

Pengaruh konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) dan waktu penyimpanan terhadap kualitas daging sapi

The influence of ethanol extracts concentration of mengkudu fruit (*Morinda citrifolia*) and storage time toward beef quality

AVE SONIA RAHMAN, TJAHHADI PURWOKO, ESTU RETNANINGTYAS NUGRAHANI

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 14 Agustus 2010. Revisi disetujui: 10 Desember 2010.

Abstract. Rahman AS, Purwoko T, Nugraheni ER. 2011. The influence of ethanol extracts concentration of mengkudu fruit (*Morinda citrifolia*) and storage time toward beef quality. *Biofarmasi* 9: 26-32. The high protein content of beef makes it easy to get a contamination caused by an activity of bacteria. The use of formalin as a preservative substance especially for beef can make a damage to health, so it is required to find preservative substances as alternative to substitute formalin. Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) has antibacteria compounds to the decompose bacteria of beef, so mengkudu fruit can be one of natural preservative substance alternatives, especially for beef. The purposes of this research were to determine the influence of ethanol extracts concentration of mengkudu fruit and a storage-time effect toward bacteria amount, and to determine the concentration that had a same activity with formalin to combat the replication of bacteria. This research used two-way completely randomized design. The samples were fresh meat beef that be submerged in mengkudu extract with concentrations of 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% and formalin 1% as a comparator. After that, the beef was stored in a room temperature during 16 hours, and every 4 hours it was tested for water content, pH value, beef temperature and a total plate count (TPC) test with a dilution method, and then the number of bacteria colonies with the limit of the bacteria amount of the beef to consume might not be more than 1×10^4 CFU/gram. The data were analyzed by ANOVA. If there was a significance, it would be continued by a DMRT test with an error rate 5%. The research results showed that all extracts concentration of mengkudu fruit and storage-time gave a significant effect ($p < 0.05$) toward bacteria amount. The concentration of 100% had the same activity with formalin to combat the replication of bacteria among 16 hours storage time.

Keywords: Antibacteria, beef, *Morinda citrifolia*, TPC

PENDAHULUAN

Daging merupakan bahan pangan yang bernilai gizi tinggi karena kaya akan protein, lemak, mineral, serta zat lainnya yang sangat dibutuhkan tubuh. Usaha untuk meningkatkan kualitas daging diantaranya dilakukan melalui pengolahan atau penanganan yang lebih baik sehingga dapat mengurangi kerusakan atau kebusukan selama penyimpanan dan pemasaran (Yanti et al. 2008).

Usaha penyediaan daging memerlukan perhatian khusus karena daging mudah tercemar oleh pertumbuhan bakteri. Daging merupakan jenis bahan pangan berprotein tinggi sehingga sangat baik untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri. Tingginya jumlah bakteri dapat mencemari daging dan menurunkan kualitasnya. Penurunan kualitas daging tersebut dapat dilihat dari perubahan warna, rasa, aroma, hingga pembusukan. Sebagian besar kerusakan daging disebabkan oleh penanganan yang kurang baik, misalnya penyimpanan pada suhu kamar dalam jangka waktu yang lama dan tanpa penutupan, sehingga memberikan peluang hidup bagi pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri perusak yang berdampak pada menurunnya daya simpan dan nilai gizi daging (Yanti et al. 2008).

Sekarang ini, telah banyak dilakukan usaha untuk mengawetkan bahan makanan. Penggunaan formalin sebagai bahan pengawet makanan, sering sekali digunakan oleh para pedagang terutama untuk mengawetkan daging dan ikan agar tidak mudah busuk. Formalin dilarang digunakan sebagai pengawet makanan karena memiliki efek buruk bagi kesehatan yaitu dapat menyebabkan kerusakan hati, jantung, otak, limpa, pankreas, sistem saraf, dan ginjal (Setyabudi et al. 2008). Formalin juga bersifat karsinogenik (Setyabudi et al. 2008) bahkan sampai menyebabkan kematian (Putra 2009). Dengan demikian, perlu dicari alternatif untuk bahan pengawet makanan, terutama daging, yang aman bagi kesehatan.

Indonesia memiliki beraneka ragam tanaman yang berpotensi sebagai zat antibakteri, salah satunya adalah mengkudu. Mengkudu banyak dijumpai dan tersebar di Indonesia sehingga mudah didapatkan. Selama ini, mengkudu digunakan sebagai obat antihipertensi, antikanker, dan antibakteri. Senyawa antibakteri yang terdapat pada mengkudu adalah alkaloid, flavonoid, antrakuinon, skopoletin, glikosida, dan asam glukoronat. Senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, dan *Clostridium* (Collins et

al. 1989; Djaafar et al. 2007) yang merupakan bakteri pembusuk pada daging. Dengan demikian, mengkudu diharapkan dapat menjadi salah satu alternatif bahan pengawet makanan alami, terutama daging. Dengan demikian, perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh konsentrasi ekstrak buah mengkudu terhadap kualitas daging sapi.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu terhadap jumlah bakteri pada daging sapi, mengetahui pengaruh waktu penyimpanan terhadap jumlah bakteri pada daging sapi, serta menentukan konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu yang memiliki aktivitas yang sama dengan formalin dalam menghambat pertumbuhan jumlah bakteri pada daging sapi.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Sub-Laboratorium Biologi, Laboratorium Pusat Universitas Sebelas Maret Surakarta selama bulan Juni 2009 hingga Januari 2010.

