

SKRIPSI

PENGARUH PENDINGINAN DENGAN ZAT ASAM ARANG PADAT
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *E. coli*iform
DAN *Escherichia Coli* YANG MENCEMARI
DAGING SAPI



OLEH :

AMBANG INTONO

LAMONGAN — JAWA TIMUR

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

1993

PENGARUH PENDINGINAN DENGAN ZAT ASAM ARANG PADAT
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI COLIFORM
DAN ESCHERICHIA COLI YANG MENCEMARI
DAGING SAPI

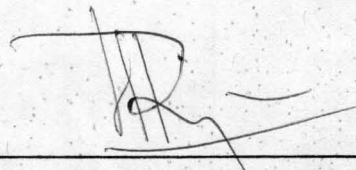
Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh
AMBANG INTONO
068811505

Menyetujui
Komisi Pembimbing



(Drh. Didik Handijatno, M.S)
Pembimbing Pertama

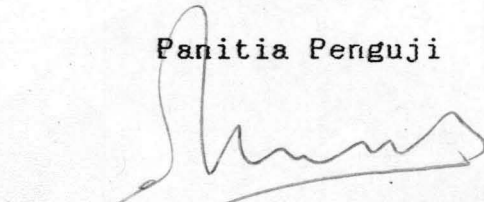


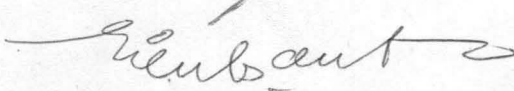
(Drh. Sorini Soehartojo)
Pembimbing Kedua

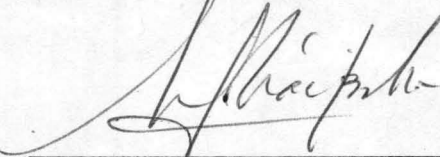
Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan.

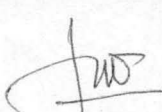
Menyetujui


Panitia Penguji


(Drh. Garry Cores De Vries, MS)
Ketua


(Drh. Soetji Prawesthirini, SU)
Sekretaris


(Drh. Midian Naibaho, MS)
Anggota


(Drh. Didik Handijatno, MS)
Anggota

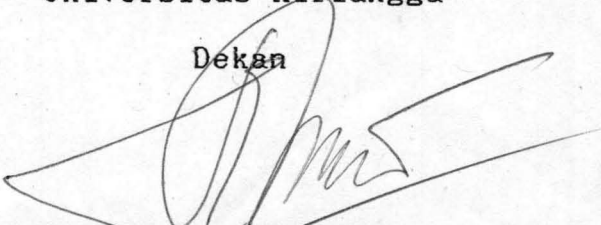

(Drh. Sorini Soehartojo)
Anggota

Surabaya, 22 Mei 1993

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan


(DR. Rochiman Sasmita, M.S., Drh.)

NIP.130350739

PENGARUH PENDINGINAN DENGAN ZAT ASAM ARANG PADAT
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI COLIFORM
DAN *ESCHERICHIA COLI* YANG MENCEMARI
DAGING SAPI

Ambang Intono

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pendinginan dengan zat asam arang padat terhadap pertumbuhan bakteri Coliform dan *Escherichia coli* yang mencemari daging sapi.

Dalam penelitian ini digunakan 2400 gram daging sapi yang berasal dari enam ekor sapi Peranakan Ongole (PO) pada bagian paha belakang (*salver side*), yang diperoleh dari Rumah Potong Hewan Pegirian Surabaya. Sampel terbagi dalam empat kelompok yaitu 100 gram daging segar sebagai kontrol (K), 100 gram daging sapi yang dilayukan pada suhu ruangan 30° C selama enam jam (PI), 100 gram daging sapi yang disimpan dalam thermos berisi bahan pendingin zat asam arang padat selama enam jam (PII), dan 100 gram daging sapi yang disimpan dalam thermos berisi bahan pendingin zat asam arang padat (seperti perlakuan Kedua), tetapi lama penyimpanan ditambah enam jam lagi setelah bahan pendinginnya habis menyublin (PIII).

Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah bakteri Coliform dan *Escherichia coli* yang tumbuh pada media pembiakan dengan metode Most Probable Number (MPN). Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Analisis data menggunakan Uji F dan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf kepercayaan satu persen.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kelompok perlakuan satu yaitu daging yang didinginkan dengan zat asam arang padat selama enam jam mengandung jumlah bakteri Coliform dan *Escherichia coli* yang paling sedikit, bahkan jumlah bakteri cenderung menurun jika dibandingkan kontrol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadirat Allah Swt yang telah melimpahkan taufiq dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada Bapak Drh. Didik Handijatno, M.S, selaku pembimbing pertama dan Ibu Drh. Sorini Soehartojo selaku pembimbing kedua, yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan sejak awal penelitian hingga selesainya skripsi.

Demikian pula penulis menyampaikan terima kasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, atas segala bantuan dan kebijaksanaan yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi.

Tak lupa penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Kepala Laboratorium Kesehatan Susu dan Daging Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga beserta staf dan karyawan atas kesempatan dan bantuan yang diberikan dalam pelaksanaan penelitian ini.

Kepada Ibu dan Almarhum Ayah serta Saudara-saudaraku tercinta, penulis menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang tulus atas dorongan dan doa restunya selama menempuh pendidikan sampai berakhir.

Akhirnya kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini dan tidak disebutkan di atas, penulis mengucapkan terima kasih. Semoga analnya mendapatkan balasan dari Allah Swt. Amien.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR LAMPIRAN	v
DAFTAR GAMBAR	vi
PENDAHULUAN	1
TINJAUAN PUSTAKA	8
Tinjauan Umum Daging	6
Makanan dan Mikroorganisme	7
Faktor-faktor Yang Mempengaruhi Aktifitas Mikroorganisme	8
Mikroorganisme Indikator Sanitasi Bahan Makanan	13
Bakteri <i>Coliform</i> , <i>Escherichia coli</i> , Pertumbuhan dan Patogenitasnya	14
Prinsip Dasar Pengawetan Bahan Makanan	19
Pengawetan Bahan Makanan Dengan Bahan Pendingin Zat Asam Arang Padat	20
MATERI DAN METODE PENELITIAN	23
Tempat dan Waktu Penelitian	23
Materi Penelitian	23
Metode Penelitian	25
Analisis Statistik	28
HASIL PENELITIAN	29
PEMBAHASAN	33
KESIMPULAN DAN SARAN	43
RINGKASAN	45
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	51

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Pengelompokan Mikroorganisme Berdasarkan Reaksi Pertumbuhan Terhadap Suhu	11
2. Notasi dari Pengaruh Pendinginan Dengan Zat Asam Arang Padat Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Coliform</i> Antara Kelompok Perlakuan dan Kontrol	30
3. Notasi dari Pengaruh Pendinginan Dengan Zat Asam Arang Padat Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia coli</i> Antara Kelompok Perlakuan dan Kontrol	31

DAFTAR LAMPIRAN

Nonor	Halaman
1. Persiapan Sampel dan Pembuatan Media	51
2. Kriteria Penentuan Bakteri <i>Coliform</i> dan <i>Escherichia coli</i> Serta Penentuan Jumlah Tertinggi Bakteri Dalam Setiap Gram Daging..	54
3. Penghitungan Jumlah Bakteri <i>Coliform</i> Per Gram Daging Antara Kelompok Perlakuan dan Kontrol	58
4. Penghitungan Jumlah Bakteri <i>Escherichia coli</i> Per Gram Daging Antara kelompok Perlakuan dan Kontrol	59
5. Skema Metode Most Probable Number (Nilai Duga Dekat)	62
6. Tabel Mac. Crady's	63

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Thermos yang Berisi Daging Sapi dan Bahan Pendingin Zat Asam Arang Padat	64

PENDAHULUAN

Latar Belakang Masalah

Pembangunan Nasional mencakup berbagai sektor, salah satunya adalah sektor pertanian yang terdiri antara lain subsektor peternakan. Tujuan pembangunan subsektor peternakan tersebut antara lain untuk mencukupi kebutuhan pangan bergizi, mencukupi tenaga kerja asal ternak, meningkatkan pendapatan petani dan penyediaan lapangan kerja (Anonymous, 1991^a).

Berkaitan dengan tujuan pembangunan pertanian subsektor peternakan khususnya yang bertujuan memenuhi kebutuhan pangan bergizi, telah menunjukkan hasil yang cukup baik, terbukti adanya pola peningkatan produksi, populasi dan konsumsi dari ternak serta hasil-hasil ternak (Anonymous, 1991^a).

Peningkatan konsumsi dari produksi ternak yang berupa daging pada tahun 1990 telah mencapai angka 10.081,8 ribu ton sedangkan pada tahun 1968 baru mencapai angka 309,3 ribu ton. Produksi telur pada kurun waktu yang sama mengalami peningkatan dari 57,7 ribu ton menjadi 472,3 ribu ton, susu dari 28,9 ribu ton menjadi 359,8 ribu ton. Kenyataan ini menunjukkan adanya kecenderungan masyarakat untuk terus meningkatkan konsumsi protein hewani (Anonymous, 1992).^v Proyeksi permintaan produk asal hewan

khususnya daging setiap tahun meningkat sebesar 6,1 persen (Anonymous, 1986)

Sesuai tuntutan serta semakin meningkatnya kesadaran masyarakat akan pentingnya penyediaan daging yang sehat dan sesuai selera konsumen, maka penanganan daging yang benar-benar memenuhi persyaratan permintaan konsumen menjadi sangat penting (Anonymous, 1991^b). Terlebih lagi permintaan konsumen di hotel-hotel, rumah makan dan untuk tujuan ekspor daging.

Penanganan daging yang tidak higienes menjadi faktor penting terhadap tingginya tingkat kontaminasi bakteri patogen dan non patogen pada daging. Beberapa bakteri yang umumnya terdapat pada daging segar akibat penanganan yang tidak higienes tersebut adalah *Stafilococcus*, *Micrococcus*, *Enterococcus* dan *Coliform*. Keberadaan bakteri-bakteri tersebut selain mengakibatkan kerusakan dan mempengaruhi kualitas daging, juga dapat membahayakan kesehatan konsumen (Pelczar dan Chan, 1988).

Selain sebagai sumber protein hewani yang tinggi nilainya, daging dan hasil olahannya juga merupakan salah satu media yang baik bagi pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroorganisme (Gracey, 1981; Manshur, 1988 dan Anonymous, 1991). Usaha pencegahan terhadap kerusakan daging yang disebabkan oleh bakteri telah dilakukan dengan beberapa cara. Salah satu cara yang banyak digunakan adalah

pendinginan atau pembekuan daging dengan alat-alat atau bahan-bahan pendingin. Sebab menurut Jawetz dkk. (1986), Winarno dan Jenie (1983), aktivitas bakteri sangat dihambat pada suhu dingin dan hampir tidak ada pada suhu di bawah titik beku sehingga waktu penyimpanan bahan makanan dapat diperpanjang.

Salah satu bahan pendingin yang dapat dipakai untuk menghambat kerusakan bahan makanan (daging) yang disebabkan oleh aktivitas bakteri adalah zat asam arang padat (CO_2 beku). Karena bahan pendingin tersebut memiliki beberapa kelebihan, antara lain mempunyai kemampuan pendinginan dua kali lebih besar daripada es batu, tidak merubah bau, rasa dan kualitas bahan makanan serta penggunaannya dapat tahan lama tergantung dari peti kemasnya (Sorini dan Sungkowo, 1979).

Berdasarkan hal tersebut di atas maka peneliti mencoba melakukan penyimpanan daging yang diduga terkontaminasi bakteri *Coliform* dan *Echerichia coli* dengan zat asam arang padat untuk menghambat pertumbuhan bakteri pencemar tersebut sehingga kecepatan terjadinya kebusukan daging dapat dikurangi. Dalam penelitian ini pertumbuhan bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* dijadikan peubah dengan cara menghitung jumlah total kedua jenis bakteri tersebut memakai metode *Most Probable Number* (MPN).

Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut: Seberapa besar pengaruh zat asam arang padat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* yang mencemari daging.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh zat asam arang padat terhadap pertumbuhan bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* yang mencemari daging sapi setelah disimpan dengan bahan pendingin zat asam arang padat selama enam jam.

Hipotesis Penelitian

Berdasarkan permasalahan, landasan teori dan tujuan penelitian yang telah disebutkan di atas maka hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah :

Ha : Pertumbuhan bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* yang mencemari daging dipengaruhi oleh bahan pendingin zat asam arang padat.

Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat, terutama perusahaan yang bergerak dibidang produk hewani (daging) tentang

efektifitas pengiriman atau penyimpanan daging dengan bahan pendingin zat asam arang arang padat asam arang padat dalam menghambat kerusakan daging, terutama yang disebabkan oleh bakteri pencemar *Coliform* dan *Escherichia coli*.

TINJAUAN PUSTAKA

Tinjauan Umum Daging

Menurut buku pedoman Undang-Undang Veteriner yang dikutip oleh Anonymous (1990) daging adalah bagian hewan yang disembelih atau dibunuh dan lazim dimakan manusia, kecuali yang telah diawetkan dengan cara lain selain dengan pendinginan. Sedangkan Sorini dan Sungkowo (1979) menyebutkan daging adalah bagian dari ternak yang dapat dimakan, berasal dari otot rangka atau yang terdapat dibagian lain lidah, diafragma, jantung, oesophagus dan bagian dari tulang, kulit, saraf, dan pembuluh darah yang secara normal menyertai jaringan urat daging tanpa dapat dipisahkan waktu pembersihan karkas.

Daging sebagai sumber protein hewani yang baik, bila ditinjau komposisi kimianya mengandung air (75 %), lemak (4,5 %), protein (19,0 %) dan abu (1,5 %) (Hart dan Fisher, 1971). Daging mengandung zat besi, fosfor, belerang, kalium dan natrium, tetapi sedikit mengandung zat kapur (calcium) karena kalsium banyak terdapat pada tulang. Disamping itu daging mengandung vitamin B kompleks yang tinggi. Vitamin B kompleks yang terbanyak pada daging yaitu tiamin, riboflavin dan niasin. Nilai vitamin ini sering menurun atau berkurang akibat cara memasak yang salah, karena vitamin B umumnya tidak tahan terhadap pemanasan. Vitamin

lain yang terdapat dalam daging adalah vitamin A, D, E dan K (Mansur, 1988; Purbawati, 1989). Menurut Suhardjo (1985) komposisi daging sapi dalam 100 gram bagian yang dapat dinakan mengandung air (66 %), kalori (270 kalori), protein (18,8 gram), lemak (14 gram), kalsium (11 miligram), zat besi (2,8 miligram), tiamin (0,08 miligram), ribloflavin (0,2 miligram) dan niasin (5 miligram).

Tingginya nilai gizi daging salah satunya terbukti dari kandungan proteinnya dengan komposisi asam amino esensial yang lengkap dan perbandingan yang seimbang bila dibandingkan dengan protein nabati (Anonymous, 1982; Anggorodi, 1985; Purnomo, 1990). Oleh karena itu daging mempunyai nilai utama dalam memenuhi kebutuhan terhadap protein karena sangat berperan dalam proses biologis yaitu memperbaiki jaringan yang rusak, pertumbuhan jaringan baru, metabolisme untuk menghasilkan energi, pembentukan enzim, pertahanan tubuh dan merupakan perantara impuls saraf (Winarno dan Jenie, 1983).

Makanan dan Mikroorganisme

Mikroorganisme tersebar luas di alam lingkungan, sebagai akibatnya produk makanan jarang sekali yang steril dan umumnya tercemar oleh berbagai mikroorganisme. Sebab bahan makanan selain merupakan sumber gizi bagi manusia juga sebagai sumber makanan bagi perkembangbiakan mikroorganisme (Buckle dkk, 1985).

Buckle dkk (1985) menyebutkan pertumbuhan mikro-organisme didalam atau pada makanan dapat mengakibatkan perubahan fisik maupun kimiawi yang tidak diinginkan, sehingga bahan tersebut tidak layak dikonsumsi. Apabila hal ini terjadi, produk makanan tersebut dinyatakan sebagai bahan makanan yang busuk dan menggambarkan suatu penyalahgunaan sumber gizi yang berharga.

Menurut Jawetz dkk (1986) pembusukan adalah akibat pertumbuhan kuman. Aktivitas metabolik yang berhubungan dengan pertumbuhan menyebabkan perombakan bahan makanan dan pelepasan hasil-hasil proses peragian, pencernaan dan proses-proses lain.

Bahan makanan dapat pula bertindak sebagai perantara atau substrat untuk tumbuhnya mikroorganisme yang bersifat patogenik terhadap manusia. Penyakit menular yang cukup berbahaya seperti Typhus, Kolera, Disentri, Tuberculosis dan Poliomyelitis dengan mudah disebarkan melalui bahan makanan (Buckle dkk, 1985).

Frazier dan Westhoff (1978) yang dikutip oleh Sarsito (1992) mengelompokkan makanan berdasarkan mudah dan sukarnya terjadi kerusakan yaitu (a) makanan yang tidak mudah rusak (stable or non perishable food) misalnya gula, dan tepung; (b) makanan agak mudah rusak (semi perishable food) misalnya kentang, dan ubi jalar; (c) makanan yang mudah rusak (perishable food) misalnya daging, ikan, telur, sayuran, dan sebagian besar buah-buahan.

Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktifitas Mikroorganisme

Kemampuan mikroorganisme untuk tumbuh dan tetap hidup merupakan hal yang penting dalam ekosistem makanan. Suatu pengetahuan dan pengertian tentang faktor-faktor yang mempengaruhi kemampuan perkembangan biakan kuman tersebut sangat penting untuk mengendalikan hubungan antara mikroorganisme, makanan dan manusia.

Beberapa faktor utama yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme meliputi adanya suplai gizi, waktu, suhu, air, pH dan tersedianya oksigen (Buckle dkk, 1985). Tetapi menurut Jawetz (1986) hal yang paling mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme adalah air, pH, potensial redoks, suhu, faktor-faktor yang memungkinkan penetrasi (lecet pada buah-buahan, pencucian telur) dan otolisis (melarutkan diri sendiri)

Zat Gizi

Seperti halnya makhluk lain, mikroorganisme juga membutuhkan suplai makanan yang akan menjamin sumber energi dan penyediaan unsur-unsur dasar untuk pertumbuhan sel. Unsur-unsur dasar tersebut adalah karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, sulfur, fosfor, magnesium, zat besi dan sejumlah kecil logam lainnya (Buckle dkk, 1985)

Waktu

Waktu antara pembelahan sel mikroorganisme berbeda-beda tergantung dari spesies dan kondisi lingkungan, tetapi

untuk kebanyakan bakteri waktu itu berkisar antara 10 - 60 menit (Buckle dkk., 1985).

Suhu

Suhu dapat mempengaruhi mikroorganisme dalam dua cara yang berlawanan yaitu; (a) apabila suhu naik kecepatan metabolisme naik dan pertumbuhan dipercepat, sebaliknya bila suhu turun maka kecepatan metabolisme juga turun dan pertumbuhan diperlambat; (b) apabila suhu naik atau turun tingkat pertumbuhan mungkin terhenti, komponen sel menjadi tidak aktif dan sel-sel dapat mati. Sehubungan dengan suhu bagi setiap organisme dapat digolongkan sebagai berikut :

- (1) suhu minimum, yaitu suhu dimana pertumbuhan mikroorganisme tidak terjadi lagi;
- (2) suhu optimum yaitu suhu dengan pertumbuhan yang paling cepat;
- (3) suhu maksimum, yaitu diatas suhu ini pertumbuhan mikroorganisme tidak mungkin terjadi.

Berlandaskan hubungan tersebut diatas, Buckle dkk (1985) mengelompokkan mikroorganisme menjadi psikrofil, psikrotrof, mesofil, thermofil dan thermotrof. Nilai suhu pertumbuhan sehubungan dengan kelompok ini terlihat pada tabel 1.

Tabel 1. Pengelompokan Mikroorganisme Berdasarkan Reaksi Pertumbuhannya Terhadap Suhu

Kelompok	Suhu Pertumbuhan ($^{\circ}\text{C}$)		
	mininum	optimum	maksimum
Psikrofil	- 15	10	20
Psikrotrof	- 5	25	35
Mesofil	5 sampai 10	30 sampai 37	45
Thermofil	40	45 sampai 55	60 sampai 80
Thermotrof	15	42 sampai 46	50

Sumber : Buckle dkk, 1985

Khususnya mengenai reaksi mikroorganisme terhadap suhu rendah (pembekuan) menurut Frazier dkk (1978), yang dikutip Sarsito (1982) dipengaruhi oleh : (a) jenis dan kondisi mikroorganisme; kekebalan terhadap pembekuan bervariasi sesuai dengan jenis mikroorganisme, fase pertumbuhan dan sel-sel vegetatif atau spora; (b) kecepatan pembekuan yaitu kecepatan pembekuan yang tinggi cenderung mengurangi kerusakan daging karena interval suhu kritis yang dapat menyebabkan kematian mikroorganisme dilalui dengan kecepatan tinggi; (c) suhu pembekuan : makin tinggi suhunya makin mematikan; (d) waktu penyimpanan beku : proses pembekuan diikuti oleh reduksi mikroorganisme secara perlahan-lahan dan hal ini merupakan *storage death*; (e) jenis makanan : komposisi bahan makanan mempengaruhi kecepatan kematian mikroorganisme selama pembekuan; (f) pengaruh pencairan : pencairan makin cepat akan makin merugikan beberapa bakteri.

pH

Setiap organisme mempunyai kisaran nilai pH , dimana pertumbuhan masih memungkinkan dan masing-masing biasanya mempunyai pH optimum. Tetapi kebanyakan mikroorganisme dapat tumbuh pada kisaran pH 6,0 sampai 8,0 dan nilai pH di luar kisaran 2,0 sampai 10,0 biasanya bersifat merusak, sementara pH makanan umumnya berkisar antara 3,0 sampai 8,0 (Buckel dkk, 1985).

Water Activity (aw)

Jenis mikroorganisme yang berbeda membutuhkan jumlah air yang terdapat dalam bahan makanan (*water activity*) yang wberbeda pula untuk pertumbuhannya. Tetapi bakteri pada umumnya tumbuh dan berkembang biak pada media dengan nilai aw yang tinggi yaitu 0,91 sedang khamir membutuhkan nilai aw lebih rendah lagi (0,87 - 0,91) dan kapang nilai aw (0,80 - 0,87).

Ketersediaan Oksigen

Berkaitan dengan kebutuhan oksigen, setiap mikro-organisme mempunyai perbedaan yang nyata guna metabolismenya, sehingga dapat dikelompokkan sebagai : (a) organisme aerobik yaitu tersedianya oksigen sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan; (b) organisme anaerobik yaitu tidak dapat tumbuh dengan adanya oksigen; (c) organisme aerobik fakultatif yaitu oksigen akan digunakan apabila tersedia, kalau tidak tersedia organisme tetap dapat tumbuh dalam keadaan anaerobik; (d) organisme mikroaerofilik yaitu

mikroorganisme yang dapat tumbuh pada keadaan oksigen yang lebih rendah daripada kadar oksigen atmosfer (Buckle dkk., 1985).

Radiasi Sinar - Zat Kimia

Radiasi sinar ultra violet dengan panjang gelombang tertentu dan radiasi ionisasi seperti sinar X dan sinar Gamma dapat mudah terserap oleh sel mikroorganisme. Sinar-sinar tersebut dapat mengganggu metabolisme sel dan umumnya dapat mematikan, begitu juga zat-zat kimia baik yang bersifat menghambat atau mematikan mikroorganisme. Tetapi kerja dari bahan-bahan kimia antimikroba ini bersifat khas yaitu hanya efektif pada jenis-jenis mikroorganisme tertentu. Efektifitas dari bahan antimikroba tergantung pada jumlah yang digunakan, waktu penggunaan dan faktor-faktor lingkungan lainnya seperti pH (Buckle dkk., 1985).

