

Kualitas Mikrobiologi Daging *Se'i* Sapi melalui Metode *Curing* menggunakan Ekstrak Daun Jati (*Tectona Grandis* L.f.) pada Penyimpanan Suhu Ruang

Kristoforus. W. Kia^{1*}, Kaprisius G. Fobia¹, Lukas Pardosi²

¹Program Studi Peternakan¹, Fakultas Pertanian, Universitas Timor

²Program Studi Biologi², Fakultas Pertanian, Universitas Timor

*Corresponding author: willykia7i@yahoo.co.id

Article History

Received : 30 March 2023

Approved : 20 June 2023

Published : 22 July 2023

Keywords

Antimikrobal, *E. coli*, ekstrak daun jati, *se'i*, zona hambat.

ABSTRACT

Daun jati secara tradisional sering digunakan untuk membungkus bahan makanan seperti daging, ikan dan tempe selama proses fermentasi untuk mencegah terjadinya pembusukan karena mengandung senyawa antibakteri. Penelitian bertujuan mengetahui aktivitas antimikrobal ekstrak daun jati terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan kualitas mikrobiologis daging *se'i* sapi. Metode penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Perlakuan yang diuji yaitu: P0 = pembuatan dengan penambahan aquades (Kontrol -), P1 = pembuatan *se'i* dengan penambahan nitrat 0,6 g (kontrol +) dan P2 = pembuatan *se'i* ditambahkan ekstrak daun jati 0,5%. Hasil menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak daun jati 0,5%, 1% dan 1.5% memiliki kemampuan bakteriostatik dengan kategori kuat dan rerata zona bening yang diperoleh yaitu 12.6 mm, 15.4 mm, dan 19.5 mm. Kontrol tidak memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil uji mikrobiologi dengan perhitungan TPC menunjukkan bahwa ekstrak daun jati memiliki kemampuan bakteriostatik dengan rerata yang diperoleh 92.0 CFU/g pada konsentrasi 0.5%. Sedangkan pada kontrol (-) dan (+) menunjukkan nilai tertinggi yaitu 201.3 CFU/g dan 169.7 CFU/g. Hasil uji cecaman bakteri *E. coli* menunjukkan bahwa ekstrak daun jati memiliki kemampuan bakteriostatik dengan nilai rerata yang diperoleh 13.3 CFU/g pada konsentrasi 0.5%. Sedangkan pada kontrol (-) dan (+) menunjukkan nilai tertinggi yaitu 55.4 CFU/g dan 38.0 CFU/g. Disimpulkan bahwa ekstrak daun jati memiliki kemampuan antimikrobal terhadap bakteri *E. coli* dengan terbentuknya zona bening pada konsentrasi 0,5%, 1% dan 1.5%, memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri pada *se'i* sapi.

PENDAHULUAN

Daging merupakan salah satu bahan pangan yang sangat dibutuhkan di

kalangan masyarakat, dikarenakan adanya peningkatan kesadaran akan pentingnya

mengonsumsi protein hewani yang mengandung zat gizi seperti vitamin, mineral, lemak dan air. Daging sapi merupakan produk peternakan memiliki daya awet yang rendah dan mudah rusak (*perishable food*), karena mengandung zat nutrien yang tinggi. Hal ini disampaikan oleh Soeparno (2015) yaitu protein 16-22%, lemak 1,5-13%, senyawa nitrogen non protein 1,5% senyawa anorganik 1%, karbohidrat 0,5%, air 65-80% sehingga menjadi media pertumbuhan mikroorganisme, sehingga membutuhkan upaya penanganan.

Pengawetan dengan cara pembuatan *se'i* merupakan cara yang lazim dilakukan oleh masyarakat khususnya di Nusa Tenggara Timur (NTT), yang bertujuan untuk mengurangi resiko kerusakan dan memperoleh nilai tambah seperti meningkatkan kualitas organoleptik dan dapat mengawetkan daging sehingga memperpanjang masa penyimpanan sebelum dikonsumsi. Pembuatan *se'i* sangat mudah dilakukan yaitu hanya memadukan proses *curing* (menambahkan bumbu dapur) dan proses pengasapan untuk memperoleh kualitas *se'i* dengan cita rasa yang khas dan tetap mempertahankan warna merah daging.

Proses *curing se'i* sapi dalam usaha komersil sering menambahkan bahan preservatif seperti natrium nitrat dan nitrit sebagai agen *curing* untuk mengawetkan

daging, memperbaiki kualitas organoleptik dan meningkatkan daya simpan karena mengandung senyawa antioksidan dan antibakteri. Meskipun memberikan manfaat positif namun penggunaan senyawa nitrit dan nitrit yang berlebihan, dapat menghasilkan residu karena berikatan dengan amino dan amida sehingga membentuk nitrosiamin penghasil racun yang menimbulkan penyakit yang mematikan seperti kanker (Kristiangsih dan Fitrianti, 2019). Mengetahui dampak buruk penggunaan senyawa nitrat dan nitrit, maka penggunaannya dilarang atau dibatasi dan tidak melebihi standar yang ditentukan Kementerian Kesehatan No. 003 Tahun 2012, yaitu nitrat ($3,7 \text{ mg/kg}^{-1}$) dan nitrit ($0,06 \text{ mg/kg}^{-1}$).