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi blender, oven, stoples maserasi, erlenmeyer, corong gelas, *rotary evaporator*, gelas arloji, neraca digital, botol flakon, spatula, gelas Beaker, pinset, cawan petri, tabung reaksi, mikropipet, tip mikropipet, *drygalski*, bunsen, *laminar air flow* (LAF), inkubator, *colony counter*, sarung tangan, masker, pH-meter, dan termometer.

Sementara itu, bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah mengkudu berumur 4-5 bulan dengan tingkat kematangan sedang (buah berwarna kuning keputihan) yang didapatkan dari Desa Sukomangu, Kota Purwantoro, Kabupaten Wonogiri pada bulan Juni 2009, daging sapi segar dengan waktu 2 jam setelah penyembelihan (tahap prerigor), etanol 96%, kertas saring, pelarut *Carboxyl Methyl Cellulose* (CMC) 0,1%, akuades, formalin 1%, larutan garam fisiologis 0,9%, *pepton water* 0,1%, dan media *Nutrient Agar* (NA).

Rancangan penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial. Percobaan dilakukan dengan menggunakan dua faktor yaitu: (1) konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu yang terdiri dari 12 perlakuan yaitu konsentrasi 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, dan formalin 1% (sebagai kontrol), serta (2) faktor waktu penyimpanan yang terdiri dari 5 perlakuan yaitu lama waktu penyimpanan 0, 4, 8, 12, dan 16 jam. Percobaan tersebut dilakukan dengan dua kali perulangan perlakuan.

Cara kerja

Penyiapan sampel

Buah mengkudu yang didapat dari Desa Sukomangu, Kota Purwantoro, Kabupaten Wonogiri dicuci bersih. Selanjutnya, buah mengkudu diiris-iris tipis dan dijemur

dengan ditutup kain hitam hingga irisan buah mengkudu berubah menjadi kering. Buah mengkudu yang sudah kering kemudian disimpan di dalam oven bersuhu 45°C. Buah mengkudu yang telah kering kemudian dihancurkan hingga berbentuk serbuk.

Ekstraksi dan pembuatan seri konsentrasi

Serbuk mengkudu ditimbang dan dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% selama 24 jam. Setelah 24 jam, rendaman disaring dengan corong gelas yang telah dilapisi kertas saring. Residunya dipisahkan dan filtrat I yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator*, sehingga didapatkan ekstrak etanol, kemudian ekstrak dikeringkan. Residu dimaserasi ulang seperti cara sebelumnya sebanyak tiga kali perulangan, sehingga diperoleh filtrat II dan III lalu diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator*.

Ekstrak etanol buah mengkudu ditimbang untuk dibuat seri konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%. Ekstrak dibuat dengan menggunakan pelarut CMC 0,1%.

Uji in vivo pada daging

Daging segar yang diperoleh dari rumah pemotongan hewan dicuci bersih. Daging kemudian dipotong-potong dan sampel daging ditimbang dengan rata-rata berat 6 gram. Daging direndam dengan ekstrak mengkudu untuk masing-masing seri konsentrasi, pelarut CMC 0,1%, dan formalin 1% sebagai pembanding selama 2 menit. Daging yang sudah direndam kemudian disimpan pada suhu kamar.

Uji ALT pada daging

Uji ALT dilakukan setiap 4 jam terhadap sampel daging yang telah diuji secara *in vivo*. Daging tersebut selanjutnya dicacah dan dihomogenasi dengan larutan garam fisiologis 0,9% yang telah dicampur dengan *pepton water* 0,1%. Hasil homogenisasi sampel dipipet sebanyak 100 µl ke dalam tabung reaksi pertama dengan pengenceran 10⁻² dan digojog hingga homogen. Pengenceran dilakukan hingga pengenceran 10⁻⁸. Hasil pengenceran untuk tiap faktor pengenceran ditanam ke dalam media NA steril sebanyak 100 µl kemudian cairan sampel diratakan dengan *drygalski*. Uji ALT tersebut dilakukan secara aseptik di dalam LAF. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Jumlah koloni yang tumbuh dihitung dengan menggunakan *colony counter* (Depkes RI 1995).

Uji kadar air, pH, dan suhu daging

Daging yang telah diuji secara *in vivo* kemudian diukur suhunya dengan menggunakan termometer. Setelah itu, daging diuji nilai pH-nya dengan menggunakan kertas indikator pH skala 4-7. Selanjutnya dilakukan uji kadar air daging. Uji kadar air daging dilakukan dengan menimbang flakon kosong. Setelah itu, flakon diisi dengan daging seberat 2 gram yang telah diuji secara *in vivo* untuk masing-masing konsentrasi ekstrak, kemudian dilakukan penimbangan kembali. Berat flakon kosong berisi daging dianggap sebagai berat sampel awal.