Mikroorganisme Indikator Sanitasi Bahan Makanan

Penggunaan indeks mikroorganisme sebagai penentu derajat sanitasi telah banyak dilakukan. Tingkat kontaminasi yang terjadi dapat diperiksa berdasarkan jumlah mikroorganisme tertentu yang terkandung pada bahan makanan (daging). Diantara beberapa mikroorganisme yang digunakan untuk maksud tersebut adalah bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* yang sering dipakai oleh banyak negara (Budiharto, 1978).

Bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* merupakan mikroorganisme yang secara normal ditemukan dan hidup di dalam saluran usus manusia dan hewan, sehingga secara umum juga ditemukan pada tinja. Jadi ditemukannya *Coliform* dan *Escherichia coli* merupakan petunjuk adanya pencemaran tinja pada produk bahan makanan tersebut, juga merupakan petunjuk terhadap kemungkinan adanya bakteri usus patogen yang mungkin terdapat pada produk bahan makanan tersebut (Dey dan Dey, 1982). Adanya bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* dalam jumlah besar tidak dikehendaki dalam produk bahan makanan (Anonymous, 1985).

Hasil sidang pleno VIII tahun 1981, Panitia Kodeks Makanan Indonesia menetapkan bahwa jumlah maksimal bakteri *Coliform* sebesar 100 bakteri per gram daging sedangkan jumlah *Escherichia coli* pada daging tidak boleh lebih dari 10 bakteri per gram daging (Purwinawati, 1980).

Bakteri *Coliform*, *Escherichia coli*, Pertumbuhan dan Patogenitasnya

Bakteri *coli* termasuk spesies dari famili *Enterobacteriaceae* yang secara normal terdapat dalam saluran pencernaan manusia dan hewan, tersebar luas di dunia dengan penyebaran yang sering melalui air dan lalat (Buckle dkk, 1985). Bakteri *Coliform* merupakan kuman yang berbentuk batang, bersifat Gram negatif dan secara fakultatif hidup

dalam saluran pencernaan manusia atau hewan serta tanpa menyebabkan penyakit (Davis dan Dubelco, 1980).

Menurut Cruickshank dkk (1975) dan Jawetz dkk (1980) bakteri *Coliform* merupakan kelompok coli aerogenes yang terdiri dari berbagai genera yaitu *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* dan *Citrobacter*. Seluruh genera yang termasuk bakteri *Coliform* masih dalam satu famili yaitu *Enterobacteriaceae*. Bakteri *Coliform* dapat hidup secara fakultatif anaerob, tidak membentuk spora dan mampu menfermentasikan laktosa menjadi asam dan gas dalam waktu 24 sampai 48 jam pada temperatur 30 sampai- 37°C.

Escherichia coli merupakan anggota bakteri *Coliform* yang paling sering dipakai sebagai indikator adanya pencemaran tinja pada air minum, bahkan pada bahan makanan (Anonymous, 1971). Hal ini disebabkan *Escherichia coli* mempunyai kemampuan hidup yang lebih lama dan daya hidup yang lebih tinggi di udara terbuka, air maupun dalam bahan makanan daripada anggota *Enterobacteriaceae* lain yang bersifat patogen seperti *Salmonella* (Strobb, 1971).

Escherichia coli berbentuk *cocobacillus* maupun *filamentous* dan batang pendek. Ukuran panjangnya antara dua sampai empat milimikron. *Escherichia coli* bersifat gram negatif, bergerak dengan *flagella*, tetapi ditemukan pula beberapa strain yang bersifat tidak bergerak (Dey dan Dey, 1982). Menurut Jawetz (1980), *Escherichia coli* selain flora normal pada saluran usus manusia maupun hewan, terutama

pada usus besar, juga ditemukan pada tanah, air dan debu. Dey dan Dey (1982) menyatakan *Escherichia coli* akan mati pada pemanasan 60°C selama 30 menit, meskipun ada beberapa strain yang tahan panas masih dapat hidup. Beberapa strain juga ditemukan tahan hidup pada keadaan temperatur dingin di bawah 0°C atau pada keadaan beku sampai 6 bulan.

Bakteri *Coliform* mampu tumbuh dengan baik pada media yang sederhana dan berbagai jenis makanan. Bakteri *Coliform* dapat tumbuh pada temperatur minus dua derajat celcius dan 50°C dalam makanan, dan tumbuh pada pH 4,4 sampai 9, terutama bakteri *Escherichia coli* (Jay, 1978).

Menurut Buckle dkk (1979) dan Jay (1978), bakteri *Escherichia coli* mampu hidup dan tumbuh pada media yang hanya mengandung nitrogen seperti $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dengan mineral lain, sehingga bakteri ini dapat mudah tumbuh pada media Nutrien Agar dan membentuk koloni dalam waktu 24 - 48 jam pada temperatur 37°C. Akibatnya bakteri *Coliform* dapat diharapkan tumbuh pada sejumlah besar bahan makanan, dengan jumlah yang sangat besar pada suhu lingkungan. Bakteri *Coliform* juga mampu tumbuh pada media yang mengandung empedu. Garam empedu dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif, sehingga media yang mengandung garam empedu dapat digunakan sebagai media isolasi bakteri *Coliform* dari bahan.

Media buatan yang sering dipakai untuk pemeriksaan bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* pada air minum maupun

bahan makanan diantaranya ; Mac Conkey Broth, Brilliant Green Bile Broth, Laktosa Broth dan masih banyak lagi. Pada media cair yang mengandung laktosa, bakteri *Coliform* akan tumbuh subur dengan membentuk asam dan gas (Ewing, 1973). Sedangkan media padat yang sering dipakai adalah Eosin Methylene Blue Agar. Pada media ini bakteri *Coliform* akan tumbuh dan membentuk koloni dalam waktu 24 - 48 jam pada temperatur 37°C (Anonymous, 1971).

Menurut Ewing (1973), pada media Eosin Methylene Blue Agar, bakteri *Coliform* akan membentuk koloni yang bersifat mucoid, berwarna abu-abu, dengan diameter 4 - 6 milinikron, sedangkan *Escherichia coli* akan membentuk koloni berwarna hijau metalik dengan pusat koloni berwarna kehitaman dan berdiameter 2 - 4 milinikron.

Bakteri *Coliform* merupakan flora normal dalam saluran usus manusia dan hewan. Bakteri *Coliform* umumnya tidak menimbulkan penyakit, bahkan membantu kerja usus. Tetapi bakteri *Coliform* akan bersifat patogen bila berada di luar saluran usus dan berada dalam organ-organ tubuh lainnya seperti saluran perkemihan, saluran empedu, paru, peritoneum dan selaput otak. Peradangan akan terjadi pada organ-organ tersebut terutama pada individu yang berdaya tahan tubuh lemah seperti bayi yang baru lahir, usia lanjut dan baru sembuh dari sakit atau pada keadaan yang mengharuskan dipakainya kateter pada saluran perkemihan.

Bakteri *Coliform* yang masuk ke dalam aliran darah akibat keadaan tersebut kadang-kadang dapat menimbulkan sepsis (Jawetz dkk., 1980; Dey dan Dey 1982).

Menurut Pelczar dan Chan (1988), walaupun *Escherichia coli* merupakan flora normal saluran pencernaan, tetapi kini telah dibuktikan bahwa strain-strain tertentu dari *Escherichia coli* mampu menyebabkan *gastroenteritis* pada taraf sedang sampai parah pada manusia dan hewan. Penyakit yang ditimbulkan oleh bakteri ini dapat bersifat akut dengan suhu badan yang tinggi (38 sampai 39°C), disertai muntah-muntah, diare dan gejala keracunan umum yang biasanya terjadi pada bayi. Pada orang dewasa *Escherichia coli* menjadi penyebab *colibacillosis* seperti *peritonitis*, *meningitis*, *appendicitis* dan lain-lain

Menurut laporan World Health Organization (1980) yang dikutip Mahatmi (1986), secara umum ada tiga strain *Escherichia coli* yang sering kali menimbulkan wabah diare yaitu *Enterotoxiagenic Escherichia coli*, yang memproduksi enterotoxin di dalam saluran usus dan merupakan penyebab diare pada bayi, anak-anak dan dewasa di negara-negara berkembang yang sistem sanitasinya masih sangat buruk serta penyebab *traveller diarrhoe* (diare yang menyerang turis). Kedua adalah *Enteropathogenic Escherichia coli*, yang menyebabkan wabah diare pada anak-anak. Ketiga adalah *Enteroinvasive Escherichia coli*, sebagai penyebab diare

yang mempunyai gejala klinis mirip dengan yang disebabkan oleh *Shigella*.

Prinsip Dasar Pengawetan Bahan Makanan

Pada dasarnya ada empat macam metode utama dalam pengawetan bahan makanan terhadap kebusukan karena kerja mikroorganisme yaitu : (1) perusakan mikroorganisme dengan panas atau radiasi ion dan perlindungan dari pencemaran selanjutnya dengan pengemasan secara efektif; (2) penghambatan pertumbuhan mikroorganisme dalam bahan makanan berkadar air normal dengan pendinginan, penambahan bahan pengawet kimia (termasuk pengasapan dan perendaman dalam larutan garam atau antibiotika, pengasaman, penyimpanan dengan gas dan lain-lain); (3) penghambatan pertumbuhan mikroorganisme dengan menggunakan kadar air yang akan dapat menurunkan aktifitas air (water activity) melalui pengeringan, pembekuan, pemberian garam, gula penggentalan dan lain-lain; (4) menghilangkan mikroorganisme misalnya dengan penyaringan secara steril. Tetapi kebanyakan metode pengawetan bahan makan merupakan kombinasi dari dua atau lebih dasar-dasar pengawetan tersebut (Buckle dkk., 1985).

Pengawetan Bahan Makanan dengan Bahan Pendingin Zat Asam Arang Padat

Pendinginan adalah suatu proses menurunkan suhu dari suatu benda sampai suhu tertentu relatif rendah dari suhu normalnya dengan menggunakan bahan pendingin. Bahan pendingin ini bermacam-macam antara lain hembusan udara dingin es, zat asam arang padat (gas CO_2 yang dipadatkan), air dan lain-lainnya. Suhu pendinginan ini bervariasi tergantung pada kebutuhan (Sarsito, 1992). Suryadi dkk. (1986) menyebutkan pendinginan adalah perlakuan dengan suhu -1°C sampai 5°C , sedangkan pembekuan dengan suhu antara -1°C sampai suhu -18°C ke bawah.

Hasil produksi hewani misalnya daging, termasuk jenis makanan sehari-hari yang mudah rusak (perisable food). Tujuan utama dari pendinginan kelompok makanan ini adalah menghambat segala macam kegiatan yang mengarah ke proses pembusukan yang disebabkan oleh aksi enzim, kimiawi dan bakteri. Dengan terhambatnya proses pembusukan tersebut maka kualitas bahan makanan dapat dipertahankan dan tetap layak dikonsumsi manusia dengan nilai gizi yang relatif tetap baik (Sarsito, 1992).

