**PENDUGAAN UMUR SIMPAN DAGING SAPI (*Bos taurus*) *CURED* DENGAN METODE ASLT (*ACCELERATED SHELF LIFE TESTING*) BERDASARKAN EFEKTIVITAS pH DAN KONSENTRASI EKSTRAK KAYU SECANG (*Caesalpinia sappan L.*)**

|  |
| --- |
| **ARTIKEL** |

Diajukan untuk Memenuhi Syarat Penelitian

Program Studi Magister Teknologi Pangan

**Oleh :**

**Tanty Sulistiani Widodo**

**168050003**

****

**PROGRAM STUDI MAGISTER TEKNOLOGI PANGAN**

**PROGRAM PASCASARJANA**

**UNIVERSITAS PASUNDAN**

**BANDUNG**

**2019**

**PENDUGAAN UMUR SIMPAN DAGING SAPI (*Bos taurus*) *CURED* DENGAN METODE ASLT (*ACCELERATED SHELF LIFE TESTING*) BERDASARKAN EFEKTIVITAS pH DAN KONSENTRASI EKSTRAK KAYU SECANG (*Caesalpinia sappan L.*)**

Tanty Sulistiani Widodo\*),

Yudi Garnida \*\*), dan Willy Pranata Widjadja\*\*\*)

\*)Mahasiswa Magister Teknologi Pangan Universitas Pasundan, Bandung

\*\*)Dosen Pembimbing Utama, \*\*\*)Dosen Pembimbing Pendamping

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui umur simpan daging sapi *cured* menggunakan ekstrak kayu secang berdasarkan pH dan konsentrasi terpilih. Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan alternatif bahan *curing* yang aman, menginformasikan mengenai efektivitas pH dan konsentrasi ekstrak kayu secang pada proses *curing* daging sapi serta menduga umur simpan daging sapi *cured* dengan suhu yang berbeda.

Penelitian terdiri dari 4 tahap. Tahap pertama yaitu analisis daging segar dan ekstrak kayu secang. Tahap kedua menentukan jenis ekstrak (cair, serbuk, dan larutan ekstrak). Tahap ketiga menentukan pH dan konsentrasi ekstrak. Faktor penelitian yaitu pH (pH 5, pH 7, pH 8) serta konsentrasi ekstrak (5%, 10%, 15%) menggunakan RAK faktorial. Respon analisis meliputi perbedaan warna, kadar protein, ALT, serta uji skoring terhadap warna, aroma, dan tekstur. Tahap keempat yaitu menduga umur simpan daging sapi *cured*. Penyimpanan pada suhu 5°C, 25°C dan 45°C selama 8 hari menggunakan metode ASLT model *Arrhenius*. Responanalisis meliputi perbedaan warna, kadar air, dan total *Staphylococcus aureus*.

Hasil penelitian tahap pertama daging sapi segar mengandung kadar air 66.8530%, kadar protein 18.2038%, ALT 2.67x105 CFU/mL, total *Staphylococcus aureus* 2.385x103CFU/mL, dan nilai L\* 66.90, a\* 3.24, b\* -2.65. Nilai Rf ekstrak cair 0.6138, ekstrak serbuk 0.6473, dan larutan ekstrak 0.5897. Total flavonoid ekstrak cair 4.1377%, ekstrak serbuk 6.2370%, serta larutan ekstrak 1.1580%. Uji senyawa antimikroba menunjukkan semakin tinggi konsentrasi, zona hambat semakin besar. Jenis ekstrak terpilih tahap kedua adalah larutan ekstrak kayu secang. Hasil tahap ketiga menunjukkan bahwa pH larutan ekstrak efektif terhadap warna, tekstur, perbedaan warna, dan kadar protein. Konsentrasi larutan ekstrak efektif terhadap warna, aroma, dan perbedaan warna. Interaksi pH dan konsentrasi larutan ekstrak efektif terhadap ALT. Perlakuan terpilih tahap ketiga adalah pH 8 dengan konsentrasi larutan ekstrak 15%. Hasil tahap keempat yaitu umur simpan daging sapi *cured* berdasarkan respon total *Staphylococcus aureus* pada suhu 0°C, 10°C, dan 25°C adalah 9.99 hari, 4.19 hari, dan 1.66 hari.

