

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Penelitian Terdahulu

Pengujian aplikasi minyak cengkih pada produk olahan daging menunjukkan bahwa pada konsentrasi 1 ml/l mengurangi populasi bakteri secara nyata ( $P \leq 0.05$ ) sebanyak 0,88-0,99 log CFU/g untuk kedua perlakuan waktu (5 dan 10 menit) dalam hotdog bebas lemak (Singh *et al.*, 2003). Penelitian lain menguji penghambatan pertumbuhan mikroba oleh oleoresin cengkih dengan merendam daging dada ayam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perendaman daging dengan larutan yang mengandung 0,2% dan 0,5% oleoresin cengkih dan minyak pimento selama 1 jam, menunjukkan bahwa secara umum penggunaan 0,5% oleoresin cengkih dan minyak pimento secara signifikan menghambat pertumbuhan *pseudomonas*. Sedangkan pada konsentrasi 0,2% total kapang turun secara signifikan sebanyak 0,5-2 log CFU/g (Carlos dan Harrison, 1999). Penelitian Hamad dan Hartanti (2016), menyatakan bahwa minyak atsiri cengkih pada konsentrasi 250 µg/ml dapat memperpanjang masa simpan tahu hingga 2 hari pada suhu ruang.

Pada penelitian sebelumnya mengenai uji potensi minyak atsiri jahe gajah sebagai bahan pengawet pada tahu putih dan daging ayam. Pada penelitian ini peneliti menggunakan 3 konsentrasi yang berbeda, yaitu 250; 1250; 6250 µg/mL. Digunakannya 3 konsentrasi yang berbeda bertujuan untuk mengetahui pada konsentrasi berapa minyak atsiri jahe gajah dapat digunakan sebagai bahan pengawet pada tahu putih dan daging ayam. Pada sampel tahu putih dilakukan pengamatan pada hari ke 2; 4; 6; 8 dan 10, sedangkan sampel daging ayam dilakukan pengamatan pada hari ke 3; 6; 9; 12 dan 15. Untuk mengetahui potensi minyak atsiri jahe gajah sebagai bahan pengawet pada sampel tahu putih dan daging ayam dilakukan metode perhitungan bakteri dengan menghitung jumlah koloni bakteri pada media NA, nilai absorbansi pada media NB, dan organolpetis. Hasil dari penelitian ini yaitu minyak atsiri jahe gajah memiliki potensi sebagai pengawet alami

pada makanan. Pada tahu putih yaitu pada konsentrasi 1250 µg/ml dapat menghambat pertumbuhan mikroba selama 6 hari dan memperpanjang waktu simpan selama 4 hari dalam suhu kamar. Pada sampel daging ayam minyak atsiri dengan konsentrasi 250 µg/ml dapat menghambat pertumbuhan mikroba selama 9 hari dan dapat memperpanjang waktu simpan selama 3 hari dalam suhu 3 °C -7 °C (Mentari, 2016).

Perbedaan penelitian terdahulu dengan penelitian yang akan dilakukan yaitu pada sampel uji serta metode yang akan digunakan. Pada penelitian yang telah dilakukan menggunakan sampel uji tahu putih, daging ayam serta hotdog bebas lemak, sedangkan pada penelitian ini hanya menggunakan sampel uji daging dada ayam segar. Perbedaan selanjutnya yaitu pada metode yang digunakan, dimana pada penelitian terdahulu hanya menggunakan satu minyak atsiri saja, sedangkan pada penelitian yang akan dilakukan sekarang menggunakan kombinasi dua jenis minyak atsiri dari dua tanaman yang berbeda.

## **B. Tinjauan Pustaka**

### **1. *Foodborne disease - food spoilage***

*Foodborne disease* merupakan salah satu permasalahan kesehatan masyarakat yang paling banyak yang pernah dijumpai di zaman ini. Penyakit ini biasanya bersifat toksik maupun infeksius, disebabkan oleh agen-agen penyakit yang masuk ke dalam tubuh melalui konsumsi makanan yang terkontaminasi. Penyakit ini juga menyebabkan sejumlah besar penderitaan, khususnya di kalangan bayi, anak, lansia, dan mereka yang kekebalan tubuhnya terganggu (WHO, 2006). Adanya berbagai cemaran berbahaya pada pangan dapat mengakibatkan munculnya *foodborne disease*, yaitu penyakit pada manusia yang disebabkan oleh makanan dan atau minuman yang tercemar. Cemaran biologis pada pangan dapat berupa bakteri, virus, parasit, kapang, atau cendawan. Cemaran biologis yang paling berbahaya dan dapat mengakibatkan wabah penyakit pada manusia ialah bakteri patogenik, antara lain *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Bacillus anthracis*, *Clostridium* spp., *Listeria monocytogenes*,

*Campylobacter* spp., *Vibrio cholerae*, *Enterobacter sakazakii*, *Shigella*, *Bacillus cereus*, dll. Bahan pangan yang terkontaminasi bakteri patogenik jika dikonsumsi oleh manusia akan menimbulkan gejala klinis antara lain berupa sakit perut, mual, muntah, diare, kram (kejang) perut, sakit kepala, tidak ada nafsu makan, demam, bahkan dapat mengakibatkan dehidrasi (Kusumaningsih, 2010).