Flakon yang berisi daging kemudian dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 100°C selama 24 jam. Setelah 24

jam, flakon berisi daging ditimbang kembali dan nilainya dianggap sebagai berat sampel akhir. Selisih antara berat awal dan berat akhir merupakan nilai perubahan kadar air dalam daging. Kadar air daging dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\frac{\text{berat sampel awal} - \text{berat sampel akhir}}{\text{berat sampel awal}} \times 100\%$$

Analisis data

Data hasil pengamatan dianalisis dengan ANOVA. Jika terdapat perbedaan yang signifikan maka dilanjutkan dengan uji DMRT dengan tingkat kesalahan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahap preparasi dan pengujian awal

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah mengkudu sebanyak 20 kg yang berumur sekitar 4 bulan dan berwarna kuning keputihan. Hal ini dikarenakan pada umur 4 bulan, kandungan flavonoid di dalam buah mengkudu cukup tinggi (Hilman 2009). Sebelum buah mengkudu dibuat serbuk, dilakukan penyortiran, pencucian, pemotongan, pengeringan, serta penghancuran buah mengkudu, sehingga didapatkan simplisia serbuk sebanyak 1200 gram dari buah mengkudu.

Pembuatan serbuk buah mengkudu bertujuan untuk memperluas permukaan partikel yang berinteraksi dengan pelarut, sehingga penetrasi pelarut ke dalam jaringan tanaman berlangsung efektif. Hal ini akan mempermudah pelarutan metabolit sekunder (Cannell 1998), serta senyawa dapat terekstrak dengan sempurna. Setelah itu dilakukan ekstraksi dan pembuatan seri konsentrasi ekstrak buah mengkudu. Selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi dengan etanol sebagai pelarut.

Etanol digunakan sebagai pelarut dalam proses ekstraksi, karena berdasarkan beberapa hasil penelitian dilaporkan bahwa etanol merupakan pelarut semipolar yang sangat baik untuk menarik senyawa golongan polifenol, fenol, glikosida, dan flavonoid yang terdapat di dalam biomassa tumbuhan (Virganita 2009). Hal ini sesuai dengan referensi yang didapatkan bahwa senyawa aktif antibakteri yang terkandung di dalam buah mengkudu yaitu flavonoid (Djauhariya 2003), dimana senyawa tersebut tergolong dalam senyawa polar, sehingga untuk menarik senyawa polar yang terkandung dalam buah mengkudu dianjurkan untuk menggunakan pelarut yang memiliki sifat kepolaran yang sama. Selanjutnya dilakukan pembuatan seri konsentrasi ekstrak buah mengkudu. Dalam pembuatan ekstrak buah mengkudu digunakan pelarut CMC. Pelarut CMC merupakan turunan selulosa yang mudah larut di dalam air yang berfungsi untuk melarutkan ekstrak dalam pembuatan seri konsentrasi ekstrak buah mengkudu. Selanjutnya dilakukan uji *in vivo* pada daging buah mengkudu. Setelah itu dilakukan pengujian terhadap kadar air, pH, suhu, dan ALT pada daging.

Uji ALT daging sapi

Uji ALT dilakukan terhadap sampel daging sapi yang telah dilakukan uji *in vivo* setiap 4 jam secara aseptis. Semua peralatan yang digunakan disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 30 menit. Tahapan dalam uji ALT tersebut meliputi proses penghancuran sampel, homogenisasi sampel, pengenceran, penanaman pada media padat (inokulasi), tahap inkubasi, dan penghitungan jumlah koloni bakteri. Tahap penghancuran sampel, homogenisasi sampel, pengenceran, serta inokulasi dilakukan di dalam LAF.

Tahap homogenisasi sampel merupakan tahap pendahuluan dalam pengujian. Homogenisasi daging diawali dengan pencacahan menggunakan pisau steril, kemudian daging hasil cacahan dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan selanjutnya dilakukan tahap pengenceran. Homogenisasi bertujuan untuk membebaskan sel bakteri yang mungkin terlindung partikel sampel dan untuk memperoleh distribusi bakteri sebaik mungkin.

Pada tahap pengenceran, digunakan larutan pengencer yang berfungsi untuk mengaktifkan kembali sel-sel bakteri yang mungkin kehilangan vitalitasnya karena kondisi di dalam sampel yang kurang menguntungkan. Pengenceran suspensi sampel dilakukan untuk mendapatkan koloni yang tumbuh secara terpisah dan dapat dihitung dengan mudah. Pengencer yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari larutan NaCl 0,9% yang ditambah dengan *pepton water* 0,1%. Penggunaan NaCl sebagai larutan pengencer tersebut sesuai dengan fungsi NaCl sebagai garam fisiologis yang mengandung ion-ion terlarut dalam cairan tubuh organisme, sedangkan *peptone water* berfungsi sebagai sumber nutrisi bagi bakteri untuk mempertahankan fase tumbuh bakteri.