Kata kunci: daging sapi *cured*, ekstrak kayu secang, pH, konsentrasi ekstrak, umur simpan

**PENDUGAAN UMUR SIMPAN DAGING SAPI (*Bos taurus*) *CURED* DENGAN METODE ASLT (*ACCELERATED SHELF LIFE TESTING*) BERDASARKAN EFEKTIVITAS pH DAN KONSENTRASI EKSTRAK KAYU SECANG (*Caesalpinia sappan L.*)**

Tanty Sulistiani Widodo\*),

Yudi Garnida \*\*), dan Willy Pranata Widjadja\*\*\*)

\*)Mahasiswa Magister Teknologi Pangan Universitas Pasundan, Bandung

\*\*)Dosen Pembimbing Utama, \*\*\*)Dosen Pembimbing Pendamping

*ABSTRACT*

*The purpose of this study was to determine shelf life of beef cured using secang wood extract based on selected pH and concentration. The benefit of this study was to provide an safe alternative curing material, provides information about the effectiveness of pH and the concentration of secang wood extract in the curing process of beef and to estimate the shelf life of beef cured at different temperatures.*

*The study consisted of 4 stages. The first stage was analysis of fresh meat and secang wood extract. The second stage determines the type of secang wood extract (liquid extract, powder extract, and extract solution). The third stage determines pH and concentration of extract. Factor consisted of pH extracts (pH 5, pH 7, pH 8) and extract concentrations (5%, 10%, 15%) used Factorial Randomized Block Design. The analysis was color differences, protein content, TPC and scoring tests of color, aroma, and texture. The fourth stage was estimate the shelf life of cured beef. Storage at 5°C, 25°C and 45°C for 8 days based on the ASLT method. The analysis was color differences, water content, and total Staphylococcus aureus.*

*The results of the first phase showed that fresh beef contained 66.8530% water content, 18.2038% protein content, microbial total of 2.67x105 CFU/mL, Staphylococcus aureus of 2.385x103CFU/mL, and color analysis with L\* 66.90, a\* 3.24, b\* -2.65. The value of Rf liquid extract 0.6138, extract powder 0.6473, and extract solution 0.5897. Total flavonoids of liquid extract 4.1377%, powder extracts 6.2370%, and extract solutions 1.1580%. Antimicrobial compounds showed that the higher concentration, the greater inhibition zone. The results of the second phase was a solution of secang wood extract. The results of the third showed that the pH of the extract solution was effective on color, texture, color difference, and protein content. The concentration of extract solution was effective on color, aroma, and color difference. The interaction of pH and concentration of extract solution was effective on TPC. The chosen treatment in the third phase was pH 8 with a concentration of 15% extract solution. The results of the fourth stage was the shelf life of beef cured based on response of total Staphylococcus aureus at temperatures 0°C, 10°C, and 25°C was 9.99 days, 4.19 days, and 1.66 days.*

*Keywords: meat cured, secang wood extract, pH, concentration of extract, shelf life*

**PENDAHULUAN**

**Latar Belakang**

Daging adalah salah satu komoditi hasil peternakan yang dibutuhkan untuk memenuhi kebutuhan tubuh akan zat gizi (Lawrie, 2003). Daging sangat memenuhi syarat untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroorgansime sehingga sangat mudah mengalami kerusakan apabila disimpan pada suhu kamar (Suarlan, 2017). Daya simpan daging sapi tanpa diawetkan adalah sekitar 1-2 hari (Winarto, 1983 dalam Cory, 2009). Setelah hewan mati, sirkulasi darah terhenti yang menyebabkan metabolisme berubah menjadi sistem anaerobik sehingga terbentuk asam laktat (Muchtadi, 2010).

Cara untuk mengontrol pertumbuhan dan perkembangan bakteri serta menghambat proses kerusakan diperlukan penanganan khusus terhadap daging yaitu dengan cara pengawetan yaitu dengan proses *curing*. *Curing* didefinisikan sebagai penambahan garam dapur, garam nitrat atau garam nitrit, gula, atau bumbu-bumbu pada daging dengan tujuan memperoleh warna merah yang stabil (Soeparno 1994 dalam Kosim, 2015). Residu nitrit yang terdapat dalam daging *curing* dapat bereaksi dengan amina sekunder atau tersier protein membentuk senyawa yang bersifat karsinogenik yaitu nitrosamin sebagai pemicu kanker (Suryati *et al.* 2014 dalam Kosim, 2015).

