4 Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.) dan Lama Perendaman terhadap Total Bakteri <i>Salmonella sp.</i> pada Daging Ayam	75
4.1.5 Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i>) dan Lama Perendaman terhadap Kadar Protein pada Daging Ayam.....	79

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan..... 88

5.2 Saran 88

DAFTAR PUSTAKA89

DAFTAR LAMPIRAN 101



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Buah Belimbing Wuluh.....	23
Gambar 2.2 Koloni <i>Escherichia coli</i> pada media EMBA.....	29
Gambar 2.3 Koloni <i>Staphylococcus aureus</i> pada media MSA.....	32
Gambar 2.4 Koloni <i>Salmonella</i> sp. pada media SSA.....	35
Gambar 2.5 Mekanisme bahan antimikroba terhadap bakteri Gram positif dan Gram Negatif.....	40
Gambar 4.1 Grafik Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.) dan Lama Perendaman terhadap Jumlah Total Bakteri pada Daging Ayam.....	59
Gambar 4.2 Grafik Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.) dan Lama Perendaman terhadap Total Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> pada Daging Ayam.....	66
Gambar 4.3 Grafik Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.) dan Lama Perendaman terhadap Total Bakteri <i>Escherichia coli</i> pada Daging Ayam.....	71
Gambar 4.4 Grafik Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.) dan Lama Perendaman terhadap Total Bakteri <i>Salmonella</i> sp. pada Daging Ayam.....	75
Gambar 4.5 Grafik Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.) dan Lama Perendaman terhadap Kadar Protein pada Daging Ayam.....	80

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Gizi Berbagai Jenis Daging Hewan Ternak	13
Tabel 2.2 Komposisi Zat Gizi dalam 100 gram Daging Ayam.....	13
Tabel 2.3 Batas Maksimal Cemar Mikroba pada Daging Ayam	14
Tabel 2.4 Kandungan Gizi Buah Belimbing Wuluh	24
Tabel 2.5 Kandungan Senyawa Organik Buah Belimbing Wuluh	24
Tabel 3.1 Kombinasi Konsentrasi dan Lama Perendaman Sari Buah Belimbing Wuluh	48



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Penelitian	101
Lampiran 2. Hasil Analisis SPSS.....	107
Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian.....	112
Lampiran 4. Gambar Hasil Penelitian	114



Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Total Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan Kadar Protein pada Daging Ayam

Herlina Nur Cahyani, Ir. Liliek Harianie AR, M.P, Umayiyatus Syarifah, M.A

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi dan lama perendaman sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap total bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan kadar protein pada daging ayam. Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan 2 faktor perlakuan dan 3 kali ulangan. Faktor pertama adalah konsentrasi sari buah belimbing wuluh yaitu 0%, 40%, 60%, dan 80%. Faktor kedua adalah lama perendaman yaitu selama 0 jam, 5 jam, dan 10 jam. Parameter yang diukur adalah TPC, total bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan kadar protein. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *Analysis Of Variance* (ANOVA) dan jika terdapat pengaruh nyata maka dilakukan uji lanjut dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan lama perendaman berpengaruh terhadap total bakteri (TPC), *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan kadar protein pada daging ayam. Perlakuan yang efektif untuk menurunkan jumlah total bakteri yaitu K3L1 dengan nilai $3,3 \times 10^4$ cfu/g, untuk *Staphylococcus aureus* yaitu K1L1 dengan nilai $2,3 \times 10^1$ cfu/g, untuk *Escherichia coli* yaitu K1L0 dengan nilai 0 cfu/g, untuk *Salmonella* sp. yaitu K0L0 dengan nilai 0 cfu/g dan untuk kadar protein yaitu K0L0 dengan nilai 10,3%.

Kata Kunci : Konsentrasi, lama perendaman, buah belimbing wuluh, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., kadar protein, daging ayam

The Effect of Concentration and Soaking Time of Starfruit Juice (*Averrhoa bilimbi* L.) on Total Bacteria *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. and Protein Content in Chicken Meat

Herlina Nur Cahyani, Ir. Liliek Harianie AR, M.P, Umaiatus Syarifah, M.A

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the effect of concentration and soaking time of starfruit juice (*Averrhoa bilimbi* L.) on total bacteria *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. and protein content in chicken meat. This study used a randomized block design with 2 treatment factors and 3 replications. The first factor is the concentration of starfruit juice, which is 0%, 40%, 60%, and 80%. The second factor is the soaking time, which is 0 hours, 5 hours, and 10 hours. The parameters measured were TPC, total bacteria *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. and protein content. The data obtained were analyzed using Analysis Of Variance (ANOVA) and if there was a real influence then further testing was done by Duncan Multiple Range Test (DMRT) at the level of 5%. The results showed that the concentration of the starfruit juice (*Averrhoa bilimbi* L.) and soaking time affected the total bacteria (TPC), *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. and protein content in chicken meat. The effective treatment to reduce the total number of bacteria is K3L1 with a value of $3,3 \times 10^4$ cfu/g, for *Staphylococcus aureus* namely K1L1 with a value of $2,3 \times 10^1$ cfu/g, for *Escherichia coli* namely K1L0 with a value of 0 cfu/g, for *Salmonella* sp. namely K0L0 with a value of 0 cfu/g and for protein content namely K0L0 with a value of 10,3%.

Keywords: Concentration, soaking time, star fruit, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., protein content, chicken meat

تأثير التركيز وطول الانغمار لفاكهة النجمة وولوح (*Averrhoa bilimbi* L.) على إجمال
البكتيريا *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *Salmonella sp.* ومستويات
البروتين في لحم الدجاج

هيرلينا نور جهياني ، ليليك هرياني، الماجستير، أمية الشريفة، الماجستير

ملخص البحث

يهدف هذا البحث إلى تحديد تأثير التركيز وطول الانغمار لفاكهة النجمة وولوح (*Averrhoa bilimbi* L.) على إجمال البكتيريا *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *Salmonella sp.* ومستويات البروتين في لحم الدجاج. استخدم هذا البحث تصميم العشوائي الكامل (RBD) مع 2 علاجين و 3 مكررات. العامل الأول هو تركيز الفاكهة النجمة وولوح يعنى 0% و 40% و 60% و 80%. العامل الثاني هو طول الانغمار لمدة 0 ساعة و 5 ساعات و 10 ساعات. الملعومات هي TPC إجمال البكتيريا *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *Salmonella sp.* ومستويات البروتين. حلت البيانات باستخدام تحليل التباين (ANOVA) وإذا كان هناك تأثير حقيقي ، فاستمر بإجراء اختبار آخر من خلال اختبار *Duncan Multiple Range Test (DMRT)* في مستوى 5%. دلت النتائج أن التركيز وطول الانغمار لفاكهة النجمة وولوح (*Averrhoa bilimbi* L.) يؤثر على إجمال البكتيريا (TPC)، *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *Salmonella sp.* ومحتوى البروتين في لحم الدجاج. العلاج الافعال لتخفيض اجمال للبكتيريا هو K3L1 بقيمة $3,3 \times 10^4$ cfu /غرام، *Staphylococcus aureus* هو K1L1 بقيمة $2,3 \times 10^1$ cfu /غرام ، *Escherichia coli* هو K1L0 بقيمة 0 cfu /غرام ، *Salmonella sp.* هو K0L0 بقيمة 0 cfu /غرام ومحتوى البروتين هو K0L0 بقيمة 10.3%

الكلمات الرئيسية: التركيز ، طول الانغمار، الفاكهة النجمة ، *Staphylococcus aureus* ، *Escherichia coli*، *Salmonella sp.*، محتوى البروتين ، لحم الدجاج

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Daging ayam merupakan salah satu bahan pangan asal ternak unggas. Beberapa kelebihan daging ayam daripada daging ternak lainnya yaitu daging ayam mengandung berbagai macam nilai gizi yang tinggi dengan harga relatif lebih murah. Selain itu, karakteristik dan rasa daging ayam bisa diterima oleh semua umur dan seluruh lapisan masyarakat. Daging ayam juga mudah diolah menjadi berbagai macam produk olahan yang bernilai tinggi. Selain itu, tidak ada larangan dalam agama apapun untuk mengonsumsi daging ayam (Prayitno, 2010). Oleh sebab itu, daging ayam banyak disukai oleh masyarakat sehingga permintaannya selalu meningkat setiap tahunnya.

Produksi daging ayam di Indonesia mengalami peningkatan sejak tahun 2013 hingga 2016. Hal ini berdasarkan data BPS (2016), bahwa produksi daging ayam pada periode 2013-2016 secara berturut-turut antara lain 1,49 juta ton meningkat menjadi 1,54 juta ton, kemudian menjadi 1,62 juta ton dan meningkat lagi menjadi 1,9 juta ton pada tahun 2016. Peningkatan produksi daging ayam juga diimbangi dengan peningkatan konsumsi daging ayam oleh masyarakat. Berdasarkan data SUSENAS tahun 2011-2015, konsumsi daging ayam Indonesia rata-rata sebesar 4,03 kg/kapita/tahun dan perkembangan konsumsi daging ayam per kapita masyarakat Indonesia terus meningkat sebesar 7,44% per tahun (BPS,

2016). Oleh karena permintaan daging ayam yang terus meningkat, maka perlu adanya penyediaan daging ayam yang cukup serta berkualitas baik.

Daging ayam yang berkualitas baik memiliki warna putih kekuningan dan bersih, bau spesifik daging dan tidak amis, tidak ada sisa darah, serta teksturnya tidak lembek (SNI, 2010). Selain itu, daging ayam juga harus memenuhi standar yang ditetapkan pemerintah mengenai batas maksimal cemaran mikroba pada daging. Namun masalahnya, daging ayam memiliki sifat mudah rusak oleh cemaran mikroorganisme. Hal tersebut dikarenakan daging ayam mengandung kadar air dan protein sangat tinggi sehingga dapat menjadi media pertumbuhan mikroorganisme yang baik (Soeparno, 2005). Beberapa mikroorganisme yang dapat mencemari daging ayam antara lain *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* sp. (Gustiani, 2009).

Escherichia coli merupakan mikroflora normal dalam saluran pencernaan bawah hewan. Bakteri ini dapat mengkontaminasi daging ayam ketika proses pemotongan dan pada tahap pengeluaran organ dalam (*eviscerating*). Selama eviserasi, mikroorganisme yang berada di dalam saluran pencernaan hewan dapat berpindah ke daging ayam melalui tangan pekerja atau pisau (Supardi, 1999). Kontaminasi *Escherichia coli* enterohemoragik (EHEC) dalam jumlah 10^1 - 10^3 dapat menyebabkan penyakit pada manusia (Naim, 2004).

Staphylococcus aureus merupakan mikroflora utama pada kulit hewan. Selain itu, bakteri ini juga dapat dibawa oleh manusia melalui tangan, rongga hidung dan tenggorokan. Keberadaan *Staphylococcus aureus* pada daging ayam mengindikasikan adanya kontaminasi langsung antara daging ayam dengan tangan

pekerja yang tidak higienis atau melalui bersin dan batuk (Gundogan, 2005). Kontaminasi *Staphylococcus aureus* dalam jumlah $>10^5$ menyebabkan intoksikasi atau keracunan makanan (Naim, 2004).

Salmonella sp. merupakan bakteri patogen yang banyak mengkontaminasi bahan pangan melalui udara, air, tanah, sisa kotoran hewan atau makanan hewan (Arifah, 2010). Penelitian Aerita (2014) menunjukkan bahwa kontaminasi *Salmonella* sp. ada hubungannya dengan sanitasi air dan peralatan. *Salmonella* sp. dapat mencemari ayam sejak dari lingkungan peternakan hingga proses penyembelihan (Sartika, 2016). Penelitian Aftab (2012) menunjukkan bahwa bakteri *Salmonella* sp. mengkontaminasi daging ayam melalui lantai tempat penyembelihan dan alat penyembelihan. Kontaminasi *Salmonella* sp. dalam jumlah $<10^3$ dapat menyebabkan penyakit (Naim, 2004).

Menurut SNI 01/7388/2009, batas maksimal cemaran mikroba dalam bahan makanan asal hewan (daging) antara lain *Total Plate Count* maksimal 1×10^6 CFU/g, *Staphylococcus aureus* maksimal 1×10^2 CFU/g, dan *Escherichia coli* maksimal 1×10^1 CFU/g dan *Salmonella* sp. negatif per 25 gram. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui tingkat cemaran mikroba pada daging ayam. Sebagaimana penelitian yang dilakukan Arif (2011) pada daging yang dijual di Pasar Dinoyo, Pasar Blimbing, dan Pasar Besar Malang masing-masing mempunyai rata-rata TPC sebesar $2,81 \times 10^7$ CFU/gram; $3,53 \times 10^7$ CFU/gram; dan $3,34 \times 10^7$ CFU/gram. Selanjutnya, hasil penelitian Sasmita (2014) menunjukkan bahwa rata-rata jumlah cemaran *Escherichia coli* pada daging ayam di 4 swalayan Kota Denpasar sebesar $11,6 \times 10^3$ CFU/gram.

Kemudian, hasil penelitian Ibrahim (2017) pada 24 sampel daging ayam yang diperoleh dari 4 pasar tradisional di Kota Makassar menunjukkan bahwa sebanyak 65,8% atau 18 sampel daging ayam telah tercemar bakteri *Staphylococcus aureus* dengan nilai cemaran maksimal $1,5 \times 10^4$ CFU/gram. Sementara itu, Hasrawati (2017) melaporkan bahwa 10 dari 24 sampel daging ayam (41%) yang dijual di Pasar Tradisional Kota Makassar positif tercemar *Salmonella* sp. Berdasarkan beberapa penelitian tersebut, dapat diketahui bahwa cemaran mikroba pada daging ayam di beberapa pasar telah melebihi SNI yang ditetapkan pemerintah.

Pertumbuhan cemaran mikroorganisme pada daging ayam dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Salah satunya yaitu faktor ekstrinsik, misalnya lokasi yang mempunyai suhu dan kelembaban yang berbeda akan mempengaruhi tinggi rendahnya cemaran mikroorganisme pada bahan pangan. Selain itu, faktor intrinsik seperti nilai a_w juga akan berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroorganisme. Nilai a_w menunjukkan jumlah air bebas yang dapat digunakan oleh mikroorganisme untuk proses metabolismenya. Bahan pangan yang memiliki a_w tinggi apabila diletakkan pada lingkungan yang kelembabannya rendah dapat mengalami dehidrasi sehingga akan menurunkan nilai a_w dan selanjutnya dapat menghambat pertumbuhan mikroba (Soeparno, 2005).

Untuk mengatasi masalah tingginya cemaran mikroba yang menyebabkan daging ayam mudah rusak, sebagian penjual menggunakan bahan tambahan untuk mengawetkan daging ayam. Hal tersebut sebenarnya diperbolehkan apabila menggunakan bahan tambahan alami yang tidak berbahaya bagi kesehatan. Namun, masalah baru kemudian muncul karena adanya penambahan bahan kimia

yang dilarang penggunaannya, yaitu formalin. Sebagaimana PerMenkes RI No.1168/Menkes/PER/X/1999 tentang bahan tambahan makanan, disebutkan bahwa formalin merupakan bahan tambahan yang dilarang penggunaannya.

Formalin adalah larutan yang mengandung 37% formaldehid dalam air dan umumnya ditambahkan methanol hingga 15% sebagai pengawet. Beberapa dampak negatif apabila formalin masuk ke saluran pencernaan yaitu mengakibatkan nyeri hebat disertai inflamasi, nekrosis membran mukosa, ulserasi, muntah, diare, kejang, bahkan kematian apabila penggunaannya mencapai ± 30 ml. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk memonitoring penggunaan formalin pada daging ayam. Tahun 2013, Suwartiningsih melakukan penelitian di Pasar Tradisional Semarang dan menunjukkan bahwa sebanyak 35% dari 40 sampel daging ayam yang dijual positif formalin. Selanjutnya, Ayucecharia (2017) melakukan penelitian di Pasar Lama Wilayah Banjarmasin dan melaporkan bahwa 70% dari 10 sampel daging ayam positif mengandung formalin. Berdasarkan beberapa penelitian tersebut, dapat diketahui bahwa penggunaan formalin masih dilakukan meskipun telah dilarang oleh pemerintah.

Beberapa penanganan yang biasa dilakukan masyarakat untuk mengawetkan daging ayam yaitu menyimpan daging dalam lemari es yang bersuhu $1,6^{\circ}\text{C}$ - $4,4^{\circ}\text{C}$ yang dapat mempertahankan daging sampai 5 hari atau dengan cara membekukan daging (Sumoprastowo, 2000). Akan tetapi, penyimpanan dalam freezer akan memperlunak dan mengurangi cita rasa daging. Selain itu, proses kerusakan daging secara ilmiah juga masih berlangsung. Semua mikroorganisme yang berada pada daging tetap hidup dan akan aktif kembali saat daging dikeluarkan

dari freezer (Saraswati, 2015). Oleh sebab itu, diperlukan cara alternatif dari bahan alami yang dapat menurunkan cemaran mikroorganisme. Allah SWT berfirman dalam QS. asy-Syu'araa (26): 7 sebagai berikut:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik”.

Menurut al-Maraghi (1993), lafadz زَوْجٍ artinya macam dan lafadz كَرِيمٍ artinya yang mulia dari segala sesuatu. Selanjutnya, menurut al-Jazairi (2007) lafadz زَوْجٍ artinya jenis dan كَرِيمٍ artinya yang indah bentuknya. Sementara itu, menurut Muhammad (2003) lafadz زَوْجٍ كَرِيمٍ artinya tumbuh-tumbuhan yang baik. Kemudian, menurut al-Qarni (2007) lafadz زَوْجٍ كَرِيمٍ memiliki makna tanaman yang indah lagi berguna.

Berdasarkan beberapa tafsir dari QS. asy-Syu'araa (26): 7 di atas, lafadz زَوْجٍ كَرِيمٍ menjelaskan bahwa Allah SWT telah menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan yang mulia atau tumbuhan yang baik. Tumbuhan yang mulia atau baik artinya tumbuhan yang berguna atau tumbuhan yang dapat memberikan manfaat bagi makhluk hidup lainnya. Salah satu tanaman yang bermanfaat bagi manusia yaitu belimbing wuluh yang dapat digunakan sebagai antibakteri.

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) merupakan jenis tanaman tropis yang dapat berbuah sepanjang tahun. Selain itu, tanaman ini juga mudah tumbuh di halaman rumah atau di ladang karena tidak memerlukan perawatan khusus. Setiap kali panen, tanaman ini menghasilkan sekitar 100-300 buah per pohon. Akan tetapi, kemampuannya untuk berbuah tersebut belum sebanding dengan

pemanfaatannya. Hal tersebut dikarenakan rasanya yang masam sehingga tidak banyak dikonsumsi orang sehari-hari. Biasanya buah belimbing wuluh digunakan sebagai penyedap masakan atau pengganti asam jawa (Tohir, 1981). Selain itu, terkadang buah belimbing wuluh juga digunakan sebagai obat tradisional seperti obat batuk, sariawan, dan gusi berdarah (Wijayakusuma, 2008).

Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) memiliki berbagai macam kandungan nutrisi antara lain protein, fosfat, zat besi, karoten, tiamin, riboflavin, niasin dan asam askorbat (vitamin C). Selain itu buah belimbing wuluh juga mengandung berbagai senyawa yaitu flavonoid, triterpenoid, alkaloid, dan tanin serta asam organik seperti asam sitrat dan asam oksalat yang menyebabkan rasa buah belimbing wuluh menjadi asam (Robiyah, 2013). Sementara itu, berdasarkan penelitian Lathifah (2008) menunjukkan bahwa flavonoid merupakan golongan senyawa aktif dari ekstrak terbaik buah belimbing wuluh yang berpotensi sebagai antibakteri.

Untuk memaksimalkan penggunaan suatu antibakteri, ada beberapa faktor yang harus diperhatikan yaitu konsentrasi dan lama perendaman. Menurut Pelczar (2008), konsentrasi antibakteri yang tinggi mengandung senyawa antibakteri yang tinggi, sehingga bakteri yang terbunuh semakin banyak. Selain itu, lama perendaman yang pendek memungkinkan waktu kontak antibakteri terhadap bakteri juga pendek sehingga bakteri tidak dapat terbunuh, melainkan hanya terhambat. Sebagaimana penelitian yang dilakukan oleh Tilawah (2012) menunjukkan bahwa filet ikan tuna yang direndam dalam sari buah belimbing wuluh konsentrasi 80% efektif terhadap jumlah koloni bakteri. Selanjutnya,

penelitian Septini (2017) menunjukkan bahwa perasan buah belimbing wuluh pada konsentrasi 50% mampu membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian Fajriyah (2015) menunjukkan bahwa sari buah belimbing wuluh dengan konsentrasi 35% efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Selanjutnya, Nakyinsige (2016) melaporkan bahwa daging ayam yang direndam dengan sari buah belimbing wuluh selama 4 dan 9 jam perendaman tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri, sedangkan daging ayam yang tidak direndam jumlah bakterinya tinggi yaitu 8×10^6 CFU/g. Selain itu, penelitian Maryam (2015) menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah belimbing wuluh pada konsentrasi 0,4% juga mampu memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Vibrio cholerae*. Oleh sebab itu, buah belimbing wuluh sangat potensial untuk dimanfaatkan sebagai antibakteri.

Penggunaan sari buah belimbing wuluh sebagai antibakteri dikhawatirkan dapat mengubah nilai gizi bahan pangan karena sifatnya yang asam. Menurut Ophart (2003), sifat asam atau basa merupakan salah satu penyebab terjadinya denaturasi protein. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh perendaman buah belimbing wuluh terhadap kadar protein bahan pangan. Penelitian Wikanta (2010) menunjukkan bahwa penambahan perasan buah belimbing wuluh dengan konsentrasi 80% hanya menurunkan kadar protein sebesar 0,76% dari kadar protein asal 23,205 g% menjadi 23,028 g%. Sementara itu, komposisi asam amino pada berbagai perlakuan tidak mengalami perubahan. Selanjutnya, penelitian Shantika (2014) menunjukkan bahwa perendaman daging

ayam selama 20 menit pada sari belimbing wuluh dan disimpan pada suhu 4°C, baru mengalami perubahan kadar protein pada penyimpanan hari kedua. Berdasarkan beberapa penelitian tersebut menunjukkan bahwa sari buah belimbing wuluh tidak menurunkan kadar protein bahan pangan secara nyata.

Beberapa penelitian juga telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh perendaman buah belimbing wuluh terhadap organoleptik daging ayam. Hasil penelitian Widiyaningsih (2009) menyatakan bahwa perendaman daging ayam dalam ekstrak belimbing wuluh memberikan pengaruh nyata terhadap keempukan, tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap aroma. Penelitian Hertanto (2012) menunjukkan bahwa penambahan belimbing wuluh tidak berpengaruh nyata terhadap nilai aroma dan nilai rasa dendeng. Berdasarkan beberapa penelitian tersebut dapat diketahui bahwa buah belimbing wuluh tidak mempengaruhi organoleptik daging ayam. Oleh sebab itu, buah belimbing wuluh dapat digunakan sebagai salah satu alternatif antibakteri terhadap cemaran mikroba pada daging.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka penulis berinisiatif menggunakan sari buah belimbing wuluh untuk menurunkan cemaran mikroba. Selain itu, uji protein juga dilakukan untuk memastikan bahwa perendaman sari buah belimbing wuluh tidak mempengaruhi kadar protein daging ayam. Penelitian sebelumnya hanya menunjukkan pengaruh konsentrasi dan lama perendaman sari buah belimbing wuluh terhadap TPC. Oleh sebab itu, penelitian tentang Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Sari Buah Belimbing Wuluh terhadap Kadar Protein dan Total Bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. pada Daging Ayam perlu diteliti lebih lanjut.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu:

Apakah ada pengaruh konsentrasi dan lama perendaman sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap total bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan kadar protein pada daging ayam?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi dan lama perendaman sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap total bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan kadar protein pada daging ayam.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

Ada pengaruh konsentrasi dan lama perendaman sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap total bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan kadar protein pada daging ayam.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Buah belimbing wuluh yang digunakan dalam penelitian ini diambil di Kecamatan Lowokwaru Kabupaten Malang.
2. Variasi konsentrasi yang digunakan yaitu 0%, 40%, 60%, dan 80%.

3. Lama perendaman selama 0 jam, 5 jam, dan 10 jam.
4. Perlakuan konsentrasi 0% yaitu perlakuan yang menggunakan aquades, sedangkan lama perendaman 0 jam yaitu perlakuan yang hanya dilakukan pencelupan.
5. Sampel daging ayam yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Tempat Penjualan Ayam di Jalan Raya Jetis, Mulyoagung, Dau, Malang.
6. Parameter yang diamati adalah total bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan kadar protein pada daging ayam.

1.6 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi tentang pengaruh konsentrasi dan lama perendaman sari buah belimbing wuluh terhadap total bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan kadar protein pada daging ayam.
2. Memberikan solusi aplikatif kepada masyarakat bahwa sari buah belimbing wuluh dapat mengurangi cemaran mikroba pada daging ayam.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daging Ayam

2.1.1 Definisi Daging Ayam

Allah SWT berfirman dalam QS. al-Waqiah (56): 21 sebagai berikut:

وَلَحْمِ طَيْرٍ مِّمَّا يَشْتَهُونَ

Artinya: *“Dan daging burung apapun yang mereka inginkan”*.

Menurut al-Qarni (2007), lafadz لَحْمِ طَيْرٍ artinya daging burung. Hal tersebut sebagaimana pendapat al-Jazairi (2007), bahwa lafadz لَحْمِ artinya daging dan lafadz طَيْرٍ artinya burung. Selanjutnya, menurut az-Zuhaili (2013), lafadz لَحْمِ طَيْرٍ merupakan daging burung yang mudah dikunyah dan lezat rasanya.

Berdasarkan beberapa tafsir QS. al-Waqiah (56): 21 diatas, lafadz لَحْمِ طَيْرٍ menjelaskan secara spesifik tentang daging burung yang dapat dimakan dan mempunyai rasa yang lezat. Kelompok burung yang dapat dimanfaatkan dagingnya untuk dimakan disebut unggas. Salah satu hewan unggas yang paling sering dikonsumsi manusia yaitu daging ayam.

Daging ayam merupakan salah satu bahan makanan asal ternak unggas (Risnajati, 2010). Saat ini masyarakat lebih banyak mengonsumsi daging ayam broiler karena beberapa kelebihan yang dimiliki yaitu, kandungan gizi yang tinggi sehingga mampu memenuhi kebutuhan nutrisi tubuh, harga yang relatif murah, dagingnya yang lebih tebal, serta memiliki tekstur yang lebih lembut (Kasih, 2012).