Tanaman jati (*Tectona Grandis* L.f.) merupakan salah satu tanaman alami yang secara tradisional sering digunakan untuk membungkus bahan makanan seperti, daging dan ikan, tempe selama proses fermentasi untuk mencegah terjadinya pembusukan karena mengandung senyawa antibakteri (Wulandari, 2014). Senyawa antibakteri diperoleh dari hasil ekstraksi etanolik daun jati yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif karena mengandung senyawa aktif seperti flavonoid saponin, tanin galat, tanin katekat dan steroid (Shukla *et al.*, 2016).

Mengetahui kandungan senyawa antimikroba dan antioksidan dalam daun jati, dapat berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan pengawet alami dalam proses *curing* daging *se'i* untuk menggantikan bahan pengawet kimiawi.

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan adalah metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 3 kali ulangan, selama penyimpanan (3,6,9 hari) pada penyimpanan suhu ruang. Perlakuan yang diuji sebagai berikut.

P0: pembuatan *se'i* dengan penambahan aquades 50 mL (Kontrol -). P1: pembuatan *se'i* dengan penambahan nitrat 0,6 g (kontrol +). P2: pembuatan *se'i* dengan penambahan ekstrak daun jati 0,5%

Tahap persiapan

Tahapan awal penelitian ini dimulai dengan sterilisasi preparasi alat dan bahan. Tahap sterilisasi meliputi pembuatan media kultur *natrium agar* (NA), *eosin methylene blue* (EMBA), *mueller hinton agar* (MHA) dan larutan fisiologis NaCl 0.9%.

Pembuatan ekstrak daun jati (*Tectona Grandis* L.f)

Daun jati muda dikeringkan dan dihaluskan untuk mendapatkan serbuk simplisia. Sebanyak 150 g serbuk daun jati dilarutkan menggunakan etanol sebanyak 1500 mL dan dimaserasi selama 24 jam. Air hasil maserasi disaring dengan kertas

penyaring kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* dan hasil ekstraksi disimpan dalam lemari pendingin untuk menghindari cemaran bakteri. Parameter yang diamati dalam pengujian ini adalah uji daya hambat ekstrak daun jati terhadap aktivitas bakteri dengan perlakuan control negatif dengan menggunakan aquades, kontrol positif dengan menggunakan 0,6 g nitrat yang dilarutkan dalam 5ml aquades, konsentrasi ekstrak daun jati 0,5%, 1%, 1,5%.

Pembuatan *Se'i*.

Proses pembuatan *se'i* menggunakan metode *curing* basah. Daging dipotong memanjang dan tipis kemudian dimasukkan dalam wadah dan diberi bahan *curing* sesuai perlakuan selama 12 jam. Daging diasapi dengan jarak panjang bara api ± 75 cm selama 2 jam. Sampel *se'i* yang dihasilkan dianalisis kualitas mikrobiologis di laboratorium.

Analisis Mikrobiologis *Se'i*

Lima gram sampel *se'i* disuspensikan kedalam 45 mL NaCl steril. Analisis mikrobiologi dilakukan dengan metode pour plate menggunakan media EMBA untuk uji pengamatan *E. coli*, sedangkan PCA untuk pengujian *Total Plate Count* (TPC). Digunakan tiga tingkat pengenceran pada masing-masing media.

Tahap persiapan bakteri uji *E. coli*

Peremajaan biakan murni: biakan murni bakteri *E. coli* diremajakan pada

media NA dengan cara menggoreskan jarum ose pada cawan secara aseptis diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator. Pembuatan seri pengenceran bakteri *E. coli* sebanyak 6 kali. Pengenceran 10⁻¹ dilakukan dengan mengambil 1 ose biakan murni bakteri *E. coli*, kemudian dimasukkan kedalam *aquades* 9 mL dan divortex. Pengenceran dilakukan secara berulang hingga mencapai mencapai 10⁻⁶ dan yang diambil adalah serial pengenceran 10⁻⁶.

Pengujian Aktivitas Antimikroba

Pengujian antimikroba menggunakan metode difusi cakram kertas. Bakteri *E. coli* yang sudah diremajakan terlebih dahulu, diencerkan dengan seri pengenceran 10⁻⁶. Sebanyak 500 mikroliter kultur bakteri *E. coli* dipipet kedalam cawan petri yang berisi 20 ml media MHA padat kemudian dihomogenkan. Kertas cakram yang sudah direndam dalam larutan konsentrasi ditempelkan di atas permukaan media MHA dan diinkubasi selama 24 jam. Zona bening yang muncul di sekeliling kertas cakram diukur dengan jangka sorong.