Selain karena bakteri patogen, keracunan makanan dapat terjadi karena bakteri pembusuk (*food spoilage*). *Food spoilage* dapat didefinisikan sebagai perubahan sensorik (tekstur, visual, penciuman atau rasa) sehingga masyarakat yang mengkonsumsi dapat mengalami keracunan makanan. *Food spoilage* dapat disebabkan oleh bakteri pembusuk sehingga mengakibatkan kerusakan fisik pada makanan karena aktivitas enzim atau mikroorganisme (Rawat, 2015).

## **2. Daging ayam**

Daging merupakan jaringan dari hewan dan dapat diolah sehingga dapat dikonsumsi, tanpa mengganggu kesehatan tubuh. Kebanyakan daging ternak yang dijumpai untuk digunakan sebagai bahan makanan yaitu ayam. Daging memiliki kandungan gizi yang sangat lengkap. Selain protein yang tinggi, daging memiliki banyak nutrisi yang baik bagi kesehatan karena adanya asam amino esensial yang lengkap dan seimbang, air, karbohidrat, dan komponen anorganik. Lengkapnya kandungan gizi dan rasa khas yang dimiliki daging, membuat banyak orang senang mengonsumsi daging (Dwiatmaja dan Rakhmadi, 2012).

Daging termasuk bahan pangan yang mudah rusak, karena daging mengandung air yang banyak, zat-zat nutrisi yang cukup baik, serta tidak mempunyai pelindung sehingga mudah dicemari oleh mikroba yang akan merusak daging tersebut. Kerusakan pada daging dapat ditandai dengan adanya perubahan fisik, kimiawi, dan aroma, tekstur menjadi lunak, aroma menjadi bau busuk, berair dan lain-lain. Mutu dari daging pada umumnya ditentukan oleh :

- a. Kelezatan bahan (*palatability*) yang terdiri dari keempukan (*tenderness*), berair (*juiciness*), warna, aroma dan flavor.
- b. Sifat fisis bahan yang terdiri dari kekenyalan (*resilience*), kekukuhan (*firmness*), pengikatan (*binding*) dan kekerasan (*graininess*).
- c. Kandungan nutrisinya, air, protein, lemak dan mineral serta vitamin.
- d. Kandungan mikroba  
(Situmorang, 2008).

Daging ayam banyak digunakan sebagai bahan makanan. Bahkan sekarang banyak dijumpai makanan cepat saji yang selalu menyediakan daging ayam. Jenis ayam yang digunakan biasanya menggunakan jenis ayam potong yaitu ayam pedaging atau ayam broiler. Ayam pedaging memiliki harga yang lebih murah dibandingkan ayam kampung, meskipun rasanya sedikit berbeda (Dwiatmaja dan Rakhmadi, 2012). Daging ayam merupakan salah satu makanan yang bernilai gizi tinggi, karena mengandung karbohidrat, protein, lemak, mineral dan zat lainnya yang berguna bagi tubuh. Daging ayam memiliki rasa yang lezat dan harganya juga relatif murah, sehingga banyak dikonsumsi oleh masyarakat (Buckle *et al.*, 2009). Komposisi kimia daging ayam dapat dilihat pada tabel 2.1.

**Tabel 2.1 Komposisi kimia daging ayam per 100 gram bahan**

Komposisi	Jumlah
Kalori (kal)	302
Protein (g)	18,2
Lemak (g)	25,0
Karbohidrat (g)	0
Kalsium (mg)	14
Fosfor (mg)	200
Besi (mg)	1,5
Nilai vitamin A (SI)	810
Vitamin B1	0,08
Vitamin C (mg)	0
Air (g)	55,9
b.d.d. (%)	58

Sumber : Departemen Kesehatan, R.I., 1996

Selain nutrisi yang lengkap, daging ayam segar berkadar air cukup tinggi, sehingga pada suhu ruang kondisi ini menyebabkan daging ayam yang segar menjadi media yang baik bagi pertumbuhan bakteri patogen maupun bakteri pembusuk. Menurut SNI (2009) persyaratan maksimum mutu mikrobiologi pada daging ayam dapat dilihat pada tabel 2.2.