Dalam uji ALT digunakan media NA karena pada media NA terkandung nutrisi, terutama natrium yang berguna sebagai sumber karbon dan nitrogen yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri pada sampel yang ditanam pada media. Selanjutnya, cawan petri tersebut diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam, yang bertujuan untuk menumbuhkan koloni bakteri. Selanjutnya, jumlah koloni bakteri yang tumbuh dihitung menggunakan *colony counter*.

Berdasarkan Gambar 1, jika ditinjau dari pola grafik penghambatan jumlah bakteri dan rentang waktu penyimpanan yang sama antara ekstrak dan formalin 1%, serta ditinjau dari kualitas daging sapi yang masih dapat dikonsumsi berdasarkan batas jumlah bakteri yang diizinkan untuk dikonsumsi ($<10^4$), tren grafik pertambahan jumlah bakteri pada daging selama waktu penyimpanan 4 jam, cenderung mengalami kenaikan yang diindikasikan dengan meningkatnya suhu pada daging, kecuali grafik jumlah bakteri pada daging yang direndam dengan ekstrak buah mengkudu pada konsentrasi 40%, 50%, 60%, dan 70% yang cenderung mengalami penurunan dengan jumlah bakteri pada daging yang masih dalam batas aman untuk dikonsumsi. Kondisi tersebut diindikasikan dengan menurunnya kadar air dan pH pada daging pada waktu penyimpanan tersebut. Hal ini sesuai dengan pernyataan Muljanah et al. (1986) bahwa semakin rendah kadar air maka pertumbuhan bakteri semakin

lambat, serta hasil penelitian Yanti (2008) yang menunjukkan semakin rendah pH daging sapi, semakin sedikit jumlah koloni bakteri. Semua daging yang direndam dengan ekstrak buah mengkudu dan formalin 1% memiliki jumlah bakteri yang masih dalam batas aman untuk dikonsumsi ($<10^4$). Namun, untuk daging yang direndam dalam ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 30%, jumlah bakteri pada waktu penyimpanan selama 4 jam sudah melebihi batas aman jumlah bakteri yang aman untuk dikonsumsi. Hal ini diindikasikan dengan meningkatnya suhu pada daging. Peningkatan suhu mengindikasikan peningkatan jumlah bakteri karena adanya metabolisme bakteri akan menyebabkan peningkatan suhu. Dengan demikian, konsentrasi ekstrak buah mengkudu 10%, 20%, dan 30% tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertambahan jumlah bakteri.

Untuk waktu penyimpanan selama 8 jam, grafik jumlah bakteri tidak menunjukkan adanya tren yang spesifik. Daging yang direndam dalam ekstrak buah mengkudu pada konsentrasi 40%, 70%, 80%, 90%, dan formalin 1% cenderung memiliki tren grafik jumlah bakteri yang cenderung menurun. Adapun daging yang direndam dengan konsentrasi ekstrak 50%, 60%, dan 100% cenderung memiliki tren jumlah bakteri yang cenderung meningkat. Meskipun demikian, semua daging yang direndam dengan konsentrasi ekstrak tersebut dan formalin 1% memiliki jumlah bakteri yang masih dalam batas aman untuk dikonsumsi.

Pada waktu penyimpanan 12 jam, grafik jumlah bakteri tidak menunjukkan adanya tren yang spesifik. Daging yang direndam dengan konsentrasi ekstrak 40%, 50%, 60%, dan 70% memiliki tren grafik jumlah bakteri yang cenderung meningkat dan kenaikan jumlah bakteri tersebut telah melebihi batas jumlah bakteri yang aman untuk dikonsumsi. Dengan demikian, konsentrasi ekstrak 40%, 50%, 60%, dan 70% mampu menghambat pertumbuhan jumlah bakteri selama 8 jam penyimpanan. Tingginya pertumbuhan bakteri dapat disebabkan adanya kandungan lemak yang terdapat dalam daging yang mampu membentuk lapisan pada permukaan mikroba dan dapat mencegah penetrasi zat antimikroba dari ekstrak ke dalam sel mikroba (Ting dan Deibel 1992). Selain itu, kandungan protein dan lemak yang cukup besar dalam bahan pangan dapat menurunkan aktivitas zat antimikroba (Shelef 1983). Adapun daging yang direndam pada konsentrasi ekstrak 80%, 90%, 100%, dan formalin 1% memiliki tren grafik jumlah bakteri yang cenderung menurun yang disertai penurunan kadar air dengan jumlah bakteri tersebut masih berada dalam batas aman untuk dikonsumsi. Hal ini disebabkan konsentrasi 80%, 90%, dan 100% memiliki kandungan senyawa aktif antibakteri dan antioksidan yang cukup tinggi, sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri dalam jangka waktu yang lama. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pelczar dan Chan (1988) bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat.