Pengujian Total Plate Count (TPC) berdasarkan BSN (2008)

Sampel *se'i* ditimbang 5 g dimasukan ke dalam 25 mL larutan NaCl fisiologis dan dihomogenkan. Larutan yang dihasilkan merupakan pengenceran 10⁰. 1 mL suspensi dipindah dengan

menggunakan pipet steril ke dalam larutan 9 mL NaCl fisiologis untuk mendapatkan pengenceran 10⁻¹. Pengenceran dilanjutkan sampai pada pengenceran 10⁻⁶ dengan cara yang sama. 1 mL suspensi dari pengenceran 10⁻⁴ sampai 10⁻⁶ dimasukan ke dalam cawan petri secara triplo. Media PCA yang didinginkan (45°C) dituangkan pada masing-masing cawan yang sudah berisi suspensi sebanyak 15 mL dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24-48 jam. Bakteri yang tumbuh pada permukaan cawan dihitung menggunakan *colony counter*.

Pengujian *E. Coli* (Harimurti et al., 2007)

Sampel *se'i* ditimbang sebesar 5 g dimasukan ke dalam 25 mL larutan NaCl fisiologis dan dihomogenkan. Larutan yang dihasilkan merupakan pengenceran 10⁰. 1 mL suspensi dipindah dengan menggunakan pipet steril ke dalam larutan 9 mL NaCl fisiologis untuk mendapatkan pengenceran 10⁻¹. Pengenceran dilanjutkan sampai pada pengenceran 10⁻⁶ dengan cara yang sama. 1 mL suspensi dari pengenceran 10⁻¹ sampai 10⁻³ dimasukan ke dalam cawan petri secara triplo. Media EMBA yang didinginkan (45°C) dituangkan pada masing-masing cawan yang sudah berisi suspensi sebanyak 15 mL dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24-48 jam. Bakteri yang tumbuh pada

permukaan cawan dihitung menggunakan *colony counter*.

Variabel Penelitian

Variabel yang diamati yaitu pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun jati, kualitas mikrobiologis *se'i* yang terdiri dari: perhitungan jumlah koloni bakteri menggunakan *Total Plate Count* (TPC), dan pengamatan populasi keberadaan bakteri *E. coli* selama waktu penyimpanan (3,6 dan 9 hari).

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan analisis sidik ragam/analisis of variance (ANOVA) sesuai dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Dilanjutkan dengan pengujian *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan tingkat signifikan 0,05%, Menggunakan Software Statistical Analysis System (SAS).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian Antibakteri Ekstrak Daun Jati (*Tectona Grandis L.f.*) terhadap *E. coli*

Hasil pengujian aktivitas antimikroba larutan uji ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat dan dapat diukur dengan jangka sorong dengan satuan millimeter (mm). Kekuatan daya hambat dapat diketahui menurut pernyataan dari Susanto *et al.*, (2012).

Tabel 1. Kategori diameter zona bening

Diameter	Kekuatan daya hambat
(<5 mm)	Lemah
(6-10 mm)	Sedang
(>10-20 mm)	Kuat
(>20-30 mm)	Sangat kuat

Pengujian aktivitas antimikroba larutan uji ekstrak daun jati dengan tingkat konsentrasi berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*, hasil dapat dilihat pada

Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Diameter Zona Bening Ekstrak Daun Jati (*Tectona Grandis L.f.*)

Perlakuan	Diameter Zona Bening (mm)					Jumlah (mm)	Rata-rata (mm)
	I	II	III	IV	V		
R0	0	0	0	0	0	0	0 _c
R1	4.5	3	3.5	2.5	5	18.5	3.7 _c
R2	16	17	10	8.5	11.5	43	12.6 _b
R3	13.5	16.5	12	16	19	77	15.4 _{ab}
R4	24.5	16.5	14.5	17.5	22.5	95.5	19.1 _a

Keterangan: Hasil 0 = Tidak ada zona hambat yang terbentuk
 Angka yang diikuti superscript yang sama menunjukkan berbeda nyata (p>0,05)

Hasil pengukuran diameter zona bening dari bahan uji terhadap bakteri *E. Coli* (**Tabel 1**), hasilnya menunjukkan bahwa pada R0 kontrol (-) tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening pada sekeliling kertas cakram. Perlakuan R1 Kontrol (+) mampu menghambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan terbentuknya zona bening pada sekeliling kertas cakram dengan hasil rata-rata (3,7 mm), yang dikategorikan lemah karena <5 mm (Susanto *et al.*, 2012). Kemampuan nitrat menghambat pertumbuhan bakteri karena merupakan saltpeter yang sering digunakan sebagai bahan pengawet yang mengandung zat antimikrobal (Anggresani *et al.*, 2018).