Salah satu bahan yang memiliki potensi sebagai pengawet dan memberikan warna alami yaitu kayu secang. Komponen senyawa bioaktif yang terkandung dalam kayu secang seperti *brazilin, brazilein, 3’-O-metilbrazilin*, *sappanone, chalcone, sappancalchone* dan komponen umum lainnya seperti asam amino, karbohidrat dan asam palmitat yang jumlahnya relatif sangat kecil. *Brazeilin* diduga dapat mempunyai efek melindungi tubuh dari keracunan akibat radikal kimia karena memiliki senyawa antioksidan serta bersifat antibakteri dan bakteriostatik (Rina, 2013). Pigmen brazilein seperti halnya brazilin, memiliki warna berbeda-beda tergantung tingkat keasaman (pH) lingkungannya (Azmi, 2017).

Metode ASLT adalah metode pendugaan umur simpan dengan mempercepat reaksi penurunan mutu melalui cara mengkondisikan produk makanan diatas kondisi penyimpanan normal (Labuza, 2007 dalam Haryati, 2015). Dalam metode ASLT suhu berperan sebagai parameter kunci penentu kerusakan makanan, karena semakin tinggi suhu, kerusakan makanan akan semakin cepat. Hubungan antara suhu dengan kecepatan penurunan mutu dapat dilihat menggunakan persamaan Arrhenius (Haryati, 2015).

**Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui berapa lama umur simpan daging sapi *cured* menggunakan ekstrak kayu secang dengan pH dan konsentrasi terpilih berdasarkan metode ASLT model *Arrhenius*.

**Manfaat Penelitian**

1. Memberikan alternatif bahan *curing* yang aman karena berasal dari pangan alami.
2. Memberikan informasi mengenai efektivitas pH dan konsentrasi ekstrak kayu secang sebagai bahan pangan alami pada proses *curing* daging sapi
3. Menduga umur simpan dari daging sapi dengan suhu yang berbeda setelah dilakukan proses *curing*

**BAHAN, ALAT, DAN METODE PENELITIAN**

**Bahan dan Alat Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam peneitian ini adalah daging sapi lokal segar bagian *chuck* (paha depan), kayu secang (dari toko Baba Kuya Bandung), etanol 96% (v/v), larutan natrium bikarbonat 5%, larutan asam sitrat 5%, tween 80, dan dekstrin.

Bahan yang digunakan untuk pengujian senyawa antimikroba adalah suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*, *Mueller Hinton Agar*, dan *Mueller Hinton Broth*. Bahan yang digunakan untuk pengujian KLT (Kromatografi Lapis Tipis) adalah metanol, n-heksan, *aquadest*, kloroform, dan silika gel. Bahan yang digunakan untuk pengujian kadar flavonoid metode AlCl3 adalah etanol, metanol, AlCl3 10%, natrium asetat 1M, dan *aquadest*. Bahan yang digunakan untuk analisis Angka Lempeng Total (ALT)adalah air steril dan *Plate Count Agar* (PCA). Bahan yang digunakan untuk analisis perhitungan total *Staphylococcus aureus* adalah air steril dan *Manitol Salt Agar* (MSA). Bahan yang digunakan untuk analisis kadar protein metode kjeldahladalah garam kjeldahl, H2SO4, *aquadest*, NaOH 30%, granula Zn, HCl 0.1N, NaOH 0.1N, dan indikator PP.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, gelas kimia, corong, kertas saring, labu ukur, batang pengaduk, *rotary evaporator*, plastik nylon 80 micron, wadah, pisau, *tunnel dryer*, *mixer*, *tray*, spatula, pengayak, plastik HDPE, *refrigerator,* indikator universal, pH meter dan neraca.

Alat yang digunakan untuk analisis adalah neraca, mortar, dan alu, tabung reaksi, kertas saring, lampu spiritus, pipet volumetri, pipet mikron, filler, kolorimeter, cawan penguap, batu didih, cawan petri, inkubator, kawat ose, oven, eksikator, labu kjeldahl, labu takar, destilator, gelas ukur, erlenmeyer, buret, corong pisah, kolom kromatografi, plat kromatografi, *rotary vacuum evaporator, sentrifuge*, *vortex mixer*, cakram kertas,dan spektrofotometer UV-Vis.

**Metode Penelitian**

Penelitian ini dilakukan melalui empat tahap yaitu penelitian tahap pertama, penelitian tahap kedua, penelitian tahap ketiga, dan penelitian tahap keempat.