Pada waktu penyimpanan 16 jam, tren grafik jumlah bakteri menunjukkan penurunan, kecuali untuk daging yang direndam dengan konsentrasi ekstrak 80%, 90%,

100%, dan formalin 1% menunjukkan tren grafik jumlah bakteri yang cenderung meningkat yang diindikasikan dengan meningkatnya suhu daging pada waktu penyimpanan tersebut. Meskipun demikian, untuk konsentrasi ekstrak 100% dan formalin 1%, kenaikan jumlah bakteri tersebut masih dalam batas aman jumlah bakteri yang aman untuk dikonsumsi. Akan tetapi, untuk konsentrasi ekstrak 80% dan 90%, kenaikan jumlah bakteri tersebut sudah melebihi batas aman jumlah bakteri yang aman untuk dikonsumsi. Dengan demikian, ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi 80% dan 90% aktif menghambat kenaikan jumlah bakteri selama 12 jam. Meskipun ekstrak buah mengkudu memiliki kandungan senyawa antibakteri yang cukup tinggi, pada waktu penyimpanan yang cukup lama yaitu 16 jam, aktivitas ekstrak tersebut cenderung berkurang. Kondisi tersebut disebabkan oleh adanya penurunan aktivitas zat antimikroba yang dapat terjadi jika komponen antimikroba tersebut bereaksi atau berikatan dengan komponen makanan, atau terjadi pemecahan dan pengurangan struktur kimia antimikroba.

Ekstrak buah mengkudu pada konsentrasi 100% memiliki aktivitas yang sama dengan formalin 1% dalam rentang waktu penyimpanan yang cukup panjang yaitu 16 jam. Daging yang direndam dengan konsentrasi ekstrak 100% layak untuk dikonsumsi selama rentang waktu 16 jam penyimpanan, sehingga mampu menggantikan formalin sebagai bahan pengawet makanan, terutama daging. Kemampuan ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi 100% dalam menghambat pertumbuhan jumlah bakteri dalam jangka waktu yang lama disebabkan karena tingginya kandungan senyawa aktif antibakteri dan antioksidan di dalam ekstrak, sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri dalam jangka waktu yang lama. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pelczar dan Chan (1988) bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat.

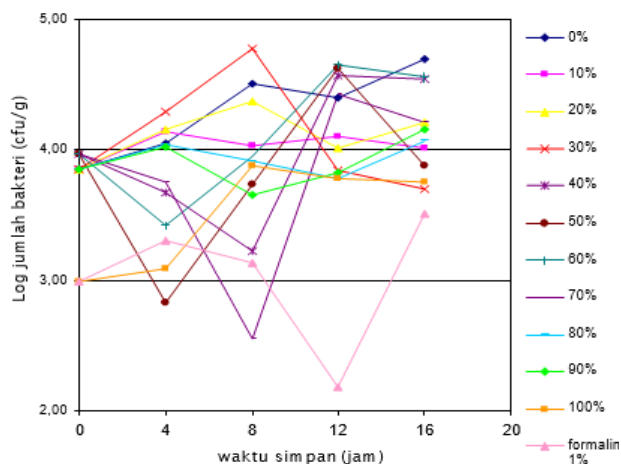
Dari hasil analisis statistik, pemberian ekstrak maupun waktu penyimpanan memberikan pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap jumlah bakteri pada daging. Jumlah bakteri pada daging yang direndam dengan semua konsentrasi ekstrak dan formalin 1% memiliki perbedaan yang nyata terhadap jumlah bakteri pada daging kontrol. Jumlah bakteri daging yang direndam dengan ekstrak 100% tidak berbeda nyata dengan jumlah bakteri pada daging yang direndam dengan formalin 1%. Berdasarkan uraian tersebut maka ekstrak yang memiliki kemampuan untuk menghambat jumlah bakteri yang lebih baik daripada kontrol dan memiliki aktivitas yang sama dengan formalin yaitu ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi 100%. Hal tersebut didukung dengan hasil analisis statistik dengan uji-t yang memperlihatkan hasil bahwa jumlah bakteri pada daging yang direndam dengan konsentrasi ekstrak 100% pada awal penyimpanan (0 jam) tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan jumlah bakteri pada akhir penyimpanan (16 jam), sehingga dapat diartikan bahwa konsentrasi ekstrak 100% mampu menghambat jumlah bakteri selama 16 jam penyimpanan.

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan uji T, terdapat perbedaan pertumbuhan bakteri pada daging antara