Ekstrak daun jati menunjukkan kemampuan antibakteri dengan kategori kuat karena (>10- 20 mm) (Susanto *et al.*, 2012). terhadap bakteri *E. coli*. Hal ini ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekeliling kertas cakram dengan hasil rata-rata R2 konsentrasi 0,5% (12, 6 mm), R3 konsentrasi 1% (15,4 mm) dan R4 konsentrasi 1,5% (19,1 mm). Nilai diameter zona bening meningkat sesuai dengan ditingkatkannya konsentrasi ekstrak, hal ini sesuai dengan penelitian (Khazanah, 2014) yang menjelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi juga senyawa aktif

yang terkandung dalam ekstrak sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

Hasil analisis sidik ragam (Anova) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata pada setiap perlakuan ($P>0,05$), namun hanya pada perlakuan R3 dan R4 yang menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata. Rata-rata uji antibakteri ekstrak daun jati terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* tertinggi pada perlakuan R4 (1,5%) dengan luas diameter zona bening (19,1 mm), diikuti perlakuan R3 dan R2, sedangkan rerata yang rendah yaitu pada perlakuan kontrol (+) dan (-) yaitu R1 (Nitrat) (3,7 mm) dan R0 (0,00 mm). Antara perlakuan baik kontrol maupun konsentrasi ekstrak daun jati menunjukkan adanya perbedaan yang nyata.

Terbentuknya zona bening dipengaruhi oleh senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak daun jati. Hal ini sesuai dengan penelitian Vastrad *et al.*, (2014) bahwa hasil ekstrak daun jati menghasilkan senyawa seperti flavonoid, saponin, tanin, steroid dan triterpenoid, yang masing-masing memiliki aktivitas antimikrobal yang berbeda-beda. Selain itu terbentuknya zona pada ekstrak daun jati dipengaruhi juga oleh jenis pelarut yang digunakan seperti etanol 95% yang diproses secara maserasi bertujuan untuk mengikat zat aktif berdasarkan sifat kelarutan bahan pelarut yang mampu mengekstrak daun jati sehingga senyawa

polar aktif yang terkandung dalam daun jati terekstrak bersama pelarut.

Perhitungan Total Plate Count (TPC) pada daging *se'i* sapi

Pengujian kualitas mikrobiologis *se'i*, dapat diketahui dengan menggunakan

metode perhitungan TPC. Hasil perhitungan jumlah rata-rata koloni pada sampel *se'i* sapi sesuai masing-masing perlakuan dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil perhitungan TPC pada daging *se'i* sapi

TPC (CFU/g)	PENGAWET	L1	L2	L3	RATAAN
	P1	162.4 _d	183.1 _c	258.4 _a	201.3 _a
	P2	139.7 _e	161.3 _d	208.0 _b	169.7 _b
	P3	70.3 _g	96.9 _f	108.9 _f	92.0 _c
	PENGENCERAN				
	E1	170.2 _c	182.3 _c	220.8 _a	191.1 _a
	E2	113.9 _e	148.6 _d	204.1 _b	155.5 _b
	E3	88.3 _f	110.4 _e	150.4 _d	116.4 _c
	L x P x E				
	P1E1	217.0	226.0	285.0	242.7 _a
	P1E2	154.7	191.3	276.0	207.3 _b
	P1E3	115.7	132.0	214.3	154.0 _d
	P2E1	195.7	203.0	246.7	215.1 _b
	P2E2	121.3	159.0	221.3	167.2 _c
	P2E3	102.0	122.0	156.0	126.7 _e
	P3E1	98.0	118.0	130.7	115.6 _e
	P3E2	65.7	95.3	115.0	92.0 _f
	P3E3	47.3	77.3	81.0	68.6 _g
	RATAAN	124.1 _c	147.1 _b	191.8 _a	

Keterangan: L = Lama hari (L1= H-3, L2=H-6, L3=H-9)

P = Bahan Pengawet (P1= aquades (kontrol +), P2= nitrat (kontrol -), P3 = EDJ
E = Pengenceran (E1= 10⁴, E2= 10⁵, E3= 10⁶)

Perhitungan TPC pada **Tabel 3** menunjukkan bahwa hasil rata-rata jumlah koloni tertinggi pada ketiga konsentrasi diperlihatkan pada perlakuan P1 yaitu penambahan aquades dalam daging *se'i* sapi dengan nilai rerata yang diperoleh yaitu (201.3 CFU/g) sedangkan hasil uji TPC terendah diperlihatkan pada perlakuan P3 yaitu penambahan ekstrak daun jati sebagai bahan pengawet pada daging *se'i*

sapi dengan nilai rerata yang diperoleh yaitu (92.0 CFU/g). Pada lama waktu penyimpanan *se'i* sapi, hasil yang diperlihatkan berbeda pada setiap waktu penyimpanan. Hasil rata-rata tertinggi jumlah koloni diperlihatkan pada hari ke 9 (L3) dengan nilai 191,8 CFU/g dan nilai terendah diperlihatkan pada hari ke-3 (L1) dengan nilai 124,1 CFU/g.