2.1.2 Komponen Gizi Daging Ayam

Daging ayam merupakan produk asal ternak unggas yang mengandung berbagai nilai gizi. Dilihat dari segi mutunya, kandungan gizi daging ayam lebih tinggi daripada hewan ternak lainnya (Anggordi, 1994). Berikut ini tabel kandungan gizi berbagai jenis daging hewan ternak:

Tabel 2.1 Kandungan Gizi Berbagai Jenis Daging Hewan Ternak

Hewan Ternak	Protein (%)	Lemak (%)	Kolesterol (mg/100gr)	Kalori (Kkal/100gr)
Kambing	22	3,	75	144
Sapi	22	6,5	72	180
Kerbau	21	1,9	62	138
Ayam	16-23	7	62	135
Bebek	19,9	4,25	89	180

Sumber: Anggordi (1994)

Daging ayam mengandung gizi dan nutrisi yang lengkap sehingga kebutuhan gizi orang dewasa akan terpenuhi apabila mengkonsumsi daging setidaknya 100 gram per hari (Arif, 2011). Berikut ini zat yang terkandung dalam daging ayam:

Tabel 2.2 Komposisi Zat Gizi dalam Daging Ayam

Komponen Gizi	Jumlah	Komponen Gizi	Jumlah
Kalori	302 kal	Fosfor	200 mg
Protein	18,2-25 g	Besi	1,5 mg
Lemak	25 g	Vitamin A	278 mg
Karbohidrat	0 mg	Vitamin B1	0,08 mg
Kalsium	14 mg	Air	55,9 g

Sumber: Depkes (1996)

2.1.3 Batas Kontaminasi Bakteri pada Daging Ayam

Daging ayam merupakan bahan makanan asal hewan yang bersifat *perishable food* yaitu makanan yang mudah rusak dan busuk (Purnawijayanti, 2001). Daging menjadi media pertumbuhan mikroorganisme yang baik karena mengandung kadar air yang tinggi dan kaya akan kandungan nutrisi. Kontaminasi daging dimungkinkan terjadi sejak awal penyembelihan hewan ternak hingga daging siap dikonsumsi. Kontaminasi daging bermula dari mikroba yang masuk ke peredaran darah ketika penyembelihan menggunakan alat yang tidak bersih (Soeparno, 2005). Berikut ini batas maksimal cemaran mikroba pada daging ayam berdasarkan SNI 01/7388/2009:

Tabel 2.3 Batas Maksimal Cemaran Mikroba pada Daging Ayam

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

Sumber: Badan Standarisasi Nasional (2009)

2.1.4 Dampak Keberadaan Bakteri pada Daging Ayam

Ciri – ciri daging ayam yang segar menurut (SNI 01 -4258-2010), antara lain adalah sebagai berikut: (a) warna daging ayam putih kekuningan cerah (tidak gelap, tidak pucat, tidak kebiruan, tidak terlalu merah); (b) warna kulit ayam putih kekuningan, cerah, mengkilat dan bersih. tanpa memar dan bersih dari bulu jarum dan bulu halus; (c) baunya khas aroma daging ayam (tidak ada bau menyengat,

tidak berbau amis, tidak berbau busuk); (d) konsistensi otot dada dan paha kenyal, elastis (tidak lembek); (e) bagian dalam karkas dan serabut otot berwarna putih agak pucat, serta tidak ada sisa-sisa darah pada pembuluh darah dan sayap.

Kualitas mikrobiologi daging ayam sangat bergantung pada status fisiologis pada saat pemotongan hewan, kontaminasi pada saat pemotongan dan *processing*, suhu saat penyimpanan dan distribusi. Permukaan daging yang baru disembelih umumnya mengandung bakteri sekitar 10^2 - 10^4 cfu/g. Setelah hewan disembelih, kontaminasi mikroorganisme dapat berasal dari saluran pencernaan hewan, permukaan luar hewan atau lingkungan, misalnya melalui udara, kontak oleh manusia, kontak antar karkas, dan alat-alat penyembelihan (Nychas, 2000).

Jumlah mikroorganisme awal pada daging ayam akan meningkat seiring dengan semakin lamanya waktu penyimpanan pada suhu ruang. Hal ini disebabkan daging ayam mempunyai pH mendekati netral, dan kaya akan zat nutrisi, sehingga merupakan media yang baik bagi pertumbuhan mikroorganisme. Pertumbuhan mikroorganisme akan terus berlangsung secara cepat sehingga berpotensi mengalami pembusukan (Suradi, 2012).

Daging ayam yang mengandung jumlah mikroba yang tinggi akan lebih cepat mengalami proses pembusukan. Pembusukan terjadi akibat dekomposisi protein oleh bakteri yang menghasilkan senyawa-senyawa yang berbau busuk seperti H_2S , indol, dan ammonia. Pada daging unggas, indikasi awal pembusukan pada daging segar adalah bau busuk yang timbul karena pertumbuhan mikroba mencapai jumlah $2,5 \times 10^6$ - 1×10^8 cfu/g dan akan muncul lendir saat jumlah

mikroorganisme sebesar 1×10^7 - 6×10^7 cfu/g (Buckle, 2007). Adapun beberapa parameter kebusukan pada daging antara lain (Ho, 2004):

1. Perubahan bau

Perubahan bau menjadi busuk disebabkan oleh bakteri yang memecah protein menjadi senyawa yang lebih sederhana, sehingga menghasilkan senyawa-senyawa berbau busuk seperti ammonia, H_2S , dan senyawa lainnya.

2. Pembentukan lendir

Pembentukan lendir dapat terjadi jika jumlah mikroba menjadi jutaan atau ratusan juta sel atau lebih per 1 cm luas permukaan daging serta disebabkan oleh produksi dekstran dan eksopolisakarida.

3. Perubahan rasa

Perubahan rasa daging ayam menjadi asam dan pahit karena pertumbuhan bakteri pembentuk asam dan senyawa pahit serta terjadi ketengikan yang disebabkan pemecahan atau oksidasi lemak daging.

4. Perubahan warna

Warna daging sangat bergantung pada keberadaan pigmen mioglobin dan hemoglobin. Daging ayam segar yang berwarna putih kekuning-kuningan dapat berubah menjadi kecoklatan karena jumlah pigmen mioglobin tersebut berkurang atau mengalami oksidasi.

5. Perubahan tekstur

Aktivitas mikroorganisme selama penyimpanan mengakibatkan terjadinya dekomposisi senyawa kimia daging. Pada saat dekomposisi, jaringan - jaringan bagian dalam akan cepat mengalami penguraian. Sebagai contoh, proses

katabolisme glikogen yang menghasilkan penumpukan asam laktat mengakibatkan pH turun. Turunnya pH dapat menyebabkan pengerutan fibril dan protein kehilangan kemampuan mengikat cairan sehingga tekstur daging menjadi menjadi longgar, lembek, dan berair.

6. Terbentuknya atau akumulasi gas yang disebabkan oleh produksi CO₂, H₂, H₂S
7. Akumulasi cairan yang disebabkan oleh pecahnya struktur penahan hidrasi pada daging.

Jumlah mikroba yang tinggi pada daging ayam akan mengakibatkan penurunan mutu serta memperpendek masa simpan daging. Menurut Antika (2013), daging ayam yang disimpan dalam suhu ruang menunjukkan awal pembusukan pada jam ke-7 penyimpanan. Selanjutnya, menurut Suradi (2012) penyimpanan daging kerbau pada suhu kamar selama 12 jam sudah mendekati kebusukan dan penyimpanan selama 18 jam sudah dinyatakan busuk serta tidak layak dikonsumsi. Sementara itu, masa simpan daging sapi pada penyimpanan suhu ruang yaitu maksimal selama 17 jam 42 menit.

Total koloni bakteri pada daging ayam juga dapat menurunkan kadar protein karena salah satu faktor yang dibutuhkan oleh bakteri untuk pertumbuhannya adalah protein. Pertumbuhan bakteri akan mempercepat denaturasi protein sehingga kadar protein akan menurun. Bakteri dapat memecah molekul-molekul kompleks dan zat-zat organik seperti polisakarida, lemak dan protein menjadi unit yang lebih sederhana (Hafriyanti, 2008).

2.1.5 Faktor Pertumbuhan Mikroorganisme pada Bahan Pangan

Setiap bahan pangan mengandung mikroorganisme yang jenis dan jumlahnya berbeda. Berikut ini faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dalam bahan pangan (Soeparno, 2005):

1. Faktor intrinsik, yaitu faktor yang berasal dari sifat bahan pangan itu sendiri.

a. Aktifitas air atau *Water Activity* (a_w)

Aktifitas air (a_w) adalah jumlah air bebas yang dapat digunakan oleh mikroorganisme untuk proses metabolismenya. Setiap bahan makanan mempunyai nilai a_w yang berbeda. Bakteri memerlukan a_w lebih tinggi dibandingkan khamir dan kapang yaitu sekitar 0,95-0,99. Kemudian khamir membutuhkan a_w yang lebih rendah daripada bakteri tetapi lebih tinggi dari kapang, sekitar 0,88– 0,94. Selanjutnya kapang memerlukan a_w paling rendah yaitu sekitar 0,62. Oleh karena khamir atau kapang mempunyai nilai a_w yang lebih rendah daripada bakteri, maka bahan pangan yang lebih kering cenderung untuk mengalami kerusakan akibat khamir atau kapang (Soeparno, 2005).

b. Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman suatu larutan ditunjukkan oleh pH-nya. Bakteri bertahan hidup, tumbuh, dan berkembang biak pada suatu kisaran pH yang berada diantara pH minimum dan pH maksimal. pH optimum adalah pH pertumbuhan bakteri yang paling baik dan cepat. Bakteri paling baik tumbuh pada pH netral yaitu sekitar 6,5 - 7,5. Pada pH di atas 8,0 bakteri tidak dapat tumbuh baik kecuali bakteri asam asetat yang dapat tumbuh pada pH rendah dan pada pH di bawah 5,0 bakteri juga tidak dapat tumbuh baik kecuali *Vibrio* sp. yang dapat tumbuh pada pH tinggi.

Sementara itu kapang dapat tumbuh pada pH 2 - 8,5, namun umumnya lebih suka suasana asam. Sedangkan, khamir dapat tumbuh pada pH 4–4,5 namun tidak tumbuh pada suasana basa (Soeparno, 2005).

c. Zat Gizi

Mikroorganisme yang dominan dalam suatu bahan makanan dapat ditentukan dari komposisi zat gizinya. Hal tersebut dikarenakan zat gizi sangat penting untuk perkembangan mikroorganisme. Misalnya, bakteri lipolitik akan tumbuh secara dominan dalam bahan pangan berlemak. Hal ini akan mengakibatkan kerusakan lemak oleh mikroorganisme sehingga menghasilkan asam lemak bebas dan keton yang mempunyai rasa dan bau yang tengik (Soeparno, 2005).

d. Potensial Reduksi Oksidasi (Redoks)

Kemampuan substrat untuk menerima elektron (reduksi) atau melepaskan elektron (oksidasi) ditunjukkan oleh potensial reduksi oksidasi. Kehidupan mikroba dipengaruhi oleh potensial redoks. Mikroba anaerob membutuhkan potensial redoks negatif (tereduksi). Sedangkan, mikroba aerob membutuhkan potensial redoks positif (teroksidasi). Mikroorganisme yang tumbuh pada potensi oksidasi-reduksi yang tinggi yaitu mikroorganisme aerobik. Sedangkan mikroorganisme anaerobik tumbuh pada potensi oksidasi yang rendah (Soeparno, 2005).

2. Faktor ekstrinsik yaitu faktor yang berasal dari kondisi lingkungan baik saat penanganan maupun penyimpanan bahan pangan.

a. Suhu

Suhu adalah salah satu faktor lingkungan utama yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme. Semakin tinggi suhu maka

semakin besar tingkat pertumbuhan mikroba. Apabila suhu meningkat, maka kecepatan reaksi kimiawi dan enzimatik sel bakteri meningkat. Akan tetapi kenaikan suhu yang melebihi suhu maksimal akan menyebabkan kematian sel karena terjadi denaturasi protein. Sedangkan dibawah suhu minimum akan menyebabkan pembekuan membran sel bakteri sehingga membran tidak dapat lagi berfungsi dengan baik dalam proses transport nutrisi. Bakteri mempunyai suhu optimum antara 20°C-45°C.

b. Kelembaban udara relatif (*Relative Humidity*)

Kelembaban udara relatif berhubungan dengan aktivitas air (a_w). Jika bahan pangan yang mempunyai nilai a_w rendah diletakkan pada lingkungan yang mempunyai RH tinggi, maka bahan pangan tersebut akan mudah menyerap air. Hal tersebut akan meningkatkan nilai a_w sehingga bahan pangan mudah dirusak bakteri. Sebaliknya, jika bahan pangan yang mempunyai nilai a_w tinggi diletakkan pada lingkungan yang mempunyai RH rendah, maka bahan pangan akan mengalami dehidrasi. Hal tersebut akan menurunkan nilai a_w menurun sehingga menghambat pertumbuhan mikroba, namun disisi lain mutu bahan pangan akan turun karena terjadi pengerutan (Soeparno, 2005).

c. Konsentrasi Oksigen

Konsentrasi oksigen berbeda pada setiap jenis makanan. Ketebalan bahan makanan juga mempengaruhi konsentrasi oksigen. Misalnya, jus buah banyak mengandung oksigen terlarut sehingga memudahkan pertumbuhan bakteri kontaminan bersifat aerob. Kemudian, bakteri aerob dapat dengan mudah tumbuh pada bagian permukaan daging. Sedangkan bakteri anaerob akan lebih mudah

mengkontaminasi dan tumbuh pada bagian dalam daging karena konsentrasi oksigennya yang terbatas (Soeparno, 2005).

3. Faktor Pengolahan

Berbagai metode pengolahan seperti iradiasi, pemanasan, pembekuan dapat mengurangi jumlah mikroba spesifik yang terdapat di dalam bahan pangan.

a. Pemanasan

Apabila suatu bahan pangan telah diolah dengan suhu panas dan masih ditemukan mikroorganisme, maka mikroorganisme tersebut mempunyai kemampuan tahan panas. Misalnya, perlakuan pasteurisasi dengan suhu 76°C selama 30 menit masih memungkinkan jenis mikroorganisme thermodurik seperti *Streptococcus* tetap hidup, sedangkan pemanasan suhu 80°C selama 1 menit umumnya hanya memungkinkan mikroorganisme berbentuk spora yang masih hidup.

b. Pengeringan dan Pembekuan

Kontaminan yang terdapat pada bahan pangan dapat dirusak menggunakan metode pengeringan dan pembekuan. Namun ada beberapa spesies mikroorganisme yang tahan terhadap tekanan tersebut akan tetap hidup. Misalnya bakteri halofilik dan khamir masih dapat mencemari bahan pangan yang diawetkan dengan garam. Sedangkan mikrororganisme osmofilik khususnya khamir dapat mencemari bahan pangan dengan kadar gula tinggi. Selain itu, bahan pangan yang diawetkan dengan menggunakan bahan kimia seperti sulfurdiodoksida dan benzoat juga masih memungkinkan pertumbuhan khamir *Saccharomyces bailii* dan *Candida krusei* (Soeparno, 2005).

4. Faktor Implisit

Berbagai bakteri yang terdapat pada bahan pangan terkadang mengakibatkan dua atau lebih jenis mikroorganisme hidup bersama yang saling berinteraksi, baik menguntungkan maupun merugikan pertumbuhan mikroorganisme lainnya.

- a. Sinergisme yaitu kemampuan dua atau lebih mikroorganisme untuk melakukan perubahan (umumnya perubahan kimia). Setiap mikroorganisme tidak dapat melakukannya sendiri tanpa adanya kerjasama tersebut (Soeparno, 2005).
- b. Antagonisme yaitu terhambatnya pertumbuhan suatu mikroorganisme disebabkan oleh mikroorganisme lain yang mempengaruhi lingkungan pertumbuhannya (Soeparno, 2005).

5. Faktor Makanan

Faktor makanan yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme antara lain makanan mudah rusak mempunyai nilai a_w dan pH yang tinggi misalnya daging ayam, ikan. Bahan pangan agak awet mempunyai pH pertengahan atau yang mengalami proses pengawetan sehingga nilai a_w agak rendah, misalnya jeli, susu kental manis. Bahan pangan awet yaitu makanan yang telah diawetkan dengan proses pengeringan sehingga nilai a_w rendah misalnya dendeng, abon, ikan asin

2.2 Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Belimbing wuluh merupakan jenis tanaman tropis yang berbuah sepanjang tahun dan banyak ditanam atau tumbuh secara liar di halaman rumah atau di ladang. Tanaman ini dapat hidup pada ketinggian 5- 500 meter di atas permukaan laut dan di tempat yang banyak terkena sinar matahari langsung (Mario, 2011).

Klasifikasi ilmiah tanaman belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yaitu (Abraham, 2016):

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Oxalidales
Famili : Oxalidaceae
Genus : Averrhoa
Spesies : *Averrhoa bilimbi* L.

2.2.1 Morfologi Buah Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Buah belimbing wuluh berupa buni berbentuk bulat lonjong. Ukurannya kecil dengan panjang 4-10 cm. Buah belimbing wuluh beruang 5 dengan kulit buah berkilap dan tipis. Warna buahnya ketika muda yaitu hijau pekat dengan sisa kelopak bunga menempel pada ujungnya. Daging buahnya banyak mengandung air dengan rasa yang asam. Di dalam daging buahnya terdapat biji yang kecil berukuran 6 mm, bentuk, warna coklat, dan tertutup lendir (Mario, 2011).



Gambar 2.1. Buah Belimbing Wuluh (Abraham, 2016)

2.2.2 Kandungan Buah Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Buah belimbing wuluh mengandung beberapa zat gizi yang dibutuhkan tubuh manusia. Beberapa zat yang terkandung dalam buah belimbing wuluh yaitu:

Tabel 2.4 Kandungan Gizi Buah Belimbing Wuluh

No.	Kandungan	Kadar	No.	Kandungan	Kadar
1.	Energi	23 kkal	9.	Besi	0,4 mg
2.	Protein	0,7 g	10.	Beta-karoten	100 µg
3.	Lemak	0,2 g	11.	Vitamin A	17 µg
4.	Karbohidrat	4,5 g	12.	Thiamin	0,01 mg
5.	Serat kasar	1,5 g	13.	Riboflavin	0,03 mg
6.	Abu	0,3 g	14.	Niasin	0,3 mg
7.	Kalsium	8 mg	15.	Vitamin C	18 mg
8.	Fosfor	11 mg	16.	Air	94,3 g

Sumber: Subhadrabandhu (2001)

Berdasarkan tabel diatas diketahui bahwa kadar air belimbing wuluh merupakan kandungan paling tinggi yaitu sebesar \pm 94%. Hal inilah yang menyebabkan daya simpan buah relatif singkat yaitu sekitar 4-5 hari dan mudah rusak. Buah belimbing wuluh mempunyai sifat asam karena mempunyai pH 4,47. Rasa asam buah belimbing wuluh ditentukan oleh kandungan senyawa organik terutama asam sitrat (Mario, 2011). Beberapa kandungan asam organik dalam buah belimbing wuluh sebagai berikut:

Tabel 2.5 Kandungan Senyawa Organik Buah Belimbing Wuluh

No.	Asam organik	Jumlah (meq asam/100 gram total padatan)
1.	Asam asetat	1,6-1,9
2.	Asam sitrat	92,6-133,8
3.	Asam format	00,4-0,9
4.	Asam laktat	0,1-1,2
5.	Asam oksalat	5,5-8,9

Sumber: Subhadrabandhu (2001)

Kandungan asam organik pada buah belimbing wuluh dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Zat asam tersebut dapat mengganggu metabolisme bakteri dengan cara menukarkan ion H^+ (asam) dari lingkungan ke dalam tubuh bakteri. Selanjutnya, jumlah ion H di dalam dan di luar tubuh bakteri akan mengalami perbedaan. Hal tersebut menyebabkan membran sel menjadi *impermeable* dan bersifat asam. Kondisi asam tersebut membuat senyawa utama sel seperti ATP dan DNA tidak dapat bekerja karena membutuhkan suasana yang netral untuk melakukan proses metabolisme (Pakaya, 2014).

Tanaman belimbing wuluh juga memiliki kandungan kimia alami yang banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Berdasarkan hasil penelitian Masruhen (2010), beberapa kandungan kimia dalam buah belimbing wuluh yaitu flavonoid, saponin, alkaloid, triterpenoid, minyak atsiri, senyawa oksalat dan tanin. Selanjutnya Lathifah (2008) menyatakan bahwa flavonoid merupakan senyawa aktif dari ekstrak terbaik buah belimbing wuluh yang bermanfaat sebagai antibakteri. Kemudian, Zakaria (2007) menambahkan bahwa kandungan bioaktif pada senyawa flavonoid dalam buah belimbing wuluh yang berfungsi sebagai antibakteri yaitu luteolin dan apigenin.

Flavanoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol. Flavonoid bekerja dengan cara medenaturasi protein sel bakteri dan membran sel. Saat terjadinya kerusakan membran plasma, ion H^+ pada senyawa flavonoid akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi asam fosfat, gliserol, asam karboksilat. Hal ini mengakibatkan membran

plasma akan bocor dan pertumbuhan bakteri akan terhambat bahkan sampai kematian bakteri (Muhlisoh, 2010).

Senyawa flavonoid pada sari buah belimbing wuluh memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan protein sel bakteri melalui ikatan hidrogen. Hal tersebut menyebabkan struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri yang mengandung protein menjadi tidak stabil dan rusak. Protein sel bakteri selanjutnya menjadi kehilangan aktivitas biologinya sehingga fungsi permeabilitas sel bakteri terganggu. Selanjutnya sel bakteri akan mengalami lisis dan mati.

2.2.3 Manfaat Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Kandungan dari buah maupun daun belimbing wuluh mempunyai manfaat sebagai antidiabetes, antimikroba, antiinflamasi, aktivitas sitotoksik, antioksidan dan antibakteri (Kumar, 2013). Buah belimbing wuluh sering digunakan sebagai obat batuk, jerawat, gusi berdarah, gondongan, sariawan, sakit gigi, diare, dan menurunkan tekanan darah tinggi (Wijayakusuma, 2008).

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengembangkan potensi buah belimbing wuluh, antara lain penelitian Lathifah (2008) menunjukkan bahwa ekstrak etanol kasar buah belimbing wuluh dengan konsentrasi 450 mg/ml mempunyai daya hambat kuat sekitar 13 mm terhadap *Escherichia coli*. Selanjutnya, Datu (2015) melaporkan bahwa sari buah belimbing wuluh memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan konsentrasi terbaik 75%. Selain itu, Septiani

(2017) juga menyatakan bahwa larutan buah belimbing wuluh mulai dari konsentrasi 10% dapat menurunkan jumlah bakteri pada peralatan makan.

2.3 *Escherichia coli*

Allah SWT berfirman dalam QS. Yunus (10): 61 sebagai berikut:

مَا تَكُونُ فِي شَأْنٍ وَمَا تَتْلُو مِنْهُ مِنْ قُرْآنٍ وَلَا تَعْمَلُونَ مِنْ عَمَلٍ إِلَّا كُنَّا عَلَيْكُمْ شُهُودًا إِذْ تُفِيضُونَ فِيهِ ۚ وَمَا يَعْزُبُ عَنْ رَبِّكَ مِنْ مِثْقَالِ ذَرَّةٍ فِي الْأَرْضِ وَلَا فِي السَّمَاءِ وَلَا أَصْغَرَ مِنْ ذَلِكَ وَلَا أَكْبَرَ إِلَّا فِي كِتَابٍ مُبِينٍ

Artinya: “Kamu tidak berada dalam suatu keadaan dan tidak membaca suatu ayat dari Al Quran dan kamu tidak mengerjakan suatu pekerjaan, melainkan Kami menjadi saksi atasmu di waktu kamu melakukannya. Tidak luput dari pengetahuan Tuhanmu biarpun sebesar zarrah di bumi ataupun di langit. Tidak ada yang lebih kecil dan tidak (pula) yang lebih besar dari itu, melainkan (semua tercatat) dalam kitab yang nyata (Lauh Mahfuzh)”.

Menurut al-Qurtubhi (2009), lafadz ذَرَّةٍ artinya seberat timbangan atom atau seekor semut merah kecil. Selanjutnya, Muhammad (2003) mendefinisikan ذَرَّةٍ sebagai biji yang paling kecil dan paling rendah. Kemudian al-Maraghi (1993) menafsirkan ذَرَّةٍ sebagai semut yang kecil atau sesuatu yang sangat kecil dan ringan seperti debu yang lembut yang bisa dilihat dalam cahaya matahari yang masuk dari celah dinding ke dalam rumah. Sementara itu, lafadz ذَرَّةٍ juga diartikan seberat biji sawi atau serangga yang sangat kecil yang terlihat saat ada sinar matahari (al-Jazairi, 2007).

Berdasarkan beberapa tafsir QS. Yunus (10): 61 di atas, lafadz ذَرَّةٍ memiliki beberapa penafsiran seperti seberat atom, semut merah kecil, biji yang paling kecil, debu yang lembut, dan biji sawi. Dari beberapa penafsiran tersebut, dapat

ditarik suatu pernyataan bahwa lafadz ذَرَّةٌ memiliki makna segala sesuatu yang berukuran sangat kecil, baik yang dapat dilihat secara kasat mata maupun yang tidak kasat mata. Dalam bidang biologi, lafadz ذَرَّةٌ dapat merujuk pada makhluk hidup yang berukuran sangat kecil dan tidak kasat mata sehingga membutuhkan alat bantu khusus agar dapat melihatnya. Makhluk hidup tersebut adalah bakteri. Salah satu bakteri yang umum ditemukan sebagai flora normal saluran pencernaan manusia yaitu *Escherichia coli*.

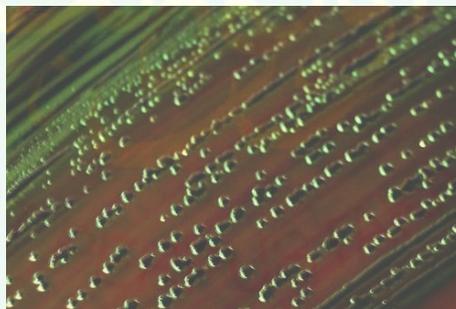
2.3.1 Morfologi *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* diidentifikasi pertama kali oleh Theodor Escherich pada tahun 1885 dalam studinya yang mengenai sistem pencernaan pada bayi hewan (Jawetz, 2008). *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek, terdapat tunggal atau berpasangan dalam rantai pendek dengan panjang $\pm 2 \mu\text{m}$, diameter $0,7 \mu\text{m}$, dan tebal $0,5 \mu\text{m}$. *Escherichia coli* bersifat aerob atau kualitatif anaerob, tidak berbentuk spora, pertumbuhan optimum pada suhu 37°C , dan tumbuh baik pada pH 7,0. *Escherichia coli* memiliki flagel peritrik sehingga bersifat motil (Purwoko, 2007).

Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) merupakan media selektif dan diferensial yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi bakteri *Escherichia coli* (Lindquist, 2004). Media EMBA mengandung eosin dan metilen blue yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif, sehingga media ini selektif untuk pertumbuhan bakteri Gram negatif. Selain itu, media EMBA juga mengandung laktosa yang berfungsi sebagai sumber karbon dan membuat bakteri

Gram negatif terdiferensiasi berdasarkan pada kemampuannya untuk memfermentasi laktosa. *Escherichia coli* mampu memfermentasi laktosa dan menghasilkan asam. Kadar asam yang tinggi dapat mengendapkan metilen biru dalam media EMBA. Hal tersebut dapat mengubah warna media dari merah keunguan media menjadi ungu dengan kilauan hijau metalik. Sedangkan, bakteri yang tidak bisa memfermentasi laktosa medianya berwarna merah muda/transparan (tidak berwarna) (Lindquist, 2004).

Menurut Pelczar (2008), *Escherichia coli* yang tumbuh dalam media EMBA membentuk koloni yang bundar, cembung, halus dengan tepi yang nyata, dan berwarna ungu dengan kilauan hijau metalik. Sementara itu, *Enterobacter aerogens* memiliki koloni yang berwarna pink red, dan *Pseudomonas aeruginosa* yang colorless (Wehr, 2004).



Gambar 2.2. Koloni *Escherichia coli* pada media EMBA

Bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang tipis namun berlapis tiga yaitu membran luar, peptidoglikan, dan membran dalam. Peptidoglikan yang terkandung dalam bakteri Gram negatif memiliki struktur yang lebih kompleks daripada Gram positif. Peptidoglikan ini yang menyebabkan sel menjadi kaku dan berfungsi memberi bentuk sel serta mencegah sel lisis (Purwoko, 2007).

Membran luar bakteri Gram negatif terdiri dari lipid, liposakarida, dan protein. Kandungan lipidnya lebih tinggi daripada bakteri Gram positif. Kemampuan membran luar untuk mengeluarkan molekul hidrofobik adalah sebuah ciri yang tidak biasa dijumpai pada membrane biologis dan berfungsi untuk melindungi sel dan garam empedu. Membran luar memiliki suatu jalur khusus yang terdiri dari molekul protein yang disebut porin yang memungkinkan difusi pasif komponen hidrofilik seperti gula, asam amino, dan beberapa jenis asam amino lain (Brooks, 2008).

2.3.2 Patogenesis *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah anggota flora normal saluran pencernaan manusia. Flora normal yang hidup dibagian tubuh manusia mempunyai peranan penting dalam mempertahankan kesehatan seperti konversi pigmen-pigmen empedu, asam empedu, sintesis vitamin K dan penyerapan zat makanan. *Escherichia coli* juga merupakan flora normal yang ditemukan dalam swab vagina. *Escherichia coli* telah dilaporkan keberadaannya di vagina sekitar 9-28% dari wanita yang tidak hamil dan 24-31% dari wanita hamil (Ganiswara, 1995).

Escherichia coli menjadi berbahaya jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus. Estimasi jumlah *Escherichia coli* enterohemoragik (EHEC) untuk dapat menyebabkan penyakit yaitu sekitar 10^1 - 10^3 (Naim, 2004). Menurut Hendrayati (2012) *Escherichia coli* merupakan penyebab 80% infeksi saluran kemih di Negara maju, 50% penyebab pneumonia dengan umur rata-rata penderita 53 tahun, 80% meningitis pada neonates dan

menjadi penyebab diare (Jawetz, 2008). Beberapa tahun terakhir *Escherichia coli* dilaporkan sebagai organisme yang menyebabkan Vaginitis Aerobik. Bakteri vaginosis dapat menyebabkan penyakit pada saluran genital dengan melepaskan enzim sialidases dan mucinases berlebihan pada mukosa yang menyebabkan peradangan pada vagina (Sherrard, 2011).

2.4 *Staphylococcus aureus*

2.4.1 Morfologi *Staphylococcus aureus*

Nama *Staphylococcus aureus* diberikan oleh Anton J. Rosenbach tahun 1884 oleh seorang ahli bedah Jerman yang melihat biakan murni koloninya berbentuk bulat dan berwarna kuning keemasan (Radji, 2011). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk bulat dengan diameter 0,7- 1,2 μm . *Staphylococcus aureus* bersifat non motil, tidak membentuk spora dan dapat tumbuh pada suasana aerob atau anaerob fakultatif. Suhu optimumnya yaitu 37°C dan pH optimumnya 7,0-7,5. Bakteri ini tersusun dalam kelompok-kelompok seperti buah anggur, tidak teratur, dapat juga tersusun empat-empat (tetrad), membentuk rantai (3-4 sel), berkoloni atau soliter (Dewi, 2013).

Mannitol Salt Agar (MSA) merupakan media selektif dan differensial yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* (Sharp, 2006). Media MSA mengandung konsentrasi garam NaCl tinggi (7,5-10%) yang berfungsi sebagai sumber nitrogen sekaligus menghambat pertumbuhan bakteri selain *Staphylococcus* (Boerlin, 2003). Hal tersebut dikarenakan sebagian besar bakteri tidak dapat tumbuh pada konsentrasi garam tinggi, sehingga MSA menjadi

media selektif untuk *Staphylococcus*. Selain itu, media MSA mengandung mannitol yang berfungsi sebagai sumber karbohidrat dan phenol red sebagai indikator pH. *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada media MSA akan memfermentasikan mannitol menjadi asam. Produk asam organik yang dihasilkan menyebabkan penurunan pH yang kemudian mengubah indikator phenol red. Hal tersebut menyebabkan berubahnya warna media dari merah menjadi kuning. Oleh sebab itu, media MSA juga menjadi media diferensial karena hanya bakteri *Staphylococcus aureus* yang mampu menghasilkan koloni berwarna kuning yang dikelilingi zona kuning keemasan (Tambayong, 2009).

Menurut Todar (2002), koloni *Staphylococcus aureus* dalam media MSA berbentuk bundar, halus, menonjol, dan koloni berpigmen kuning yang dikelilingi zona kuning keemasan karena adanya pigmen lipochrom. Pigmen tersebut yang membedakannya dengan *Staphylococcus epidermidis* yang menghasilkan pigmen putih tanpa perubahan warna media karena tidak dapat memfermentasi mannitol.



Gambar 2.3. Koloni *Staphylococcus aureus* pada media MSA (Pillai, 2012)

Bakteri Gram positif mempunyai struktur dinding sel yang tebal, berlapis tunggal, dan kandungan lipidnya rendah. Lapisan peptidoglikan pada bakteri Gram positif sebagai lapisan tunggal dengan jumlah lebih dari 50% berat kering.

Peptidoglikannya mengandung asam teikoat dan asam teikuronat. Terdapat dua jenis asam teikoat. Pertama, asam teikoat dinding sel yang secara kovalen berikatan dengan peptidoglikan yang berperan mengikat ion magnesium dan menyediakan ion magnesium ke dalam sel, selain itu juga berperan dalam fungsi normal selubung sel. Kedua, asam teikoat membran (lipoteikoat) yang secara kovalen berikatan dengan glikolipid membran dan terkonsentrasi di mesosom berperan melekatkan dinding sel ke membran sel (Brooks, 2008).

2.4.2 Patogenesis *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan salah satu jenis flora normal ditubuh manusia. Sekitar 30-50% orang dewasa akan terkolonisasi bakteri tersebut. Dalam keadaan normal, *Staphylococcus aureus* terdapat di dalam saluran pernafasan atas, kulit, saluran cerna, dan vagina (Biantoro, 2008).

Staphylococcus aureus pada saat tertentu akan menjadi patogen pada tubuh manusia dan menjadi penyebab paling umum infeksi serta kelainan pada kulit. Infeksi dapat terjadi apabila terjadi intervensi dan mengganggu pertahanan tubuh, misalnya saat pembedahan. *Staphylococcus aureus* menghasilkan enzim hyaluronidase dan lipase yang dapat menghancurkan jaringan serta menyebar ke jaringan sekitarnya selama proses infeksi (Jawetz, 2008).

Staphylococcus aureus dalam jumlah $>10^5$ CFU/ml akan membentuk enterotoksin yang bersifat tahan panas. Enterotoksin tersebut dapat menyebabkan keracunan makanan atau intoksikasi. Intoksikasi terjadi karena mengonsumsi makanan yang mengandung toksin yang telah diproduksi sebelumnya oleh

mikroorganisme pada makanan tersebut. Keracunan makanan ditandai dengan rasa mual, muntah, diare hebat, dan tidak demam (Jawetz, 2008). *Staphylococcus aureus* dapat ditularkan antar manusia melalui kontak langsung dengan kulit yang terinfeksi dan kontak tidak langsung dengan menyentuh barang yang telah berhubungan dengan orang terinfeksi (Brooks, 2008).

2.5 *Salmonella* sp.

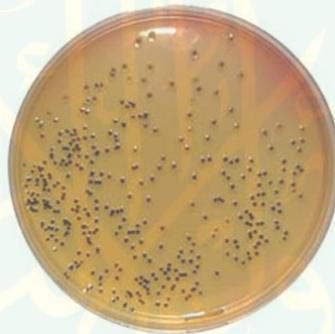
2.5.1 Morfologi *Salmonella* sp.

Bakteri *Salmonella* sp. pertama kali ditemukan oleh Theobald Smith pada tahun 1885 pada tubuh babi. *Salmonella* sp. berbentuk batang lurus, Gram negatif, berukuran 2-4 μm x 0,5-0,8 μm , tidak berspora, dan bergerak dengan flagel peritrik. Bakteri ini tumbuh pada suasana aerob dan anaerob fakultatif dengan suhu optimum 37°C (Todar, 2008).

Salmonella Shigella Agar (SSA) merupakan media selektif dan diferensial yang digunakan untuk isolasi *Salmonella* dan beberapa spesies *Shigella* dari bahan makanan atau sampel klinis (Yunus, 2017). Media SSA mengandung sodium tiosulphate, sodium citrate, bile salt mixture dan brilliant green yang berfungsi untuk menghambat bakteri Gram positif, sehingga media ini selektif untuk bakteri Gram negatif. Selain itu, media SSA juga mengandung laktosa sebagai sumber karbohidrat dan membuat bakteri Gram negatif terdiferensiasi berdasarkan pada kemampuannya untuk memfermentasi laktosa. Beberapa flora normal intestinal mampu memfermentasi laktosa dan memproduksi asam yang ditunjukkan oleh berubahnya media menjadi merah oleh indikator neutral red. Sedangkan,

Salmonella dan *Shigella* termasuk mikroorganisme non fermentasi laktosa tumbuh sebagai koloni colourless dengan atau tanpa black center (Wehr, 2004).

Pertumbuhan *Salmonella* sp. pada media SSA dengan ciri koloni bulat kecil, permukaan cembung, smooth, colourless dengan black center hasil dari produksi H₂S. *Salmonella* sp. mampu mereduksi sodium tiosulphate menjadi sulphate dan H₂S. Produksi gas H₂S terdeteksi sebagai endapan hitam yang disebut dengan black center. Sedangkan koloni *Shigella* tampak colourless tanpa black center karena tidak menghasilkan H₂S (Wehr, 2004).



Gambar 2.4. Koloni *Salmonella* sp. pada media SSA

2.5.2 Patogenesis *Salmonella* sp.

Salmonella sp. dapat menimbulkan penyakit pada tubuh manusia yang disebut salmonellosis. Estimasi jumlah sel *Salmonella* sp. untuk dapat menyebabkan penyakit yaitu sekitar $<10^3$. Salmonellosis diakibatkan oleh makanan yang terkontaminasi oleh *Salmonella* yang dikonsumsi manusia. Salmonellosis ditandai dengan gejala demam yang timbul secara akut, nyeri abdominal, diare, dan terkadang muntah. Secara klinis *Salmonella* sp. dibedakan menjadi dua macam yaitu *Salmonella* tifoid yang menyebabkan demam tifoid dan *Salmonella* non tifoid yang menyebabkan gastroenteritis (Yunus, 2017).

2.6 Total Plate Count (TPC)

Total Plate Count (TPC) merupakan suatu metode kuantitatif yang digunakan untuk mengetahui jumlah koloni bakteri yang terdapat dalam setiap gram atau ml sampel. Prinsip dari metode TPC yaitu jika setiap sel mikroorganisme yang masih hidup diinokulasikan pada media padat, baik dengan cara *pour plate* atau *spread plate* kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu yang sesuai, maka sel mikroorganisme tersebut akan membentuk koloni yang dapat dilihat dengan mata secara langsung (Waluyo, 2010).

Metode TPC dapat dibedakan menjadi dua cara yaitu metode tuang (*pour plate*) dan metode sebar atau permukaan (*spread plate*). Apabila menggunakan metode tuang, maka 1 ml sampel dari pengenceran yang diinginkan dipipet ke dalam cawan petri, kemudian dituangkan media agar yang masih cair dan diputar hingga suspensi tersebar merata. Sedangkan apabila menggunakan metode sebar, maka media agar terlebih dahulu dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan memadat. Setelah itu sebanyak 0,1 ml sampel dari hasil pengenceran yang diinginkan dipipet pada permukaan media agar dan diratakan menggunakan batang L steril (Buckle, 2007).

Untuk memenuhi persyaratan statistik, cawan petri yang dipilih untuk dihitung adalah cawan yang mengandung jumlah koloni antara 30-300. Untuk mendapatkan koloni yang sesuai persyaratan, maka harus dilakukan sederetan pengenceran terlebih dahulu. Pengenceran sampel sangat penting untuk menghindari koloni bakteri yang saling menumpuk karena konsentrasi sampel yang sangat pekat (BPOM, 2011).

Suatu *Standard Plate Count* (SPC) yang digunakan untuk perhitungan TPC antara lain (Waluyo, 2010):

1. Cawan petri yang dipilih untuk dihitung adalah cawan yang mempunyai jumlah koloni antara 30 sampai 300. Jika tidak ada, maka dipilih cawan yang jumlah koloninya mendekati persyaratan tersebut.
2. Suatu kumpulan koloni besar berasal dari beberapa koloni yang bergabung menjadi satu, jumlah koloninya diragukan sehingga dihitung satu koloni.
3. Koloni yang membentuk suatu deretan yang terlihat seperti garis tebal dihitung sebagai satu koloni.

Selanjutnya data hasil perhitungan TPC harus mengikuti peraturan *Standard Plate Count* sebagai berikut (Waluyo, 2010):

1. Hanya angka pertama dan kedua yang ditulis sebagai hasil. Angka ketiga harus dibulatkan satu angka lebih tinggi daripada angka kedua apabila lebih besar atau sama dengan 5.
2. Jika hasil semua pengenceran jumlah koloninya kurang dari 30 per cawan petri artinya pengenceran yang dilakukan terlalu tinggi, maka yang dihitung hanya jumlah koloni pada pengenceran terendah.
3. Jika hasil semua pengenceran jumlah koloninya lebih dari 300 per cawan petri artinya pengenceran yang dilakukan terlalu rendah, maka yang dihitung hanya jumlah koloni pada pengenceran tertinggi.
4. Jika cawan petri dari dua tingkat pengenceran menghasilkan jumlah koloni sekitar 30-300 dan perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah dari kedua pengenceran tersebut lebih kecil atau sama dengan 2, maka ditentukan rata-

rata dari kedua nilai tersebut dengan memperhitungkan pengencerannya. Jika perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah lebih besar dari 2, maka yang hanya hasil terkecil yang ditulis.

5. Jika setiap pengenceran dilakukan secara duplo, maka data yang diambil harus dari kedua cawan tersebut, tidak boleh hanya diambil salah satu.

2.7 Antibakteri

2.7.1 Definisi Antibakteri

Antibakteri merupakan salah satu jenis antimikroba. Antibakteri adalah suatu bahan atau komponen kimia yang menghambat pertumbuhan bahkan dapat mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolismenya (Pelczar, 2008). Berdasarkan spektrum aktifitasnya, antibakteri dibagi menjadi 2 yaitu antibakteri berspektrum luas yang efektif digunakan untuk berbagai spesies bakteri dan antibakteri berspektrum sempit yang hanya efektif digunakan pada spesies tertentu saja, misalnya lebih dominan terhadap bakteri Gram positif atau Gram negatif saja (Waluyo, 2010). Berdasarkan sifat toksisitasnya, antibakteri dapat dikategorikan menjadi 2 yaitu bakteriostatik dan bakteriosidal. Bakteriostatik yaitu antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Sedangkan bakteriosidal, yaitu antibakteri dapat membunuh bakteri (Brooks, 2008).

2.7.2 Mekanisme Antibakteri

Mekanisme kerja antibakteri secara umum dibagi menjadi 4 yaitu (Fardiaz, 1992):

1. Menghambat Sintesis Dinding Sel

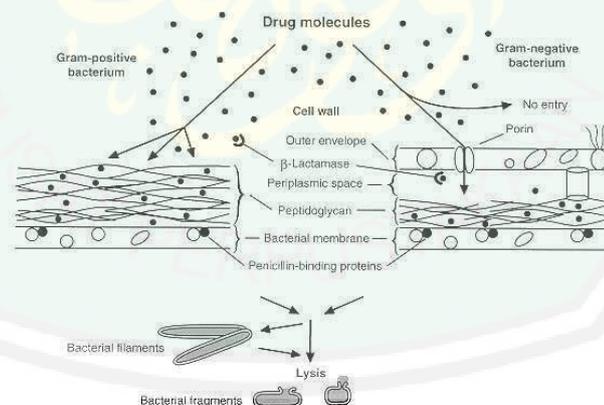
Bakteri mempunyai suatu lapisan luar bersifat kaku yaitu dinding sel yang berfungsi menentukan bentuk karakteristik sel, melindungi bagian dalam sel terhadap perubahan tekanan osmotik dan kondisi lingkungan lainnya. Dinding sel bakteri tersusun atas lapisan peptidoglikan yaitu polimer kompleks yang terdiri dari susunan yang bergantian antara rangkaian asam N-asetil glukosamin dan asam N-asetilmuramat (Fardiaz, 1992).

Bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel tebal. Dinding sel bakteri Gram positif tersusun atas 90% lapisan peptidoglikan, kandungan lipid rendah, dikelilingi lapisan teichoic acid dan asam teikuronat yang bermuatan negatif serta pada beberapa spesies mempunyai lapisan polisakarida. Sedangkan bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel tipis. Dinding sel bakteri Gram negatif mempunyai lapisan peptidoglikan relatif tipis sekitar 5-20%, kandungan lipid tinggi, dikelilingi membran luar yang terdiri atas lapisan lipoprotein, lipopolisakarida dan fosfolipid. Peptidoglikan pada kedua jenis bakteri tersebut merupakan komponen yang menentukan rigiditas pada Gram positif dan berperan pada integritas Gram negatif (Fardiaz, 1992).

Suatu zat antibakteri dapat menghambat sintesis dinding sel terutama dengan mengganggu sintesis peptidoglikan. Pada konsentrasi rendah, zat antibakteri akan menghambat pembentukan ikatan glikosida sehingga pembentukan dinding sel baru terganggu. Sedangkan pada konsentrasi tinggi zat antibakteri akan menyebabkan ikatan glikosida menjadi terganggu dan pembentukan dinding sel terhenti. Antibakteri akan terikat pada reseptor sel (salah

satunya enzim transpeptidase), kemudian terjadi reaksi transpeptidase sehingga sintesis peptidoglikan terhambat. Mekanisme diakhiri dengan penghentian aktivitas penghambat enzim autolisis pada dinding sel (Khunaifi, 2010).

Struktur dinding sel yang berbeda antara bakteri Gram positif dengan Gram negatif akan berpengaruh pada ketahanannya terhadap antibakteri. Umumnya bakteri Gram positif akan lebih sensitif terhadap zat antibakteri daripada Gram negatif. Pada bakteri Gram positif, antibakteri dapat langsung masuk untuk mengisi lapisan peptidoglikan kemudian membentuk ikatan dengan protein dan pada akhirnya mengakibatkan bakteri lisis. Sedangkan bakteri Gram negatif, zat antibakteri terlebih dahulu masuk melalui porin yang terdapat pada lapisan luar, kemudian masuk ke lapisan peptidoglikan dan selanjutnya berikatan dengan protein dan pada akhirnya mengakibatkan bakteri lisis (Madigan, 2000).



Gambar 2.5. Mekanisme bahan antimikroba terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif (Madigan, 2000).

2. Menghambat Fungsi Permeabilitas Membran Plasma

Membran plasma adalah suatu struktur bersifat semipermeabel yang berfungsi untuk mengontrol materi atau substansi metabolik yang keluar masuk

sel. Setiap zat yang diperlukan oleh sel harus masuk melalui membran plasma. Selanjutnya sisa metabolisme sel juga dibuang melalui membran plasma. Selain itu, membran plasma juga berfungsi untuk memelihara tekanan osmotik internal agar sel dapat menjalankan fungsinya dengan baik.

Protein dan lemak merupakan komponen penyusun membran sel yang sangat rentan terhadap agen-agen yang menurunkan tegangan permukaan. Sementara itu senyawa antimikroba akan menyerang dan merusak lapisan-lapisan membran sel sehingga fungsi permeabilitas membran sel mengalami kerusakan (Volk dan Wheeler, 1993). Apabila integritas membran sel rusak, maka sejumlah biosintesis di dalam membran sel akan terganggu sehingga memungkinkan sejumlah makromolekul, asam amino, koenzim dan ion organik yang penting akan lolos keluar sel dan terjadilah kerusakan atau kematian sel (Jawetz, 2008).

3. Menghambat sintesis protein

Proses pembentukan rantai polipeptida (polimer) dari asam-asam amino (monomer) melalui ikatan peptida disebut sintesis protein. Sintesis protein terdiri atas proses transkripsi dan translasi. Senyawa antibakteri dapat menghambat salah satu dari proses tersebut sehingga akan menghambat sintesis protein. Senyawa antibakteri dapat mengakibatkan protein tidak terbentuk karena kesalahan dalam pembacaan kode pada mRNA, sehingga menyebabkan kematian sel.

Bahan antimikroba yang menghambat proses sintesis protein pada umumnya mempengaruhi fungsi ribosom suatu mikroorganisme. Dalam hal ini antimikroba dapat: (1) Berinteraksi dengan ribosom 30S, misalnya aminoglukosida yang menyebabkan akumulasi sintesis protein awal yang

kompleks. Hal tersebut dapat menghasilkan polipeptida yang abnormal karena salah dalam menterjemahkan tanda mRNA. (2) Berinteraksi dengan ribosom 50S, misalnya kloramfenikol yang bereaksi dengan komponen sel ribosom 50S dapat menstimulasi translasi yang salah karena terjadi pembentukan kompleks pada tahap inisiasi. Selanjutnya sintesis protein dilanjutkan dengan pasangan yang tidak tepat karena terjadi penyimpangan dalam ribosom. Hal tersebut mengakibatkan proses sintesis protein terganggu (Nychas, 2000).

4. Menghambat sintesis asam nukleat

Senyawa antimikroba dapat mengganggu pembentukan asam nukleat dengan cara menghambat aktivasi enzim RNA polymerase dan DNA polymerase sehingga transfer informasi genetik akan terganggu (Campbell, 2008). Senyawa antimikroba akan berikatan dengan enzim yang berperan dalam proses sintesis asam nukleat. Hal tersebut menyebabkan proses sintesis asam nukleat terhenti sehingga asam nukleat tidak terbentuk. Sebagai contoh, Rifampisin dapat berikatan kuat dengan DNA dependent dan RNA polimerase pada bakteri, sehingga sintesis RNA bakteri terhambat (Brooks, 2008).

2.7.3 Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Antibakteri

Ada beberapa faktor yang harus diperhatikan agar penggunaan suatu antibakteri dapat maksimal (Pelczar, 2008):

1. Konsentrasi antibakteri

Konsentrasi antibakteri yang tinggi mengandung senyawa antibakteri yang tinggi, sehingga bakteri yang terbunuh semakin banyak. Sebaliknya, konsentrasi

antibakteri yang rendah mengandung senyawa antibakteri yang rendah, sehingga bakteri yang terbunuh sedikit. Selain itu, beberapa antibakteri pada konsentrasi rendah bersifat bakteriostatik sedangkan pada konsentrasi tinggi bersifat bakteriosidal.

2. Waktu kontak

Ada beberapa mikroorganisme tidak dapat terbunuh dalam waktu kontak yang pendek, melainkan hanya terhambat. Misalnya lama perendaman yang pendek memungkinkan waktu kontak antibakteri terhadap bakteri juga pendek sehinggabakteri tidak terbunuh. Sedangkan, lama perendaman yang lama memungkinkan waktu kontak antibakteri terhadap bakteri juga lama sehingga bakteri yang terbunuh semakin banyak. Namun, waktu kontak yang terlalu lama juga akan memungkinkan mikroorganisme mampu bermultiplikasi karena senyawa antibakteri telah terurai.

3. Jumlah mikroorganisme

Jumlah mikroorganisme yang banyak membutuhkan waktu yang lama untuk membunuhnya. Sebaliknya jumlah mikroorganisme yang sedikit tidak memerlukan waktu yang lama untuk membunuhnya.

4. Spesies Mikroorganisme

Keefektifan suatu komponen kimia dipengaruhi oleh spesies mikroorganisme. Misalnya ada spesies mikroorganisme yang tahan terhadap komponen kimia tertentu, namun spesies mikroorganisme lainnya belum tentu tahan terhadap komponen kimia tersebut.

2.8 Kadar Protein

Protein merupakan zat makanan yang sangat penting bagi tubuh karena berfungsi sebagai zat pembangun jaringan-jaringan baru, pengatur proses metabolisme tubuh dan sebagai sumber energi apabila keperluan energi tubuh tidak terpenuhi oleh karbohidrat dan lemak. Protein terdiri dari rantai-rantai panjang asam amino yang terikat satu sama lain melalui ikatan peptida. Asam amino terdiri dari unsur-unsur organik yaitu karbon (C), hidrogen (H), oksigen (O) dan nitrogen (N). Selain itu, juga mengandung fosfor, belerang, dan jenis protein yang mengandung unsur logam seperti besi dan tembaga (Winarno, 2004). Beberapa jenis protein peka terhadap perubahan lingkungan. Protein mempunyai arti bagi tubuh apabila dapat melakukan aktivitas biokimiawi di dalam tubuh yang menunjang kebutuhan hidup. Namun, aktivitas biokimiawi protein tersebut dapat berkurang apabila terjadi suatu proses perubahan struktur dan konformasi molekul protein yang disebut denaturasi (Suprayitno, 2017).