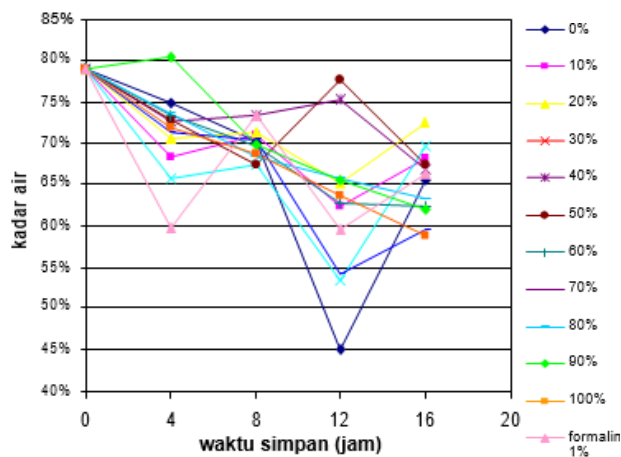
perlakuan kontrol dan formalin 1%. Pada daging kontrol, bakteri mengalami pertumbuhan. Hal ini dapat dilihat dari jumlah bakteri pada akhir penyimpanan (16 jam) yang berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan jumlah bakteri pada awal penyimpanan (0 jam). Adapun pada daging yang direndam dengan formalin 1%, pertumbuhan bakteri cenderung ditekan yang dapat terlihat dari jumlah bakteri pada akhir dan awal penyimpanan yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Dari pernyataan tersebut, dapat dilihat bahwa formalin mampu menghambat pertumbuhan bakteri pada daging. Hal ini dikarenakan formalin memiliki unsur aldehid yang bersifat mudah bereaksi dengan protein, sehingga formalin akan mengikat unsur protein, mulai dari bagian permukaan hingga meresap ke bagian dalam suatu bahan makanan. Formalin membunuh bakteri dengan membuat sel bakteri mengalami dehidrasi (kekurangan air), sehingga sel bakteri menjadi kering dan membentuk lapisan baru di permukaan. Artinya, formalin tidak saja membunuh bakteri, tetapi juga membentuk lapisan baru yang melindungi lapisan di bawahnya, supaya tahan terhadap serangan bakteri lain (Setyabudi et al. 2008).

Fenomena perbedaan aktivitas penghambatan masing-masing konsentrasi ekstrak pada waktu penyimpanan tertentu seperti dalam penelitian ini sesuai dengan pernyataan Pelczar dan Chan (1988), bahwa apabila suatu bahan antibakteri diaplikasikan, bahan tersebut tidak akan membunuh semua bakteri pada saat yang sama, melainkan sel-sel tersebut akan terbunuh dalam suatu periode waktu dengan laju eksponensial yang konstan. Adanya fluktuasi pertambahan jumlah bakteri selama masa penyimpanan selain disebabkan oleh faktor eksternal, seperti kadar air, pH, dan suhu daging, juga berhubungan dengan faktor internal seperti fase pertumbuhan bakteri.

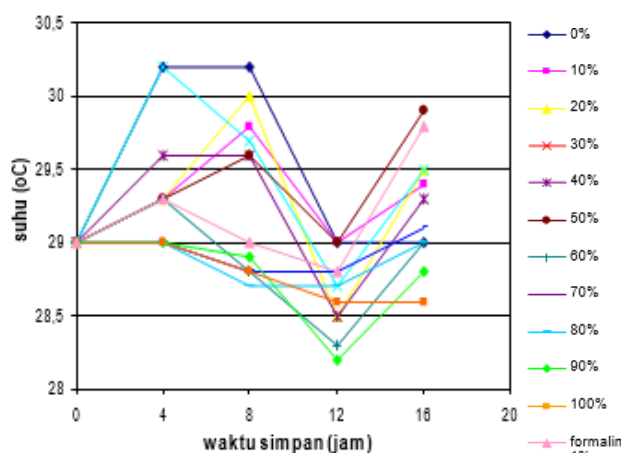
Tingginya kandungan senyawa antioksidan yaitu senyawa fenol (flavonoid) di dalam ekstrak sangat mempengaruhi tingkat keawetan suatu bahan pangan, karena antioksidan bekerja untuk menghambat auto-oksidasi pada lemak dengan cara menghambat reaksi antara peroksida aktif dengan ikatan rangkap lemak (Rini 2009). Aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh senyawa metabolit sekunder tanaman sangat penting karena dapat berfungsi sebagai penangkap radikal bebas. Selain itu, senyawa tersebut juga memiliki peran dalam mekanisme pertahanan terhadap mikroorganisme. Aktivitas tersebut dimiliki karena kemampuannya dalam membentuk kompleks dengan protein yang larut dan protein ekstraseluler, dan dalam membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri (Cowan 1999), sehingga dapat berfungsi sebagai antibakteri. Selain itu, penghambatan terhadap pertumbuhan sel-sel mikroba oleh komponen fenol dari suatu zat antimikroba disebabkan oleh kemampuan fenol untuk mendenaturasi protein dan merusak membran sel dengan cara melarutkan lemak yang terdapat pada dinding sel, karena senyawa tersebut mampu melakukan migrasi dari fase cair ke fase lemak (Pelczar dan Reid 1979). Aktivitas antioksidan dan antibakteri tersebut dapat dimanfaatkan sebagai bahan tambahan makanan yang akan menjaga makanan dari ketengikan dan kontaminasi bakteri.



Gambar 1. ALT daging pada berbagai konsentrasi ekstrak buah mengkudu dan waktu penyimpanan



Gambar 2. Kadar air daging pada berbagai konsentrasi ekstrak buah mengkudu dan waktu penyimpanan



Gambar 3. Suhu daging pada berbagai konsentrasi ekstrak buah mengkudu dan waktu penyimpanan.