Pada tingkat pengenceran yang digunakan dalam menghitung jumlah

koloni menggunakan metode TPC menunjukkan hasil tertinggi pada pengenceran E1 (10^4) dengan nilai rata-rata 191.1 CFU/g dan nilai terendah diperlihatkan pada pengenceran E3 (10^6) dengan nilai 116.4 CFU/g. Sedangkan interaksi antara penggunaan bahan pengawet (P), lama hari penyimpanan (L) dan pengenceran (E), diperlihatkan nilai rata-rata tertinggi yaitu pada P1E1 242.7 CFU/g dan nilai terendah diperlihatkan pada P3E3 yaitu 68.6 CFU/g.

Hasil uji lanjut sidik ragam (Anova) menunjukkan bahwa terjadi beda nyata antar perlakuan terhadap uji TPC ($P > 0,05$) baik terhadap penggunaan bahan pengawet, lama hari penyimpanan dan pengenceran. Pada Perlakuan (P) rerata yang diperlihatkan yaitu P1 (201.3_a), P2 (169.7_b), P3 (92.0_c). Pada lama hari penyimpanan (L) rerata yang diperlihatkan L1 H-3 (124.1_c), L2 H-6 (147.1_b), L3 H-9 (191.8_a). pada tingkat pengenceran yang digunakan dalam perhitungan TPC hasil rata-rata yang diperlihatkan yaitu pengenceran 10^{-4} E1 (191.1_a), pengenceran 10^{-5} E2 (155.5_b), pengenceran 10^{-6} E3 (116.4_c).

Hasil tertinggi yang diperlihatkan pada **Tabel 3**, menunjukkan bahwa perlakuan P1 dengan penambahan aquades sebagai kontrol (-) menunjukkan rerata TPC tertinggi dibandingkan dengan perlakuan P2 dan P3. Hal ini karena aquades tidak

memiliki kemampuan bakteristatik. Perlakuan P2, penambahan nitrat sebagai bahan *curing* terhadap daging *se'i* sapi menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan P1 dan P3. Nilai yang diperlihatkan menunjukkan bahwa nitrat memiliki kemampuan rendah dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan nilai rerata TPC yang lebih tinggi dibandingkan P3. Hal ini sesuai dengan pernyataan Siregar (2013) bahwa nitrat dapat berperan sebagai bahan *curing* yang dapat mempertahankan kualitas daging secara organoleptik serta bersifat bakteristatik.

Perlakuan P3, penambahan ekstrak daun jati sebagai bahan *curing* pada daging *se'i* sapi menunjukkan nilai rerata rendah yang berbeda nyata dengan perlakuan P1 dan P2 karena memiliki kemampuan bakteristatik yang tinggi sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Aktifitas mikrobial disebabkan oleh senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak daun jati ekstrak daun jati seperti tanin, alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, terpenoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antijamur, antivirus dan antibakteri, serta berperan sebagai bahan pewarna (Asrifah, 2012). Kemampuan antimikrobial suatu bahan ekstrak akan semakin baik jika konsentrasi ditingkatkan karena senyawa antibakterinya terindikasi lebih banyak sehingga lebih berpotensi

dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Ningtyas, 2010).

Penggunaan bahan pengawet (P) memiliki interaksi dengan lama waktu penyimpanan (L). Nilai tertinggi diperlihatkan pada L3P1 (258.4_a) dan nilai terendah pada L1P3 (70.3_g). Hal tersebut karena nilai pada L3P1 yaitu penggunaan aquades tidak mengandung antibakteri. Sedangkan nilai terendah yang diperlihatkan L1P3 menunjukkan bahwa ekstrak daun jati memiliki kemampuan antibakteri, maka interaksi dengan lama simpan yaitu semakin lama *se'i* disimpan jenis pengawet yang digunakan maka akan mempengaruhi jumlah koloni bakteri selama waktu penyimpanan pada suhu ruang. Interaksi antara lama simpan (L) dengan pengenceran (E), nilai tertingginya pada L3E1 (220.8_a) dan nilai terendahnya pada L1E3 (88.3_f), dimana semakin lama penyimpanan dan tingkat pengencerannya rendah maka jumlah koloninya banyak, sebaliknya jika penyimpanan dalam waktu singkat dan tingkat pengencerannya tinggi maka jumlah koloninya sedikit.