1. **Penelitian Tahap Pertama**

Penelitian tahap pertama adalah analisis bahan baku yang digunakan, yaitu daging sapi lokal segar bagian *chuck,* ekstrak cair kayu secang, ekstrak serbuk kayu secang, dan larutan ekstrak kayu secang (ekstrak serbuk (1): air (3)).

Analisis yang dilakukan untuk daging sapi lokal segar meliputi analisis perbedaan warna metode kolorimetri, kadar protein metode Kjeldahl, kadar air metode gravimetri, Angka Lempeng Total (ALT), serta total *Staphylococcus aureus*. Analisis yang dilakukan untuk ekstrak cair, ekstrak serbuk, dan larutan ekstrak kayu secang, yaitu identifikasi senyawa brazilin dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis), analisis kadar flavonoid metode AlCl3, dan pengujian senyawa antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus*.

1. **Penelitian Tahap Kedua**

Penelitian tahap kedua adalah penentuan jenis ekstrak kayu secang yang akan digunakan untuk proses *curing*. Jenis ekstrak yang digunakan, yaitu ekstrak cair kayu secang, ekstrak serbuk kayu secang, serta larutan ekstrak kayu secang (ekstrak serbuk yang dilarutkan dalam air dengan perbandingan 1:3).

Respon yang dilakukan untuk menentukan jenis ekstrak kayu secangterbaik yaitu respon mikrobiologi dengan Angka Lempeng Total (ALT) serta respon organoleptik dengan metode uji skoring terhadap warna, aroma, dan tekstur (*handfeel)*. Pengujian dilakukan kepada 10 orang panelis terpilih.

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian tahap kedua adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor, yaitu jenis ekstrak kayu secang yang terdiri dari 3 taraf (ekstrak cair, ekstrak serbuk, serta larutan ekstrak). Setiap perlakuan diulang sebanyak 6 kali sehingga diperoleh 18 satuan percobaan.

1. **Penelitian Tahap Ketiga**

Penelitian tahap ketiga merupakan kelanjutan dari penelitian tahap kedua yang bertujuan untuk menentukan pH dan konsentrasi ekstrak kayu secang yang akan digunakan pada proses *curing* daging sapi. Faktor yang digunakan pada penelitian tahap ketiga, antara lain faktor pH ekstrak kayu secang (A) terdiri dari 3 taraf, yaitu pH 5, pH 7, dan pH 8 serta konsentrasi ekstrak kayu secang (B) terdiri dari 3 taraf, yaitu 5%, 10%, dan 15%.

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian tahap ketiga adalah rancangan acak kelompok (RAK) faktorial dengan 2 faktor, masing-masing faktor terdiri dari 3 taraf, sehingga didapatkan 9 kombinasi perlakuan. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali, sehingga diperoleh 27 satuan percobaan. Model rancangan penelitian dapat dilihat pada tabel 1 dan *lay out* percobaan RAK faktorial 3x3 dengan 3 kali ulangan dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 1. Rancangan Acak Kelompok Penelitian Tahap Ketiga

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **pH Ekstrak Kayu Secang (A)** | **Konsentrasi Ekstrak Kayu Secang (B)** | **Ulangan** | | |
| **I** | **II** | **III** |
| a1 | b1  b2  b3 | a1b1  a1b2  a1b3 | a1b1  a1b2  a1b3 | a1b1  a1b2  a1b3 |
| a2 | b1  b2  b3 | a2b1  a2b2  a2b3 | a2b1  a2b2  a2b3 | a2b1  a2b2  a2b3 |
| a3 | b1  b2  b3 | a3b1  a3b2  a3b3 | a3b1  a3b2  a3b3 | a3b1  a3b2  a3b3 |

Tabel 2. *Lay Out* Percobaan dalam RAK Penelitian Tahap Ketiga

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Kelompok Ulangan 1 | a3b1 | a2b3 | a1b1 | a1b3 | a3b3 | a2b1 | a1b2 | a3b2 | a2b2 |
| Kelompok Ulangan 2 | a1b3 | a3b3 | a2b1 | a2b2 | a2b3 | a3b1 | a3b2 | a1b2 | a1b1 |
| Kelompok Ulangan 3 | a2b3 | a1b3 | a3b3 | a2b1 | a3b2 | a1b2 | a1b1 | a3b1 | a2b2 |