Pengawetan bahan makanan dengan menggunakan zat asam arang padat sebagai bahan pendingin ternyata memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan bahan pendingin es batu. Karena zat asam arang padat adalah gas CO_2 yang dipadatkan, berwarna putih, tidak berbau dan mempunyai

panas laten sublimasi sebesar 246 BTU/lb (British Thermal Unit) pada suhu 109°F dengan tekanan satu atmosfer. Pada suhu 32°F (0°C) panas yang diperlukan untuk merubah dari bentuk padat menjadi gas adalah 274 BTU/lb, sedangkan es batu untuk merubah dari bentuk padat menjadi cair pada suhu 32°F memerlukan panas sebesar 144 BTU/lb, dimana satu British Thermal Unit sama dengan 252 kalori. Selain itu zat asam arang padat sebagai bahan pendingin masih mempunyai kelebihan dibandingkan es batu yaitu: (1) jumlah berat zat asam arang padat yang dibutuhkan tiap satuan berat bahan yang didinginkan adalah lebih kecil; (2) ruangan penyimpanan menjadi lebih besar; (3) tidak terjadi penetesan air, sehingga ruangan tetap bersih dan tidak merusak alat-alat tempat penyimpanan dan makanan tetap bersih serta higienis; (4) tidak merubah bau, rasa, dan kualitas bahan makanan; (5) mudah diangkut dan dibentuk sesuai dengan kebutuhan; (6) dapat mencapai suhu yang jauh lebih rendah dari 32°F (0°C); (7) kemampuan pendinginannya dua kali lebih besar daripada es batu; (8) tidak menyebabkan karat pada alat-alat pengangkut, *freezing time* jauh lebih cepat dibandingkan dengan es batu, sehingga dalam waktu yang sama bahan makanan yang dibekukan dapat lebih banyak; (9) penggunaan dapat tahan lama tergantung dari peti kemasnya; (10) prosentase pengerutan daging karena dehidrasi sangat kecil yaitu 0,1 persen; (11) karena *freezing time* yang cepat menghasilkan kristal es ultra

mikroskopik yang sebagian besar terdapat di dalam otot sehingga tidak merusak tekstur daging dan bakteri psikrofil dapat dicegah pertumbuhannya; (12) dapat mempertahankan suhu dingin pada minus 10°F dari daging, sayuran dan buah-buahan (Sorini dan Sungkowo, 1978).

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai tanggal 18 Oktober sampai dengan 21 November 1992 di Laboratorium Kesehatan Susu dan Daging, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga.

Materi Penelitian :

Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah 2400 gram daging bagian paha belakang (gandik) atau yang disebut *salver side* dari enam ekor sapi Peranakan Ongole (PO), yang diperoleh dari Rumah Potong Hewan Pegirian Surabaya. Sampel tersebut diambil pada pukul 06.30 WIB dan dibungkus dengan plastik lalu dimasukkan dalam termos tanpa bahan pendingin.

Pemilihan lokasi perolehan sampel bertujuan agar didapatkan daging sapi dari sumber pertama sehingga tingkat kontaminasi bakteri diharapkan cukup rendah.

Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : tabung reaksi besar beserta raknya untuk pemupukan pada media Brilliant Green Bile Broth 2 %, tabung reaksi kecil beserta raknya untuk uji Indol, tabung Durham untuk mengetahui terbentuknya gas, cawan petri berdiameter 10

centimeter, pipet ukuran satu mililiter dan sepuluh mililiter, gelas beker 500 mililiter dan 800 mililiter, erlenmeyer, otoklaf, inkubator, ose, neraca, bunsen, mortir dan penggerusnya, pengaduk, thermometer, pinset, gunting, kertas aluminium, stop watch, thermos plastik ukuran 12,5 liter, sarangan yang dibuat dari bahan seng dan kapas.

Seluruh peralatan yang bersifat tahan panas disterilkan dengan menggunakan otoklaf, sedangkan alat-alat yang tidak tahan panas, sterilisasinya dengan menggunakan Alkohol 70 %

Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan adalah Brilliant Green Bile Broth 2 % sebagai media selektif untuk pertumbuhan bakteri yang termasuk anggota grup *coli-aerogenes* termasuk *Escherichia coli*. Eosin Methylene Blue Agar sebagai media selektif untuk pertumbuhan bakteri termasuk untuk konfirmasi bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli*, isolasi dan defrensiasi bakteri Gram negatif yang berasal dari saluran pencernaan. Larutan garam fisiologis steril (NaCl 0,9 %) yang digunakan untuk pembuatan suspensi daging menjadi berbagai pengenceran sesuai keperluan. Air suling steril untuk melarutkan dan membuat media. Larutan pepton konsentrasi satu persen sebagai media dalam uji Indol. Reagen Kovach sebagai indikator dalam uji Indol. Alkohol konsentrasi 70 % untuk sterilisasi alat-alat yang tidak

tahan panas. Zat asam arang padat sebagai bahan pendingin untuk menghambat kerusakan daging

Metode Penelitian

Perlakuan Sampel

Daging sapi sebanyak 2400 gram yang baru dibeli dari Rumah Potong Hewan Pegirian Surabaya sesampainya ditempat penelitian dikelompokkan menjadi empat kelompok yaitu kelompok kontrol (K) terdiri dari 100 gram daging sapi segar yang baru dibeli dari Rumah Potong Hewan, kelompok perlakuan kesatu (P I) terdiri dari 100 gram daging sapi yang dilayukan atau diangin-anginkan selama enam jam pada suhu ruangan 30° C, kelompok perlakuan kedua (P II) terdiri dari 100 gram daging sapi yang disimpan dalam thermos berisi bahan pendingin zat asam arang padat selama enam jam dengan perbandingan berat 2 : 3, kelompok perlakuan ketiga (P III) terdiri dari 100 gram daging sapi yang disimpan dalam thermos berisi bahan pendingin zat asam arang padat selama enam jam dengan perbandingan 2 : 3 (seperti perlakuan kedua), tetapi pada kelompok perlakuan ketiga ini lama penyimpanan ditambah enam jam lagi setelah zat asam arang padatnya habis menyublim. Perbandingan berat daging sapi dengan zat asam arang padat 2 : 3 didapat dari percobaan pendahuluan untuk mempertahankan suhu

dibawah 0° C selama enam jam. Mengenai letak daging bersama bahan pendingin zat asam arang padat dapat dilihat pada daftar gambar 1.

Pemeriksaan Sampel

Daging sapi diambil dengan pinset, dipotong dan ditimbang seberat 2,5 gram lalu dihaluskan dengan mortir serta ditambah larutan garam fisiologis sebanyak 22,5 mililiter. Suspensi yang dihasilkan dipindahkan ke dalam erlenmeyer dan dilanjutkan dengan pembuatan suspensi dalam tiga tingkat pengenceran yaitu 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} (Lampiran 1). Kemudian suspensi daging yang sudah dibuat dalam tingkat pengenceran ditanam pada media pemupukan yang telah disiapkan. Hal ini dilakukan pada masing-masing kelompok perlakuan dan kontrol.

- Pemupukan pada Media Brilliant Green Bile Broth 2 %

Ditambahkan masing-masing satu mililiter suspensi daging pengenceran 10^{-1} ke dalam lima tabung reaksi dari 15 tabung reaksi yang telah berisi media Brilliant Green Bile Broth 2 % sebanyak 10 mililiter serta tabung Durham. Demikian pula halnya yang dilakukan terhadap suspensi daging pengenceran 10^{-2} dan 10^{-3} pada masing-masing tabung yang tersisa. Sebagai kontrol dibuat dengan menambahkan satu mililiter larutan garam fisiologis steril ke dalam 10 mililiter media pemupukan tersebut. Kemudian semua tabung reaksi diberi kode dan dipindahkan ke rak tabung. Selanjutnya semua tabung reaksi tersebut dimasukkan ke

dalam inkubator dengan suhu inkubasi 37°C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi, setiap tabung reaksi dari tiap seri pengenceran diperiksa dan dilakukan pencatatan terhadap jumlah tabung reaksi yang mengalami pertumbuhan bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* berdasarkan kriteria yang ada (Lampiran 2).

- Pemupukan pada Media Eosin Methylene Blue Agar

Tiap tabung reaksi yang positif pada penupukan Brilliant Green Bile Broth 2 %, dengan menggunakan ose dipindahkan dalam media padat Eosin Methylene Blue Agar secara streak. Kemudian diinkubasi pada suhu 37 selama 24 jam. Setelah masa inkubasi, semua cawan petri dari tiap seri pengenceran yang menunjukkan pertumbuhan bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* dicatat dan dihitung dengan menggunakan tabel Mc. Crady's.

- Pemupukan pada Larutan Pepton 1 %

Tiap cawan petri dari setiap seri pengenceran yang menunjukkan adanya pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli*, dengan menggunakan ose dipindahkan ke dalam larutan pepton 1 % yang telah disterilkan, lalu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi, larutan pepton yang telah ditanami koloni bakteri tersebut ditetesi Reagen Kovach dan digoyang-goyangkan agar terjadi reaksi yang sempurna. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna merah pada permukaan larutan pepton. Seluruh tabung yang menunjukkan reaksi positif dicatat dan dihitung berdasarkan tabel Mc. Crady's.

Analisis Statistik

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan data dianalisa dengan Analisa Varian (ANOVA) atau uji F. Jika uji F diperoleh hasil yang nyata atau sangat nyata maka untuk menentukan perlakuan yang paling baik dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil / BNT (Kusriningrum, 1989).

HASIL PENELITIAN

Setelah dilakukan penghitungan jumlah bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* pada masing-masing kelompok perlakuan dan kontrol yaitu 100 gram daging segar (kontrol) 100 gram daging yang dilayukan selama enam jam pada suhu ruang 30°C (P I), 100 gram daging disimpan dalam thermos berisi zat asam arang padat selama enam jam dengan perbandingan 2 : 3 (P II), dan 100 gram daging yang disimpan dalam thermos berisi zat asam arang padat selama enam jam dengan perbandingan 2 : 3 (seperti perlakuan kedua), tetapi lama penyimpanan ditambah enam jam lagi setelah bahan pendingin zat asam arang padat habis menyublim (P III), diperoleh hasil seperti yang tertera pada lampiran 2 dan 3, ternyata menunjukkan perbedaan yang sangat nyata.

Hasil rata-rata jumlah bakteri pada daging sapi dari enam kali ulangan antara kontrol (K), perlakuan I (P I), perlakuan II (P II) dan perlakuan III (P III) untuk bakteri *Coliform* secara berturut-turut adalah $33,3333 \pm 4,6333$; $76,6667 \pm 11,4659$; $32,3333 \pm 4,5461$ dan $56,5000 \pm 10,6160$ (lampiran 3), sedangkan untuk jumlah bakteri *Escherichia coli* secara berturut-turut adalah $17,1667 \pm 3,1252$; $52,5000 \pm 3,2094$; $16,5000 \pm 3,0822$ dan $25,1667 \pm 3,8678$ (lampiran 4).

Penghitungan Sidik Ragam antara kelompok perlakuan (P I, P II, P III) dan kontrol dengan taraf kepercayaan $\alpha = 1\%$, dera-jat bebas (db) = 20, didapatkan $F_{\text{tabel}} = 4,94$ dan $F_{\text{hitung}} = 36,0389$ untuk bakteri *Coliform* (lampiran 3) dan $F_{\text{tabel}} = 4,94$ dengan $F_{\text{hitung}} = 154,0923$ untuk bakteri *Escherichia coli* (lampiran 4). Hasil tersebut menunjukkan bahwa antara kelompok perlakuan (P I, P II, P III) dan kontrol terdapat perbedaan yang sangat nyata terhadap jumlah bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli*.

Sehubungan dengan adanya perbedaan yang sangat nyata antara perlakuan I, II, III dan kontrol, maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 1 % seperti yang terdapat pada lampiran 3 dan 4, baik jumlah bakteri *Coliform* maupun *Escherichia coli*. Berdasarkan uji tersebut dapat ditentukan notasi untuk masing-masing kelompok perlakuan seperti yang tercantum pada tabel 2 dan 3 berikut.

Tabel 2. Notasi Dari Pengaruh Pendinginan Dengan Zat Asam Arang Padat Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Coliform* antara Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Kelompok	Rataan (X)	SD	Notasi
P I	76,6667	11,4659	a
P III	56,5000	10,6160	b
K	33,3333	4,6333	c
P II	32,3333	4,5461	c

Tabel 3. Notasi Dari Pengaruh Pendinginan Dengan Zat Asam Arang Padat Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* antara Kelompok Perlakuan dan Kontrol.