Sedangkan interaksi antara penggunaan bahan pengawet (P) dan pengenceran (E), nilai tertingginya pada P1E1 (242.7_a) dan nilai terendahnya pada P3E3 (68.6_g). Penggunaan bahan pengawet seperti aquades tidak mengandung antibakteri. Nilai terendah pada P3E3 disebabkan oleh kemampuan antibakteri

ekstrak daun jati. Jadi penggunaan bahan pengawet dengan kemampuan antibakteri masing masing dengan tingkat pengenceran yang berbeda-beda akan mempengaruhi jumlah koloni.

Kualitas mikrobiologi yang ditandai dengan perhitungan TPC mikroba pada *se'i* terus meningkat pada setiap perlakuan baik penggunaan bahan pengawet, tingkat pengenceran serta lama waktu penyimpanan produk *se'i* sapi pada suhu ruang. Pada kontrol maupun konsentrasi ekstrak jumlah rata-rata mikroba yang diperlihatkan pada hasil tidak melebihi batas pada daging asap yang ditetapkan BSNI (7388:2009) 1×10^5 koloni/g. Meskipun ketiga perlakuan menunjukkan hasil tidak melebihi SNI namun terdapat perbedaan nyata antara kontrol dan konsentrasi ekstrak. Tumbuhnya koloni bakteri pada ketiga perlakuan, selain dipengaruhi oleh ketidakmampuan bahan pengawet terhadap kontaminasi bakteri dapat dipengaruhi oleh faktor hygiene dan kebersihan lingkungan tempat pengolahan produk daging *se'i* sapi (Farouk *et al.*, 2015).

Perhitungan cemaran bakteri *E. coli* pada daging *se'i* sapi

Pengujian cemaran bakteri *E. coli* pada daging *se'i* sapi yang dicuring menggunakan ekstrak daun jati, rata-rata hasil perhitungan jumlah koloni dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *E. coli* pada daging *se'i* sapi

PERLAKUAN	L1	L2	L3	RATAAN
P1	36.4 _c	36.8 _c	93.1 _a	55.4 _a
P2	21.6 _d	30.6 _{cd}	61.8 _b	38.0 _b
P3	10.7 _e	6.0 _e	23.2 _d	13.3 _c
PENGECERAN				
E1	27.2 _{cd}	33.1 _c	66.6 _a	42.3 _a
E2	24.2 _{cde}	20.8 _{de}	65.2 _a	36.7 _b
E3	17.2 _e	19.4 _{de}	46.3 _b	27.7 _c
L x P x E				
P1E1	50.3	56.3	103.3	70.0 _a
P1E2	35.0	28.7	103.0	55.6 _b
P1E3	24.0	25.3	73.0	40.8 _{cd}
P2E1	23.0	43.0	72.7	46.2 _c
P2E2	23.7	26.0	61.7	37.1 _{de}
P2E3	18.0	22.7	51.0	30.6 _e
P3E1	8.3	0.0	23.7	10.7 _f
P3E2	14.0	7.7	31.0	17.6 _f
P3E3	9.7	10.3	15.0	11.7 _f
RATAAN	22.9 _b	24.4 _b	59.4 _a	

Keterangan: L = Lama hari (L1= H-3, L2=H-6, L3=H-9)

P = Bahan Pengawet (P1= aquades (kontrol +), P2= nitrat (kontrol -), P3 = EDJ)

E = Pengenceran (E1= 10^1 , E2= 10^2 , E3= 10^3)

Perhitungan jumlah cemaran bakteri *E. coli* pada **Tabel 4.** menunjukkan bahwa hasil rata-rata jumlah koloni tertinggi diperlihatkan pada perlakuan P1 yaitu penambahan aquades dalam daging *se'i* sapi dengan nilai rerata yang diperoleh yaitu (55.4 CFU/g) sedangkan hasil perhitungan terendah diperlihatkan pada perlakuan P3 yaitu penambahan ekstrak daun jati sebagai bahan pengawet pada daging *se'i* sapi dengan nilai rerata yang diperoleh yaitu (13.3 CFU/g). Pada lama waktu penyimpanan *se'i* sapi, hasil yang diperlihatkan berbeda pada setiap waktu penyimpanan. Hasil rata-rata tertinggi jumlah koloni diperlihatkan pada hari ke 9 (L3) dengan nilai 59.4 CFU/g dan nilai

rerata terendah diperlihatkan pada hari ke-3 (L1) dengan nilai 22.9 CFU/g. Pada tingkat pengenceran yang digunakan dalam menghitung jumlah cemaran koloni bakteri *E. coli* menunjukkan hasil rerata tertinggi pada pengenceran E1 (10^1) dengan nilai 42.3 CFU/g dan rerata terendah diperlihatkan pada pengenceran E3 (10^3) dengan nilai 27.7 CFU/g. Sedangkan interaksi antara penggunaan bahan pengawet (P), lama hari penyimpanan (L) dan pengenceran (E), diperlihatkan rerata tertinggi yaitu pada P1E1 70.0 CFU/g dan rerata terendah diperlihatkan pada P3E1 yaitu 10.7 CFU/g.