Denaturasi protein adalah suatu perubahan atau modifikasi terhadap struktur sekunder, tersier, dan kuartener molekul protein tanpa terjadinya pemecahan ikatan kovalen. Denaturasi juga diartikan sebagai proses terpecahnya ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan terbukanya lipatan molekul protein. Denaturasi protein dapat disebabkan oleh berbagai faktor seperti perubahan suhu atau pengaruh pemanasan, asam atau basa, bahan kimia, atau proses fisika yang menyebabkan perubahan struktur protein. Setiap faktor tersebut mempunyai pengaruh yang berbeda terhadap denaturasi protein (Suprayitno, 2017).

Protein yang dikenai suhu pemanasan sekitar 50°C belum bisa dikatakan rusak, melainkan hanya mengalami perubahan struktur sekunder, tersier, kuartener. Energi panas hanya mengakibatkan terputusnya interaksi non-kovalen seperti ikatan hidrogen yang ada pada struktur alami protein tapi tidak memutuskan ikatan kovalen yang berupa ikatan peptida. Selain itu, asam atau basa akan memecah ikatan intramolekul yang menyebabkan denaturasi protein. Semakin lama protein berinteraksi dengan asam atau basa kemungkinan besar ikatan intramolekul protein terhidrolisis sehingga struktur protein dapat rusak (Ophart, 2003).

Denaturasi protein daging yang diakibatkan oleh asam atau basa tidak mempengaruhi jumlah protein murni yang terdapat dalam daging. Protein yang terdenaturasi menyebabkan terbukanya atau berubahnya lipatan struktur protein tanpa merusak ikatan kovalen peptida. Ikatan peptida protein tidak seluruhnya dapat terputus akibat denaturasi, karena struktur primer protein tetap sama setelah proses denaturasi. Sementara itu, pada struktur protein tersier terdapat empat jenis interaksi yang kemungkinan mengalami gangguan yaitu ikatan hidrogen, rantai garam, ikatan disulfida dan interaksi hidrofobik non polar (Suprayitno, 2017).

Beberapa metode yang dapat digunakan untuk analisis kadar protein dalam bahan makanan antara lain metode Kjeldahl, Lowry, Biuret, dan Bradford (Sudarmadji, 2007). Metode Kjeldahl merupakan metode analisis kadar protein kasar dalam bahan makanan secara tidak langsung, karena yang dianalisis adalah kadar nitrogennya (Winarno, 2004). Adapun kelemahan menggunakan metode Kjeldahl ini adalah jumlah total nitrogen yang terdapat didalamnya bukan hanya

nitrogen dari protein, melainkan purin, purimidin, dan vitamin ikut terukur sebagai nitrogen protein, selain itu waktu yang diperlukan relatif lebih lama, presisi yang lemah, dan pereaksi yang digunakan korosif. Sementara keuntungan menggunakan metode Kjeldahl ini yaitu dapat diaplikasikan untuk semua jenis bahan pangan dan dapat dimodifikasi sesuai kuantitas protein yang dianalisis. Selanjutnya, metode biuret merupakan metode yang cukup efisien, murah, dan lebih sederhana dibandingkan metode Lowry dan Bradford (Sumantri, 2007).

Metode Biuret merupakan metode untuk menganalisis adanya ikatan peptida dalam bahan makanan dengan menggunakan reagen biuret yang mengandung NaOH dan CuSO_4 . Prinsip metode biuret yaitu ion Cu^{2+} dari pereaksi biuret dalam suasana basa akan bereaksi dengan gugus N pada ikatan peptida yang menyusun protein sehingga membentuk kompleks berwarna biru keunguan. Warna tersebut menunjukkan adanya protein. Intensitas warna yang dihasilkan merupakan ukuran jumlah ikatan peptida yang ada dalam protein (Bintang, 2010). Selanjutnya kadar protein sampel ditetapkan dengan menggunakan spektrofotometer.

Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmittan atau absorbansi suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang (Khopkar, 2003). Keuntungan menggunakan alat ini adalah waktu yang diperlukan untuk analisis cepat, memiliki sensitifitas yang baik, larutan sampel masih dapat digunakan untuk analisis lain selain analisis protein (Budianto, 2009). Spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif. Pada aspek kuantitatif, suatu berkas radiasi dikenakan pada larutan sampel dan intensitas sinar

radiasi yang diteruskan akan diukur besarnya. Radiasi yang diserap oleh larutan sampel ditentukan dengan membandingkan intensitas cahaya yang diteruskan dengan intensitas atau kekuatan radiasi cahaya yang diserap. Prinsip spektrofotometri UV–Vis adalah sinar/cahaya dilewatkan melewati sebuah wadah (kuvet) yang berisi larutan, dimana akan menghasilkan spektrum (Rohman, 2007).



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan dalam penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok yang terdiri dari 2 faktor perlakuan. Faktor pertama adalah variasi konsentrasi dengan 4 taraf perlakuan (0%, 40%, 60%, dan 80%). Faktor kedua adalah variasi lama perendaman yang terdiri dari 3 taraf perlakuan (0 jam, 5 jam, dan 10 jam). Dengan demikian dalam penelitian ini terdapat 4x3 kombinasi atau 12 kombinasi perlakuan 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 3 x 12 kombinasi perlakuan.

Tabel 3.1 Kombinasi Konsentrasi dengan Lama Perendaman Sari Buah Belimbing Wuluh

Konsentrasi (K)	Lama Perendaman (L)		
	L0	L1	L2
K0	K0L0	K0L1	K0L2
K1	K1L0	K1L1	K1L2
K2	K2L0	K2L1	K2L2
K3	K3L0	K3L1	K3L2

Keterangan:

Faktor I (K) : Variasi konsentrasi sari buah belimbing wuluh

K0 : Konsentrasi 0%

K1 : Konsentrasi 40%

K2 : Konsentrasi 60%

K3 : Konsentrasi 80%

Faktor II (L) : Variasi lama perendaman

L0 : Lama perendaman 0 jam

L1 : Lama perendaman 5 jam

L2 : Lama perendaman 10 jam

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli - Agustus 2018 di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium 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 sari buah belimbing wuluh (0%, 40%, 60%, dan 80%) dan variasi lama perendaman (0 jam, 5 jam, dan 10 jam).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah TPC, total bakteri *Staphylococcus aureu*, *Esherichia coli*, *Salmonella* sp. dan kadar protein.

3.3.3 Variabel Terkontrol

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah suhu inkubasi dan lama inkubasi.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan analitik (Sartorius), silet, kompor, sendok, panci, blender (Philips), gelas plastik, mortal dan alu, tabung reaksi 15 ml (Iwaki, Pyrex), rak tabung reaksi, mikropipet (Microlil), blue tip, erlenmeyer 1000 ml (Iwaki), gelas ukur 50 ml (Pyrex), beaker glass 500 ml (Iwaki, Isolab), cawan petri, inkubator (Mettler), autoklaf (ALP KT-30L), oven (Heraeus), kulkas (LG), bunsen, pinset, hot plate (Cimarec), stirrer, *Laminar Air Flow* (LAF) (Esco), batang L, vortex (Mixi mix II), spektrofotometer, kuvet, nampan, kertas label, kapas, kasa, plastik wrap, aluminium foil, alat tulis.

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sampel daging ayam, buah belimbing wuluh, aquades, alkohol 70%, spirtus, *Plate Count Agar* (PCA), *Buffer Pepton Water* (BPW), *Mannitol Salt Agar* (MSA), *Eosin Metyhlen Blue Agar* (EMBA), *Salmonella Shigella Agar* (SSA), Bovin Serum Albumin (BSA), reagen Biuret.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pembuatan Media

3.5.1.1 Pembuatan Media *Buffer Pepton Water* (BPW)

Buffer Pepton Water merupakan media cair yang berfungsi sebagai larutan pengencer yang dapat mempertahankan kondisi bakteri sebelum diisolasi pada

media selektif. Media BPW dibuat dengan cara menimbang bahan media BPW 25,5 gram x 1000 ml aquades. Selanjutnya dilarutkan dan didihkan menggunakan magnetic stirrer. Kemudian disterilkan dengan autoklaf dengan temperatur 121°C selama 15 menit. Proses terakhir yaitu didinginkan, disimpan dalam lemari es dan siap untuk digunakan (Yunita, 2015).

3.5.1.2 Pembuatan Media *Plate Count Agar* (PCA)

Plate Count Agar merupakan media umum yang digunakan untuk menumbuhkan total bakteri (semua jenis bakteri) dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Media PCA dibuat dengan cara menimbang media PCA 22,5 gram x 1000 ml aquades. Selanjutnya dilarutkan dan didihkan menggunakan magnetic stirrer. Kemudian disterilkan dengan autoklaf dengan temperatur 121°C selama 15 menit. Proses terakhir yaitu didinginkan. Jika media tidak langsung digunakan, maka dapat disimpan dalam kulkas (Putri, 2017).

3.5.1.3 Pembuatan Media *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA)

Eosin Methylen Blue Agar merupakan media selektif yang berfungsi untuk isolasi bakteri *Eschericia coli*. Media EMBA dibuat dengan cara menimbang bahan media EMBA 37,5 gram x 1000 ml aquades. Selanjutnya dilarutkan dan didihkan dengan menggunakan magnetic stirrer. Kemudian disterilkan dengan autoklaf pada temperatur 121°C selama 15 menit. Proses terakhir yaitu didinginkan. Jika media tidak langsung digunakan, maka dapat disimpan dalam kulkas (Harijani, 2013).

3.5.1.4 Pembuatan Media *Mannitol Salt Agar* (MSA)

Mannitol Salt Agar merupakan media selektif yang digunakan untuk isolasi bakteri *Staphylococcus aureus*. Media MSA dibuat dengan cara menimbang bahan media MSA 108 gram x 1000 ml aquades. Selanjutnya dilarutkan dan didihkan dengan menggunakan magnetic stirrer. Kemudian disterilkan dengan autoklaf pada temperatur 121°C selama 15 menit. Proses terakhir yaitu didinginkan. Jika media tidak langsung digunakan, maka dapat disimpan dalam kulkas (Malelak, 2015).

3.5.1.5 Pembuatan Media *Salmonella Shigella Agar* (SSA)

Salmonella Shigella Agar merupakan media selektif yang digunakan untuk isolasi bakteri *Salmonella*. Media SSA dibuat dengan cara menimbang bahan media SSA 60 gram x 1000 ml aquades. Selanjutnya dilarutkan dan didihkan dengan menggunakan magnetic stirrer. Kemudian disterilkan dengan autoklaf pada temperatur 121°C selama 15 menit. Proses terakhir yaitu didinginkan. Jika media tidak langsung digunakan, maka dapat disimpan dalam kulkas (Yunus, 2017).

3.5.2 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan harus disterilisasi sebelum dilakukan penelitian. Sterilisasi alat dilakukan dengan cara membungkus semua peralatan yang terbuat dari bahan kaca dan tahan panas menggunakan kertas kemudian dimasukkan dalam plastik. Selanjutnya alat dan bahan yang digunakan di masukkan ke dalam autoklaf pada

suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Apabila menggunakan alat yang tidak tahan terhadap panas tinggi, maka dapat disterilkan menggunakan alkohol 70% (Yunus, 2017).

3.5.3 Preparasi Sari Buah Belimbing Wuluh

Buah belimbing wuluh berukuran ± 5 cm (berwarna hijau tua) ditimbang sebanyak 500 gram kemudian dicuci dengan air hingga bersih. Selanjutnya dihaluskan dengan cara diblender. Kemudian diperas dan disaring sehingga diperoleh sari buah belimbing wuluh. Penentuan konsentrasi sari buah belimbing wuluh menggunakan rumus pengenceran yaitu $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$, sehingga didapat masing-masing perlakuan dalam penelitian ini yaitu: konsentrasi 40% (40 ml sari buah belimbing wuluh + 60 ml air), konsentrasi 60% (60 ml sari buah belimbing wuluh + 40 ml air), dan konsentrasi 80% (80 ml sari buah belimbing wuluh + 20 ml air) (Mailina, 2014).

3.5.4 Pengujian Sari Buah Belimbing Wuluh Terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella sp.*

Pengujian sari buah belimbing wuluh dilakukan dengan mengambil konsentrasi sari buah belimbing wuluh 40%, 60%, dan 80%. Selanjutnya dimasukkan daging ayam ke dalam gelas aqua dengan berat 2,5 gr yang telah terisi air perlakuan sebanyak 50 ml. Kemudian menutup gelas aqua tersebut dengan plastik dan mengikatnya menggunakan karet gelang. Diinkubasi dengan suhu ruang (27°C) sesuai lama variasi perendaman. Kemudian dilakukan

pengujian terhadap TPC *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella* sp. (Salehurrahman, 2009).

3.5.5 Pengujian *Total Plate Count* (TPC) pada Daging Ayam

3.5.5.1 Pengujian *Total Plate Count* (TPC)

Pengujian TPC dilakukan dengan cara menimbang sampel daging ayam sebanyak 2,5 gram dan dihaluskan kemudian ditambah 22,5 ml larutan BPW sehingga diperoleh larutan dengan pengenceran 10^{-1} . Diambil 1 ml suspensi pengenceran 10^{-1} kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml BPW sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2} . Dilakukan pengenceran dengan cara yang sama hingga diperoleh pengenceran 10^{-6} . Setiap suspensi yang telah diencerkan 10^{-1} hingga 10^{-6} dipipet 1 ml lalu diinokulasikan ke dalam cawan petri steril dan dituang media *Plate Count Agar* (PCA). Selanjutnya menginkubasi cawan petri sekitar 24-48 jam pada temperatur 37°C dengan posisi terbalik. Setelah itu, menghitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada cawan petri. Koloni yang tumbuh dihitung secara manual terlebih dahulu selanjutnya dimasukkan ke dalam rumus sebagai berikut (Fardiaz, 1992):

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

3.5.5.2 Pengujian Total Bakteri *Escherichia coli*

Pengujian total bakteri *Escherichia coli* dilakukan dengan cara menimbang sampel daging ayam sebanyak 2,5 gram dan dihaluskan kemudian ditambah 22,5 ml larutan BPW sehingga diperoleh larutan dengan pengenceran 10^{-1} . Diambil 1

ml suspensi pengenceran 10^{-1} kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml BPW sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2} . Dilakukan pengenceran dengan cara yang sama hingga diperoleh pengenceran 10^{-6} . Selanjutnya pengenceran 10^{-1} hingga 10^{-4} diinokulasikan pada cawan petri steril dan dituang media EMBA. Selanjutnya menginkubasi cawan petri sekitar 24-48 jam pada temperatur 37°C dengan posisi terbalik. Setelah itu dilakukan pengamatan koloni dan dihitung jumlah koloni yang tumbuh. Koloni *Escherichia coli* yang tumbuh pada media EMBA berwarna ungu dengan kilau hijau metalik di hitung secara manual terlebih dahulu selanjutnya dimasukkan ke dalam rumus sebagai berikut (Andrew, 2001):

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

3.5.5.3 Pengujian Total Bakteri *Staphylococcus aureus*

Pengujian total bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan cara menimbang sampel daging ayam sebanyak 2,5 gram dan dihaluskan kemudian ditambahkan 22,5 ml larutan BPW sehingga diperoleh larutan dengan pengenceran 10^{-1} . Diambil 1 ml suspensi pengenceran 10^{-1} kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml BPW sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2} . Dilakukan pengenceran dengan cara yang sama hingga diperoleh pengenceran 10^{-6} . Selanjutnya pengenceran 10^{-1} hingga 10^{-4} diinokulasikan pada cawan petri steril dan dituang media MSA. Selanjutnya menginkubasi cawan petri sekitar 24-48 jam pada temperatur 37°C dengan posisi terbalik. Setelah itu dilakukan pengamatan koloni dan dihitung jumlah koloninya.

Koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada media MSA berwarna kuning dihitung secara manual terlebih dahulu selanjutnya dimasukkan ke dalam rumus sebagai berikut (Malelak, 2015):

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

3.5.5.4 Pengujian Total Bakteri *Salmonella* sp.

Pengujian total bakteri *Salmonella* sp. diawali dengan menimbang sampel daging ayam sebanyak 2,5 gram dan dihaluskan kemudian ditambahkan 22,5 ml larutan BPW sehingga diperoleh larutan dengan pengenceran 10^{-1} . Diambil 1 ml suspensi pengenceran 10^{-1} kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml BPW sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2} . Dilakukan pengenceran dengan cara yang sama hingga diperoleh pengenceran 10^{-6} . Selanjutnya pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} diinokulasikan pada cawan petri steril dan dituang media SSA. Selanjutnya menginkubasi cawan petri sekitar 24-48 jam pada temperatur 37°C dengan posisi terbalik. Setelah itu dilakukan pengamatan koloni dan dihitung jumlah koloninya. Koloni *Salmonella* sp. yang tumbuh pada media SSA bening dengan inti hitam dihitung secara manual terlebih dahulu selanjutnya dimasukkan ke dalam rumus sebagai berikut (Yunus, 2017):

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

3.6 Uji Kadar Protein Daging Ayam

3.6.1 Pembuatan Kurva Standar

Pembuatan kurva standar menggunakan larutan protein standar Bovin Serum Albumin (BSA) dengan konsentrasi 5 mg/ml. Selanjutnya dibuat larutan seri dengan konsentrasi 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1 mg/ml. Kemudian setiap larutan ditambahkan 6 mL reagen Biuret ke dalam masing-masing tabung. Sementara itu, larutan blanko dibuat dengan 4 ml aquades ditambah 6 ml Biuret. Selanjutnya larutan dihomogenisasi dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 °C. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm (Maknunah, 2015). Setelah diperoleh nilai absorbansi atau *Optical Density* (OD), dibuat grafik kurva standar dengan memasukkan nilai OD sebagai sumbu x dan konsentrasi BSA sebagai sumbu y. Dari grafik kurva standar tersebut diperoleh persamaan $y = ax + b$. Kemudian, melalui persamaan tersebut dicari nilai x (konsentrasi protein sampel kurva standar). Selanjutnya dilakukan perhitungan kadar protein BSA menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar Protein} = \frac{\text{konsentrasi protein sampel kurva standar}}{\text{konsentrasi sampel untuk analisa}} \times fp \times 100\%$$

3.6.2 Penetapan Kadar Protein dalam Sampel

Sampel daging ayam ditimbang sebanyak 1 gram kemudian dihaluskan. Selanjutnya ditambahkan 20 ml aquades dan disaring. Setelah itu, dipipet 1 ml larutan sampel dan ditambahkan air sampai volume total 4 ml. Kemudian ditambahkan pereaksi Biuret sebanyak 6 mL. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Kemudian absorbansi sampel diukur menggunakan

spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm (Maknunah, 2015). Setelah diperoleh nilai absorbansi atau *Optical Density* (OD), dicari nilai x (konsentrasi protein sampel kurva standar) melalui persamaan $y = ax + b$ yang diperoleh dari grafik kurva standar. Selanjutnya dilakukan perhitungan kadar protein sampel menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar Protein} = \frac{\text{konsentrasi protein sampel kurva standar}}{\text{konsentrasi sampel untuk analisa}} \times f_p \times 100\%$$

3.7 Analisis Data

Data yang telah diperoleh kemudian dilakukan analisis menggunakan *Two Way ANOVA*. Data dinyatakan ada pengaruh apabila nilai signifikan $< 0,05$. Oleh sebab itu dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf 5%.

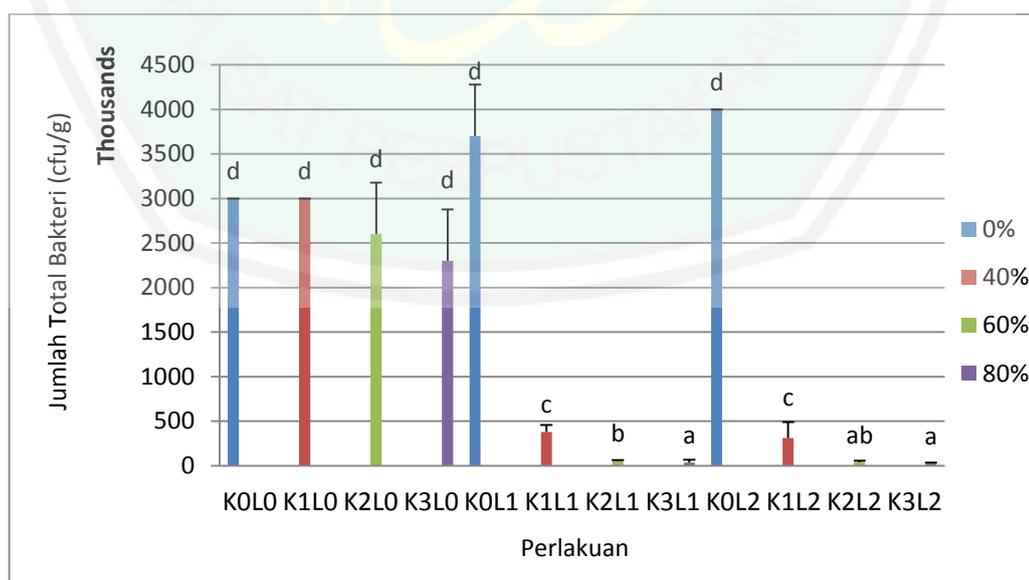
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan Lama Perendaman terhadap Jumlah Total Bakteri, Total Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan Kadar Protein pada Daging Ayam

4.1.1 Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan Lama Perendaman terhadap Jumlah Total Bakteri pada Daging Ayam

Perhitungan jumlah total bakteri dilakukan dengan metode *Total Plate Count*. Menurut Waluyo (2010), prinsip metode TPC yaitu setiap sel bakteri yang hidup kemudian diinokulasi pada media padat dan diinkubasi pada suhu yang sesuai akan membentuk koloni yang dapat dilihat secara langsung. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh rata-rata jumlah total bakteri dengan perlakuan konsentrasi dan lama perendaman yang dijelaskan pada gambar 4.1:



Gambar 4.1 Grafik Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dan Lama Perendaman terhadap Jumlah Total Bakteri pada Daging Ayam

Berdasarkan gambar 4.1 dapat diketahui bahwa rata-rata jumlah total bakteri pada lama perendaman 0 jam mengalami penurunan hingga lama perendaman 5 jam dan 10 jam. Begitu juga pada perlakuan konsentrasi 0%, rata-rata total bakteri mengalami penurunan hingga konsentrasi 40%, 60%, dan 80%. Jadi, dapat diasumsikan bahwa semakin tinggi konsentrasi dan lama perendaman maka semakin rendah jumlah total bakteri pada daging ayam. Hal ini sesuai dengan pendapat Pelczar (2008) bahwa konsentrasi antibakteri yang tinggi mengandung senyawa antibakteri yang tinggi juga sehingga bakteri yang terbunuh semakin banyak. Selain itu, waktu perendaman yang lama memungkinkan waktu kontak antibakteri terhadap bakteri juga lama, sehingga bakteri yang terbunuh semakin banyak.

Sementara itu, rata-rata total bakteri mengalami peningkatan pada perlakuan K0L0, K0L1 dan K0L2. Hal itu dikarenakan pada perlakuan tersebut mengandung konsentrasi antibakteri 0% sehingga tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Lama perendaman yang semakin lama juga akan menyebabkan bakteri semakin dapat memanfaatkan nutrisi yang ada pada daging ayam sehingga mengakibatkan peningkatan pertumbuhan bakteri. Sebagaimana hasil penelitian Suradi (2012), menunjukkan bahwa jumlah bakteri daging kerbau dengan lama penyimpanan 0 jam, 6 jam, 12 jam, 18 jam dan 24 jam pada suhu ruang mengalami peningkatan secara nyata seiring semakin meningkatnya lama penyimpanan. Hal tersebut disebabkan tersedianya kandungan nutrisi pada daging dan kecepatan pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan *Two Way* ANOVA (Lampiran 2) dapat diketahui bahwa interaksi antara konsentrasi dan lama perendaman menunjukkan nilai signifikan $< 0,05$ yang artinya interaksi konsentrasi dan lama perendaman berpengaruh terhadap jumlah total bakteri (TPC) pada daging ayam. Selanjutnya, untuk mengetahui adanya perbedaan pada masing-masing perlakuan, analisis dilanjutkan dengan Uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan signifikansi 5%. Berdasarkan hasil uji lanjut (Lampiran 2), menunjukkan bahwa pada lama perendaman 0 jam, perlakuan konsentrasi 0%, 40%, 60% dan 80% tidak berbeda nyata. Selanjutnya pada lama perendaman 5 jam dan 10 jam, perlakuan konsentrasi 0%, 40%, 60% dan 80% berbeda nyata antara satu dengan yang lain. Sementara itu, perlakuan lama perendaman 0 jam berbeda nyata dengan lama perendaman 5 jam dan 10 jam. Namun, lama perendaman 5 jam tidak berbeda nyata dengan 10 jam.

Rata-rata jumlah total bakteri (TPC) pada awal perlakuan K0L0 yaitu 3×10^6 cfu/g, kemudian mengalami penurunan secara terus menerus pada setiap perlakuan sehingga jumlah total bakteri pada perlakuan terakhir K3L2 menjadi $2,3 \times 10^4$ cfu/g (Lampiran 1). Perlakuan efektif untuk menurunkan jumlah total bakteri yaitu K3L1 dengan nilai $3,3 \times 10^4$ cfu/g yang sudah berada dibawah SNI 01/7388/2009 yaitu 1×10^6 cfu/g. Hasil ini sesuai dengan penelitian Nakyinsige (2016), bahwa daging ayam yang direndam dengan sari buah belimbing wuluh selama 4 dan 9 jam perendaman memiliki nilai TPC 0 cfu/g atau tidak ada pertumbuhan bakteri sehingga telah memenuhi SNI. Sedangkan, daging ayam yang tidak diberi perlakuan memiliki nilai TPC 8×10^6 cfu/g sehingga telah

melebihi SNI. Selain itu, penelitian Tilawah (2012) menunjukkan bahwa fillet ikan tuna yang direndam sari buah belimbing wuluh pada konsentrasi 80% efektif terhadap jumlah total bakteri yaitu $7,3 \times 10^4$ cfu/g yang masih dibawah SNI.