**Tabel 2.2 Persyaratan maksimum mutu mikrobiologi**

No	Jenis	Satuan	Persyaratan
1	Total plat count	cfu/g	Maksimum $1 \times 10^6$
2	<i>Coliform</i>	cfu/g	Maksimum $1 \times 10^2$
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	cfu/g	Maksimum $1 \times 10^2$
4	<i>Salmonella</i> sp.	Per 25 g	Negatif
5	<i>Escherichia coli</i>	cfu/g	Maksimum $1 \times 10^1$
6	<i>Campylobacter</i> sp.	Per 25 g	Negatif

Sumber : SNI, 2009

### 3. Bahan pengawet makanan

Menurut Badan Pengawasan Makanan dan Obat No. 36 (2013), pengawet adalah bahan tambahan pangan untuk mencegah atau menghambat fermentasi, pengasaman, penguraian, dan kerusakan lainnya terhadap pangan yang disebabkan oleh mikroorganisme.

Penambahan bahan tambahan/zat aditif ke dalam makanan merupakan hal yang dipandang perlu untuk meningkatkan mutu suatu produk sehingga mampu bersaing di pasaran. Bahan tambahan tersebut diantaranya: pewarna, penyedap rasa dan aroma, antioksidan, pengawet, pemanis, dan pengental (Winarno, 1992). Bahan pengawet dalam makanan digunakan untuk membuat makanan tampak lebih berkualitas, tahan lama, menarik, serta rasa dan teksturnya lebih sempurna. Penggunaan bahan pengawet dapat menjadikan bahan makanan bebas dari kehidupan mikroba baik yang bersifat patogen maupun non patogen yang dapat menyebabkan kerusakan bahan makanan seperti pembusukan (Tranggono, dkk, 1990). Bahan pengawet dapat menghambat atau memperlambat proses fermentasi, pengasaman, atau penguraian yang disebabkan oleh mikroba.

Bahan pengawet terdiri dari senyawa organik dan anorganik dalam bentuk asam atau garamnya. Bahan pengawet organik lebih banyak dipakai daripada yang anorganik. Karena bahan ini lebih mudah dibuat. Bahan organik digunakan baik dalam bentuk asam maupun garamnya. Zat pengawet yang sering dipakai sebagai pengawet organik adalah asam sorbat, asam propionat, asam benzoat, asam asetat, dan epoksida. Sedangkan zat pengawet anorganik yang sering digunakan adalah sulfit, nitrat, dan nitrit (Kristianingrum, 2006). Macam-macam pengawet antara lain:

a. Pengawet sintetis

Bahan pengawet sintetis lebih banyak digunakan dibandingkan pengawet alami karena bahan ini mudah dibuat. Zat kimia yang sering digunakan sebagai pengawet organik adalah asam sorbat, asam propionat, asam benzoat, asam asetat dan epoksida. Sedangkan zat pengawet anorganik adalah sulfit, nitrit, dan nitrat (Kristianingrum, 2006). Formalin atau formaldehid merupakan bahan beracun dan berbahaya bagi kesehatan manusia. Pemakaian formalin pada makanan dapat menyebabkan keracunan pada tubuh manusia. Gejala yang biasa timbul antara lain sukar menelan, sakit perut disertai muntah–muntah, mencret darah, timbul depresi susunan saraf atau gangguan pendarahan (Norliana, 2009).

b. Pengawet alami

Pengawet alami biasanya berasal dari tanaman atau rempah-rempah karena mengandung senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri. Berbagai hasil penelitian membuktikan bahwa bahan tambahan makanan sintetik akan memberikan gangguan kesehatan yang cukup serius, sehingga konsumen banyak yang beralih ke bahan alami (Puspitasari *et al.*, 1997).

Bahan pengawet yang diizinkan pada Permenkes No.722/Menkes/Per/IX/88 yaitu: asam benzoate, asam propionate, asam sorbat, sulfur dioksida, etil p-hidroksi benzoate, kalium benzoate, kalium bisulfit, kalium meta bisulfit, kalium nitrat, kalium nitrit, kalium propionate, kalium sorbat, kalium sulfit, kalsium benzoit, kalsium propionate, kalsium sorbat, natrium benzoate, metil p-hidroksi benzoit, natrium bisulfit, natrium

metabisulfit, natrium nitrat, natrium nitrit, natrium propionate, natrium sulfit, nisin dan propil p-hidroksi benzoat. Sedangkan pengawet yang diperbolehkan dan dinyatakan aman dikonsumsi oleh FDA yaitu vitamin C, asam sitrat, natrium dan asam benzoate, sorbat, kitosan, asap cair, kunyit, air KI, sulfur dioksida, kalium nitrit, kalium dan natrium propionate, natrium metasulfat dan asam sorbat.

#### 4. Cengkih (*Syzygium aromaticum*)

Cengkih memiliki nama daerah yang berbeda-beda, yaitu: *clove* (Inggris), cengkih (Jawa, Sunda), wunga lawing (Bali), bunga lawing (Gayo), sake (Nias), cangkih (Lampung), hungolawa (Gorontalo) (Thomas, 2007).