Kelompok	Rataan (X)	SD	Notasi
P I	52,5000	3,2094	a
P III	25,1667	3,8678	b
K	17,1667	3,1252	c
P II	16,5000	3,0822	c

Keterangan :

- Perlakuan I (P I) : 100 gram daging dilayukan pada suhu ruang selama enam jam (30°C).
- Perlakuan II (P II) : 100 gram daging disimpan dengan zat asam arang padat selama enam jam (2:3).
- Perlakuan III (P III) : 100 gram daging disimpan dengan zat asam arang padat selama enam jam dan ditambah enam jam lagi setelah bahan pendingin tersebut habis menyublin (2:3).
- Kontrol (K) : 100 gram daging segar setelah dibeli dari Rumah Potong Hewan.

Hasil penentuan pada perbedaan jumlah bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* menunjukkan perbedaan yang sangat

nyata. Kelompok perlakuan I (P I) yaitu daging setelah dilayukan selama enam jam pada suhu ruang (30°C) memperlihatkan jumlah bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* yang tertinggi yaitu masing-masing $78,6667 \pm 11,4659$ dan $52,5000 \pm 3,2094$. Sedangkan kelompok perlakuan II (P II) yaitu daging yang disimpan dengan zat asam arang padat selama enam jam, menunjukkan jumlah bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* yang terendah yaitu masing-masing $32,3333 \pm 4,5461$ dan $16,5000 \pm 3,0822$. Nilai rata-rata kedua bakteri tersebut bila dibandingkan dengan kontrol lebih sedikit jumlahnya meskipun setelah diuji BNT 1 % tidak berbeda nyata (sama-sama bernetasi α).

PEMBAHASAN

Hasil penelitian tentang pengaruh penyimpanan atau pendinginan dengan zat asam arang padat terhadap pertumbuhan bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* yang mencemari daging sapi menunjukkan perbedaan yang sangat nyata, yang diketahui dari penghitungan jumlah bakteri tersebut (lampiran 3 dan 4).

Hasil uji BNT 1 % (lanjutan lampiran 3 dan 4) menunjukkan, bahwa pada kelompok perlakuan pertama (P I) mengandung jumlah bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* yang tertinggi dan berbeda sangat nyata dengan perlakuan yang lain. Hal ini disebabkan pada kelompok perlakuan pertama (P I) yaitu daging dilayukan selama enam jam pada suhu ruang (30°C) berada dalam keadaan optimum bagi pertumbuhan bakteri pencemar tersebut. Hal ini tampaknya sesuai dengan pendapat Jawetz dkk. (1980) bahwa bakteri *Escherichia coli* termasuk bakteri mesofilik yang mempunyai suhu optimum pertumbuhan 30°C atau suhu ruang dan menurut Buckle dkk. (1985) menyatakan bakteri golongan mesofilik tumbuh baik pada kisaran suhu 30°C sampai 37°C , sebagian besar organisme bersifat mesofilik karena suhu 30°C adalah suhu optimal untuk banyak bentuk yang hidup bebas dan suhu tubuh tuan rumah (*host*) adalah optimal untuk bentuk yang bersimbiosis dengan binatang berdarah panas. Bahkan menurut

Salle (1961) yang dikutip Purwinawati (1990), menyatakan keadaan dan suasana lingkungan secara fisik sangat menguntungkan pertumbuhannya dimana suhu optimal untuk pertumbuhan bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* yang termasuk bakteri mesofilik adalah 18°C sampai 45°C . Sementara Jansens (1954) mengatakan kira-kira pada suhu $26,7^{\circ}\text{C}$ selama tiga sampai empat jam akan mempercepat pertumbuhan bakteri yang tergolong mesofilik.

Pelczar dan Chan (1988) menyatakan penyimpanan bahan makanan pada suhu yang kurang sesuai seperti pada suhu ruang yang hangat, memudahkan pertumbuhan bakteri (mikroba). Lebih lanjut dikatakan, bakteri yang mengkontaminasi daging bila dibiarkan pada suhu pertumbuhan yang sesuai jumlahnya makin bertambah banyak dan menyebabkan turunnya kualitas daging. Salle (1976) yang dikutip Sarsito (1992) juga menyatakan bahwa bakteri yang tergolong mesofilik tumbuh optimum pada suhu 30°C sampai 40°C , dan menurut Fardiaz (1980), bahwa suhu optimum pertumbuhan bakteri mesofilik adalah 20°C sampai 40°C .

Keadaan pH daging ternyata juga turut mendukung pertumbuhan bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli*, dimana pada penelitian ini pH daging berkisar antara 5,9 - 6,2. Hal ini nampaknya sesuai dengan pendapat Field (1979) yang dikutip Mahatmi (1986), bahwa pH daging sapi setelah enam sampai delapan jam pemotongan berkisar antara 5,5 - 6,8, dimana pada kondisi ini justru menghambat pertumbuhan

bakteri pembusuk, tetapi karena bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* dapat hidup pada pH 4,4 - 9 maka keadaan ini tidak mempengaruhi daya hidup dan perkembang biakkannya.

Jumlah bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* terendah dari kelompok perlakuan didapatkan pada kelompok perlakuan II (P II) yaitu 100 gram daging yang disimpan atau didinginkan dengan zat asam arang padat selama enam jam, dengan suhu dapat mencapai dibawah titik beku 0°C (-10°C). Jumlah rata-rata kedua bakteri tersebut masing-masing adalah $32,3333 \pm 4,5461$ dan $16,5000 \pm 3,0822$, dimana nilai rata-rata tersebut bila dibandingkan dengan nilai rata-rata kontrol, nilainya sedikit lebih rendah tetapi secara statistik tidak berbeda nyata. Nilai rata-rata kontrol masing-masing bakteri di atas adalah $33,333 \pm$ dan $17,1667 \pm 3,1252$. Hal ini tampaknya sesuai dengan Jawetz (1986), bahwa aktifitas bakteri sangat dihambat pada suhu dingin dan hampir tidak ada pada suhu di bawah titik beku. Urbain (1978) menyatakan suhu rendah memperlambat pertumbuhan bakteri dan reaksi enzimatik serta kimiawi yang merugikan. Sarjono (1987) juga mengemukakan, penyimpanan pada suhu dingin akan menghambat pertumbuhan bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli*. Hal tersebut ditandai dengan tetap berlangsungnya aktifitas metabolisme secara lambat dan menurunnya kecepatan pertumbuhan.

Menurut Bahroun (1992), temperatur dingin biasanya dapat mengurangi atau menghambat pertumbuhan dan perkembangan mikroba, bahkan dapat juga memusnahkan kehidupan mikroba terutama yang biasa hidup pada kondisi sedang dan agak panas (suhu normal). Tetapi Dey dan Dey (1982) menyebutkan, beberapa strain *Escherichia coli* juga ditemukan tahan hidup pada temperatur dingin dibawah 0°C atau pada keadaan beku sampai enam bulan. Frazier dan Westhoff (1978) menyatakan, bahwa di dalam makanan (ikan) beku masih didapatkan berbagai macam bakteri antara lain *Coliform* dan *Staphylococcus*. Bahkan Suryadi dkk (1986) mengemukakan bakteri bentuk *Coli* (*Coliform bacteria*) khususnya *Escherichia coli* masih didapatkan pada bahan makan (ikan laut) dan belum seluruhnya mati setelah dilakukan pembekuan pada suhu -25°C selama 50 hari.

Hasil penelitian Sudaryanto (1988), pada penyimpanan daging suhu dingin (4 sampai 8°C) selama seminggu ternyata masih ditemukan kuman-kuman pencemar dalam daging yaitu *Staphylococcus* (86,66 %), *Escherichia coli* (70 %), *Pseudomonas aeruginosa* (63,33 %), *Enterobacter aerogenes* (60,6%), *Bacillus subtilis* (46,66%) dan *Salmonella* (6,67%).

Adanya sedikit penurunan jumlah bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* tersebut dapatlah dimengerti. Hal ini karena reaksi mikroorganisme terhadap pembekuan (dimana pada penelitian ini suhu daging dapat mencapai - 10°C) antara lain dipengaruhi oleh jenis dan kondisi

mikroorganisme , sehingga kekebalan mikroorganisme terhadap pembekuan bervariasi sesuai dengan jenis mikroorganismenya; fase pertumbuhan dan sel-sel vegetatif atau sporanya sehingga makin tinggi suhu pembekuan makin mematikan; kecepatan pembekuan, dimana kecepatan pembekuan yang tinggi cenderung mengurangi kerusakan bahan makanan karena interval suhu kritis dilalui dengan kecepatan tinggi dan menyebabkan kematian mikroorganisme; begitu pula waktu penyimpanan beku, dimana proses pembekuan diikuti reduksi mikroorganisme secara perlahan dan keadaan ini merupakan *storage death*; juga pengaruh pencairan (*thawing*), pencairan makin cepat makin merugikan beberapa bakteri (pada penelitian ini *thawing* dilakukan selama 30 menit (Frazier dkk., 1978).

Pelczar dan Chan (1988) menemukan bahwa suhu rendah (dingin) yang digunakan untuk menyimpan daging segar memungkinkan hanya pertumbuhan mikroorganisme psikrofilik; sementara bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* tergolong bakteri mesofilik yang mempunyai suhu minimal pertumbuhan 5°C sampai 10°C (Buckle dkk ,1985) sehingga jelas pertumbuhan bakteri akan terganggu. Suhu rendah tidak boleh dianggap memusnahkan mikroorganisme, tetapi memperlambat multiplikasi bakteri dan karenanya mengurangi aktifitas metabolismenya. Suhu rendah juga mengurangi reaksi kimia dan fungsi enzim dalam makanan dan suhu lebih rendah dapat mencegah pertumbuhan mikroorganisme tetapi

aktivitas metabolisme terus berlangsung secara perlahan (Frazier, 1978). Penelitian yang dilakukan oleh Sarsito (1992) membuktikan bahwa penggunaan zat asam arang sebagai bahan pendingin bahan makanan (udang) dapat menekan jumlah bakteri *Escherichia coli* yang mencemari udang tersebut, bahkan dapat menekan jumlahnya sampai nol bakteri per gramnya.

Kelompok perlakuan III (P III) pada penelitian ini yaitu 100 gram daging yang disimpan dengan zat asam arang padat selama enam jam dan ditambah enam jam lagi setelah bahan pendingin tersebut habis menyublim (selama enam jam) habis memberikan jumlah bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* masing-masing adalah $56,5000 \pm 10,6160$ dan $25,1667 \pm 3,8678$. Hasil yang diperoleh ini menunjukkan jumlah yang lebih kecil daripada perlakuan I dan jumlahnya masih lebih besar daripada perlakuan II dan kontrol. Hal ini disebabkan setelah enam jam bahan pendingin habis dimana suhu daging sudah mencapai 15°C sampai 16°C , maka pertumbuhan bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* mulai terjadi lagi, yang pada saat zat pendingin belum habis kedua bakteri tersebut dalam keadaan terhambat atau menghentikan aktifitas pertumbuhan. Hal ini sesuai dengan Buckle dkk (1985) yang menyatakan bahwa pembekuan dan penyimpanan beku juga berpengaruh nyata terhadap kerusakan sel mikroba. Jika sel yang rusak atau luka tersebut mendapat kesempatan menyembuhkan

diri maka pertumbuhan yang cepat akan terjadi bila lingkungan sekitarnya turut mendukung (suhu yang sesuai). Dalam penelitian ini suhu daging 15°C sampai 16°C sementara suhu minimum pertumbuhan bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* menurut Buckle dkk. (1985) adalah antara 5°C sampai 10°C). Tetapi beberapa peneliti lain menyatakan suhu minimum pertumbuhan bakteri mesofilik adalah 10°C sampai 20°C (Salle, 1979), 10°C sampai 25°C (Fardiaz, 1990). Jadi suhu daging setelah enam jam bahan pendingin habis itu telah mendukung berlangsungnya pertumbuhan bakteri tersebut meskipun tidak secepat pada perlakuan I.