Berdasarkan nilai *Total Plate Count*, daging ayam yang diperoleh sejak dari tempat pemotongan telah terkontaminasi bakteri sebesar 3×10^6 cfu/g. Hal tersebut menunjukkan bahwa kualitas daging ayam kurang baik. Sebagaimana peraturan Badan Standar Nasional bahwa jika kandungan bakteri daging melebihi 1×10^6 cfu/g maka daging tersebut dianggap berkualitas rendah. Menurut Hernando (2015), hal tersebut dapat disebabkan oleh perlakuan ternak sebelum pemotongan yang dapat berpengaruh terhadap jumlah mikroba dalam daging. Ternak yang baru diangkut dari tempat lain hendaknya tidak dipotong sebelum cukup istirahat, karena akan meningkatkan jumlah bakteri dalam daging.

Permukaan daging yang baru disembelih umumnya mengandung bakteri sekitar 10^2 - 10^4 cfu/g (Nychas, 2000). Jumlah mikroorganisme akan terus meningkat seiring dengan semakin lamanya waktu penyimpanan pada suhu ruang sehingga dapat berpotensi mengalami pembusukan (Suradi, 2012). Pembusukan terjadi akibat dekomposisi protein oleh bakteri yang menghasilkan senyawa berbau busuk seperti H_2S , indol, dan ammonia. Pada daging unggas, indikasi awal pembusukan pada daging segar adalah bau busuk yang timbul karena pertumbuhan mikroba mencapai jumlah $2,5 \times 10^6$ - 1×10^8 cfu/g dan akan muncul lendir saat jumlah mikroorganisme sebesar 1×10^7 - 6×10^7 cfu/g (Nychas, 2000).

Adapun ciri-ciri pembusukan pada daging ayam akibat pertumbuhan bakteri antara lain, perubahan bau menjadi busuk disebabkan oleh bakteri yang

memecah protein menjadi senyawa yang lebih sederhana, sehingga menghasilkan senyawa berbau busuk seperti ammonia, H₂S, dan senyawa lainnya. Perubahan rasa daging ayam menjadi asam dan pahit karena pertumbuhan bakteri pembentuk asam dan senyawa pahit serta terjadi ketengikan yang disebabkan pemecahan atau oksidasi lemak daging. Perubahan tekstur akibat aktivitas bakteri yang melakukan dekomposisi jaringan - jaringan bagian dalam daging sehingga cepat mengalami penguraian dan tekstur daging menjadi menjadi lembek, dan berair. Pembentukan lendir dapat terjadi jika jumlah mikroba menjadi jutaan atau ratusan juta sel atau lebih per 1 cm luas permukaan daging serta disebabkan oleh produksi dekstran dan eksopolisakarida (Ho, 2004).

Jumlah mikroba yang tinggi pada daging ayam akan mengakibatkan penurunan mutu serta memperpendek masa simpan daging. Menurut penelitian Antika (2013), daging ayam yang disimpan dalam suhu ruang menunjukkan awal pembusukan pada jam ke-7 penyimpanan. Selanjutnya, menurut penelitian Suradi (2012) penyimpanan daging pada suhu kamar selama 12 jam sudah mendekati kebusukan dan penyimpanan selama 18 jam sudah dinyatakan busuk serta tidak layak dikonsumsi.

Beberapa penelitian juga telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh perendaman sari belimbing wuluh terhadap mutu sensoris daging ayam. Berdasarkan penelitian Suwandi (2018), perlakuan perendaman daging broiler dalam larutan belimbing wuluh menyebabkan bau amis pada daging broiler berkurang. Hal ini disebabkan oleh adanya senyawa antibakteri dan asam pada buah belimbing wuluh yang dapat mengurangi jumlah bakteri sehingga dapat

menyamarkan bau yang timbul dari daging ayam. Selain itu, daging broiler yang direndam menggunakan larutan belimbing wuluh memiliki rasa yang lebih disukai karena belimbing wuluh dapat menetralkan rasa amis pada daging. Asam dari belimbing wuluh membantu membebaskan substansi volatil yang terdapat dalam daging. Selanjutnya, tidak ada perubahan warna daging ayam baik tanpa perendaman larutan belimbing wuluh, maupun dengan perendaman larutan belimbing wuluh konsentrasi 20%, 40% dan 60%.

Penelitian Djafar (2014) menunjukkan bahwa senyawa-senyawa antimikroba maupun asam yang terkandung dalam belimbing wuluh memberikan pengaruh positif terhadap berbagai perubahan parameter mutu sensoris yang meliputi tekstur daging, bau, lendir, warna insang dan kenampakan mata, sehingga dapat dikatakan bahwa ikan layang pada penyimpanan 12 jam masih terlihat segar. Sedangkan, ikan hasil perlakuan kontrol mulai menunjukkan tanda kemunduran mutu yang ditandai dengan tekstur mulai lunak, bau busuk sangat kuat, lendir tebal menggumpal, insang mulai mengalami diskolorasi, bola mata cekung, pupil ke abu-abuan, dan kornea keruh.

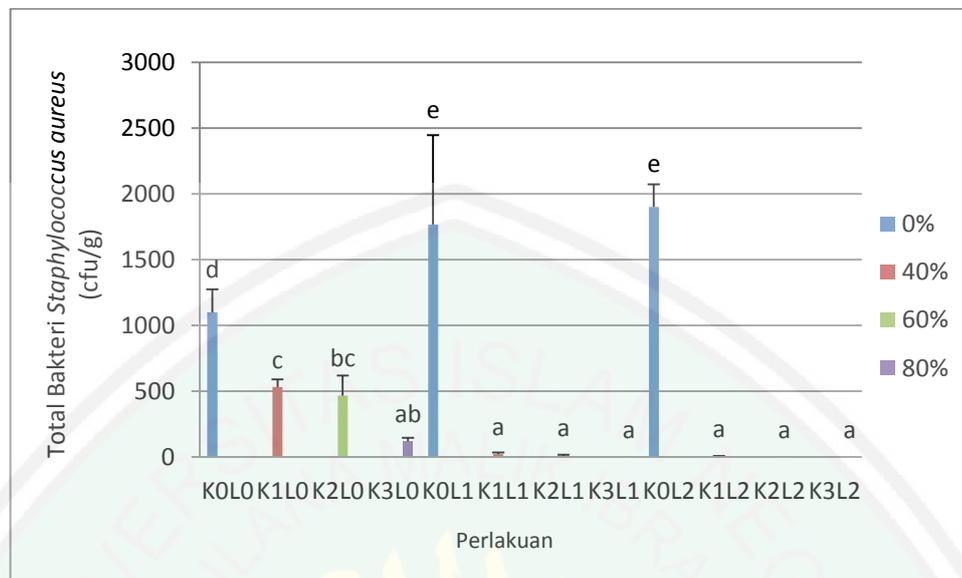
Perendaman dalam larutan belimbing wuluh dapat mencegah timbulnya bau ikan. Zat asam dapat mencegah terbentuknya senyawa-senyawa sampingan hasil denaturasi protein yang menyebabkan bau amis ikan sehingga bau ikan dapat disamarkan atau tidak dapat dideteksi oleh indera manusia. Selanjutnya semakin tinggi konsentrasi, maka semakin meningkat mutu sensoris untuk parameter lendir. Hal ini dikarenakan belimbing wuluh dapat membuat keadaan ikan menjadi asam sehingga aktivitas bakteri menjadi terhambat dan lendir yang

terbentuk pada lapisan kulit ikan masih menyerupai ciri-ciri ikan segar. Sementara itu, penggunaan belimbing wuluh juga dapat membuat mutu sensoris insang ikan lebih baik daripada tanpa penggunaan belimbing karena asam belimbing membuat mikroba pada insang terhambat (Djafar, 2014).

Perendaman dalam larutan belimbing wuluh juga menjadikan tekstur ikan layang menjadi lebih kompak dan padat akibat asam mengikat air dari tubuh ikan (Djafar, 2014). Sifat tekstur otot ikan segar dipengaruhi oleh agregasi (pengumpulan) dan denaturasi protein, terutama protein miofibril akibat asam. Penelitian Setyawati (2014) juga menunjukkan bahwa tekstur daging ikan nila menjadi kenyal seiring dengan perlakuan belimbing wuluh dan lama perendaman.

4.1.2 Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan Lama Perendaman terhadap Total Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Daging Ayam

Staphylococcus aureus merupakan mikroflora utama pada kulit hewan dan dapat dibawa oleh manusia melalui tangan, rongga hidung, dan tenggorokan. Keberadaan bakteri tersebut pada daging ayam mengindikasikan adanya kontaminasi langsung antara daging ayam dengan tangan pekerja yang tidak higienis atau melalui bersin dan batuk (Gundogan, 2005). Berdasarkan hasil penelitian diperoleh data rata-rata total bakteri *Staphylococcus aureus* dengan perlakuan konsentrasi dan lama perendaman pada gambar 4.2 sebagai berikut:



Gambar 4.2 Grafik Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan Lama Perendaman terhadap Total Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Daging Ayam

Berdasarkan gambar 4.2 dapat diketahui bahwa rata-rata total bakteri *Staphylococcus aureus* pada perlakuan lama perendaman 0 jam mengalami penurunan hingga lama perendaman 5 jam dan 10 jam. Begitu juga dengan perlakuan konsentrasi 0% mengalami penurunan hingga konsentrasi 40%, 60%, dan 80%. Jadi dapat diasumsikan bahwa semakin tinggi konsentrasi dan lama perendaman maka semakin rendah total bakteri *Staphylococcus aureus* pada daging ayam.

Sementara itu, total bakteri *Staphylococcus aureus* pada perlakuan K0L0, K0L1 dan K0L2 mengalami peningkatan. Hal ini dikarenakan konsentrasi antibakteri pada perlakuan tersebut yaitu 0% sehingga tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Lama perendaman yang semakin lama juga dapat memberikan kesempatan tumbuh berupa penambahan jumlah sel bakteri

Staphylococcus aureus. Sebagaimana hasil penelitian Fitrianto (2014) bahwa lama penyimpanan pada refrigerator memberikan pengaruh yang nyata terhadap *Staphylococcus aureus* pada bakso kalkun. Total *Staphylococcus aureus* terendah yaitu perlakuan P0 (tanpa penyimpanan), kemudian mengalami peningkatan hingga total bakteri tertinggi pada perlakuan P3 (penyimpanan 12 hari). Hal tersebut dikarenakan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada kisaran suhu 4 °C. Andarti (2015) menambahkan bahwa mikroorganisme dapat memanfaatkan nutrisi dalam media dengan baik untuk melakukan aktivitas pertumbuhannya sehingga pertumbuhan bakteri mengalami peningkatan.

Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan *Two Way* ANOVA (Lampiran 2) dapat diketahui bahwa interaksi antara konsentrasi dan lama perendaman menunjukkan nilai signifikan $< 0,05$ yang artinya interaksi konsentrasi dan lama perendaman berpengaruh terhadap total bakteri *Staphylococcus aureus* pada daging ayam. Selanjutnya, untuk mengetahui adanya perbedaan pada masing-masing perlakuan, analisis dilanjutkan dengan Uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan signifikansi 5%. Berdasarkan hasil uji lanjut (Lampiran 2) menunjukkan bahwa pada lama perendaman 0 jam, perlakuan konsentrasi 0%, 40%, 60% dan 80% berbeda nyata antara satu dengan yang lain. Selanjutnya pada lama perendaman 5 jam dan 10 jam, perlakuan konsentrasi 0% berbeda nyata dengan konsentrasi 40%, 60% dan 80%, namun pada konsentrasi 40%, 60% dan 80% tidak berbeda nyata antara satu dengan yang lain. Sementara itu, perlakuan lama perendaman 0 jam berbeda nyata dengan lama

perendaman 5 jam dan 10 jam. Namun lama perendaman 5 jam tidak berbeda nyata dengan lama perendaman 10 jam.

Rata-rata total bakteri *Staphylococcus aureus* pada awal perlakuan K0L0 yaitu $1,1 \times 10^3$ cfu/g kemudian mengalami penurunan sebanyak 570 sehingga total bakteri pada perlakuan K1L0 menjadi $5,3 \times 10^2$ cfu/g. Selanjutnya rata-rata total bakteri *Staphylococcus aureus* terus mengalami penurunan pada perlakuan K2L0 dan K3L0 masing-masing sebanyak 60 dan 350 sehingga total bakterinya menjadi $4,7 \times 10^2$ cfu/g dan $1,2 \times 10^2$ cfu/g. Sementara itu, rata-rata total bakteri *Staphylococcus aureus* pada perlakuan K0L1 yaitu $1,8 \times 10^3$ cfu/g kemudian mengalami penurunan sebanyak 1570 sehingga total bakteri pada perlakuan K1L1 menjadi $2,3 \times 10^1$ cfu/g. Selanjutnya, rata-rata total bakteri *Staphylococcus aureus* terus mengalami penurunan pada perlakuan K2L1 dan K3L1 masing-masing sebanyak 100 dan 130 sehingga total bakterinya menjadi $1,3 \times 10^1$ cfu/g dan 0 cfu/g. Begitu pula rata-rata total bakteri *Staphylococcus aureus* pada perlakuan K0L2 yaitu $1,9 \times 10^3$ terus mengalami penurunan pada K1L2 dan K2L2 sebanyak 1897 dan 3 sehingga total bakterinya menjadi $3,3 \times 10^0$ cfu/g dan 0 cfu/g.

Perlakuan efektif untuk menurunkan total bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu K1L1 dengan nilai $2,3 \times 10^1$ cfu/g yang sudah dibawah standar SNI. Menurut SNI 01/7388/2009, batas maksimal total bakteri *Staphylococcus aureus* pada daging ayam sebesar 1×10^2 cfu/g karena dalam jumlah $>10^5$ bakteri tersebut dapat membentuk enterotoksin yang tahan panas dan dapat menyebabkan keracunan makanan dengan ditandai rasa mual, muntah, diare hebat, dan tidak demam (Naim, 2004). Selanjutnya, hasil penelitian ini juga sesuai dengan penelitian

Septini (2017) yang menunjukkan bahwa kontrol positif kultur *Staphylococcus aureus* memiliki total bakteri 315×10^8 cfu/ml, sedangkan setelah diberi perlakuan sari belimbing wuluh konsentrasi 50% total bakteriya menurun menjadi 0 cfu/ml.

Adanya penurunan total bakteri *Staphylococcus aureus* dikarenakan belimbing wuluh mengandung flavonoid yang merupakan senyawa aktif dari ekstrak terbaik buah belimbing wuluh yang bermanfaat sebagai antibakteri (Lathifah, 2008). Penelitian Rahmiati (2017) menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah belimbing wuluh konsentrasi 40% memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 34 mm yang tergolong sangat kuat. Penelitian Maryam (2015) juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah belimbing wuluh pada konsentrasi 1,6% memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 13mm, *Escherichia coli* sebesar 10,3mm dan *Salmonella* sp. sebesar 12mm. Berdasarkan penelitian tersebut dapat diketahui bahwa aktivitas penghambatan antibakteri pada bakteri Gram positif lebih besar daripada bakteri Gram negatif. Meskipun demikian, ketiganya sama-sama tergolong kuat.

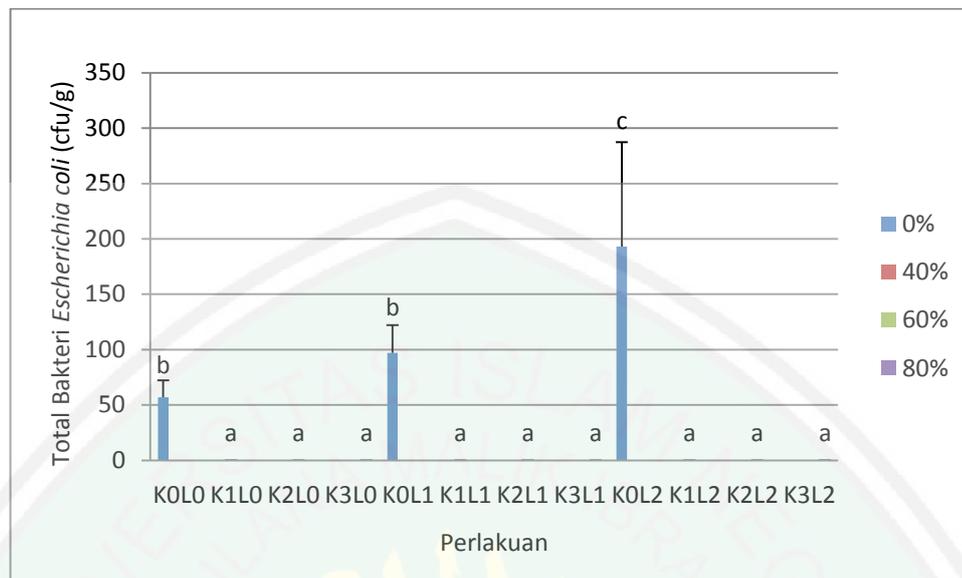
Bakteri *Staphylococcus aureus* yang termasuk bakteri Gram positif cenderung lebih sensitif terhadap senyawa antibakteri seperti flavonoid. Hal itu dikarenakan struktur dinding sel bakteri Gram positif relatif lebih sederhana daripada struktur dinding sel bakteri Gram negatif. Menurut Dewi (2010), susunan dinding sel bakteri Gram positif terdiri dari kandungan peptidoglikan lebih dari 50% dan asam teikoat yang keduanya bersifat polar serta kandungan lipid rendah (1-4%) yang bersifat non polar. Sementara itu, menurut Lathifah (2008) flavonoid

merupakan senyawa yang bersifat polar. Oleh sebab itu, senyawa flavonoid lebih mudah menembus membran sel bakteri Gram positif.

Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan cara merusak membran sel. Menurut Muhlisoh (2010), saat terjadinya kerusakan membran plasma, ion H^+ pada senyawa flavonoid akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi asam fosfat, gliserol, asam karboksilat. Hal ini mengakibatkan membran plasma akan bocor dan pertumbuhan bakteri akan terhambat bahkan sampai kematian bakteri.

4.1.3 Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan Lama Perendaman terhadap Total Bakteri *Escherichia coli* pada Daging Ayam

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. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh data rata-rata total bakteri *Escherichia coli* dengan perlakuan konsentrasi dan lama perendaman yang dijelaskan pada gambar 4.3 sebagai berikut:



Gambar 4.3 Grafik Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dan Lama Perendaman terhadap Total Bakteri *Escherichia coli* pada Daging Ayam

Berdasarkan gambar 4.3 dapat diketahui bahwa rata-rata total bakteri *Escherichia coli* mengalami peningkatan pada perlakuan K0L0, K0L1 dan K0L2. Sedangkan, pada perlakuan lainnya tidak ada pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hal tersebut dikarenakan pada perlakuan tersebut (K0) tidak mengandung senyawa antibakteri yang menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada perlakuan lainnya terdapat bahan antibakteri yang mampu membunuh bakteri sehingga tidak ada pertumbuhan *Escherichia coli*. Selain itu, lama perendaman yang semakin lama juga menyebabkan bakteri semakin dapat memanfaatkan nutrisi yang ada pada daging ayam. Hal tersebut memberikan kesempatan tumbuh bakteri berupa pertambahan jumlah sel sehingga total bakteri *Escherichia coli* semakin meningkat. Sebagaimana hasil penelitian Fitrianto (2014) bahwa lama penyimpanan memberikan pengaruh yang nyata terhadap *Escherichia coli* pada

bakso kalkun. Total *Escherichia coli* terendah yaitu perlakuan P0 (tanpa penyimpanan), kemudian mengalami peningkatan hingga total bakteri tertinggi pada perlakuan P3 (penyimpanan 12 hari). Andarti (2015) menambahkan bahwa mikroorganisme dapat memanfaatkan nutrisi dalam media dengan baik untuk melakukan aktivitas pertumbuhannya sehingga pertumbuhan bakteri mengalami peningkatan.

Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan *Two Way* ANOVA (Lampiran 2) dapat diketahui bahwa interaksi antara konsentrasi dan lama perendaman menunjukkan nilai signifikan $< 0,05$ yang artinya interaksi konsentrasi dan lama perendaman berpengaruh terhadap total bakteri *Escherichia coli* pada daging ayam. Selanjutnya, untuk mengetahui adanya perbedaan pada masing-masing perlakuan, analisis dilanjutkan dengan Uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan signifikansi 5%. Berdasarkan hasil uji lanjut (Lampiran 2), menunjukkan bahwa pada lama perendaman 0 jam, 5 jam dan 10 jam, perlakuan konsentrasi 0% berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi 40%, 60% dan 80%. Namun, perlakuan konsentrasi 40%, 60% dan 80% tidak berbeda nyata antara satu dengan yang lain. Sementara itu, perlakuan lama perendaman 0 jam tidak berbeda nyata dengan lama perendaman 5 jam dan 10 jam.

Rata-rata total bakteri *Escherichia coli* pada awal perlakuan K0L0 yaitu $5,6 \times 10^1$ cfu/g kemudian mengalami penurunan sebanyak 56 sehingga total bakterinya menjadi 0 cfu/g pada perlakuan K1L0 hingga K3L0. Begitu juga pada perlakuan K0L1 dan K0L2, masing-masing memiliki rata-rata total bakteri *Escherichia coli* $9,6 \times 10^1$ dan $1,9 \times 10^2$ kemudian mengalami penurunan sebanyak

96 dan 193 sehingga total bakterinya menjadi 0 cfu/g pada perlakuan K1L1 hingga K3L1 dan perlakuan K1L2 hingga K3L2.

Perlakuan efektif untuk menurunkan total bakteri *Escherichia coli* yaitu K1L0 dengan nilai 0 cfu/g yang sudah berada dibawah SNI. Menurut SNI 01/7388/2009, batas maksimal total bakteri *Escherichia coli* pada daging ayam sebesar 1×10^1 cfu/g. Naim (2004) menambahkan bahwa kontaminasi *Escherichia coli* enterohemoragik (EHEC) dalam jumlah 10^1 - 10^3 dapat menyebabkan penyakit pada manusia yaitu kolitis hemoragik, nyeri perut hebat, diare berair yang dilanjutkan dengan pengeluaran banyak darah. Selanjutnya, hasil penelitian ini juga sesuai dengan penelitian Fajriyah (2015) yang menunjukkan bahwa sari buah belimbing wuluh dengan konsentrasi 35% efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hasil penelitian Yudistira (2012) juga menunjukkan bahwa rataan koloni bakteri *Escherichia coli* dalam saluran pencernaan ayam petelur mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya konsentrasi pemberian sari belimbing wuluh.

Adanya penurunan total bakteri *Escherichia coli* dikarenakan buah belimbing wuluh mengandung flavonoid yang merupakan senyawa aktif dari ekstrak terbaik buah belimbing wuluh yang bermanfaat sebagai antibakteri (Lathifah, 2008). Penelitian Das (2011) menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah belimbing wuluh konsentrasi 400mg/ml memiliki daya hambat terhadap *Escherichia coli* sebesar 19mm yang tergolong kuat. Selanjutnya, penelitian Maryam (2015) menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah belimbing wuluh pada konsentrasi 1,6% memiliki daya hambat yang lebih kecil terhadap bakteri

Escherichia coli sebesar 10,3mm dan *Salmonella* sp. sebesar 12mm, sedangkan daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 13mm. Berdasarkan penelitian Maryam tersebut dapat diketahui bahwa aktivitas penghambatan antibakteri pada bakteri Gram negatif lebih kecil daripada bakteri Gram positif, meskipun ketiganya masih sama-sama tergolong kuat.

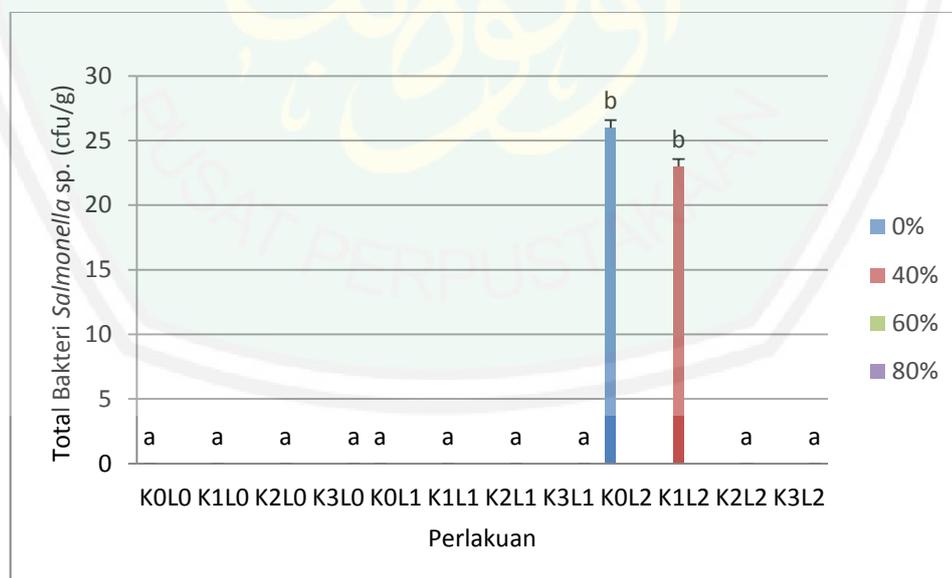
Menurut Dewi (2010), dinding sel bakteri Gram negatif lebih sulit untuk ditembus senyawa flavonoid karena terdiri dari kandungan lipid tinggi (11-22%) yang bersifat non polar dan kandungan peptidoglikan hanya 10% yang bersifat polar, serta membran luar sel yang berfungsi sebagai pertahanan selektif senyawa-senyawa yang keluar masuk sel yang bersifat toksik. Membran luar terdiri dari fosfolipid (lapisan dalam) dan lipopolisakarida (lapisan luar) yang bersifat non polar. Sementara itu, menurut Lathifah (2008) senyawa flavonoid bersifat polar. Hal inilah yang menyebabkan senyawa flavonoid lebih sulit untuk masuk ke dalam sel bakteri Gram negatif sehingga aktivitas antibakterinya kurang kuat daripada bakteri Gram positif.

Menurut Black and Jacobs (1993), senyawa aktif flavonoid memiliki beberapa mekanisme dalam menghambat pertumbuhan bakteri, yaitu merusak membran sel yang mengakibatkan pembengkakan sel dan pecahnya membran sel. Selain itu, Robinson (1995) menambahkan bahwa senyawa flavonoid memiliki sifat kimia yang asam. Hal tersebut dapat menyebabkan denaturasi protein sel bakteri yang mengakibatkan permeabilitas sel terganggu sehingga sel lisis dan akhirnya mati.

4.1.4 Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan Lama Perendaman terhadap Total Bakteri *Salmonella* sp. pada Daging Ayam

Salmonella sp. merupakan bakteri indikator keamanan pangan karena semua serotipe *Salmonella* yang diketahui di dunia ini bersifat patogen sehingga keberadaan bakteri ini dalam pangan dianggap membahayakan kesehatan (Dewi, 2016). *Salmonella* sp. banyak mengkontaminasi bahan pangan melalui udara, air, tanah, sisa kotoran hewan atau makanan hewan (Arifah, 2010). Penelitian Aftab (2012) menunjukkan bahwa bakteri *Salmonella* sp. mengkontaminasi daging ayam melalui rantai tempat penyembelihan dan alat penyembelihan.