Menurut *Interagency Taxonomic Information System* atau ITIS (2016), tanaman cengkih dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Divisi : Tracheophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Ordo : Myrtales  
Famili : Myrtaceae  
Genus : *Syzygium*  
Spesies : *Syzygium aromaticum*

Cengkih (*S. aromaticum*) atau clove merupakan tanaman asli Indonesia yang memiliki tangkai bunga kering yang beraroma khas. Cengkih banyak digunakan sebagai bumbu masakan pedas di negara-negara Eropa, dan sebagai bahan utama rokok kretek khas Indonesia. Pohon cengkih merupakan tanaman tahunan yang dapat tumbuh dengan tinggi 10-20 m, mempunyai daun berbentuk lonjong yang berbunga pada pucuk-pucuknya. Tangkai buah pada awalnya berwarna hijau, dan berwarna merah jika bunga sudah mekar. Cengkih akan dipanen jika sudah mencapai panjang 1,5-2 cm. Bunga cengkih mengandung minyak atsiri, dan juga senyawa kimia yang disebut eugenol, asam oleanolat, asam galotanat, fenilin, karyofilin, resin dan gom. Minyak esensial dari cengkih mempunyai fungsi anestetik dan

antimikrobal. Minyak cengkih sering digunakan untuk menghilangkan bau nafas dan untuk menghilangkan sakit gigi. Zat yang terkandung dalam cengkih yang bernama eugenol, digunakan dokter gigi untuk menenangkan saraf gigi (Laitupa dan Susane, 2010).

Minyak atsiri daun cengkih memiliki aktivitas antibakteri dengan menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif maupun bakteri gram positif. Senyawa yang mengambil peran penting dalam aktivitas antibakteri tersebut yaitu eugenol yang bersifat asam lemah. Senyawa asam lemah, senyawa-senyawa fenolik dapat terionisasi melepas ion  $H^+$  dan meninggalkan gugus sisanya yang bermuatan negatif. Kondisi yang bermuatan negatif ini akan ditolak oleh dinding sel bakteri gram positif dan negatif.

#### **5. Jahe gajah (*Zingiber officinale* Rosc.)**

Jahe merupakan salah satu jenis tanaman yang termasuk kedalam suku Zingiberaceae. Nama Zingiber berasal dari bahasa Sansekerta “singabera” dan Yunani “Zingiberi” yang berarti tanduk, karena bentuk rimpang jahe mirip dengan tanduk rusa. *Officinale* merupakan bahasa latin (*officina*) yang berarti digunakan dalam farmasi atau pengobatan (Bermawie dan Purwiyanti 2012).

Kedudukan tanaman jahe dalam taksonomi tumbuhan adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Subfamili	: Zingiberoidae
Genus	: Zingiber
Spesies	: <i>Zingiber officinale</i> Roscoe (Hanief, 2013).

Jahe dikenal dengan nama umum (Inggris) ginger atau garden ginger. Nama ginger berasal dari bahasa Perancis: *gingembre*, bahasa Inggris lama : *gingifere*, Latin : *ginginer*, Yunani (Greek) : *zingiberis* (ζιγγίβερις). Namun kata asli dari zingiber berasal dari bahasa *Tamil inji ver*. Istilah botani untuk akar dalam bahasa Tamil adalah *ver*, jadi akar inji adalah inji ver. Di Indonesia jahe memiliki berbagai nama daerah. Di Sumatra disebut halia (Aceh), beuing (Gayo), bahing (Karo), pege (Toba), sipode (Mandailing), lahia (Nias), sipodeh (Minangkabau), page (Lubu), dan jahi (Lampung). Di Jawa, jahe dikenal dengan jahe (Sunda), jae (Jawa), jhai (Madura), dan jae (Kangean). Di Sulawesi, jahe dikenal dengan nama layu (Mongondow), moyuman (Poros), melito (Gorontalo), yuyo (Buol), siwei (Baree), laia (Makassar), dan pace (Bugis). Di Nusa Tenggara, disebut jae (Bali), reja (Bima), alia (Sumba), dan lea (Flores). Di Kalimantan (Dayak), jahe dikenal dengan sebutan lai, di Banjarmasin disebut tipakan. Di Maluku, jahe disebut hairalo (Amahai), pusu, seeia, sehi (Ambon), sehi (Hila), sehil (Nusalaut), siwew (Buns), garaka (Ternate), gora (Tidore), dan laian (Aru). Di Papua, jahe disebut tali (Kalanapat) dan marman (Kapaur). Adanya nama daerah jahe di berbagai wilayah di Indonesia menunjukkan penyebaran jahe meliputi seluruh wilayah Indonesia (Bermawie & Purwiyanti, 2012).