Uji faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas daging sapi *Kadar air daging*

Dari grafik kadar air daging, dapat dilihat bahwa kadar air daging yang direndam dalam ekstrak buah mengkudu selama 4 jam penyimpanan, cenderung mengalami penurunan. Hal ini disebabkan oleh ekstrak pada awal waktu penyimpanan lebih difokuskan untuk menyerap air yang terkandung di dalam daging melalui proses osmosis. Adapun pada 8 jam penyimpanan, kadar air daging tidak menunjukkan tren yang spesifik. Hal ini disebabkan jumlah bakteri pada waktu penyimpanan tersebut juga tidak menunjukkan tren yang spesifik. Untuk waktu penyimpanan 12 jam, kadar air daging cenderung menurun, terkecuali daging yang direndam dalam ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi 40% dan 50% yang mengalami kenaikan, hal ini didukung dengan meningkatnya jumlah bakteri pada waktu penyimpanan tersebut. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Fardiaz (1992) bahwa semakin banyak bakteri yang tumbuh maka jumlah air yang dihasilkan juga semakin banyak. Adapun untuk waktu penyimpanan 16 jam, kadar air daging cenderung mengalami kenaikan, kecuali daging yang direndam dalam ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi 40-100% yang cenderung mengalami penurunan. Hal ini disebabkan tingginya kandungan zat antibakteri pada ekstrak yang mampu menghambat pertumbuhan jumlah bakteri, sehingga kadar air daging menurun.

Pada Gambar 2, rata-rata kadar air daging yang direndam dalam ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi yang cukup tinggi (40-100%) memiliki kadar air yang cukup rendah yaitu berkisar antara 60-66% selama 16 jam penyimpanan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Muchtadi dan Sugiyono (1992) bahwa kadar air daging sapi yang direkomendasikan oleh *American Meat Institute Foundation* adalah 66%. Dengan demikian, kadar air daging yang direndam dalam ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi yang cukup tinggi, memiliki kadar air yang memenuhi standar tersebut.

Nilai pH daging

Berdasarkan grafik pengukuran pH, pH daging cenderung mengalami penurunan pada 4 jam penyimpanan, hal ini diduga disebabkan ekstrak buah mengkudu aktif bekerja selama 4 jam penyimpanan. Adapun pada penyimpanan selama 8 jam, pH daging cenderung stabil dan terdapat sebagian daging yang mengalami penurunan pH, hal ini diduga disebabkan oleh jenis bakteri yang tumbuh pada daging adalah golongan bakteri asam laktat yang menyebabkan pH menjadi rendah (Kusmiati dan Malik 2002). Untuk waktu penyimpanan selama 12 jam, pH daging tidak menunjukkan tren yang spesifik, hal ini disebabkan pada waktu penyimpanan tersebut, jumlah bakteri mengalami fluktuasi, sedangkan pH daging pada 16 jam penyimpanan cenderung stabil.

Jika dibandingkan dengan kontrol, semua daging yang direndam pada semua konsentrasi ekstrak maupun formalin 1%, memiliki pH yang lebih rendah dibandingkan kontrol. Hal ini memperlihatkan bahwa ekstrak mengkudu memiliki

pengaruh dalam memperpanjang waktu simpan daging yang ditandai dengan rendahnya pH pada daging.

Nilai pH medium sangat mempengaruhi jenis mikroba yang tumbuh. Nilai pH yang cukup rendah, yaitu 4-5, menyebabkan bakteri pada umumnya tidak dapat berkembang biak dengan baik (Rahayu 2000). Dari hasil pengukuran pH daging sapi yang direndam dalam ekstrak buah mengkudu, rata-rata pH daging berkisar antara 4,4-5,3, sehingga dapat dimungkinkan bahwa bakteri yang terdapat pada daging tersebut adalah golongan bakteri asam laktat, hal ini sesuai dengan hasil penelitian Nur (2009) tentang suksesi mikroba pada fermentasi mandai, makanan tradisional yang dibuat dengan fermentasi berkadar garam tinggi, bahwa kisaran pH yang terbentuk selama fermentasi mandai berada dalam kisaran pH 3,71-6,02. Nilai pH tersebut mengindikasikan bahwa bakteri yang ditemukan dalam produk mandai adalah kelompok bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat umumnya akan memecah glukosa untuk menghasilkan asam laktat. Hal ini menyebabkan pH menjadi rendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain, sehingga dapat berfungsi sebagai pengawet makanan (Kusmiati dan Malik 2002).

Kombinasi antara senyawa antimikroba dan pH asam dapat memperkuat aktivitas antimikroba. Menurut Hugo dan Russel (1983), senyawa fenolik menunjukkan keaktifan maksimum pada pH asam. Dari hasil pengukuran nilai pH daging yang direndam dengan ekstrak mengkudu mempunyai pH yang cukup rendah. Diduga pH yang rendah pada mengkudu menyebabkan zat antimikroba dalam ekstrak buah mengkudu menjadi lebih aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Suhu daging

Selama 4 jam penyimpanan, suhu daging cenderung mengalami kenaikan. Adapun pada 8 jam penyimpanan, suhu daging tidak menunjukkan tren yang spesifik, karena jumlah bakteri pada waktu penyimpanan tersebut mengalami fluktuasi. Pada 12 jam penyimpanan, suhu daging cenderung menurun, sedangkan pada 16 jam penyimpanan, suhu daging mengalami peningkatan.