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh data rata-rata total bakteri *Salmonella* sp. dengan perlakuan konsentrasi dan lama perendaman yang dijelaskan pada gambar 4.4 sebagai berikut:



Gambar 4.4 Grafik Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan Lama Perendaman terhadap Total Bakteri *Salmonella* sp. pada Daging Ayam

Berdasarkan gambar 4.4 dapat diketahui bahwa pada perlakuan K0L0 hingga K3L1 yang merupakan lama perendaman 0 jam dan 5 jam tidak terdapat pertumbuhan bakteri *Salmonella* sp. Hasil ini sama dengan penelitian Etika (2017) bahwa total bakteri *Salmonella* sp. pada daging broiler yang diambil pada waktu pagi dan siang hari di pasar-pasar tradisional Kabupaten Tanggamus yaitu 0 cfu/g. Hasil penelitian Arifin (2015) juga menunjukkan bahwadari 30 sampel daging sapi yang diperoleh dari beberapa pasar tradisional dan pasar modern di Kota Makassar tidak ditemukan adanya bakteri *Salmonella* sp.

Menurut Etika (2017), tidak adanya bakteri *Salmonella* sp. pada produk pangan dapat disebabkan oleh adanya cemaran bakteri lain yang dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella* sp. Sebagaimana pendapat Taylor (1999) yang mengatakan bahwa hasil pemeriksaan yang positif *Salmonella* sp. memang jarang ditemukan, karena potensi penyebaran bakteri ini memang lebih rendah dibandingkan dengan bakteri lain seperti *Escherichia coli* (Oscar, 2009).

Sementara itu, perlakuan K0L2 dan K1L2 yang merupakan lama perendaman 10 jam menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Salmonella* sp. Hal tersebut dimungkinkan terjadi karena *Salmonella* sp. membutuhkan waktu adaptasi yang lama untuk tumbuh, sementara itu konsentrasi pada perlakuan K0L2 dan K1L2 juga masih rendah sehingga memungkinkan *Salmonella* sp. dapat tumbuh. Sebagaimana pendapat Etika (2017) bahwa bakteri *Salmonella* sp. tidak dapat berkompetisi secara baik dengan bakteri-bakteri yang umum terdapat di dalam bahan makanan.

Hal lain yang dimungkinkan terjadi yaitu adanya kontaminasi pada perlakuan K0L2 dan K1L2. Kontaminasi dapat terjadi dari penggunaan alat yang kurang steril dan ketika proses pengenceran atau inokulasi yang kurang steril sehingga menyebabkan kontaminan dapat tumbuh. Hal tersebut juga terjadi pada penelitian Ardiansyah (2016) yang menunjukkan bahwa telur asin yang diberi perlakuan konsentrasi bawang putih 0% dan lama pengasinan 7 hari memiliki total bakteri *Salmonella* sp. 0 cfu/g. Sedangkan, telur asin dengan perlakuan konsentrasi bawang putih 0% dan lama pengasinan 10 hari memiliki total bakteri 58×10^1 cfu/g. Hal tersebut dapat disebabkan oleh ruang isolasi kurang steril, keluar masuknya alat dan bahan pada LAF sehingga menimbulkan kontaminasi.

Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan *Two Way* ANOVA (Lampiran 2) dapat diketahui bahwa interaksi antara konsentrasi dan lama perendaman menunjukkan nilai signifikan $< 0,05$ yang artinya interaksi konsentrasi dan lama perendaman berpengaruh terhadap total bakteri *Salmonella* sp. pada daging ayam. Selanjutnya, untuk mengetahui adanya perbedaan pada masing-masing perlakuan, analisis dilanjutkan dengan Uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan signifikansi 5%. Berdasarkan hasil uji lanjut (Lampiran 2), menunjukkan bahwa hampir seluruh perlakuan tidak berbeda nyata antara satu dengan yang lain kecuali perlakuan K0L2 dan K1L2.

Perlakuan efektif terhadap total bakteri *Salmonella* sp. yaitu K0L0 dengan nilai 0 cfu/g yang sudah berada dibawah SNI. Menurut SNI 01/7388/2009, batas maksimal *Salmonella* sp. pada daging ayam yaitu negatif per 25 gram yang berarti tidak boleh ada pertumbuhan *Salmonella* sp. Menurut Naim (2004), kontaminasi

Salmonella sp. dengan jumlah $<10^3$ dalam makanan dapat menyebabkan salmonellosis yang ditandai dengan gejala demam akut, nyeri abdominal, diare, dan terkadang muntah. Penelitian Yudistira (2012) menunjukkan bahwa sari belimbing wuluh (SBW) mampu menurunkan secara nyata jumlah koloni *Salmonella* sp. dalam saluran pencernaan ayam petelur seiring dengan meningkatnya konsentrasi pemberian SBW pada tiap perlakuan.

Buah belimbing wuluh mengandung flavonoid yang merupakan senyawa aktif dari ekstrak terbaik buah belimbing wuluh yang bermanfaat sebagai antibakteri (Lathifah, 2008). Sebagaimana penelitian Zakaria (2007) yang menunjukkan bahwa ekstrak aquades buah belimbing wuluh konsentrasi 100mg/ml memiliki daya hambat terhadap *Salmonella* sp. sebesar 12mm yang tergolong kuat. Selanjutnya, penelitian Maryam (2015) menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah belimbing wuluh pada konsentrasi 1,6% memiliki daya hambat yang lebih kecil terhadap bakteri *Salmonella* sp. sebesar 12mm dan *Escherichia coli* sebesar 10,3 mm, sedangkan daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 13mm. Berdasarkan penelitian Maryam tersebut dapat diketahui bahwa aktivitas penghambatan antibakteri pada bakteri Gram negatif lebih kecil daripada bakteri Gram positif, meskipun ketiganya masih sama-sama tergolong kuat.

Menurut Dewi (2010), dinding sel bakteri *Salmonella* sp. lebih sulit untuk ditembus senyawa flavonoid karena struktur dinding sel bakteri Gram negatif yang tersusun atas kadar lipid yang tinggi dan bersifat non polar sehingga senyawa flavonoid yang bersifat polar sulit untuk menembus dinding selnya.

Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan cara merusak membran sel. Menurut Muhlisoh (2010), saat terjadinya kerusakan membran plasma, ion H^+ pada senyawa flavonoid akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi asam fosfat, gliserol, asam karboksilat. Hal ini mengakibatkan membran plasma akan bocor dan pertumbuhan bakteri akan terhambat bahkan sampai kematian bakteri.

4.1.5 Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan Lama Perendaman terhadap Kadar Protein pada Daging Ayam

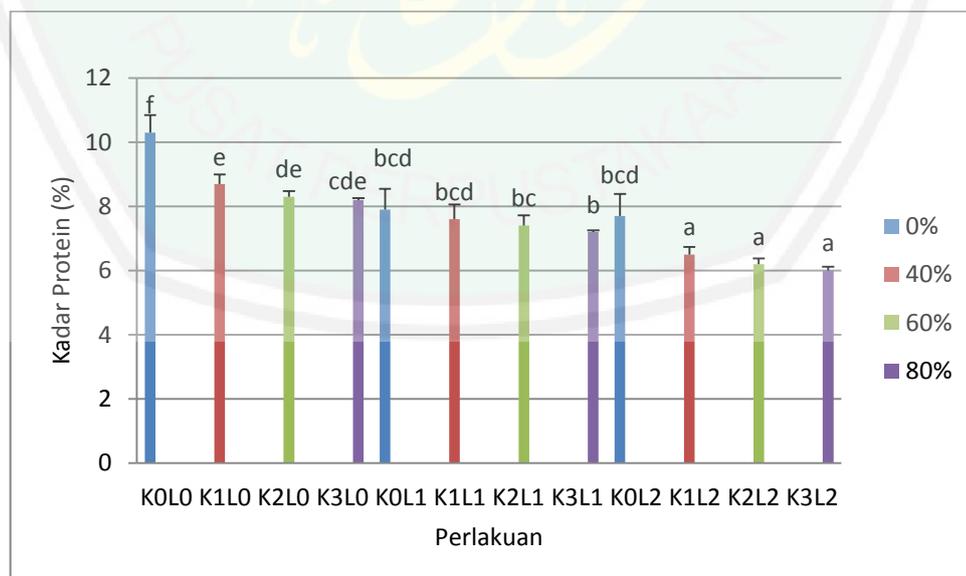
Analisis kadar protein dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi sari buah belimbing wuluh dan lama perendaman terhadap kadar protein pada daging ayam. Hal tersebut dikarenakan buah belimbing wuluh mempunyai sifat asam yang dikhawatirkan dapat merusak kadar protein daging ayam. Sebagaimana pendapat Ophart (2003) bahwa denaturasi protein dapat disebabkan oleh banyak faktor, antara lain pengaruh pemanasan atau perubahan suhu, penambahan asam atau basa, dan proses kimia atau fisika.

Beberapa metode yang dapat digunakan untuk analisis kadar protein dalam bahan makanan antara lain metode Kjeldahl, Lowry, Biuret, dan Bradford (Sudarmadji, 2007). Menurut Winarno (2004), metode Kjeldahl merupakan metode analisis kadar protein kasar dalam bahan makanan secara tidak langsung karena yang dianalisis adalah kadar nitrogennya sehingga bukan hanya nitrogen dari protein, melainkan purin, pirimidin, dan vitamin ikut terukur sebagai nitrogen protein. Selanjutnya, Sumantri (2013) menambahkan bahwa metode

biuret merupakan metode yang cukup efisien, murah, dan lebih sederhana dibandingkan metode Lowry dan Bradford. Oleh sebab itu, metode yang digunakan untuk analisis kadar protein pada penelitian ini yaitu metode biuret.

Metode Biuret merupakan metode untuk menganalisis adanya ikatan peptida dalam bahan makanan dengan menggunakan reagen biuret yang mengandung NaOH dan CuSO_4 . Menurut Bintang (2010), prinsip metode biuret yaitu ion Cu^{2+} dari pereaksi biuret dalam suasana basa akan bereaksi dengan gugus N pada ikatan peptida yang menyusun protein sehingga membentuk kompleks berwarna biru keunguan. Intensitas warna yang dihasilkan merupakan ukuran jumlah ikatan peptida yang ada dalam protein. Selanjutnya kadar protein sampel ditetapkan dengan spektrofotometer.

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh data rata-rata kadar protein dengan perlakuan konsentrasi dan lama perendaman yang dijelaskan pada gambar 4.5:



Gambar 4.5 Grafik Pengaruh Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan Lama Perendaman terhadap Kadar Protein pada Daging Ayam

Berdasarkan gambar 4.5 dapat diketahui bahwa rata-rata kadar protein lama perendaman 0 jam mengalami penurunan hingga lama perendaman 5 jam dan 10 jam. Begitu juga dengan perlakuan konsentrasi 0% mengalami penurunan hingga konsentrasi 40%, 60%, dan 80%. Jadi, berdasarkan grafik tersebut dapat diasumsikan bahwa semakin tinggi konsentrasi dan lama perendaman maka kadar protein pada daging ayam semakin rendah. Penurunan kadar protein tersebut terjadi karena buah belimbing wuluh mengandung berbagai asam organik yang dapat menyebabkan denaturasi protein. Hal ini sesuai dengan pendapat Ophart (2003) bahwa asam atau basa akan memecah ikatan intramolekul yang menyebabkan denaturasi protein. Semakin lama protein berinteraksi dengan asam atau basa, maka kemungkinan besar ikatan intramolekul protein terhidrolisis sehingga struktur protein dapat rusak.

Sementara itu, rata-rata kadar protein pada perlakuan K0L0, K0L1 dan K0L2 juga mengalami penurunan. Hal tersebut disebabkan oleh lama perendaman yang juga dapat mempengaruhi kadar protein daging ayam. Sebagaimana hasil penelitian Sundarsih (2009) bahwa semakin lama waktu perendaman kedelai, maka kadar proteinnya semakin menurun. Begitu juga dengan hasil penelitian Jumhuri (2014) bahwa lama perendaman ikan keumamah berpengaruh terhadap kadar protein. Semakin lama perendaman, maka kadar protein pada ikan keumamah semakin menurun. Menurut Desrosier (1988) semakin menurunnya kadar protein dengan semakin lamanya perendaman disebabkan oleh lepasnya ikatan struktur protein sehingga komponen protein terlarut dalam air.

Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan *Two Way* ANOVA (Lampiran 2) dapat diketahui bahwa interaksi antara konsentrasi dan lama perendaman menunjukkan nilai signifikan $< 0,05$ yang artinya interaksi konsentrasi dan lama perendaman berpengaruh terhadap kadar protein pada daging ayam. Untuk mengetahui adanya perbedaan pada masing-masing perlakuan, analisis dilanjutkan dengan Uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan signifikansi 5%. Berdasarkan hasil uji lanjut (Lampiran 2), menunjukkan bahwa pada lama perendaman 0 jam, konsentrasi 0% berbeda nyata dengan konsentrasi 40%, 60% dan 80%, namun konsentrasi 40%, 60% dan 80% tidak berbeda nyata antara satu dengan yang lain. Pada lama perendaman 5 jam, konsentrasi 0%, 40%, 60% dan 80% tidak berbeda nyata antara satu dengan yang lain. Selanjutnya pada lama perendaman 10 jam, konsentrasi 0% berbeda nyata dengan konsentrasi 40%, 60% dan 80%, namun konsentrasi 40%, 60% dan 80% tidak berbeda nyata antara satu dengan yang lain. Sementara itu, lama perendaman 0 jam berbeda nyata dengan lama perendaman 5 jam dan 10 jam.

Rata-rata kadar protein pada awal perlakuan K0L0 yaitu 10,3% kemudian mengalami penurunan secara terus menerus sebanyak 4,3% sehingga kadar protein pada perlakuan terakhir K3L2 menjadi 6% (Lampiran 1). Perlakuan efektif terhadap kadar protein yaitu K0L0 dengan kadar protein 10,3%. Sebagaimana hasil penelitian Wikanta (2010) menunjukkan bahwa penambahan perasan buah belimbing wuluh dengan konsentrasi 80% menurunkan kadar protein udang putih sebesar 0,76% dari kadar protein asal 23,205 g% menjadi 23,028 g%. Selain itu, penelitian Setyawati (2014) juga menunjukkan bahwa penambahan sari buah

belimbing wuluh dan lama perendaman berpengaruh menurunkan kadar protein pada ikan nila.

Buah belimbing wuluh mengandung berbagai macam asam organik antara lain asam asetat, asam sitrat, asam format, asam laktat dan asam oksalat. Adapun kandungan asam organik yang paling besar yaitu asam sitrat sebesar 92,6-133,8 meq asam/100 gram total padatan. Kandungan asam sitrat tersebut dapat menyebabkan denaturasi protein. Sebagaimana pendapat Krisnaningsih (2014), kandungan asam sitrat mampu mempengaruhi protein mengalami denaturasi, dimana protein mendekati titik isoelektrik, daya ikatnya menurun, kelarutannya menjadi berkurang sehingga mengakibatkan terjadinya penggumpalan.

Penambahan asam lemah seperti asam sitrat berarti menambahkan konsentrasi ion H^+ yang kemudian akan mengadakan reaksi dengan muatan negatif protein yang berasal dari gugus hidroksil bebasnya. Semakin banyak konsentrasi H^+ yang ditambahkan maka semakin banyak pula penurunan pH sehingga titik isoelektiknya semakin dekat (Suprayitno, 2017). Ophart (2003) menambahkan bahwa protein yang terdenaturasi akan berkurang kelarutannya. Lapisan molekul bagian dalam yang bersifat hidrofobik akan keluar sedangkan bagian hidrofilik akan terlipat ke dalam. Pelipatan akan terjadi apabila protein mendekati pH isoelektris lalu protein akan menggumpal dan mengendap.

Berdasarkan nilai kadar protein, daging ayam yang diperoleh sejak dari tempat pemotongan memiliki kadar protein sebesar 10,3%. Hal tersebut menunjukkan bahwa kualitas daging ayam kurang baik karena menurut Depkes (1996), kandungan protein daging ayam segar sekitar 16-22%. Hal

tersebut dikarenakan jumlah total bakteri pada daging ayam yang tinggi. Total koloni bakteri pada daging ayam juga dapat menurunkan kadar protein karena salah satu faktor yang dibutuhkan oleh bakteri untuk pertumbuhannya adalah protein. Pertumbuhan bakteri akan mempercepat denaturasi protein sehingga kadar protein akan menurun. Bakteri dapat memecah molekul-molekul kompleks dan zat-zat organik seperti polisakarida, lemak dan protein menjadi unit yang lebih sederhana (Hafriyanti, 2008).

Agama Islam telah mengajarkan aturan dalam mengonsumsi makanan. Sebagaimana dalam al-Qur'an telah dijelaskan bahwa makanan yang dikonsumsi harus bersifat halal dan baik (*halalan thayyiban*). Hal tersebut sangat penting karena tidak semua makanan yang halal akan menjadi *thayyib* bagi konsumen. Misalnya, daging ayam termasuk bahan makanan yang halal untuk dikonsumsi, namun daging ayam yang terkontaminasi bakteri melebihi batas menjadi tidak baik atau *thayyib* untuk dikonsumsi karena dapat menyebabkan penyakit. Bahkan, di dalam al-Qur'an ditemukan beberapa ayat yang menggabungkan sifat halal dan *thayyib* antara lain QS. al-Baqarah ayat 168, QS. al-Anfal ayat 69 dan QS. an-Nahl ayat 144 (Kartubi, 2013). Selain itu, Allah SWT juga berfirman dalam QS. al-Maidah (5): 88 sebagai berikut:

وَكُلُوا مِمَّا رَزَقَكُمُ اللَّهُ حَلَالًا طَيِّبًا ۗ وَاتَّقُوا اللَّهَ الَّذِي أَنْتُمْ بِهِ مُؤْمِنُونَ

Artinya: “Dan makanlah makanan yang halal lagi baik dari apa yang Allah telah rezekikan kepadamu, dan bertakwalah kepada Allah yang kamu beriman kepada-Nya”.

Menurut al-Qurthubi (2009), lafadz حَلَالٌ artinya tidak terikat atau lepas dari ikatan (ketentuan) yang melarangnya. Sebagaimana pendapat al-Jazairi (2007), lafadz حَلَالٌ adalah segala sesuatu yang terlepas dari ikatan bahaya, artinya segala sesuatu yang diizinkan Allah SWT untuk dimanfaatkan. Selanjutnya, menurut al-Maragi (1993), lafadz حَلَالٌ artinya segala sesuatu yang diperbolehkan oleh syariat Islam.

Sementara itu, lafadz طَيِّبٌ artinya baik, bersih, sehat, bergizi (Ali, 2009). Sebagaimana pendapat al-Jazairi (2007), lafadz طَيِّبٌ artinya sesuatu yang suci, bersih, tidak mengandung kotoran dan najis. Selanjutnya menurut ad-Dimasyqi (2000) dan Hasan (2006), lafadz طَيِّبٌ artinya segala makanan yang baik dan tidak membahayakan tubuh serta tidak mencederakan akal. Selanjutnya, menurut al-Mubarakfuri (2000), lafadz طَيِّبٌ artinya baik dan bermanfaat bagi dirinya serta tidak membahayakan bagi jiwa raganya. Selain baik, lafadz طَيِّبٌ juga diartikan lezat, bergizi, dan berdampak positif bagi kesehatan (Shihab, 2001).

Berdasarkan tafsir dalam QS. al-Maidah (5): 88, lafadz حَلَالٌ menjelaskan bahwa Allah SWT telah memberikan rezeki berupa makanan yang diperbolehkan secara syariat Islam untuk dimakan. Salah satu contoh konsep makanan yang halal yaitu daging ayam yang disembelih menurut syariat Islam. Beberapa syarat penyembelihan hewan menurut syariat Islam antara lain penyembelih adalah seorang muslim, hewan yang disembelih merupakan hewan yang dagingnya halal dimakan dan masih hidup, alat yang digunakan untuk menyembelih harus tajam, membaca basmalah ketika menyembelih, menghadapkan hewan yang disembelih

ke arah kiblat, proses penyembelihan memutuskan saluran tenggorokan, kerongkongan dan dua urat leher (Yaqub, 2009).

Lafadz طَيِّبًا berdasarkan tafsir dalam QS. Al-Maidah (5): 88 menjelaskan bahwa makanan yang baik adalah makanan yang bersih, sehat, bergizi, lezat, tidak membahayakan tubuh, dan bermanfaat bagi kesehatan. Makanan bergizi artinya makanan mengandung zat- zat yang dibutuhkan tubuh sehingga bermanfaat bagi kesehatan, misalnya protein, lemak, kalsium, fosfor dan lain-lain (Jaya, 2009).

Menurut Safitri (2010), halal dalam persoalan makanan adalah dibolehkannya sesuatu oleh Allah SWT berdasar suatu prinsip yang sesuai dengan syariat-Nya. Sedangkan *thayyib* berarti makanan yang suci, tidak kotor dari segi zatnya atau rusak (kadaluarsa), atau tercampur benda najis yang membahayakan kesehatan fisik serta akal. Hal ini juga sebagaimana pendapat Adam (2017) bahwa halal diartikan sebagai hal- hal yang boleh dan dapat dilakukan karena bebas atau tidak terikat dengan ketentuan yang melarangnya. Sedangkan *thayyib* berarti makanan yang tidak kotor atau rusak dari segi zatnya atau tercampur benda najis, makanan yang mengundang selera konsumennya dan tidak membahayakan fisik serta akalnya (Adam, 2017).

Menurut Kartubi (2013), baik tidaknya makanan (*thayyib*) yang dikonsumsi dapat ditinjau dari segi sehat, proporsional, dan aman. Makanan yang sehat adalah makanan yang memiliki kandungan zat gizi yang cukup dan seimbang. Proporsional adalah makanan yang dimakan sesuai dengan kebutuhan dalam artian tidak berlebihan dari apa yang dibutuhkan oleh tubuh dan tidak pula

kekurangan. Selanjutnya, aman adalah makanan yang suci dari kotoran misalnya kontaminasi seperti bakteri patogen yang dapat membahayakan tubuh.

Daging ayam merupakan salah satu bahan makanan asal ternak unggas yang mengandung berbagai macam nilai gizi, namun mudah dirusak oleh bakteri karena kadar air dan kadar proteinnya yang tinggi. Daging ayam yang terkontaminasi bakteri melebihi SNI dapat menyebabkan penyakit, misalnya kontaminasi *Eschericia coli* enterohemoragik (EHEC) dalam jumlah 10^1 - 10^3 dapat menyebabkan kolitis hemoragik dan diare berair dengan pengeluaran banyak darah (Naim, 2004). Hal tersebut sangat membahayakan tubuh sehingga konsep *thayyib* tidak terpenuhi.

Salah satu cara alternatif yang dapat menurunkan kontaminasi mikroba yaitu dengan menggunakan buah belimbing wuluh. Sebagaimana hasil dalam penelitian ini yaitu sari buah belimbing wuluh berpengaruh untuk menurunkan cemaran bakteri pada daging ayam sehingga aman untuk dikonsumsi dan konsep *thayyib* telah terpenuhi. Oleh sebab itu, islam telah mengatur konsep makanan halal dan *thayyib* yang sangat penting bagi keselamatan jiwa, raga dan akal manusia.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu interaksi konsentrasi sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan lama perendaman berpengaruh dalam menurunkan jumlah total bakteri (TPC), *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan kadar protein pada daging ayam. Perlakuan efektif untuk menurunkan jumlah total bakteri yaitu K3L1 dengan nilai $3,3 \times 10^4$ cfu/g, untuk *Staphylococcus aureus* yaitu K1L1 dengan nilai $2,3 \times 10^1$ cfu/g, untuk *Escherichia coli* yaitu K1L0 dengan nilai 0 cfu/g, untuk *Salmonella* sp. yaitu K0L0 dengan nilai 0 cfu/g dan untuk kadar protein yaitu K0L0 dengan nilai 10,3%.