Tanaman jahe memiliki daun yang sempit dengan panjang 15-23 cm, lebar 8-15 mm, tangkai daunnya berambut dengan panjang 2 mm sampai dengan 4 mm. Bentuk daun lidah memanjang, tidak berambut, panjang 7,5 mm sampai dengan 1 cm, seludang agak berambut. Tangkai bunga hampir tidak berambut, panjangnya 25 cm, ibu tangkai daun (*rachis*) berambut jarang, sisim pada tangkai terdapat 5 buah sampai dengan 7 buah, berbentuk lanset, letaknya berdekatan atau rapat, hampir tidak berambut, panjang sisik 3-5 cm. Daun pelindung berbentuk bundar telur terbalik, bulat pada ujungnya, tidak berambut, berwarna hijau cerah, panjang 2,5 cm, lebar 1 cm sampai 1,25 cm, helainya agak sempit berbentuk tajam, berwarna kuning kehijauan, panjang 1,5 cm sampai 2,5 cm. Lebar 2 mm sampai dengan 3,5 mm, bibir (*labellum*) berbintik-bintik berwarna putih kekuningan. Kepala sari berwarna ungu dengan panjang 9mm. Rimpang jahe jika dipotong

berwarna kekuningan. Jahe memiliki akar berbentuk akar serabut dengan warna putih kotor. Rimpang tebal agak melebar, tumbuh bercabang-cabang. Warna rimpang kuning pucat. Bagian dalam berserat agak kasar, warna kuning muda dengan bagian ujung berwarna merah muda. Buah jahe berbentuk bulat hingga bulat panjang, berwarna coklat sedang bijinya berbentuk bulat dengan warna hitam (Ramadhan, 2013).

## 6. Minyak atsiri

Minyak menguap (senyawa volatil) sering disebut minyak atsiri dimana senyawa tersebut merupakan komponen pemberi bau yang khas. Minyak atsiri adalah bahan kimia aromatis yang dihasilkan oleh tanaman, bersifat mudah menguap pada suhu kamar tanpa mengalami dekomposisi dan diperoleh melalui penyulingan uap, pengepresan maupun ekstraksi menggunakan pelarut (Lestari, 2006).

Minyak atsiri merupakan minyak volatil hasil metabolisme sekunder tumbuhan yang diperoleh dari bagian tumbuhan seperti bunga, daun, biji, kulit kayu, buah-buahan dan akar atau rimpang. Minyak atsiri mengandung campuran berbagai senyawa yaitu terpen, alkohol, aseton, fenol, asam, aldehid dan ester, yang umumnya digunakan sebagai pemberi *esens* (aroma) pada produk kosmetika, pemberi citarasa pada pangan, atau sebagai komponen fungsional pada produk farmasi (Rialita, 2014).

Minyak atsiri memiliki komposisi yang berbeda-beda, disebabkan adanya perbedaan jenis tanaman penghasil, kondisi iklim, tanah tempat tumbuh, umur panen, metode ekstraksi yang digunakan dan cara penyimpanan minyak. Minyak atsiri biasanya terdiri dari berbagai campuran persenyawaan kimia yang terbentuk dari unsur karbon (C), hidrogen (H), dan oksigen (O).

## 7. Destilasi

Terdapat 3 metode untuk memperoleh minyak atsiri, yaitu: destilasi (penyulingan), ekstraksi dan pengepresan (penekanan). Destilasi didefinisikan sebagai cara penguapan dari suatu zat dengan perantara uap air

dan proses pengembunan berdasarkan perbedaan titik didihnya. Destilasi merupakan metode yang berfungsi untuk memisahkan dua zat yang saling berbeda, tetapi tergantung beberapa faktor, termasuk juga perbedaan tekanan uap air (berkaitan dengan perbedaan titik didihnya) dari komponen-komponen tersebut. Destilasi melepaskan uap air pada sebuah zat yang tercampur yang kaya dengan komponen yang mudah menguap dari pada zat tersebut.

Hasil destilasi berupa minyak atsiri kasar yang mengandung air, diperlukan proses untuk penarikan air dari minyak atsiri agar kualitas minyak atsiri meningkat dan warna menjadi jernih. Metode penarikan air menggunakan Natrium Sulfat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) anhidrat, dimana air akan ditarik oleh  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat hingga dihasilkan minyak atsiri dengan kemurnian yang tinggi.

Metode destilasi dibagi menjadi 3 metode, yaitu:

1. Destilasi air

Bahan yang akan didestilasi harus kontak langsung dengan air sampai terendam seluruhnya atau mengapung tergantung dari berat jenis dan jumlah bahan yang akan didestilasi (Sastrohamidjojo, 2004). Air dipanaskan dengan metode pemanasan yang biasa dilakukan, yaitu dengan panas langsung, mantel uap, pipa uap melingkar tertutup, atau dengan memakai pipa uap berlingkar terbuka atau berlubang. Penyulingan dengan cara langsung ini dapat menyebabkan banyaknya rendemen minyak yang hilang (tidak tersuling) dan terjadi pula penurunan mutu minyak yang diperoleh.