Nilai suhu daging dari semua perlakuan ekstrak buah mengkudu lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol (Gambar 3), sehingga dapat terlihat bahwa perendaman daging dalam ekstrak buah mengkudu memberikan pengaruh dalam memperpanjang waktu simpan daging dibandingkan dengan daging yang tidak direndam dalam ekstrak buah mengkudu, hal ini sesuai dengan pernyataan Hadiwiyoto (1993) bahwa kecepatan proses metabolisme untuk pertumbuhan bakteri tersebut sangat tergantung pada suhu penyimpanan. Semakin rendah suhu maka semakin lambat proses metabolisme tersebut berlangsung dan semakin lama daging dapat disimpan. Selain itu, suhu tinggi akan menyebabkan perubahan pH yang cepat, sehingga dapat diasumsikan jika suhu mengalami penurunan maka jumlah bakteri juga akan menurun.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu memberikan pengaruh yang signifikan terhadap jumlah bakteri pada daging sapi. Waktu penyimpanan memberikan pengaruh yang signifikan terhadap jumlah bakteri pada daging sapi. Konsentrasi ekstrak 100% memiliki aktivitas yang sama dengan formalin dalam menghambat jumlah bakteri selama waktu penyimpanan 16 jam.

DAFTAR PUSTAKA

- Cannell RJP. 1998. Natural Products Isolation. Human Press Inc., New Jersey.
- Collins CH, Patricia ML, Grage JM. 1989. Microbiological methods. 6th edition. Butterworth, London.
- Cowan MM. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev 12 (4): 564-582.
- Depkes RI [Departemen Kesehatan Republik Indonesia]. 1995. Farmakope Indonesia, Edisi IV. Depkes RI, Jakarta.
- Djaafar, Titiek F, Rahayu S. 2007. Cemaran mikroba pada produk pertanian, penyakit yang ditimbulkan dan pencegahannya. Jurnal Litbang Pertanian 26 (2): 68-69.
- Djauhariya E. 2003. Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) tanaman obat tradisional. Perkembangan Teknologi 15 (1): 18-23.
- Fardiaz S. 1992. Mikrobiologi pengelolaan pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Hadiwiyoto S. 1993. Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan. Penerbit Liberty, Jakarta.
- Hilman. 2009. Buah mengkudu untuk obat kanker. www.naturindonesia.com. [14 Maret 2010].
- Hugo WB, Russel AD. 1983. Pharmaceutical Microbiology. 3rd ed. Blackwell, Oxford, UK.
- Kusmiati, Malik A. 2002. Aktivitas bakteriosin dari bakteri *Leuconostoc mesenteroides* pbac1 pada berbagai media. Makara Kesehatan 6 (1): 1-6.
- Muchtadi TR, Sugiyono. 1992. Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Muljanah IH, Irianto E, Putro S. 1986. Kemunduran mutu bakso ikan mas (*Cyprinus carpio*) pada suhu rendah (5°C). Lembaga Penelitian Perikanan Laut, Jakarta
- Nur HS. 2009. Sukses mikroba dan aspek biokimiawi fermentasi mandai dengan kadar garam rendah. Makara Sains 13 (1): 13-16.
- Pelczar MJ, Chan ECS. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi. UI Press, Jakarta.
- Pelczar MJ, Reid RD. 1979. Microbiology. McGraw Hill Book Co., New York.
- Putra AK. 2009. Boraks dan formalin pada makanan. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Rahayu WP. 2000. Aktivitas antimikroba bumbu masakan tradisional hasil olahan industri terhadap bakteri patogen dan perusak. Buletin Teknologi dan Industri Pangan 11 (2): 22-34.
- Rini R. 2009. Produksi antioksidan dari daun simpur (*Dillenia indica*) menggunakan metode ekstraksi tekanan tinggi dengan sirkulasi pelarut. Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia. Jurusan Teknik Metalurgi dan Material, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.
- Ristiningsih T. 2009. Uji antibakteri komponen bioaktif daun lobak (*Raphanus sativus* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* Rosenbach dan profil kromatografi lapis tipisnya. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Setyabudi, Dondy A, Winarti C et al. 2008. Perlunya standar mutu buah impor: Studi kasus kontaminan pada buah-buahan impor. Prosiding PPI Standardisasi 2008. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Bogor.
- Shelef LA. 1983. Antimicrobial effect of spices. J Food Safety 6: 29-44.
- Ting WTE, Deibel K.E. 1992. Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to spices at two temperatures. J Food Safety 12: 129-137.
- Virganita J. 2009. Uji antibakteri komponen bioaktif daun lobak (*Raphanus sativus* L.) terhadap *Escherichia coli* dan profil kromatografi lapis tipisnya. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Yanti H, Hidayati, Elfawati. 2008. Kualitas daging sapi dengan kemasan plastik PE (*Polyethylen*) dan plastik PP (*Polypropylen*) di Pasar Arengka Kota Pekanbaru. Jurnal Peternakan 5 (1): 22-27.