Sarsito (1992) menyatakan bila makanan beku dicairkan kembali, suhu yang lebih tinggi yang terjadi akan mendukung pertumbuhan mikroorganisme kembali. Buckle dkk (1985) juga mengemukakan walaupun jumlah mikroba biasanya menurun selama pembekuan dan penyimpanan beku (kecuali sporanya), makanan beku tidak steril seringkali masih cepat membusuk seperti produk yang tidak dibekukan, ini jika suhu tinggi serta lama penyimpanan pada suhu tersebut cukup lama, karena aktivitas bakteri kembali terjadi meski secara perlahan sesuai dengan suhu daging tersebut.

Daging sapi yang dijadikan kontrol pada penelitian ini menunjukkan jumlah bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* yang cukup tinggi yaitu masing-masing $33,3333 \pm 4,6333$ dan $17,1667 \pm 3,1252$. Nilai rata-rata bakteri tersebut bila dibandingkan dengan standar mutu daging yang dikeluarkan

oleh Pusat Pemeriksaan Obat dan Makanan, Departemen Kesehatan, untuk jumlah bakteri *Escherichia coli* sudah melebihi batas maksimal yang diperbolehkan pada daging, tetapi jumlah bakteri *Coliform* masih memenuhi standar tersebut, dimana jumlah maksimal bakteri *Coliform* pada daging adalah 100 bakteri per gram daging dan 10 bakteri *Escherichia coli* per gram daging.

Adanya bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* pada daging yang dipakai sampel penelitian ini juga terbukti dengan turunnya kondisi pH daging yang berkisar antara 5,9 - 6,2, padahal menurut Sorini dan Sungkowo (1979); Gracey (1981), pada waktu dipotong umumnya pH daging berkisar antara 6,8 - 7. Meskipun terjadinya penurunan pH daging ini tidak hanya disebabkan oleh aktifitas bakteri saja tetapi dapat disebabkan adanya reaksi-reaksi kimiawi secara enzimatik yang berakibat kadar glikogen daging berkurang dan kadar asam laktat bertambah sehingga pH dapat turun.

Pelczar dan Chan (1988) mengemukakan bahwa hewan yang disembelih untuk diambil dagingnya dan disimpan dalam kamar pendingin mungkin sekali terkontaminasi permukaan oleh berbagai jenis mikroorganisme dari berbagai sumber seperti udara, petugas serta peralatan. Daging yang dipergunakan sebagai sampel penelitian ini terbukti telah tercemar oleh bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli*, karena *Escherichia coli* selain merupakan flora normal pada saluran

usus manusia dan hewan juga ditemukan pada tanah, air dan debu. Menurut Bahroun (1992), pada dasarnya daging segar dari sumbernya memiliki kondisi yang sangat bersih. Kandungan air yang tinggi dan terjadinya kontaminasi mikroba dan lingkungan seperti air pencuci, peralatan dan udara, menyebabkan mikroba tumbuh dan berkembang biak pada daging tersebut. Jumlah dan jenis mikroorganisme yang mencemari permukaan karkas ditentukan oleh pengelolaan sebelum penyembelihan dan tingkat pengendalian higienes yang dilaksanakan selama penanganan pada saat penyembelihan dan pembersihan karkas (Buckle dkk,1985).

Adanya bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* pada daging segar yang dipakai sebagai kontrol dalam penelitian ini mencerminkan tingkat higiene penanganan daging setelah hewan disembelih sampai distribusinya kepada konsumen. Hal ini sesuai dengan Pelczar dan Chan (1988) yang menyatakan kandungan mikroorganisme suatu spesimen bahan pangan memberikan keterangan yang mencerminkan mutu bahan mentahnya, keadaan sanitasi pada pengolahan pangan tersebut serta keefektifan metode pengawetannya. Tetapi karena dalam pengambilan daging sampel ini dari Rumah Potong Hewan, Pegirian, Surabaya untuk dibawa ke tempat penelitian daging dibawa tanpa bahan pendingin yaitu hanya dibungkus dengan plastik maka dimungkinkan telah terjadi pertumbuhan bakteri tersebut. Daging yang semula dari sumbernya (RPH) masih memenuhi standar mutu daging secara

mikrobiologis menjadi tidak memenuhi lagi setelah sampai di tempat penelitian, atau memang penanganan dagingnya yang kurang memenuhi syarat-syarat kesehatan.

KESIMPULAN dan SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat diberikan kesimpulan sebagai berikut :

- Penyimpanan atau pendinginan daging dengan zat asam arang padat selama enam jam ternyata dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* yang mencemari daging tersebut, bahkan dapat sedikit menurunkan jumlah kedua bakteri pencemar tersebut.
- Enam jam setelah bahan pendingin zat asam arang padat habis menyebabkan aktivitas bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* kembali berlangsung sehingga jumlah bakteri pencemar tersebut dapat bertambah banyak.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat diajukan saran-saran sebagai berikut :

- Untuk menyimpan bahan makanan yang mudah terkontaminasi bakteri atau mudah busuk sebaiknya menggunakan zat asam arang padat agar bahan makanan dapat lebih tahan lama.
- Daging yang telah didinginkan dengan zat asam arang padat selama enam jam atau lebih sebaiknya segera diolah menjadi makanan yang siap dikonsumsi agar daging tersebut masih sehat untuk dimakan.

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang batas waktu yang masih baik (maksimal) membiarkan daging setelah bahan pendingin zat asam arang padat habis dan masih menjamin kesehatan daging untuk dikonsumsi masyarakat.
- Perlu juga dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pertumbuhan bakteri lain, misalnya bakteri *Psychrofilik* yang mencemari daging setelah daging tersebut disimpan dengan zat asam arang padat.

RINGKASAN

AMBANG INTONO. Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh pendinginan dengan zat asam arang padat terhadap bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* yang mencemari daging sapi (dibawah bimbingan Drh. Didik Handijatno, M.S, sebagai pembimbing pertama dan Drh. Sorini Soehartojo, sebagai pembimbing kedua).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pendinginan dengan zat asam arang padat terhadap pertumbuhan bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* yang mencemari daging sapi. Dari penghitungan jumlah bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* yang terkandung didalamnya, dapat diketahui daging tersebut layak dikonsumsi atau tidak.

Dalam penelitian ini digunakan 2400 gram daging sapi dari enam sapi Peranakan Ongole (P O) yang diperoleh dari Rumah Potong Hewan Pegirian , Surabaya . Masing-masing terbagi atas empat kelompok perlakuan yaitu 100 gram daging segar (kontrol), 100 gram daging yang dilayukan selama enam jam pada suhu ruang 30°C (P I), 100 gram daging yang disimpan dalam thermos berisi zat asam arang padat selama enam jam dengan perbandingan 2 : 3 (P II) dan 100 gram daging yang disimpan dalam thermos berisi zat asam arang padat selama enam jam dengan perbandingan 2 : 3

(seperti perlakuan kedua), tetapi lama penyimpanan ditambah enam jam lagi setelah bahan pendingin zat asam arang padat habis menyublim (P III). Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung jumlah bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* yang tumbuh pada media Brilliant Green Bile Broth dan Eosin Methylene Blue serta Uji Indol.

Rancangan percobaan dalam penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan enam kali ulangan. Berdasarkan penghitungan Sidik Ragam dan Uji Beda Nyata Terkecil satu persen , didapatkan adanya perbedaan yang sangat nyata diantara kelompok perlakuan terhadap pertumbuhan bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli*. Jumlah bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* yang paling rendah terdapat pada kelompok perlakuan kedua (P II) yaitu daging yang disimpan dengan zat asam arang padat selama enam jam (suhu dapat mencapai minus 10°C) bahkan cenderung terjadi penurunan jumlah bakteri jika dibandingkan kontrol.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggorodi, R. 1985. *Kemajuan Mutakhir Dalam Ilmu Makanan Ternak Unggas*. Penerbit Universitas Indonesia. Cetakan Pertama. 47.
- Anonimous, 1971. *International Standards of Drinking Water*. 10th Ed. World Health Organization. 18 - 19.
- Anonimous, 1989. *Manual Kesmavet Seri Daging (lanjutan) No : 23 - I*. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Jendral Peternakan. Departemen Pertanian. Jakarta. 10 - 11.
- Anonimous, 1985. *Recomended Method For Microbiological Examination of food*. American Public Health Assosiation. Inc. Broad, New York. 132 - 136.
- Anonimous, 1986. *Manual Kesmavet Seri Pokok-Pokok Kebijaksanaan Dalam Bidang Kesehatan Masyarakat Veteriner*. No: 38 - IV. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Jendral Peternakan. Departemen Pertanian. Jakarta. 25.
- Anonimous, 1991^a. *Manual Kesmavet Seri Pedoman Pembinaan Kesehatan Masyarakat Veteriner*. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Jendral Peternakan. Departemen Pertanian. Jakarta. 49.
- Anonimous, 1991^b. *Upaya Peningkatan Daging Berkualitas*. Swadaya Peternakan Indonesia. No. 7/ Maret. 12 - 15.
- ✓ Anonimous, 1992. *Upaya Peningkatan Higiene Daging Segar dan Produk-Produk Pengolahan Daging pada Industri Pengolahan Daging Serta Upaya Pengendalian Food Borne Disease*. Makalah Seminar Nasional Kedokteran Hewan. Ikatan Senat Mahasiswa Kedokteran Hewan Indonesia.
- Bahrour, Y. 1992. *Pengawetan Daging*. Swadaya Peternakan Indonesia. No. 85 / Agustus. 29-33.
- Buckle, K.A, Davey, G.R, M.J, Fleet, G.H dan Murrell, W.G, 1979. *Food Borne Microorganismes of Public Health Significans*. 4th Ed. School of Technology, University of New South Wales. Kensington, Australia. Vol. I. 6. 2 - 6. 27.

- ✓ Buckle, K.A, R.A. Edwards, M. Wooton dan G.H. Fleet, 1985. Ilmu Pangan. Edisi Kesatu. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Budiharto, S. 1978. Perbandingan Sanitasi Depot dan Pasar Daging, dengan Metode MPN Bakteri *Coliform* sebagai Indeks Sanitasi. Ikatan Ahli Kesehatan Masyarakat Indonesia. 7-14.
- Cruickshank, R. Duguid, J.P. and Warmion, B.P, 1975. Medical Microbiology, 12th Ed. Churchill Livingstone. Edinburg, London. 428-432.
- Davis, B.D and Dubelco, 1980. Microbiology. 3th Ed. Harper and Publiser. Hagerston. 658.
- ✓ Dey, N and Dey, T.K, 1982. Medical Bacteriology. 8th Ed. Allied Agency. Calcuta. 67-69.
- ✓ Ewing, H. W, 1973. Identification of Enterobacteriaceae by Biochemical Reaction. Burgess Publishing Co. Mineapolis. 3 - 5.
- Fardiaz, S, 1980. Mikrobiologi Pangan. P.A.U. Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 86-93.
- Frazier, W.C and Westhoff, D.C, 1978. Food Microbiology. Tata Mc. Graw - Hill New Delhi, 3th Ed.
- Gracey, J. F, 1981. Thornton Meat Hygiene. 7th Ed. Baillire. Tindal. London. 175- 178.
- Hart, F.L and H.J. Fisher, 1971. Modern Food Analysis. Springer Verloy. New York. 127-128.
- Jay, M, 1978. Modern Food Microbiology. 2nd Ed. Publisher by Van Nostrand Company. New York. 388-390.
- Jawetz, E. J.L Melinok and Edelberg, E.A, 1980. Review of Medical Microbiology. 4th Ed. Lange Medical Publication. Los Altos, California. 230-232.
- Jawetz, E. J.L Melinok dan Edelberg, 1986. Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan. Edisi ke-16. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Jensens, L.B. 1954. Microbiology of Meat. The Garrard Press Publisher Champaign Illinois. USA. 16 -19.