2. Destilasi air dan uap air

Bahan yang akan didestilasi diletakkan di atas rak atau saringan berlubang dengan air berada di bawah saringan tersebut. Air yang dipanaskan menyebabkan uap air yang basah, jenuh dan tidak terlalu panas. Bahan tersebut hanya mengalami kontak dengan uap dari pemanasan air atau tidak kontak langsung.

### 3. Destilasi dengan uap langsung

Air penyulingan tidak diisi langsung di dalam alat destilasi. uap jenuh atau uap kelewat panas (di atas 1 atm) dialirkan pada pipa uap berpori pada bagian bawah bahan dan kemudian bergerak ke atas melewati saringan dan kontak dengan bahan (Indriyanti, 2013).

## 8. Kromatografi gas – spektrometri massa

Kromatografi Gas (KG) merupakan metode yang dinamis untuk pemisahan dan deteksi senyawa-senyawa yang mudah menguap dalam suatu campuran. Kromatografi gas merupakan teknik pemisahan yang mana solut – solut yang mudah menguap dan stabil terhadap panas bermigrasi melalui kolom yang mengandung fase diam dengan suatu kecepatan yang tergantung pada rasio distribusinya. Pada umumnya solut akan terelusi berdasarkan pada peningkatan titik didihnya, kecuali jika ada interaksi khusus antara solut dengan fase diam. Pemisahan pada kromatografi gas didasarkan pada titik didih suatu senyawa dikurangi dengan semua interaksi yang mungkin terjadi antara solut dengan fase diam. Fase gerak yang berupa gas akan mengelusi solut dari ujung kolom lalu menghantarkannya ke detektor. Penggunaan suhu yang meningkat (biasanya pada kisaran 50 – 350 °C) bertujuan untuk menjamin bahwa solut akan menguap dan karenanya akan cepat terelusi (Gandjar, 2007).

Kromatografi gas merupakan metode yang tepat dan cepat untuk memisahkan campuran yang sangat rumit. Waktu yang dibutuhkan beragam, mulai dari beberapa detik untuk campuran sederhana sampai berjam – jam untuk campuran yang mengandung 500 – 1000 komponen. Metode ini sangat baik untuk analisa senyawa organik yang mudah menguap seperti hidrokarbon dan eter. Efisiensi pemisahan ditentukan dengan besarnya interaksi antara sampel dan cairan dengan menggunakan fase cair standar yang diketahui efektif untuk berbagai senyawa. Sampel yang ideal dalam kromatografi gas adalah sampel yang hanya mengandung senyawa yang akan dipisahkan dalam kolom, dan dalam banyak hal juga pelarut yang mudah menguap yang melarutkan sampel tersebut. Walaupun

cairan yang mudah menguap ( tidak dalam larutan ) serta zat padat yang mudah menguap dapat langsung disuntikkan, tetapi kebanyakan dilarutkan dahulu dalam pelarut organik baru kemudian disuntikkan. Konsentrasi sampel biasa berkisar antara 1 – 10%. Komponen yang tidak mudah menguap atau tingkat menguapnya rendah tidak boleh ada dalam sampel, karena komponen ini akan tinggal dalam ruang suntik yang pada akhirnya akan mengurangi kinerja kolom (Tampubolon, 2009).

Kromatografi gas sendiri terdiri dari 2 yaitu kromatografi gas – cair (KGC) dan kromatografi gas – padat (KGP). Dimana pada kromatografi gas – cair fase diam yang digunakan adalah cairan yang diikatkan pada suatu pendukung sehingga solut akan terlarut dalam fase diam dan mekanisme absorpsinya adalah partisi, sedangkan pada kromatografi gas – padat fase diam yang digunakan adalah padatan (kadang – kadang polimerik) dan mekanisme absorpsinya adalah adsorpsi (Gandjar, 2007).

## 9. Metode uji pertumbuhan bakteri

Pertumbuhan mikroorganisme dapat diukur dengan dua cara, yaitu secara langsung dan tidak langsung (Pratiwi, 2008).

### a. Pengukuran secara langsung

#### 1) Pengukuran dengan menggunakan bilik hitung (*Counting chamber*)

Pada pengukuran ini, untuk bakteri digunakan bilik hitung *Petroff Hausser*, sedangkan untuk mikroorganisme eukariot digunakan hemositometer. Keuntungan menggunakan metode ini adalah mudah, murah, dan cepat, serta bisa diperoleh informasi tentang ukuran dan morfologi mikroorganisme. Kerugiannya adalah populasi mikroorganisme yang digunakan harus banyak (minimum berkisar  $10^6$  CFU/ml), karena pengukuran dengan volume dalam jumlah sedikit tidak dapat membedakan antara sel hidup dan sel mati, serta kesulitan menghitung sel yang motil.