Hasil uji lanjut sidik ragam (Anova) menunjukkan bahwa terjadi beda nyata

antar perlakuan terhadap uji cemaran *E. coli* ($P > 0,05$) baik terhadap penggunaan bahan pengawet, lama hari penyimpanan dan pengenceran. Pada Perlakuan (P) rerata yang diperlihatkan yaitu P1 (55.4_a), P2 (38.0_b) dan P3 (13.3_c). Pada lama hari penyimpanan (L) rerata yang diperlihatkan L1 H-3 (22.9_b) tidak berbeda nyata dengan L2 H-6 (24.4_b), namun berbeda nyata dengan L3 H-9 (59.4_a). pada tingkat pengenceran rerata yang diperlihatkan yaitu pengenceran 10^{-1} E1 (42.3_a), pengenceran 10^{-2} E2 (36.7_b), pengenceran 10^{-3} E3 (27.7_c).

Hasil tertinggi yang diperlihatkan pada **Tabel 4**, menunjukkan bahwa perlakuan P1 dengan penambahan aquades sebagai kontrol (-) menunjukkan nilai cemaran koloni bakteri tertinggi dibandingkan perlakuan P2 dan P3. Hal tersebut karena aquades (P1) tidak memiliki kemampuan bakteriostatik. Perlakuan P2, penambahan nitrat menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan dengan perlakuan P1 dan P3. Nilai yang diperlihatkan menunjukkan bahwa nitrat memiliki kemampuan rendah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* yang ditandai dengan nilai cemaran yang lebih tinggi dibandingkan P3.

Perlakuan P3, penambahan ekstrak daun jati menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan P1 dan P2. Dengan nilai rendah yang diperlihatkan

pada **Tabel 4**, maka penggunaan ekstrak daun jati mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Aktifitas bakteriostatik disebabkan oleh senyawa fitokimia yang mengandung anibakteri. Hal tersebut juga didukung dengan pernyataan (Rizky dan Sogandi, 2018) yang menyatakan bahwa daya hambat tertinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* adalah ekstrak etanol daun jati.

Penggunaan bahan pengawet (P) memiliki interaksi dengan lama waktu penyimpanan (L). Nilai tertinggi diperlihatkan pada P1L3 (93.1_a) dan nilai terendah pada P3L2 (6.0_e). Hal tersebut karena penggunaan aquades tidak berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada daging *se'i* sapi. Sedangkan nilai terendah yang diperlihatkan L1P3 menunjukkan bahwa ekstrak daun jati memiliki kemampuan antibakteri maka interaksi dengan lama simpan yaitu semakin lama *se'i* disimpan jenis pengawet yang digunakan maka akan mempengaruhi jumlah koloni bakteri selama waktu penyimpanan pada suhu ruang. Interaksi antara lama simpan (L) dengan pengenceran (E), nilai tertingginya diperlihatkan pada E1L3 (66.6_a) dan nilai terendah pada E3L1 (17.2_e). Semakin lama penyimpanan dan tingkat pengencerannya rendah maka jumlah koloninya banyak, sebaliknya jika penyimpanan dalam waktu

singkat dan tingkat pengenceranya tinggi maka jumlah koloninya sedikit.

Sedangkan interaksi antara penggunaan bahan pengawet (P) dan pengenceran (E), nilai tertingginya diperlihatkan pada P1E1 (70.0_a) dan nilai terendah pada P3E1 (10.7_f). Penggunaan aquades tidak berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada *se'i* sehingga menunjukkan jumlah nilai cemaran tertinggi. Nilai terendah yang diperlihatkan P3E1 disebabkan oleh kemampuan antibakteri ekstrak daun jati. Jadi penggunaan bahan pengawet dengan kemampuan antibakteri masing masing dengan tingkat pengenceran yang berbeda-beda akan mempengaruhi jumlah koloni.

Hasil perhitungan cemaran bakteri *E. coli* pada *se'i* sapi terus meningkat pada setiap perlakuan baik penggunaan bahan pengawet, tingkat pengenceran yang digunakan serta lama waktu penyimpanan produk *se'i* sapi pada suhu ruang. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Selain itu *se'i* yang berbahan dasar daging sapi hanya mampu bertahan dalam kisaran waktu 3-7 hari karena mengandung air (40-60%) sehingga menjadi media yang baik untuk pertumbuhan bakteri (Hernando *et al.*, 2015). Menurut Bontong *et al.*, (2012) kontaminasi bakteri *E. coli* pada *se'i* sapi yang dipasarkan di Kota Kupang sebagian besar terkontaminasi dan melampaui batas maksimum cemaran bakteri *E. coli* pada

daging asap *se'i* sapi. Hasil menunjukkan pada kontrol maupun konsentrasi ekstrak menunjukkan rerata mikroba yang melebihi batas cemaran bakteri *E. coli* pada daging asap seperti *se'i* yang ditetapkan (SNI 01-7388-2009) yaitu 1×10^{-1} CFU/gr.