- Kusdarwati, R. T. Wiwiek dan Sudarno, 1991. Petunjuk Praktikum Ilmu Penyakit Bakterial. Edisi kesatu. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Kusriningrum, 1989. Dasar Perancangan Percobaan Dan Rancangan Acak Lengkap. Penerbit Universitas Airlangga. Surabaya.
- Mahatmi, H. 1986. Kontaminasi Bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* pada Daging Sapi yang Dijual di Beberapa Pasar di Kecamatan Gubeng Kota Madya. Surabaya. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya
- Manshur, 1988. Bagaimana Memperoleh Daging yang Bermutu Baik dan Sehat. Swadaya Peternakan Indonesia. No:33. April. 32 - 34.
- ✓ Pelczar, M.J. dan E.C.S. Chan. 1988. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Purbowati, E. 1989. Daging Sumber Gizi dan Karakteristiknya. Swadaya Peternakan Indonesia. No:50 / April. 41 - 43.
- Purnomo, B. 1990. Daging, Sebuah Catatan Kriteria. Swadaya Peternakan Indonesia. No: 67/Okttober. 34.
- Purwinawati, A. 1990. Pengaruh Perebusan dan Suhu Penyimpanan pada Daging Sapi terhadap Tingkat Kontaminasi Bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Sarjono, D. 1987. Mikrobiologi Pangan. Kursus Singkat Mikrobiologi Pangan. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Sarsito, 1992. Pengaruh Cara Pendinginan Selama Pengiriman terhadap Kandungan Bakteri pada Udang Windu (*Penaeus monodon*). Thesis. Program Pasca Sarjana. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Sorini, R dan B. Sungkowo, 1979. Beberapa Teknik Penanganan Daging dan Pemeriksaan Daging Secara Laboratoris. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.

- Strobbe, M.A. 1971. Understanding Enviromental Pollotion. The C.V. Mosby Company. 350.
- Suhardjo, Harper, L.J. Deaton J.B dan J.A Driskel, 1986. Pangan, Gizi dan Pertanian. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 64.
- Suryadi, Ag.J, M.R. Julia Tjahjaningsih, dan Soediro, 1986. Laporan Hasil Penelitian Resistensi Bakteri di dalam Hasil Laut yang Dibekukan. Fakultas Pertanian. Universitas Jenderal Soedirman. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. 12.
- Sudaryanto, A. 1987. Isolasi dan Identifikasi Beberapa Kuman dari Daging Sapi yang Disimpan pada Suhu Dingin (4 - 8°C) Selama satu Minggu. Skripsi. Fakulatas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Urbain, M. W, 1978. Meta Preservation. di dalam; The Science of Meat and Meat Product, 2 nd. ed. W.H. Freeman and Company. Sanfransisco..
- Winarno, F.G dan B.S.L Jenie, 1983. Kerusakan Bahan Pangan dan Cara Pencegahannya. Ghalia Indo. Jakarta.

L A M P I R A N

Lampiran 1. Persiapan Sampel dan Pembuatan Media

Pembuatan Sampel Dalam Berbagai Pengenceran

Suspensi daging yang diperoleh dihaluskan 2,5 gram ditambah 22,5 mililiter larutan NaCl fisiologis sebagai sampel pengenceran 10^{-1} . Sampel pengenceran 10^{-2} dibuat dengan menambahkan satu mililiter sampel pengenceran 10^{-1} ke dalam sembilan mililiter larutan NaCl fisiologis steril. Sampel pengenceran 10^{-3} dibuat dengan menambahkan satu mililiter sampel pengenceran 10^{-2} ke dalam sembilan mililiter larutan NaCl fisiologis steril, demikian seterusnya.

Brilliant Green Bile Broth 2 %

Media ini setiap literanya mengandung Bacto Pepton sebanyak 10 gram, Bacto Oxall 20 gram, Bacto Laktosa 10 gram dan Brilliant Green 0,0133 gram. Media ini diambil secara aseptis lalu ditimbang seberat 40 gram dan dilarutkan ke dalam air suling sampai mencapai volume satu liter. Selanjutnya dipanaskan di atas penangas air sambil diaduk hingga media tersebut larut, kemudian media dimasukkan ke dalam tabung-tabung reaksi. Tiap tabung reaksi diisi sebanyak sembilan mililiter larutan Brilliant Green Bile Broth 2 % serta sebuah tabung Durham dalam posisi terbalik yang juga sudah terisi penuh dengan media

tersebut. Tabung reaksi lalu ditutup dengan kapas dan kertas aluminium kemudian disterilkan di dalam otoklaf pada suhu 121°C , tekanan 15 atmosfer selama 30 menit. Untuk uji sterilisasi, semua tabung reaksi yang telah terisi media tersebut diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam, setelah masa inkubasi bila larutan Brilliant Green Bile Broth 2 % tetap jernih dan tidak mengalami perubahan warna maka media dianggap steril dan siap digunakan dalam penelitian.

Eosin Methylene Blue Agar

Media ini setiap liternya mengandung Bacto Pepton sebanyak 10 gram, Bacto Laktose 5 gram, Bacto Sukrose 5 gram, Dipotassium Phosphat 2 gram, Bacto Agar 13,5 gram, Bacto Eosin Y 0,4 gram dan Bacto Methylene Blue 0,065 gram. Media ini diambil secara aseptis dan ditimbang seberat 36 gram; kemudian dilarutkan dalam larutan air suling steril sampai mencapai volume satu liter. Setelah itu dipanaskan dalam penangas air sambil diaduk hingga larut, lalu disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C , tekanan 15 atmosfer selama 30 menit. Sesudah itu didinginkan sampai mencapai suhu turun menjadi 60°C sambil digoyang-goyangkan agar zat warna yang terkandung dapat teroksidasi sempurna. Selanjutnya media dituang ke dalam cawan petri steril secara aseptis sebanyak 20 mililiter dan dibiarkan dalam keadaan tertutup sampai membeku. Setelah beku, cawan petri

yang terisi media tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Media dianggap steril bila tidak pertumbuhan koloni kuman maka media siap untuk digunakan dalam penelitian.

Larutan Pepton 1 %

Media ini setiap liternya mengandung Pepton Oxail L 37 sebanyak 10 gram dan Natrium Klorida 5 gram. Media ini diambil secara aseptis dan ditimbang seberat 10 gram, lalu dilarutkan dalam air suling steril sampai mencapai volume satu liter. Kemudian dipanaskan dalam penangas air sampai larut dan selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung raksi kecil sebanyak lima mililiter untuk setiap tabungnya. Tabung-tabung reaksi tersebut ditutup dengan kapas dan dibungkus kertas aluminium lalu disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C, tekanan 15 atmosfer selama 30 menit. Uji sterilisasi dilakukan dengan menginkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam bila tidak pertumbuhan kuman maka media tersebut siap untuk digunakan.

Reagen Kovach

Reagen Kovach yang digunakan dibuat dengan komposisi 15 mililiter Isoamyl Alkohol dan 10 gram Paradimetil Aminobensaldehid.

Lampiran 2. Kriteria Penentuan dan Jumlah Bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* Dalam Tiap Gram daging

Bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* ditentukan berdasarkan :

- a. Tumbuh pada media Brilliant Green Bile Broth 2 %, ditandai adanya perubahan warna media dari hijau jernih menjadi hijau. Untuk anggota bakteri *Coliform* yang memfermentasikan laktose dengan membentuk asam dan gas, ditandai adanya udara dalam tabung Durham atau mengapungnya tabung Durham sampai ke permukaan media.
- b. Tumbuh pada media Eosin Methylene Blue Agar dengan membentuk koloni. Bakteri *Coliform* koloninya berdiameter antara empat sampai enam milimikron, menonjol ke permukaan, bersifat mukoid dan berwarna abu-abu, sedangkan bakteri *Escherichia coli* berdiameter antara dua sampai tiga milimikron, berwarna hijau metalik dengan pusat berwarna kehitaman.
- c. Koloni kuman yang diduga *Escherichia coli* , baik pada pemupukan Brilliant Bile Broth maupun pada Eosin Methylene Agar dilanjutkan dengan uji Indol. Pada uji Indol ini, bakteri *Escherichia coli* menunjukkan reaksi positif ditandai terbentuknya warna merah pada permukaan larutan pepton.

Penentuan jumlah tertinggi bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* dalam setiap gram daging berdasarkan :

- a. Bakteri *Coliform* dihitung dari jumlah cawan petri yang ditumbuhi koloni bakteri *Coliform* pada setiap seri pengenceran.
- b. Bakteri *Escherichia coli* dihitung dari jumlah reaksi Indol positif dari setiap seri pengenceran.

Kemudian masing-masing dicatat dan dihitung dengan metode *Most Probable Number* (MPN) berdasarkan tabel Mc. Crady's.

Lampiran 3. Perhitungan Jumlah Bakteri *Coliform* Per Gram Daging Sapi Antara Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ulangan	K	Kelompok			Total
		P I	P II	P III	
1	29	64	29	46	
2	37	79	33	52	
3	28	64	27	45	
4	34	76	34	62	
5	40	95	40	70	
6	32	76	31	62	
Total (ΣX)	200	454	194	339	1187
Rataan (\bar{x})	33,3333	76,6667	32,3333	56,5000	
SD	4,6333	11,4659	4,5461	10,6160	

$$JKT = (29)^2 + (37)^2 + \dots + (62)^2 - \frac{(1187)^2}{4 \times 6}$$

$$= 67877 - 58707,0417$$

$$= 9169,9583$$

$$JKP = \frac{(200)^2 + \dots + (339)^2}{6} - \frac{(1187)^2}{4 \times 6}$$

$$= 66445,5000 - 58707,0417$$

$$= 7738,4583$$

$$JKS = 9169,9583 - 7738,4583$$

$$= 1431,5000$$

$$KTP = \frac{7738,4583}{3} = 2579,4861$$

$$KTS = \frac{1431,5000}{20} = 71,5750$$

$$F_{hitung} = \frac{2579,4861}{71,5750} = 36,0389$$

Analisis variansi

SK	db	JK	KT	F_{hitung}	F_{tabel} 0,05 0,01	
				**		
Perlakuan	3	7738,4583	2579,4861	36,0389	3,10	4,94
Sisa	20	1431,5000	71,5750			
Total	23	9169,9583				

Kesimpulan : Terdapat perbedaan yang sangat nyata dari jumlah bakteri *Coliform* per gram daging sapi antara kelompok perlakuan dan kontrol ($p < 0,01$).

- Berarti H_0 ditolak; H_a diterima.

Uji Beda Nyata Terkecil dari Jumlah Bakteri *Coliform* Per Gram Daging Sapi Antara Kelompok Perlakuan dan Kontrol

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t(5\%). (\text{db sisa}) \times \sqrt{\frac{2 \text{ KTS}}{n}} \\ &= 2,086 \times \sqrt{\frac{2 \times 71,5759}{6}} \\ &= 10,1891 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 1\% &= t(1\%). (\text{db sisa}) \times \sqrt{\frac{2 \text{ KTS}}{n}} \\ &= 2,750 \times \sqrt{\frac{2 \times 71,5759}{6}} \\ &= 13,4320 \end{aligned}$$

Lanjutan Lampiran 3.

Perbedaan Rata-Rata Jumlah Bakteri *Coliform* Per Gram Daging Sapi Antara Kelompok Perlakuan dan Kontrol Berdasarkan uji BNT

Kelompok	Rataan (x)	Beda			BNT	
		x-P II	x-K	x-P III	5%	1%
P I ^a	76,6667	**	**	**	10,1841	13,4320
P III ^b	56,5000	**	**			
K ^c	33,3333	1,0000				
P II ^c	32,3333					

Menentukan Notasi

P I	P III	K	P II
76,6667	56,5000	33,3333	32,3333
a	b	c	

Kesimpulan : Kelompok perlakuan yang mengandung jumlah bakteri *Coliform* tertinggi adalah perlakuan I (P I) yang sangat berbeda nyata dengan Kontrol (K) dan perlakuan lain (P II dan P III). Sedangkan jumlah bakteri *Coliform* didapatkan pada perlakuan II (P II) yang tidak berbeda nyata dengan Kontrol (K).