#### 2) Pengukuran menggunakan *electronic counter*

Suspensi mikroorganisme dialirkan melalui lubang kecil (*orifice*) dengan bantuan aliran listrik. Elektroda yang ditempatkan pada dua

sisi *orifice* mengukur tahanan listrik (ditandai dengan naiknya tahanan) pada saat bakteri melalui *orifice*. Pada saat inilah sel terhitung. Keuntungan metode ini adalah hasil bisa diperoleh dengan lebih cepat dan lebih akurat, serta dapat menghitung sel dengan ukuran besar.

3) Pengukuran dengan *plating thecnique*

Metode ini merupakan metode perhitungan jumlah sel tampak (*visible*) dan didasarkan pada asumsi bahwa bakteri hidup akan tumbuh, membelah, dan memproduksi satu koloni tunggal. Satuan perhitungan yang dipakai adalah CFU (*Colony Forming Unit*) dengan cara membuat seri pengenceran sampel dan menumbuhkan sampel pada media padat. Pengukuran dilakukan pada plate dengan jumlah koloni berkisar 25-250 atau 30-300. Keuntungan metode ini adalah sederhana, mudah, dan sensitif karena menggunakan *colony counter* sebagai alat hitung dan dapat digunakan untuk menghitung mikroorganisme pada sampel makanan, air, ataupun tanah. Kerugiannya adalah harus digunakan media yang sesuai dan perhitungannya yang kurang akurat karena satu koloni tidak selalu berasal dari satu individu sel.

4) Pengukuran dengan menggunakan teknik filtrasi membran (*membrane filtration technique*)

Pada metode ini sampel dialirkan pada suatu sistem filter membran dengan bantuan *vacum*. Bakteri yang terperangkap selanjutnya ditumbuhkan pada media yang sesuai dan jumlah koloni dihitung. Keuntungan metode ini adalah dapat menghitung sel hidup dan sistem perhitungannya langsung, sedangkan kerugiannya adalah tidak ekonomis.

b. Pengukuran secara tidak langsung (Pratiwi, 2008)

1) Pengukuran kekeruhan (*turbidity*)

Bakteri yang bermultiplikasi pada media cair akan menyebabkan media menjadi keruh. Alat yang digunakan untuk pengukuran adalah spektrofotometer atau kolorimeter dengan cara

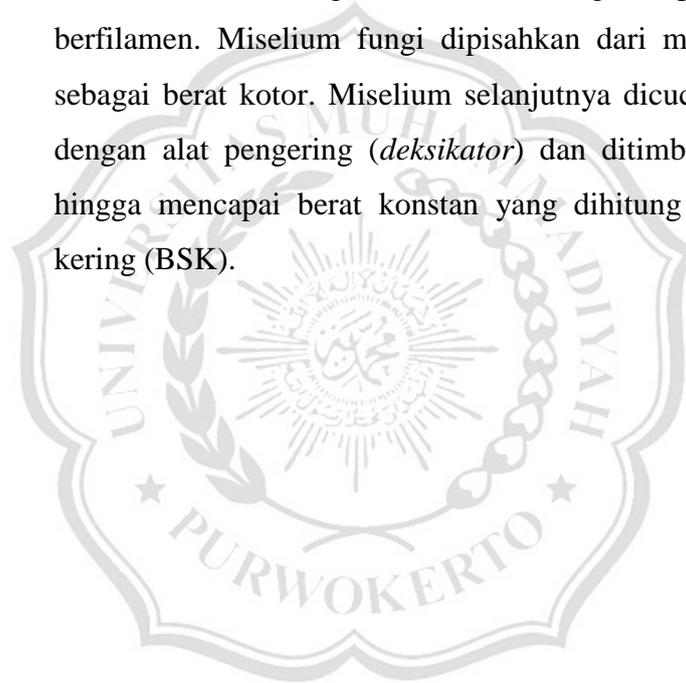
membandingkan densitas optik (*optical density*, OD) antara media tanpa pertumbuhan bakteri dan media dengan pertumbuhan bakteri.

2) Pengukuran aktivitas metabolik

Metode ini didasarkan pada asumsi bahwa jumlah produk metabolik tertentu, misalnya asam atau CO<sub>2</sub>, menunjukkan jumlah mikroorganisme yang terdapat di dalam media. Misalnya pengukuran produksi asam untuk menentukan jumlah vitamin yang dihasilkan mikroorganisme.