5.2 Saran

Daging ayam yang telah mengalami proses penyembelihan sebaiknya direndam dalam sari buah belimbing wuluh selama 5 jam dan konsentrasi 80% 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 sari buah belimbing wuluh tidak dilakukan terlalu lama namun dengan konsentrasi yang tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abraham, Chinju Merin. 2016. Antibacterial Effect of *Averrhoa bilimbi* L. Fruit Extracts. *International Research Journal of Biological Sciences*. Volume 5. Nomor 8
- Adam, Panji. 2017. Kedudukan Sertifikasi Halal dalam Sistem Hukum Nasional sebagai Upaya Perlindungan Konsumen dalam Hukum Islam. *Amwaluna*. Vol 1. No. 1
- Ad-Dimasyqi Al-Imam Abul Fida Isma'il Ibnu Katsir. 2000. *Tafsir Ibnu Katsir*. Bandung: Sinar Baru Algensindo
- Aerita, Asmorowati Nugroho. 2014. Hubungan Higiene Pedagang dan Sanitasi dengan Kontaminasi Salmonella pada Daging Ayam. *Unnes Journal of Public Health*. Volume 3. Nomor 4
- Aftab, M. 2012. Level of Salmonella in Beef of Slaughtered Cattle at Peshawar. *J. Anim. Plant Sci*. Volume 22. Nomor 2
- Ali, Yusuf Abdullah. 2009. *Tafsir Yusuf Ali*. Bogor: Litera AntarNusa
- Al-Jazairi, Syaikh Abu Bakar Jabir. 2007. *Tafsir Al Quran Al Aisar Jilid 3*. Jakarta: Darus Sunnah
- Al-Maraghi, Ahmad Mushthafa (1993). *Tafsir Al-Maraghi (Edisi Terjemahan)*. Semarang: Penerbit Toha Putra
- Al-Mubarakfuri Shafiyurrahman. 2000. *Shahih Tafsir Ibnu Katsir Jilid 1*. Jakarta: Pustaka Ibnu
- Al-Qarni, A. 2007. *Tafsir Al-Muyassar*. Jakarta: Qisthi Press
- Al-Qurthubi, S.I. 2009. *Tafsir Qur'an Al-Qurthubi (Edisi Terjemahan)*. Jakarta: Pustaka Azzam
- Andarti, Ika Yuli. 2015. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Kimia, Mikrobiologi, dan Organoleptik Miso Kedelai Hitam. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Volume 3. Nomor 3
- 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

- Anggordi. 1994. *Ilmu Makanan Ternak Umum*. Jakarta: Penerbit Gramedia
- Antika, Dwi Dona. 2013. Pengaruh Cara Pengemasan dan Suhu Penyimpanan terhadap Awal Pembusukan Daging Sapi. *Veterinaria Medika*. Volume 6. Nomor 1
- Ardiansyah. 2016. Pertumbuhan *Salmonella* sp. dengan Variasi Konsentrasi Bawang Putih (*Allium sativum*) pada Telur Asin. Skripsi. Makassar: Universitas Islam Negeri Alauddin
- Arif, Sufyan. 2011. Uji Total Plate Count (TPC) dan Enterobacter Daging Kambing di Pasar Kota Malang. *Skripsi*. Malang: Jurusan Teknologi Hasil Peternakan Universitas Brawijaya
- Arifah, I. N. 2010. *Analisis Mikrobiologi pada Makanan*. Surakarta: Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Universitas Sebelas Maret
- Arifin, Ita Masita. 2015. Deteksi *Salmonella* sp. pada Daging Sapi di Pasar Tradisional dan Pasar Modern di Kota Makassar. *Skripsi*. Makassar: Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin
- Ayucecharia, Noverda. 2017. Analisis Kualitatif Formalin pada Ayam yang Dijual di Pasar Lama Wilayah Banjarmasin. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. Volume 2. Nomor 1
- Az-Zuhaili, Wahbah. 2013. *Tafsir Al-Wasith*. Jakarta: Gema Insani
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2011. *Makanan dalam Produk Pangan*. Jakarta: BPOM RI
- Badan Standar Nasional. 2009. (SNI 01/7388/2009). *Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional
- Badan Standar Nasional. 2010. *Ayam Brioler (SNI 01-4258-2010)*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional
- Biantoro, I. 2008. Metichillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Tesis*. Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
- Bintang, Maria. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Jakarta: Erlangga
- Black, J.M. and Jacobs, E.M. 1993. *Medical Surgical Nursing 4th Edition*. Philadelphia: Saunders Company

- Boerlin, P. 2003. Methods for Identification of *Staphylococcus aureus* isolates in Cases of Bovine Mastitis. *J. Clin. Microbiol. Am. Soc. Microbiol.* Volume 41. Nomor 2
- BPS Provinsi Jawa Timur. 2016. *Provinsi Jawa Timur Dalam Angka 2016*. Surabaya
- BPS. 2016. *Outlook Daging Ayam Komoditas Pertanian Subsektor Peternakan*. Jakarta: Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Sekretariat Jenderal Kementerian Pertanian
- Brooks, G. F. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC
- Buckle, K.A. 2007. *Ilmu Pangan*. Jakarta: UI Press
- Campbell, and Reece. 2008. *Biologi Edisi Kedelapan Jilid 2*. Jakarta: Airlangga
- Chowdury, R. K. M. 2009. Effect of Citric Acid, Avilamycin and Their Combination on the Performance, Tibia ash and Immune Status of Broilers. *J. Effect. Poultry Science*. Volume 88. Nomor 8
- Das, Sreedam Chandra. 2011. Antibacterial and Cytotoxic Activities of Methanolic Extracts of Leaf And Fruit Parts of the Plant *Averrhoa bilimbi* (Oxalidaceae). *American Journal of Scientific and Industrial Research*. Volume 2. Nomor 4
- Datu, Jeryanti Tandi. 2015. Aktivitas Antibakteri Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis*. Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian
- Departemen Kesehatan RI. 1996. *Kandungan Gizi Daging Ayam Segar*. Jakarta: Depkes RI
- Departemen Kesehatan RI. 1999. Peraturan Menteri Kesehatan RI No.1168/MenKes/PER/X/1999 tentang Perubahan Atas Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 722/MenKes/PER/IX/1988 tentang Bahan Tambahan Pangan. Jakarta: Depkes RI
- Desrosier, N. 1988. *Teknologi Pengawetan Pangan*. Jakarta: UI Press
- Dewi, A. K. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *J. Sain Veteriner*. 31: 138-151

- Dewi, ES. 2016. Kualitas Mikrobiologis Daging Unggas di RPA dan yang Beredar di Pasaran. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*. Volume 04. Nomor 3
- Dewi, Fajar Kusuma. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. *Skripsi*. Surakarta: Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret
- Djafar, Raflin. 2014. Efektivitas Konsentrasi Belimbing Wuluh terhadap Parameter Mutu Organoleptik dan pH Ikan Layang Segar Selama Penyimpanan Ruang. *Nikè: Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. Vol. II. No. 1
- Etika, Tiara Nur. 2017. Kandungan *Salmonella* sp. Daging Broiler di Pasar -Pasar Tradisional Kabupaten Tanggamus. *Skripsi*. Bandar Lampung: Jurusan Peternakan Universitas Lampung
- Fajriyah, Yuly Diyan Nur. 2015. Pengaruh Kombucha Sari Buah Belimbing Wuluh terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Bioedukasi*. Volume 13. Nomor 2
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- Fitrianto, Eko. 2014. Pengaruh Lama Penyimpanan terhadap Kualitas Uji Mikrobiologi Bakso Daging Kalkun. *Skripsi*. Malang: Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya
- Ganiswara, 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: UI Press
- Gilarso, T. 1998. *Ekonomi Indonesia Sebuah Pengantar*. Yogyakarta: Kanisius
- Gundogan, N. 2005. A Note on the Incidence and Antibiotic Resistance of *Staphylococcus aureus* Isolated from Meat and Chicken Samples. *Meat Science*. Volume 69
- Gustiani, Erni. 2009. Pengendalian Cemaran Mikroba pada Bahan Pangan Asal Ternak (Daging dan Susu) Mulai dari Peternakan sampai Dihadangkan. *Jurnal Litbang Pertanian*. Nomor 28. Volume 3
- Hafriyanti. 2008. Kualitas Daging Sapi dengan Kemasan Plastik PE (Polyethylen) dan Plastik PP (Polypropylen) di Pasar Arengka Kota Pekanbaru. *Jurnal Peternakan*. Volume 5. Nomor 1
- Harijani, Nenny. 2013. Isolasi *Escherichia coli* pada Daging yang Diperoleh dari Beberapa Pasar Tradisional di Surabaya Selatan. *Veterinaria Medika*. Volume 6. Nomor 1

- Hasan, Abdul Halim. 2006. *Tafsir Al-Hakam*. Jakarta: Kencana
- Hasrawati. 2017. Tingkat Cemarkan Bakteri *Salmonella* sp. pada Daging Ayam yang Dijual di Pasar Tradisional Makassar. *Skripsi*. Makassar: Universitas Islam Negeri Alauddin
- Hendrayati, Teksis Irena. 2012. Perubahan Morfologi *Escherichia coli* Akibat Paparan Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao*) secara In Vitro. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember
- Hernando, Deni. Kadar Air dan Total Mikroba pada Daging Sapi di Tempat Pemotongan Hewan (TPH) Bandar Lampung. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. Volume 3. Nomor 1
- Hertanto, Bambang. 2012. Penggunaan Belimbing Wuluh Untuk Menghambat Oksidasi dan Mempertahankan Mutu Organoleptik pada Dendeng Sapi selama Penyimpanan. *Skripsi*. Bogor: Jurusan Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan Institut Pertanian Bogor
- Ho, C.P. 2004. A Survey of Microbial Contamination of Food Contact Surface at Broiler Slaughter Plants in Taiwan. *J. of Food Protection*. Volume 67. Nomor 12
- Ibrahim, Jumriani. 2017. Tingkat Cemarkan Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Daging Ayam yang Dijual di Pasar Tradisional Makassar. *Skripsi*. Makassar: Jurusan Ilmu Peternakan UIN Alauddin Makassar
- Jawetz, E. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC
- Jaya, Muhammad. 2009. Ternyata Makanan dan Minuman Anda Mengandung Babi dan Khamar!. Yogyakarta: Penerbit Riz'ma
- Jumhuri. 2014. Pengaruh Perendaman Ikan *Keumamah* dengan Waktu Berbeda terhadap Kadar Protein. *Jurnal Medika Veterinaria*. Vol 8. No 2
- Kartubi. 2013. Keutamaan Mengonsumsi Makanan Halalan Thayyiban. *Edu-Bio*. Volume 4. tanpa nomor
- Kasih, N. S. 2012. Pengaruh Lama Penyimpanan Daging Ayam Segar dalam Refrigerator terhadap pH, Susut Masak dan Organoleptik. *Skripsi*. Banjarmasin: Jurusan Peternakan Universitas Islam Kalimantan
- Khopkar, S. M. 2003. *Konsep Kimia Dasar Analitik*. Jakarta: UI Press
- Khunaifi, Mufid. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan

Pseudomonas aeruginosa. Skripsi. Jurusan Biologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

- Krisnaningsih, Aju Tjatur. 2014. Pemanfaatan Berbagai Ekstrak Buah Lokal sebagai Alternatif Acidulant Alami dalam Upaya Peningkatan Kualitas Tahu Susu. *Jurnal Cendekia*. Volume 12. Nomor 3
- Kumar, K. 2013. A Review on Phytochemical Constituents and Biological Assays of *Averrhoa bilimbi*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science Research*. Volume 3. Nomor 4
- Lathifah, Q. A. 2008. Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri pada Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan Variasi Pelarut. Skripsi. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Lindquist, J. 2004. *Differential Media: Eosin Methylene Blue Agar (Levine's Formulation)*. Department of Bacteriology. U.W-Madison
- Luckstadt, C and Theobald, P. 2011. *Dose Dependent Effect of Diformates on Broiler Performance*. In: *Standard for Acidifiers*. Nottingham University Press, Nottingham, UK
- Madigan, M.T. 2000. *Nutrition Metabolism, Brook Biology of Microbiology*. New Jersey: Practice Hall
- Mailina, Ikke Lutfi. 2014. Pengaruh Pemberian Air Perasan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dan Garam NaCl terhadap Kualitas Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Skripsi. Malang: Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Maknunah, Zahrotul. 2015. Karakterisasi Profil Protein Gelatin Komersial menggunakan SDS-PAGE dan Analisis Kadar Proteinnya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Skripsi. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Malelak, Marlin Cindy Claudya. 2015. Tingkat Cemaran *Staphylococcus aureus* pada Ikan Asin di Pasar Tradisional Kota Kupang. *Jurnal Kajian Veteriner*. Volume 3. Nomor 2
- Mario, Parikesit. 2011. *Khasiat dan Manfaat Buah Belimbing Wuluh*. Surabaya: Stomata
- Maryam, St. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh Asal Kota Watampone. *As-syifaa*. Volume 7. Nomor 1

- Masruhen. 2010. Pengaruh Pemberian Infus Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap kadar Kolesterol Darah Tikus. *Jurnal Farmasains*. Volume 42. Nomor 2
- Mountney, G. J. dan G. R. Parkhurst. 1995. *Poultry Product Technology 3rd ed.* The Haworth Press, Inc. New York
- Muhammad, Abdullah Bin. 2003. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 4*. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i
- Muhlisoh, W. 2010. Pengaruh Ekstrak Tunggal dan Gabungan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Efektivitas Antibakteri secara In Vitro. *Skripsi*. Malang: UIN Malang
- Naim, R. 2004. *Intoksikasi Mikrobial pada Pangan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Nakyinsige, K. 2016. Effect of Belimbing Wuluh Juice Extract on Oxidative Stability and Microbiological Quality of Spent Chicken Meat. *International Food Research Journal*. Volume 23. Nomor 6
- Nychas, G. J. E. 2000. *Traditional Preservatives-oil and Spices*. *Encyclopedia of Food Microbiology*. London: Academic Press
- Ophart, C. E. 2003. *Virtual Chembook*. USA: Elmhurst College
- Oscar, G. 2009. Detection of *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae* and *Camphylobacter* sp. Enteropatogenes by 3 Reaction Multiplex Polymerase Chain Reaction. *Diagnostic Microbiol. Infectious Dis*. Volume 63: 1-9
- Pakaya, Y. T. 2014. Pemanfaatan Belimbing Wuluh sebagai Pengawet Alami pada Ikan Teri Asin Kering. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. Volume 2. Nomor 2
- Pelczar, Michael. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press
- Pillai, Manju M. 2012. Detection Resistance in *Staphylococcus aureus* by Polimerase Chain Reaction and Conventional Methods. *Journal of Laboratory Physicians*. Volume 4. Nomor 2
- Prayitno, A. H. 2010. Kualitas Fisik dan Sensori Daging Ayam Broiler yang Diberikan Pakan dengan Penambahan Ampas Virgin Coconut Oil. *Buletin Peternak*. Volume 34. Nomor 1

- Purnawijayanti, Hiasinta. 2001. *Sanitasi Higiene dan Keselamatan Kerja dalam Pengolahan Makanan*. Yogyakarta: Kanisius
- Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: Bumi Aksara
- Putri, Meganada. 2017. *Bahan Ajar Keperawatan Gigi Mikrobiologi*. Jakarta: Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan
- Radji, M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: EGC
- Rahmiati, Asri. 2017. Daya Hambat Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* Secara In Vitro. Prosiding Seminar Nasional Publikasi Hasil-Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat: Universitas Muhammadiyah Semarang
- Risnajati, Dede. 2010. Pengaruh Lama Penyimpanan dalam Lemari Es terhadap pH, Daya Ikat Air, dan Susut Masak Karkas Broiler yang Dikemas Plastik Polyethylen. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*. Volume 13. Nomor 6
- Ristanti, Evi Wahyu. 2017. Pengaruh Lama Penyimpanan Pada Suhu Ruang terhadap Total Bakteri, pH dan Kandungan Protein Daging Ayam di Pasar Tradisional Kabupaten Semarang. *Agromedia*. Volume 35. Nomor 1
- Robinson, Trevor. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Penerbit ITB
- Robiyah, Siti. 2013. Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Ikan Kembung (*Rastrelliger* sp.) dalam Air Perasan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Kualitas Ikan. *Skripsi*. Malang. Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar
- 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

- Saraswati, Dian. 2015. Pengaruh Lama Penyimpanan Daging pada Refrigerator terhadap Angka Lempeng Total Bakteri (ALT) dan Keberadaan Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Entropi*. Volume 10. Nomor 1
- 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
- Sasmita, Yuniarti. 2014. Contamination of *Escherichia coli* Bacteria in Broiler Saved at Showcase at Supermarket's in Denpasar. *Indonesia Medicus Veterinus*. Volume 3. Nomor 1
- Sellitasari, S. 2013. Perbedaan Produksi Tanaman Apel pada Agroklimat yang Berbeda. *Jurnal Produksi Tanaman*. Volume 1. Nomor 1
- Septiani, Nurul Wahyu. 2017. Uji Kemampuan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dalam Menurunkan Jumlah Kuman pada Peralatan Makan di Cafeteria Perpustakaan UIN Alauddin Makassar. *Skripsi: Makassar: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Alauddin Makassar*
- Septini, K. Dwi. 2017. Perbedaan Jumlah Koloni *Staphylococcus aureus* pada Beberapa Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh secara In Vitro. *Meditory*. Volume 5. Nomor 1
- Setyawati, Mega Ayu. 2014. Pemanfaatan Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan Konsentrasi dan Lama Perendaman yang Berbeda sebagai Bahan Pengawet Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Segar. *Skripsi. Surakarta: Falkutas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta*
- Shantika, Surya Is'ma Dwi. 2014. Pengaruh Perendaman Fillet Daging Ayam Broiler dalam Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Perubahan Sifat Fisik, Nutrisi, dan Mikrobiologi Selama Penyimpanan dengan Kemasan Vakum dan Styrofoam. *Skripsi. Semarang: Jurusan Teknologi Pangan. Universitas Katholik Soegijapranata*
- Sharp, S.E. 2006. Comparison of Mannitol Salt Agar and Blood Agar Plates for Identification and Susceptibility Testing of *Staphylococcus aureus* in Specimens from Cystic Fibrosis Patients. *J. Clin Microbiol*. Volume 44. Nomor 12
- Sherrard. 2011. European Guideline on the Management of Vaginal Discharge. *International Journal of STD and AIDS*. 22: 421-49

- Shihab, M. Quraish. 2001. *Tafsir Al-Misbah*. Jakarta: Penerbit Lentera Hati
- Soeparno. 2005. *Ilmu dan Teknologi Daging Cetakan III*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Subhadrabandhu, S. 2001. *Under-utilized Tropical Fruits of Thailand*, (Online), (<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/004/ab777e/ab777e00.pdf>, diakses 12 Desember 2007)
- Sudarmadji, S. 2007. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty
- Sudirman, T. A. 2014. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Skripsi*. Makassar: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin
- Sumantri, Rohman. 2007. *Analisis Makanan*. Yogyakarta: UGM Press
- Sumoprastowo. 2000. *Memilih dan Menyimpan Bahan Makanan*. Jakarta: Bumi Aksara
- Sundarsih. 2009. Pengaruh Waktu dan Suhu Perendaman Kedelai terhadap Tingkat Kesempurnaan Protein Kedelai dalam Proses Pembuatan Tahu. *Skripsi*. Semarang: Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro
- Supardi dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Bandung : Penerbit Alumni
- Suprayitno, Eddy. 2017. *Metabolisme Protein*. Malang: UB Press
- Suradi, Kusmajadi. 2012. Pengaruh Lama Penyimpanan pada Suhu Ruang terhadap Perubahan Nilai pH, TVB dan Total Bakteri Daging Kerbau. *Jurnal Ilmu Ternak*. Volume 12. Nomor 2
- Suwandi, Melina Alisiya. 2018. Pemanfaatan Sari Buah Belimbing Wuluh sebagai Bahan Pengawet Terhadap Uji Sensori Daging Broiler. *Jurnal Riset dan Inovasi Peternakan*. Volume 2. Nomor 1
- Suwartiningsih, Ika. 2013. Kandungan Formalin dalam Ayam Potong di Pasar Tradisional Semarang Tahun 2012. *Jurnal Visiskes*. Volume 12. Nomor 1
- Tambayong, J. 2009. *Mikrobiologi untuk Keperawatan*. Jakarta: Widya Medika

- Taylor, W. 1. 1999. Isolation of shigellae: VIII. Comparison of Xylose Lysine Deoxycholate Agar, Hektoen Enteric Agar, Salmonella Shigella Agar and Eosin Methylene Blue Agar with Stool Specimens. *Appl Microbiol.* Volume 21: 32-37
- Tilawah, Anis Wardati. 2012. Efektivitas Berbagai Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan Lama Penyimpanan terhadap Jumlah Koloni Bakteri dan Kadar Histamin Fillet Ikan Tuna (*Thunnus* sp.) Skripsi. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang
- Todar, K. 2002. *Todar's Online Textbook of Bacteriology; Streptococcus Pyogenes.* Department of Bacteriology Universitas of Wisconsin, Madison
- Tohir, K.A. 1981. *Pedoman Bercocok Tanam Buah-Buahan.* Jakarta: Pradnya Paramita
- Volk, W. A. dan Wheeler, M. F. 1993. *Mikrobiologi Dasar.* Jakarta: Erlangga
- Waluyo, Lud. 2010. *Mikrobiologi Umum.* Malang: Penerbit UMM
- Wehr, H. M. 2004. *Standard Methods for the Microbiological Examination of Dairy Products 17th Ed.* Washington, D.C: APHA Inc
- Widiyaningsih, Tri. 2009. Pengaruh Perendaman Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Susut Masak, Keempukan, dan Aroma Daging Ayam Petelur Afkir. *Skripsi.* Semarang: Jurusan Peternakan Universitas Diponegoro Semarang
- Wijayakusuma, H. 2008. *Ramuan Lengkap Herbal Taklukkan Penyakit.* Jakarta: Pustaka Bunda
- Wikanta, Wiwi. 2010. Pengaruh Penambahan Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan Perebusan terhadap Kadar Residu Formalin dan Profil Protein Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*) Berformalin serta Pemanfaatannya sebagai Sumber Pendidikan Gizi dan Keamanan Pangan pada Masyarakat. Surabaya: Seminar Nasional VIII Pendidikan Biologi UM
- Winarno, F. G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi.* Bogor: Penerbit M-Brio Press
- Wolfenden, A. D. 2007. Effect of Organic Acids and Probiotics on *Salmoella enteritidis* Infection in Broiler Chickens. *International Journal of Poultry Science.* Volume 6. Nomor 6

- Yaqub, Ali Mustafa. 2009. *Kriteria Halal Haram untuk Pangan, Obat, dan Kosmetika menurut Al-Quran dan Hadits*. Jakarta: Pustaka Firdaus
- Yudistira, Bayu. 2012. The Effect of *Averrhoa bilimbi* L. Juice as Feed Additive on Layer Hen Gut Microflora. Malang: Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya
- Yunita, Merisa. 2015. Analisis Kuantitatif Mikrobiologi pada Makanan Penerbangan (*Aerofood ACS*) Garuda Indonesia Berdasarkan TPC dengan Metode Pour Plate. *Jurnal Keteknikaan Pertanian Tropis dan Biosistem*. Volume 3. Nomor 3
- Yunus, Reni. 2017. Cemaran Bakteri Gram Negatif pada Jajanan Siomay di Kota Kendari. *Medical Laboratory Technology Journal*. ISSN. 2461-0879
- Zakaria, Z. A. 2007. In Vitro Antibacterial Activity of *Averrhoa bilimbi* L. Leaves and Fruits Extracts. *International Journal of Tropical Medicine*. Volume 2. Nomor 3

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	3×10^6	3×10^6	3×10^6	3×10^6
40%		3×10^6	3×10^6	3×10^6	3×10^6
60%		3×10^6	2×10^6	3×10^6	$2,6 \times 10^6$
80%		3×10^6	2×10^6	2×10^6	$2,3 \times 10^6$
0%	5 Jam	3×10^6	4×10^6	4×10^6	$3,7 \times 10^6$
40%		3×10^5	4×10^5	$4,5 \times 10^5$	$3,8 \times 10^5$
60%		5×10^4	6×10^4	6×10^4	$5,7 \times 10^4$
80%		1×10^4	7×10^4	2×10^4	$3,3 \times 10^4$
0%	10 Jam	4×10^6	4×10^6	4×10^6	4×10^6
40%		1×10^5	4×10^5	$4,2 \times 10^5$	$3,1 \times 10^5$
60%		6×10^4	3×10^4	3×10^4	4×10^4
80%		1×10^4	3×10^4	3×10^4	$2,3 \times 10^4$

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	1×10^3	1×10^3	$1,3 \times 10^3$	$1,1 \times 10^3$
40%		5×10^2	6×10^2	5×10^2	$5,3 \times 10^2$
60%		3×10^2	5×10^2	6×10^2	$4,7 \times 10^2$
80%		1×10^2	$1,5 \times 10^2$	$1,1 \times 10^2$	$1,2 \times 10^2$
0%	5 Jam	1×10^3	2×10^3	$2,3 \times 10^3$	$1,8 \times 10^3$
40%		3×10^1	3×10^1	1×10^1	$2,3 \times 10^1$
60%		1×10^1	2×10^1	1×10^1	$1,3 \times 10^1$
80%		0	0	0	0
0%	10 Jam	2×10^3	2×10^3	$1,7 \times 10^3$	$1,9 \times 10^3$
40%		1×10^1	0	0	$3,3 \times 10^0$
60%		0	0	0	0
80%		0	0	0	0

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	6×10^1	7×10^1	4×10^1	$5,7 \times 10^1$
40%		0	0	0	0
60%		0	0	0	0
80%		0	0	0	0
0%	5 Jam	1×10^2	$1,2 \times 10^2$	7×10^1	$9,7 \times 10^1$
40%		0	0	0	0
60%		0	0	0	0
80%		0	0	0	0
0%	10 Jam	$1,6 \times 10^2$	3×10^2	$1,2 \times 10^2$	$1,9 \times 10^2$
40%		0	0	0	0
60%		0	0	0	0
80%		0	0	0	0

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

Konsentrasi (K)	Lama Perendaman (L)	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-Rata (cfu/g)
0%	0 Jam	0	0	0	0
40%		0	0	0	0
60%		0	0	0	0
80%		0	0	0	0
0%	5 Jam	0	0	0	0
40%		0	0	0	0
60%		0	0	0	0
80%		0	0	0	0
0%	10 Jam	2×10^1	3×10^1	3×10^1	$2,6 \times 10^1$
40%		2×10^1	3×10^1	2×10^1	$2,3 \times 10^1$
60%		0	0	0	0
80%		0	0	0	0

➤ Contoh Perhitungan Total Bakteri:

Jumlah koloni pada cawan = 30

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

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

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
40%		0,077	0,079	0,081
60%		0,077	0,077	0,075
80%		0,076	0,075	0,076
0%	5 Jam	0,078	0,069	0,074
40%		0,075	0,070	0,070
60%		0,069	0,070	0,073
80%		0,069	0,069	0,070
0%	10 Jam	0,078	0,070	0,070
40%		0,065	0,065	0,063
60%		0,062	0,064	0,062
80%		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	9,7	10,8	10,3	10,3
40%		8,4	8,7	9,0	8,7
60%		8,4	8,4	8,1	8,3
80%		8,2	8,1	8,2	8,2
0%	5 Jam	8,5	7,2	7,9	7,9
40%		8,1	7,3	7,3	7,6
60%		7,2	7,3	7,8	7,4
80%		7,2	7,2	7,3	7,2
0%	10 Jam	8,5	7,3	7,3	7,7
40%		6,6	6,6	6,2	6,5
60%		6,1	6,4	6,1	6,2
80%		5,9	6,1	6,1	6,0

Pembuatan Larutan BSA (*Bovin Serum Albumin*) :

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

Perhitungan Kurva Standar:

➤ Konsentrasi 50 ppm

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

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

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

$V_1 = 0,1$ ml BSA dalam 3,9 ml aquades

- Konsentrasi 100 ppm

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

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

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

$V_1 = 0,2$ ml BSA dalam 3,8 ml aquades

- Konsentrasi 200 ppm

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

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

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

$V_1 = 0,4$ ml BSA dalam 3,6 ml aquades

- Konsentrasi 300 ppm

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

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

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

$V_1 = 0,6$ ml BSA dalam 3,4 ml aquades

- Konsentrasi 400 ppm

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

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

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

$V_1 = 0,8$ ml BSA dalam 3,2 ml aquades

- Konsentrasi 500 ppm

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

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

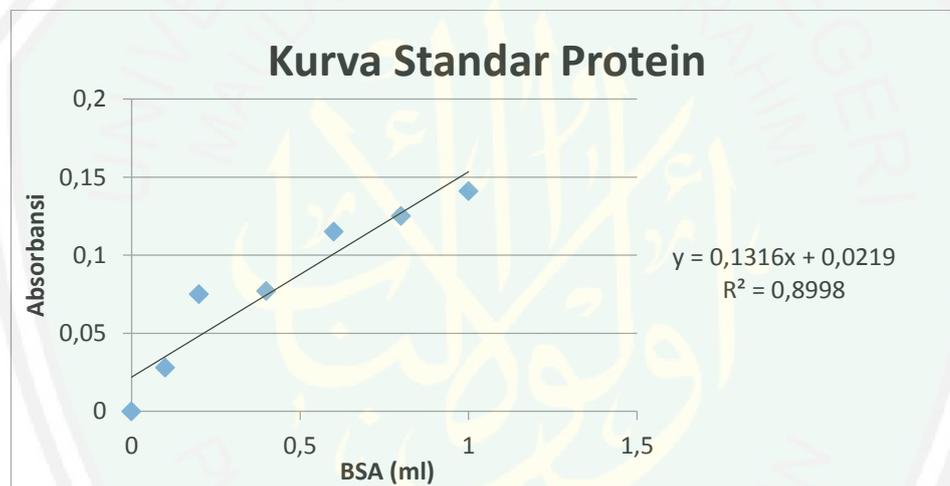
$$V_1 = \frac{5000}{5000}$$

$V_1 = 1$ ml BSA dalam 3 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:

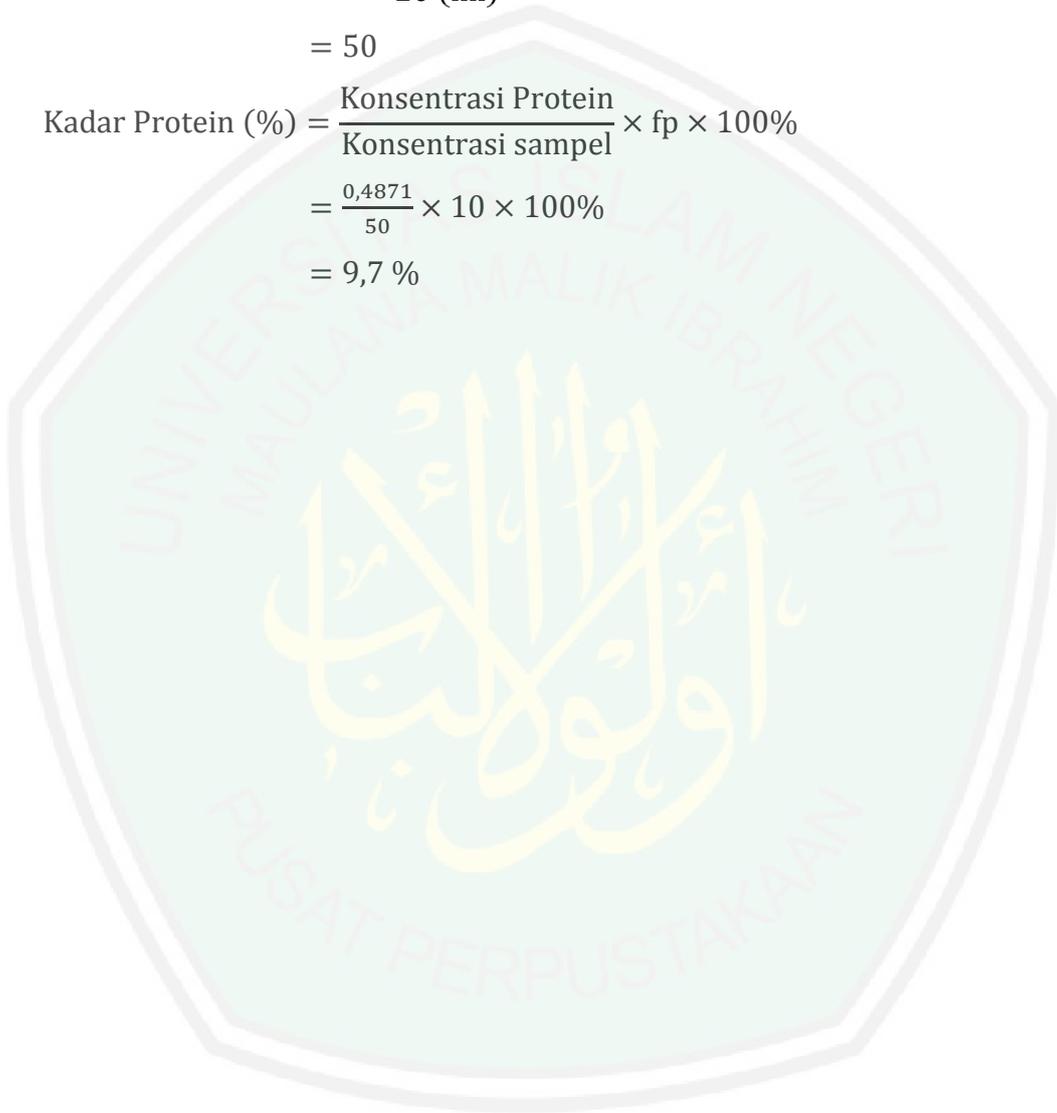
- Konsentrasi Protein (x) = $\frac{\text{Absorbansi sampel}(y) - 0,0219}{0,1316}$
- Konsentrasi Sampel = $\frac{\text{Massa} \times 1000 \text{ (mg)}}{20 \text{ (ml)}}$
- Kadar Protein (%) = $\frac{\text{Konsentrasi Protein}}{\text{Konsentrasi sampel}} \times \text{fp} \times 100\%$

Contoh:

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi Protein} &= \frac{\text{Absorbansi sampel} - 0,0219}{0,1316} \\ &= \frac{0,086 - 0,0219}{0,1316} \\ &= 0,4871 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi Sampel} &= \frac{\text{Massa} \times 1000 \text{ (mg)}}{20 \text{ (ml)}} \\ &= \frac{1 \times 1000 \text{ (mg)}}{20 \text{ (ml)}} \\ &= 50\end{aligned}$$

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



Lampiran 2. Hasil SPSS

1. Hasil SPSS Total Bakteri *Escherichia coli*

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:JumlahEC

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	122661.111 ^a	13	9435.470	12.434	.000
Intercept	30044.444	1	30044.444	39.593	.000
Konsentrasi	90133.333	3	30044.444	39.593	.000
LamaPerendaman	7405.556	2	3702.778	4.880	.018
Konsentrasi * LamaPerendaman	22216.667	6	3702.778	4.880	.003
Ulangan	2905.556	2	1452.778	1.914	.171
Error	16694.444	22	758.838		
Total	169400.000	36			
Corrected Total	139355.556	35			

a. R Squared = ,880 (Adjusted R Squared = ,809)

JumlahEC

Duncan

Interaksi	N	Subset		
		1	2	3
K1L0	3	.00		
K2L0	3	.00		
K3L0	3	.00		
K1L1	3	.00		
K2L1	3	.00		
K3L1	3	.00		
K1L2	3	.00		
K2L2	3	.00		
K3L2	3	.00		
K0L0	3		56.67	
K0L1	3		96.67	
K0L2	3			193.33
Sig.		1.000	.099	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 816,667.

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	1.672E7 ^a	13	1285807.265	28.854	.000
Intercept	8781344.444	1	8781344.444	197.060	.000
Konsentrasi	1.450E7	3	4832722.222	108.450	.000
LamaPerendaman	70972.222	2	35486.111	.796	.464
Konsentrasi * LamaPerendaman	2024916.667	6	337486.111	7.573	.000
Ulangan	121438.889	2	60719.444	1.363	.277
Error	980361.111	22	44561.869		
Total	2.648E7	36			
Corrected Total	1.770E7	35			

a. R Squared = ,945 (Adjusted R Squared = ,912)

JumlahSA

Duncan

interaksi	N	Subset				
		1	2	3	4	5
K3L1	3	.00				
K2L2	3	.00				
K3L2	3	.00				
K1L2	3	3.33				
K2L1	3	13.33				
K1L1	3	23.33				
K3L0	3	120.00	120.00			
K2L0	3		466.67	466.67		
K1L0	3			533.33		
K0L0	3				1100.00	
K0L1	3					1766.67
K0L2	3					1900.00
Sig.		.548	.057	.703	1.000	.447

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 44561,869.

3. 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	3158.333 ^a	13	242.949	45.813	.000
Intercept	625.000	1	625.000	117.857	.000
Konsentrasi	630.556	3	210.185	39.635	.000
LamaPerendaman	1250.000	2	625.000	117.857	.000
Konsentrasi * LamaPerendaman	1261.111	6	210.185	39.635	.000
Ulangan	16.667	2	8.333	1.571	.230
Error	116.667	22	5.303		
Total	3900.000	36			
Corrected Total	3275.000	35			

a. R Squared = ,964 (Adjusted R Squared = ,943)

JumlahSal

Duncan

interaksi	N	Subset	
		1	2
K0L0	3	.00	
K1L0	3	.00	
K2L0	3	.00	
K3L0	3	.00	
K0L1	3	.00	
K1L1	3	.00	
K2L1	3	.00	
K3L1	3	.00	
K2L2	3	.00	
K3L2	3	.00	
K1L2	3		23.33
K0L2	3		26.67
Sig.		1.000	.096

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) =5,556.

4. Hasil SPSS Jumlah Total Bakteri (TPC)

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:TPC

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	28.918 ^a	13	2.224	62.654	.000
Intercept	1152.946	1	1152.946	3.247E4	.000
Konsentrasi	12.512	3	4.171	117.473	.000
LamaPerendaman	10.831	2	5.416	152.536	.000
Konsentrasi * LamaPerendaman	5.454	6	.909	25.602	.000
Ulangan	.121	2	.060	1.701	.206
Error	.781	22	.036		
Total	1182.645	36			
Corrected Total	29.700	35			

a. R Squared = ,974 (Adjusted R Squared = ,958)

TPC

Duncan

interaksi	N	Subset			
		1	2	3	4
K3L2	3	4.3181			
K3L1	3	4.3820			
K2L2	3	4.5775	4.5775		
K2L1	3		4.7518		
K1L2	3			5.4084	
K1L1	3			5.5775	
K3L0	3				6.3597
K2L0	3				6.4184
K0L0	3				6.4771
K1L0	3				6.4771
K0L1	3				6.5604
K0L2	3				6.6021
Sig.		.134	.282	.296	.189

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,038.

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	45.188 ^a	13	3.476	22.506	.000
Intercept	2112.934	1	2112.934	1.368E4	.000
Konsentrasi	11.690	3	3.897	25.230	.000
LamaPerendaman	30.934	2	15.467	100.146	.000
Konsentrasi * LamaPerendaman	2.468	6	.411	2.664	.043
Ulangan	.096	2	.048	.309	.737
Error	3.398	22	.154		
Total	2161.520	36			
Corrected Total	48.586	35			

a. R Squared = ,930 (Adjusted R Squared = ,889)

KadarProtein

Duncan

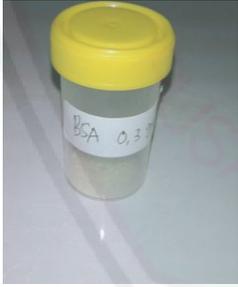
Interaksi	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
K3L2	3	6.033					
K2L2	3	6.200					
K1L2	3	6.467					
K3L1	3		7.233				
K2L1	3		7.433	7.433			
K1L1	3		7.567	7.567	7.567		
K0L2	3		7.700	7.700	7.700		
K0L1	3		7.867	7.867	7.867		
K3L0	3			8.167	8.167	8.167	
K2L0	3				8.300	8.300	
K1L0	3					8.700	
K0L0	3						10.267
Sig.		.215	.089	.050	.050	.129	1.000

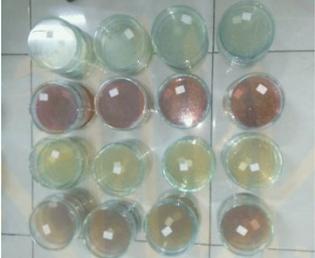
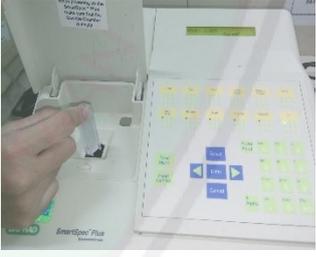
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,154.

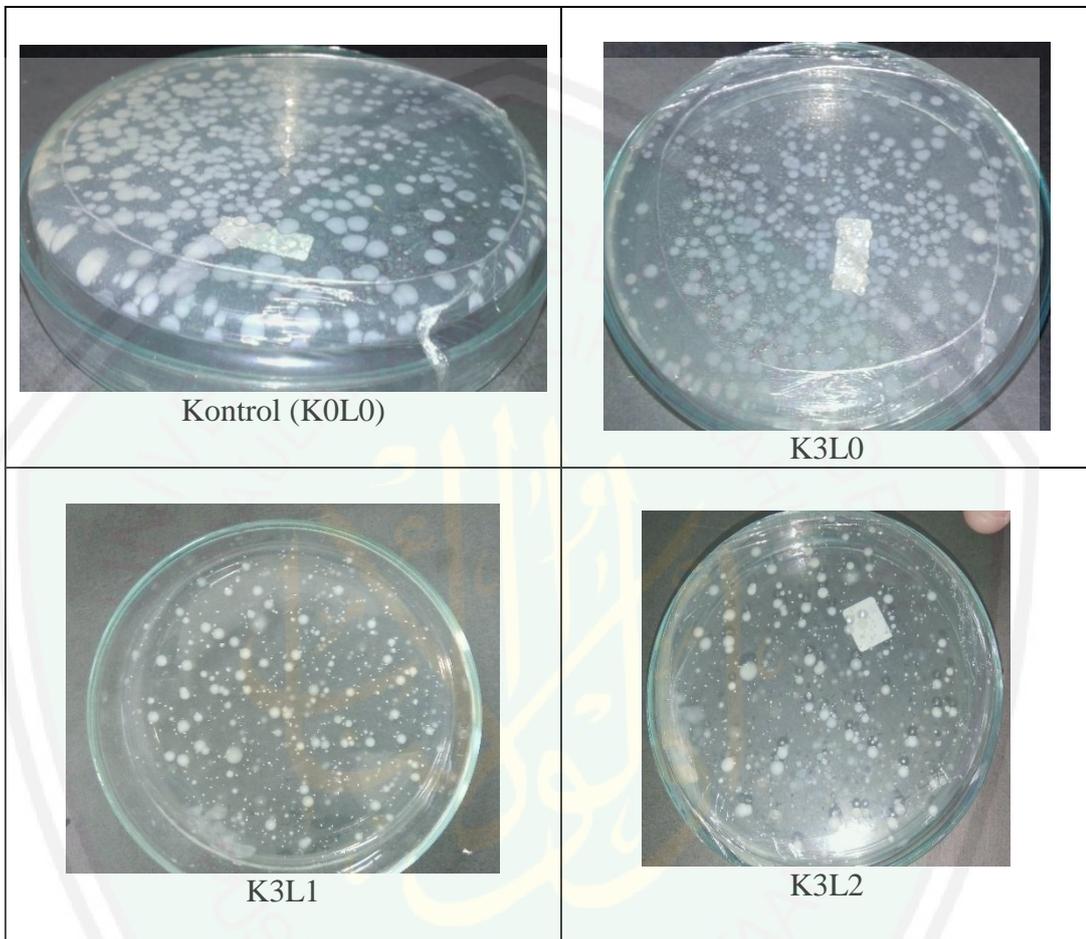
Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian

 <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>Buah Belimbing Wuluh</p>
 <p>Penimbangan daging ayam</p>	 <p>Perendaman daging ayam</p>	 <p>Pengenceran bertingkat</p>

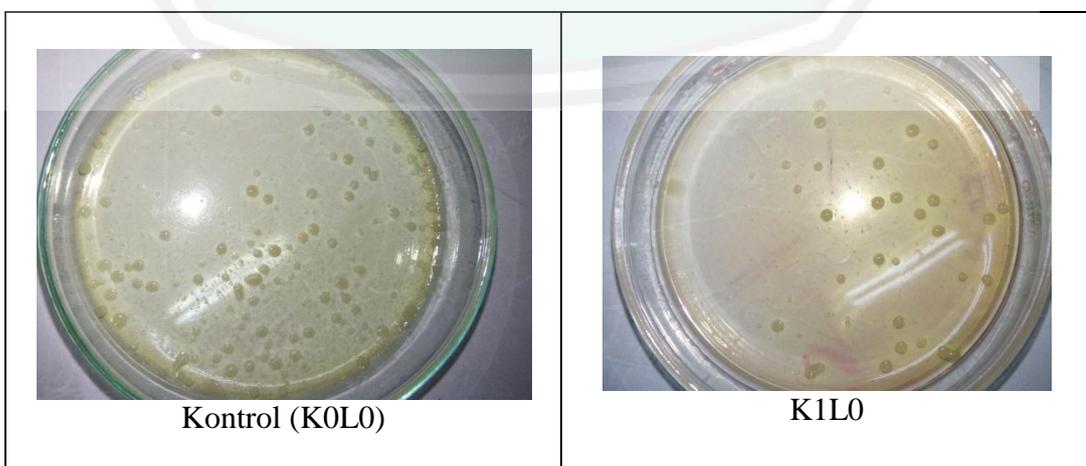
 <p>Penghomogenan sampel</p>	 <p>Inokulasi sampel</p>	 <p>Penuangan media</p>
 <p>Inkubasi</p>	 <p>Perhitungan total bakteri</p>	 <p>Pembuatan larutan standar protein</p>
 <p>Penghalusan daging ayam</p>	 <p>Penambahan biuret pada sampel</p>	 <p>Perhitungan absorbansi</p>

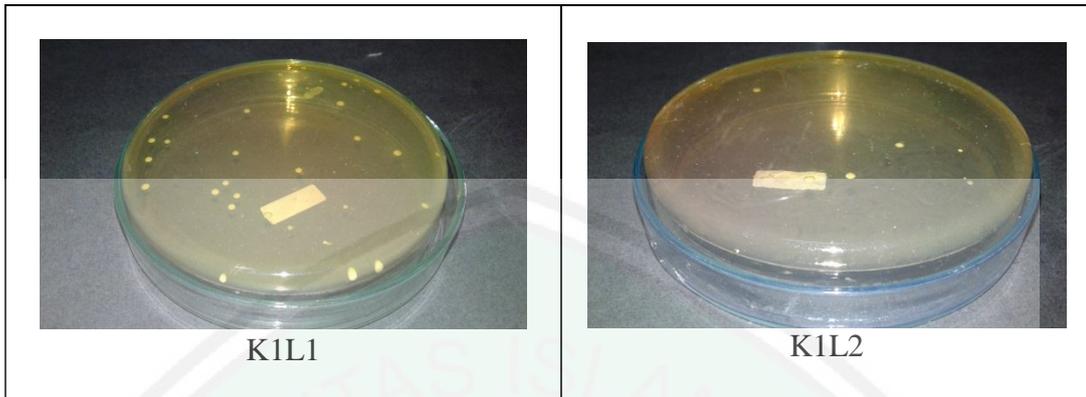
Lampiran 4. Gambar Hasil Penelitian

1. Total Plate Count (TPC)

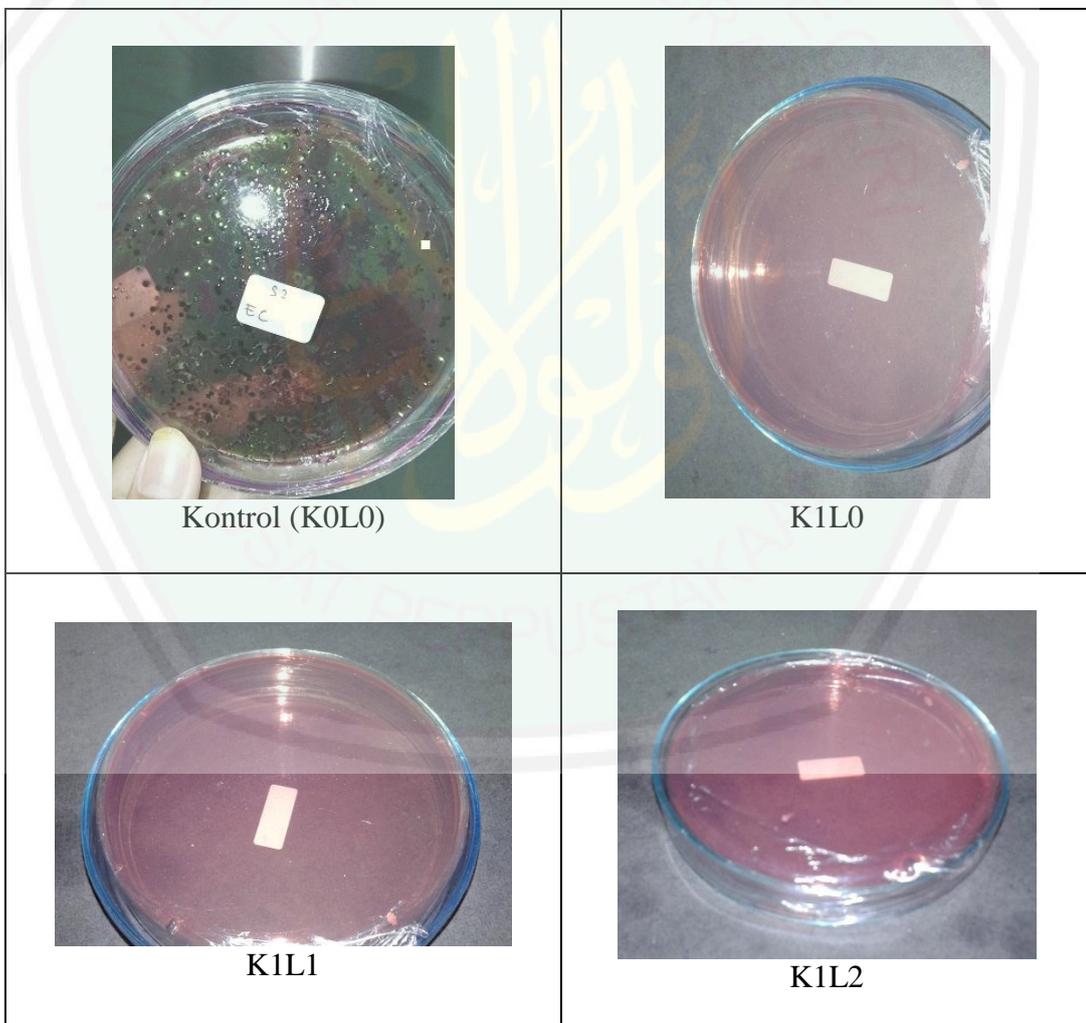


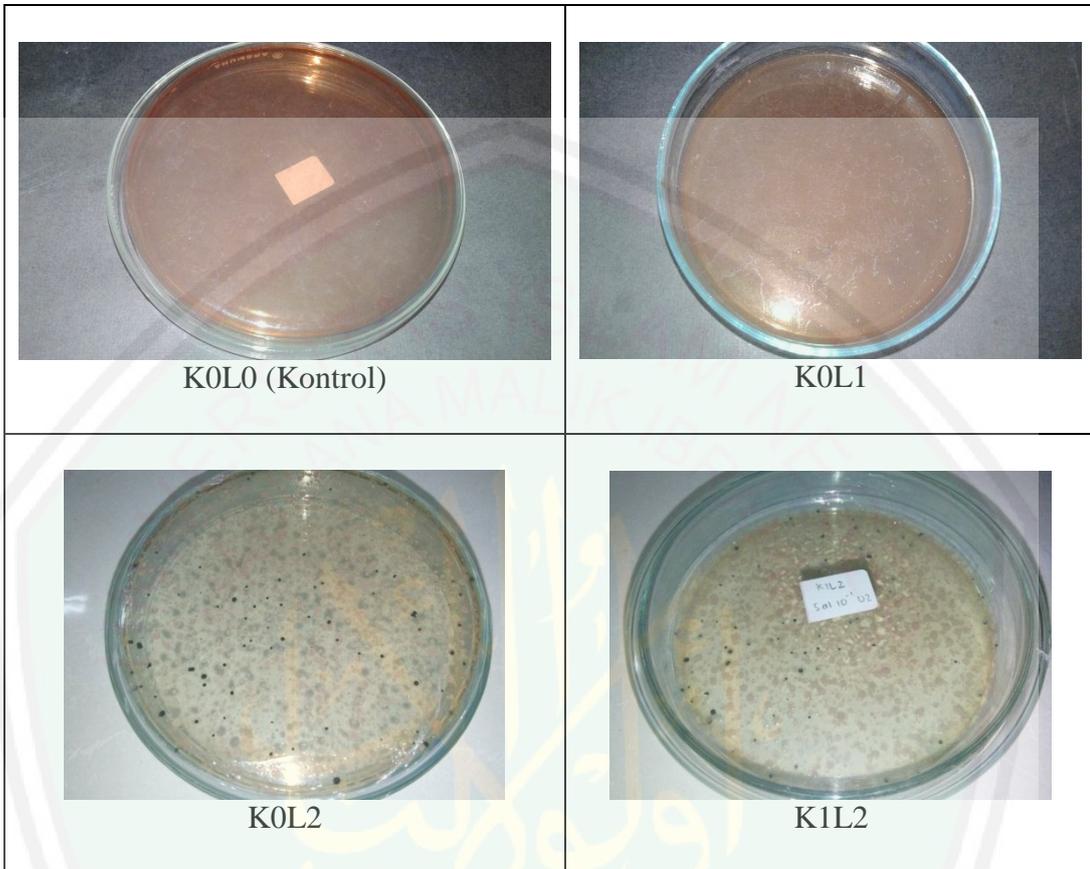
2. *Staphylococcus aureus*





3. *Escherichia coli*



4. *Salmonella* sp.



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 : Herlina Nur Cahyani
NIM : 14620042
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil TA. 2018/2019
Pembimbing : Ir. Liliek Harianie AR, M.P
Judul Skripsi : Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) 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. #
2.	6 April 2018	Konsultasi BAB II	2. #
3.	2 Mei 2018	Konsultasi BAB III	3. #
4.	25 September 2018	Konsultasi BAB IV	4. #
5.	8 Oktober 2018	Revisi BAB IV	5. #
6.	19 Oktober 2018	Revisi BAB IV	6. #
7.	26 Oktober 2018	Konsultasi BAB V	7. #
8.	29 Oktober 2018	ACC Skripsi	8. #

Malang, 2 November 2018

Pembimbing Skripsi,

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



Romaid M. Si., D. Sc
NIP. 19810201 200901 1 019



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 : Herlina Nur Cahyani
NIM : 14620042
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil TA. 2018/2019
Pembimbing : Umayyatus Syarifah, M.A
Judul Skripsi : Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) 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.	12 Oktober 2018	Konsultasi BAB I, II, dan IV	3.
4.	19 Oktober 2018	Revisi BAB IV	4.
5.	28 Oktober 2018	ACC BAB I, II, dan IV	5.

Malang, 2 November 2018

Pembimbing Skripsi,

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



Herlina Nur Cahyani, D. Sc
NIP. 19880201 200901 1 019