Lampiran 4. Perhitungan Jumlah Bakteri *Escherhia coli* Per Gram Daging Sapi Antara Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ulangan	K	Kelompok			Total
		P I	P II	P III	
1	13	49	13	20	
2	19	52	17	28	
3	22	58	22	31	
4	17	52	17	25	
5	15	50	15	23	
6	17	54	15	24	
Total (ΣX)	103	315	99	151	668
Rataan (\bar{x})	17,1667	52,5000	16,5000	25,1667	
SD	3,1252	3,2094	3,0822	3,8678	

$$JKT = (13)^2 + (19)^2 + \dots + (24)^2 - \frac{(668)^2}{4 \times 6}$$

$$= 23962 - 18592,6667$$

$$= 5369,3333$$

$$JKP = \frac{(103)^2}{6} + \dots + \frac{(151)^2}{4} - \frac{(668)^2}{4 \times 6}$$

$$= 23739,3333 - 18592,6667$$

$$= 5146,6667$$

$$JKS = 5369,3333 - 5146,6667$$

$$= 222,6666$$

$$KTP = \frac{5146,6667}{3} = 1715,5556$$

$$KTS = \frac{222,6666}{20} = 11,1333$$

$$F_{hitung} = \frac{1715,5556}{11,1333} = 154,0923$$

Analisis variansi

SK	db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel} 0,05	0,01
Perlakuan	3	5148,6667	1715,5556	154,0923	3,10	4,94
Sisa	20	222,6666	11,1333			
Total	23	5369,3333				

Kesimpulan : Terdapat perbedaan yang sangat nyata dari jumlah bakteri *Escherichia coli* per gram daging sapi antara kelompok perlakuan dan kontrol ($p < 0,01$).

- Berarti H_0 ditolak; H_a diterima.

Uji Beda Nyata Terkecil dari Jumlah Bakteri *Escherichia coli* Per Gram Daging Sapi Antara Kelompok Perlakuan dan Kontrol

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 5\% &= t(5\%). (\text{db sisa}) \times \sqrt{\frac{2 \text{ KTS}}{n}} \\
 &= 2,086 \times \sqrt{\frac{2 \times 11,1333}{6}} \\
 &= 4,0185
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 1\% &= t(1\%). (\text{db sisa}) \times \sqrt{\frac{2 \text{ KTS}}{n}} \\
 &= 2,750 \times \sqrt{\frac{2 \times 11,1333}{6}} \\
 &= 5,2976
 \end{aligned}$$

Lanjutan Lampiran 4.

Perbedaan Rata-Rata Jumlah Bakteri *Escherichia coli* Per Daging Sapi Antara Kelompok Perlakuan dan Kontrol Berdasarkan Uji BNT

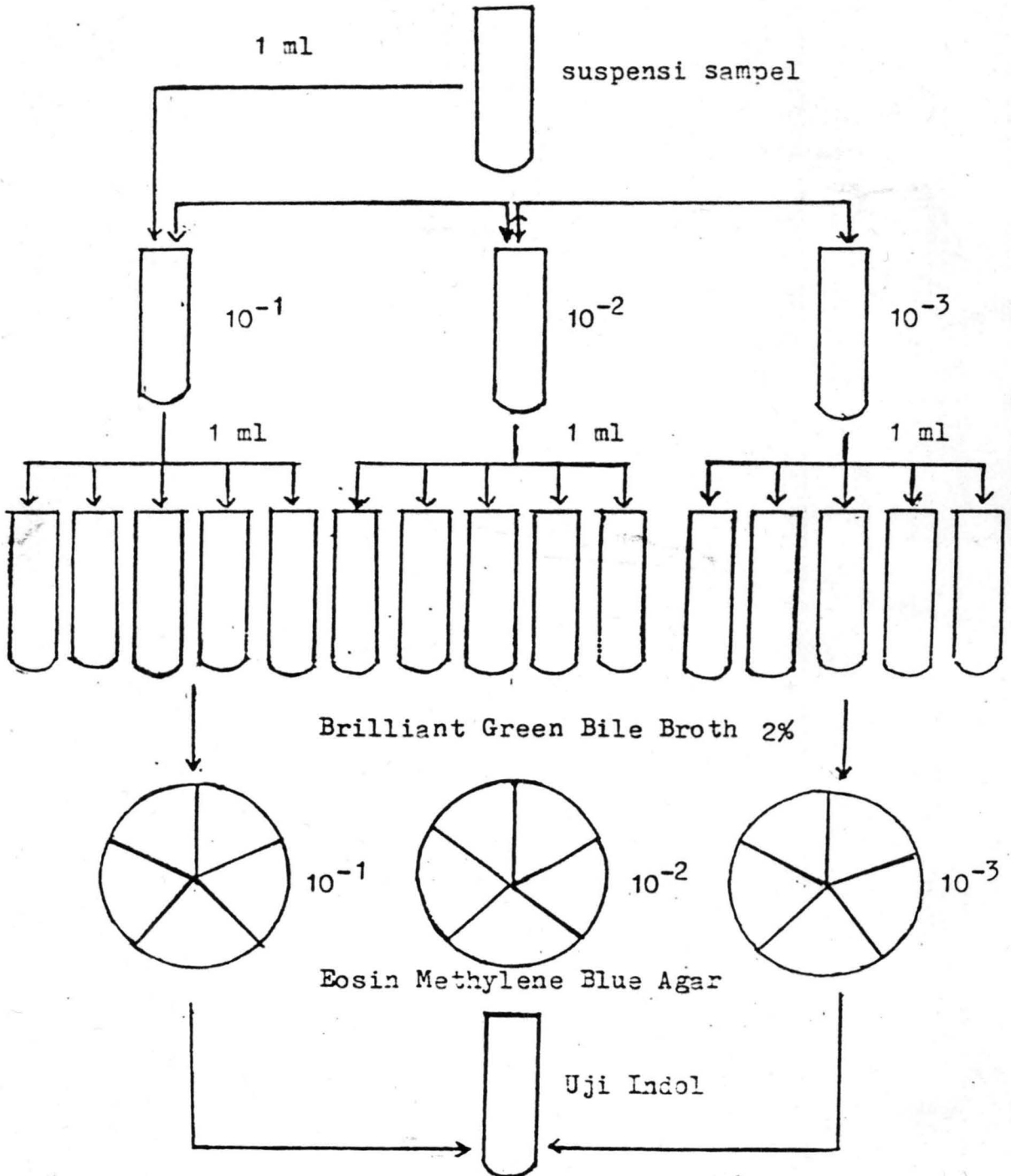
Kelompok	Rataan (x)	x-P II	Beda		BNT	
			x-K	x-P III	5%	1%
P I ^a	52,5000	36,0000	35,3333	27,3333	4,0185	5,2976
P III ^b	25,1667	8,6667	8,0000			
K ^c	17,1667	0,6667				
P II ^c	16,5000					

Menentukan Notasi

P I 52,5000	P III 25,1667	K 17,1667	P II 16,5000
a	b	c	

Kesimpulan : kelompok perlakuan yang mengandung jumlah bakteri *Escherichia coli* tertinggi adalah perlakuan I (P I) yang sangat berbeda nyata dengan perlakuan yang Sedangakan jumlah bakteri *Escherichia coli* terendah didapat pada kelompok perlakuan II (P II) tetapi tidak berbeda nyata dengan Kontrol.

Lampiran 5. Skema Metode Most Probable Number (Nilai Duga Dekat).



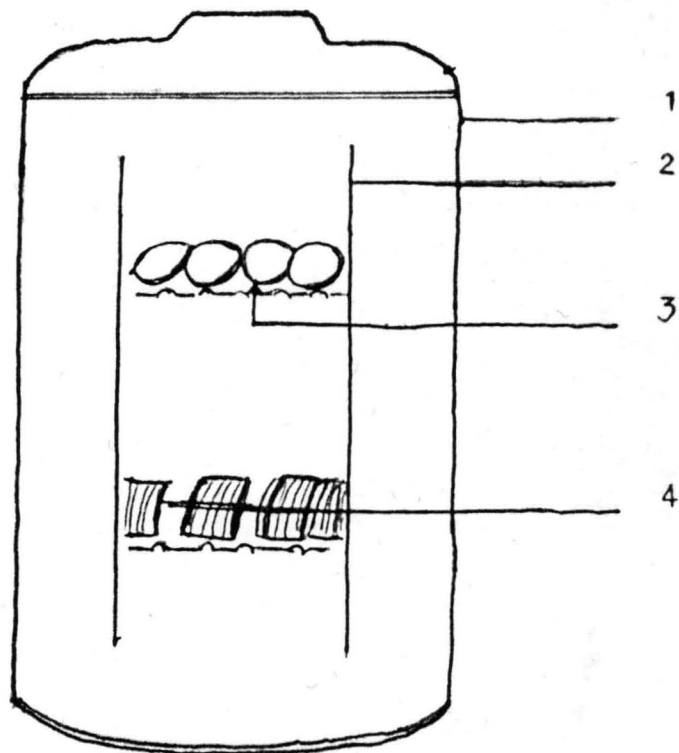
Lampiran 8. Tabel Mc Crady's .

Menggunakan 5 tabung dengan volume 10, 1 dan 0,1 ml.

Pos*	MPN	Pos*	MPN	Pos*	MPN	Pos*	MPN	Pos*	MPN	Pos*	MPN
10,1,0,1		10,1,0,1		10,1,0,1	/	10,1,0,1		10,1,0,1		10,1,0,1	MPN
000	0	100	2	200	4.5	300	7.8	400	13	500	23
001	1.8	101	4	201	6.8	301	11	401	17	501	31
002	3.6	102	6	202	9.1	302	13	402	21	502	43
003	5.4	103	8	203	12	303	16	403	25	503	58
004	7.2	104	10	204	14	304	20	404	30	504	76
005	9	105	12	205	16	305	23	405	36	505	95
010	1.8	110	4	210	6.8	310	11	410	17	510	33
011	3.6	111	6.1	211	9.2	311	14	411	21	511	46
012	5.5	112	8.1	212	12	312	17	412	26	512	64
013	7.3	113	10	213	14	313	20	413	31	513	84
014	9.1	114	12	214	17	314	23	414	36	514	110
015	11	115	14	215	19	315	27	415	42	515	130
020	3.7	120	6.1	220	9.3	320	14	420	22	520	49
021	5.5	121	8.2	221	12	321	17	421	26	521	70
022	7.4	122	10	222	14	322	20	422	32	522	95
023	9.2	123	12	223	17	323	24	423	38	523	120
024	11	124	15	224	19	324	27	424	44	524	150
025	13	125	17	225	22	325	31	425	50	525	180
030	5.6	130	8.3	230	12	330	17	430	27	530	79
031	7.4	131	10	231	14	331	21	431	33	531	110
032	9.3	132	13	232	17	332	24	432	39	532	140
033	11	133	15	233	20	333	28	433	45	533	180
034	13	134	17	234	22	334	31	434	52	534	215
035	15	135	19	235	25	335	35	435	59	535	250
040	7.5	140	11	240	15	340	21	440	34	540	130
041	9.4	141	13	241	17	341	24	441	40	541	170
042	11	142	15	242	20	342	28	442	47	542	220
043	13	143	17	243	23	343	32	443	54	543	280
044	15	144	19	244	25	344	36	444	62	544	350
045	17	145	22	245	28	345	40	445	69	545	430
050	9.4	150	13	250	17	350	25	450	41	550	240
051	11	151	15	251	20	351	29	451	48	551	350
052	13	152	17	252	23	352	32	452	56	552	540
053	15	153	19	253	25	353	37	453	64	553	920
054	17	154	22	254	29	354	41	454	72	554	1600
055	19	155	24	255	32	355	45	455	81	555	2400+

Sumber : Kusdarwati, dkk, 1991

Gambar 1. Thermos yang Berisi Daging Sapi dan Bahan Pendingin Zat Asam Arang Padat .



Keterangan :

- 1 ; Thermos Plastik
- 2 : Sarangan yang Terbuat dari Bahan Seng
- 3 : Zat Asam Arang Padat (CO_2 padat)
- 4 : Daging Sapi