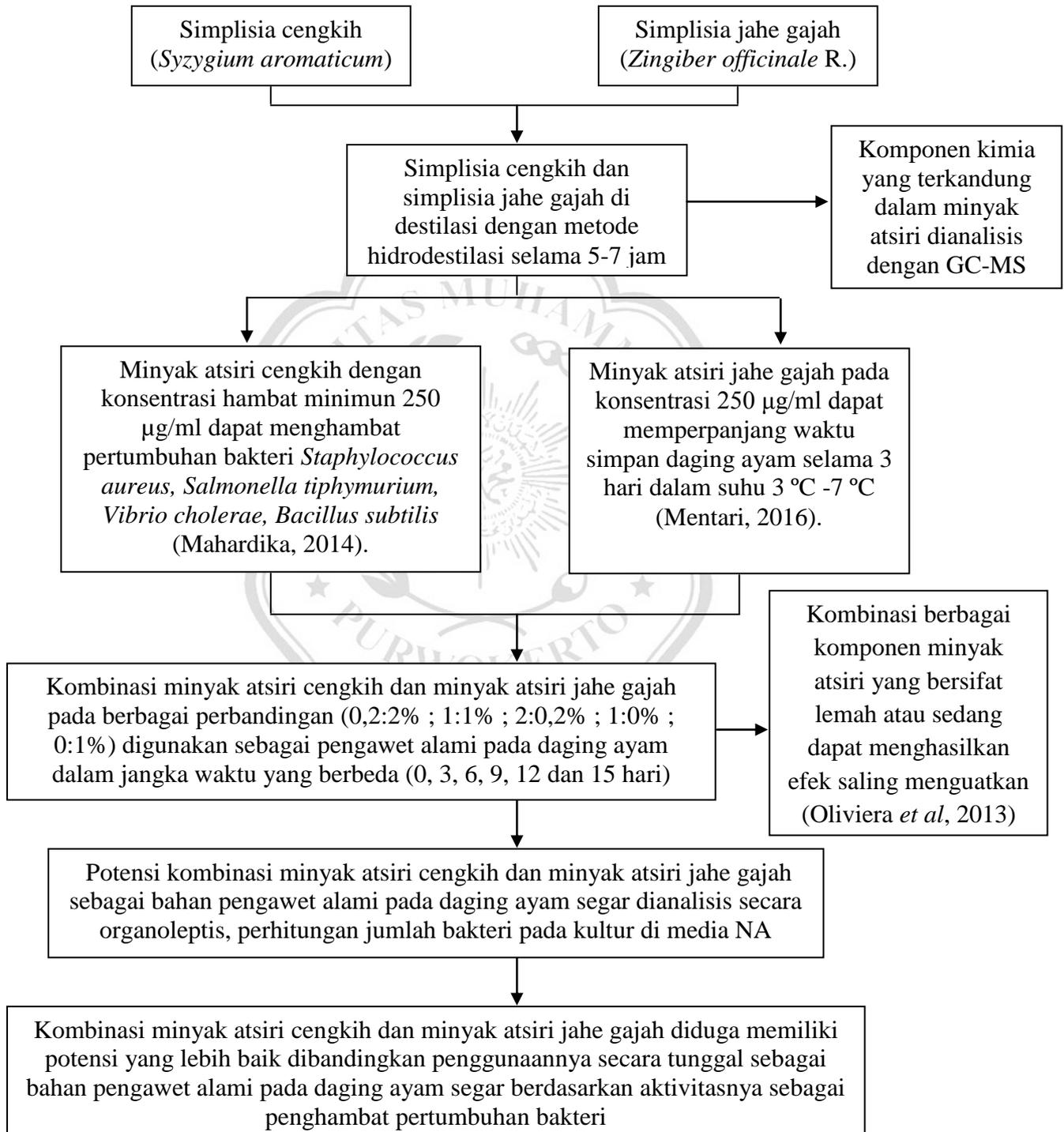
3) Pengukuran berat sel kering (BSK)

Metode ini umum digunakan untuk mengukur pertumbuhan fungi berfilamen. Miselium fungi dipisahkan dari media dan dihitung sebagai berat kotor. Miselium selanjutnya dicuci dan dikeringkan dengan alat pengering (*deksikator*) dan ditimbang beberapa kali hingga mencapai berat konstan yang dihitung sebagai berat sel kering (BSK).



### C. Kerangka Konsep Penelitian

Kerangka konsep penelitian identifikasi komponen kimia dan uji potensi kombinasi minyak atsiri cengkih (*syzygium aromaticum*) dan jahe gajah (*zingiber officinale roscoe*) sebagai pengawet alami pada daging ayam segar dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Kerangka Konsep Penelitian

#### **D. Hipotesis**

Kombinasi minyak atsiri cengkih dan minyak atsiri jahe gajah diduga memiliki potensi yang lebih baik dibandingkan penggunaannya secara tunggal sebagai bahan pengawet alami pada daging ayam segar serta memiliki aktivitas antibakteri berdasarkan pengamatan pertumbuhan bakteri secara organoleptis dan jumlah bakteri pada daging ayam yang telah diawetkan yang dikultur pada media NA.