SIMPULAN

Penggunaan ekstrak daun jati menunjukkan kemampuan antibakteri yang ditandai dengan terbentuknya diameter zona bening dengan kategori kuat pada perlakuan R2 (0,5% EDJ). Kualitas mikrobiologi *se'i* sapi dengan konsentrasi ekstrak daun jati (0,5%) sebagai agen *curing* menunjukkan kemampuan bakteriostatik dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan nilai TPC 1×10^{-1} CFU/gr yang tidak melebihi BSNI (7388:2009).

DAFTAR PUSTAKA

- Anggresani, L., Hadriyati, A., Syahyara, A. Y., & Pratama, S. (2018). Analisis Kandungan Natrium Nitrit Pada Daging Sapi Mentah Di Pasar Dan Supermarket Kota Jambi. *Chempublish Journal*. 3(2): 69-75.
- Asrifah, Indah. 2012. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Metanol Daun Jati (*Tectona grandis* Linn) Terhadap Pertumbuhan Isolat Bakteri dari Daging Sapi. Skripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). 2008. Metode Pengujian Cemaran Mikroba Dalam Daging, Telur, dan

- Susu, serta hasil olahannya. SNI 2897:2008.
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). 2009. Metode pengujian cemaran mikroba dalam daging, telur dan susu, serta hasil olahannya. SNI 2897:2009.
- Bontong, R.A., Mahatma, R., suada. 2012. Kontaminasi bakteri *Escherichia coli* pada daging *se'i* sapi yang dipasarkan di kota Kupang. *Jurnal Indonesia medicus veterinus*. 1(5): 699-711.
- Farouk, M.M., H.M Al-Mazeedi., A.B Sabow., A.E.D Bekhit., K.D Adeyemi., A.Q Sazili and A. Ghani. 2014. Halal and Koshe slaughter methods and meat gualitid: A Review. *Journal Meat Science*, 98 (3): 505-519.
- Fathinahtullabibah, Kawji, dan U. Khasanah. 2014. Stabilitas Antosianin ekstrak daun jati (*Tectona Grandis*) terhadap perlakuan ph dan suhu. *Jurnal aplikasi teknologi pangan*. 3 (2): 60-63.
- Hernando D, Septinova D, Adhianto K. 2015. Kadar air dan total mikroba pada daging sapi di tempat pemotongan hewan (TPH) Bandar Lampung. *Jurnal Ilmu Peternakan Terpadu*. 3(1): 61-67.
- Kristiangsih, Y. & E. Fitrianti. 2019. Perbandingan kadar nitrit pada kornet daging sapi sebelum dan sesudah dikukus yang di jual di wilayah Kecamatan Matraman. *Jurnal Ilmiah Analisis Kesehatan*. 5(1):65-73.
- Ningtyas, R. 2010. Uji antioksidan, antibakteri ekstrak air daun kecombrang sebagai pengawet alami terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 033 Tahun 2012 Tentang Bahan Tambahan Pangan. Jakarta: 2012. Peternakan, Universitas Brawijaya. Malang.
- Rizky, T. A., & Sogandi. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Jati (*Tectona grandiss* L.f) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 3(1), 93–105.
- Shukla, S., Mishra, H. dan Sandhu, S.S., 2016, Evaluation of Antibacterial Potential of Different Extracts of *Tectona Grandis*. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 5 (5): 1272-1281.
- Siregar, N. (2013). Analisis Kadar Nitrit Pada Daging Sosis Dengan Metode Spektroskopi. Universitas Sumatera Utara.
- Soeparno. 2015. *Ilmu dan Teknologi Daging*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Standar Nasional Indonesia (SNI). 2009. Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan. Standar Nasional Indonesia 01-7388-2009. Dewan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- Susanto, D., Sudrajat dan R. Ruga. 2012. Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula* Miq) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Journal of Mulawarmnan Scientifie*. 11 (2): 181-190.
- Vastrad, J.V., Byadgi, S.A., Goudar, G. dan Kotur, R. 2014. Characterization of phytoconstituents in leaf extract of forest species for textile applications. *Forest Products Journal*. 64(7/8):259-264.
- Wulandari, F. 2014. Total jumlah bakteri pada daging sapi segar yang dibungkus daun jati dengan variasi lama penyimpanan. Pendidikan Biologi, FKIP Universitas Muhammadiyah Surakarta.