Tabel 3. Analisis Variansi (ANAVA) Penelitian Tahap Ketiga

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Sumber Keragaman** | **Derajat Bebas (DB)** | **Jumlah Kuadrat (JK)** | **Kuadrat Tengah (KT) (JK/DB)** | **F Hitung** | **F Tabel 5%** |
| Kelompok | r-1 | JKK | KTK | KT(A)/KTG  KT(B/KTG  KT(AB)/KTG | 3.63  3.63  3.01 |
| Perlakuan | ab-1 | JKP | KTP |
| pH Ekstrak Kayu Secang (A) | a-1 | JK(A) | KT(A) |
| Konsentrasi Ekstrak Kayu Secang (B) | b-1 | JK(B) | KT(B) |
| Interaksi (AB) | (a-1)(b-1) | JK(AB) | KT(AB) |
| Galat | (r-1)(ab-1) | JKG | KTG |
| **Total** | **rlk-1** | **JKT** | **-** |

Sumber: Gasperz, 1995

Berdasarkan data yang telah diperoleh dengan menggunakan rumus yang ditunjukkan di atas maka didapatkan kaidah keputusan sebagai berikut:

1. Jika F hitung > F tabel pada taraf 5%, maka perlakuan pH dan konsentrasi ekstrak kayu secang, serta interaksinya efektif terhadap daging sapi *cured*. Dengan demikian hipotesis diterima dan dilakukan uji lanjut *Duncan*.
2. Jika F hitung < F tabel pada taraf 5%, maka perlakuan pH dan konsentrasi ekstrak kayu secang, serta interaksinya tidak efektif terhadap daging sapi *cured*. Dengan demikian hipotesis penelitian ditolak.

Rancangan respon yang dilakukan pada penelitian tahap ketiga adalah respon fisik yang dilakukan terhadap daging sapi *cured* yaitu analisis perbedaan warna dengan metode Kolorimetri. Respon kimia yang dilakukan terhadap daging sapi *cured* yaitu penentuan kadar protein dengan metode Kjeldahl. Respon Mikrobiologi yang dilakukan terhadap daging sapi *cured* yaitu Angka Lempeng Total (ALT) untuk menghitung jumlah total mikroorganisme. Respon organoleptik yang dilakukan terhadap daging sapi *cured* yaitu uji skoring terhadap atribut warna, aroma, dan tekstur (*handfeel)* kepada 10 orang panelis terpilih.

**Penentuan Perlakuan Terbaik**

Penentuan perlakuan terbaik pada tahap kedua dan ketiga menggunakan metode statistika (skoring). Data yang digunakan adalah data yang telah dilakukan pengolahan data atau nilai rata-rata data transformasi pada masing-masing respon.

1. **Penelitian Tahap Keempat**

Penelitian tahap keempat merupakan kelanjutan dari penelitian tahap ketiga yang bertujuan untuk menentukan umur simpan daging sapi *cured*. Penelitian tahap keempat meliputi penentuan parameter kritis dan pendugaan umur simpan dengan metode ASLT pendekatan *Arrhenius*.

**Penentuan Parameter Kritis**

Penentuan parameter kritis dari produkdilakukan dengan mengemas daging sapi *cured* dengan plastik *nylon* 80*micron* dan disimpan pada suhu 45°C serta diamati setiap 12 jam sekali. Kemudian dilakukan pengamatan secara organoleptik terhadap warna, tekstur, dan aroma oleh 15 orang panelis hingga daging sapi *cured* dianggap rusak. Kerusakan produk ditandai dengan penolakan produk oleh 50% dari panelis (Hough, 2006 dalam Diniyah 2015). Setelah itu dilakukan analisa respon perbedaan warna, kadar air, dan total *Staphylococcus aureus* pada produk.

**Pendugaan Umur Simpan**

Pendugaan umur simpan daging sapi *cured* dilakukan dengan mengemas daging *cured* dengan plastik *nylon* dengan ketebalan 80*micron* dan disimpan pada suhu 0°C, 10°C, dan 25°C selama 8 hari dimana pengamatan dilakukan pada hari ke 0, 2, 4, 6, dan 8. Kemudian dilakukan pendugaan umur simpan daging sapi *cured* melalui pengukuran laju penurunan parameter mutu dengan model ASLT (*Accelerated Shelf Life Testing*).

Rancangan perlakuan pada penelitian ini terdiri 2 (dua) variabel, yaitu hubungan yang meliputi lama penyimpanan dan parameter yang digunakan, maka diambil variabel bebas X = lama penyimpanan selama 8 hari yang diamati 2 hari sekali dimulai dari hari ke 0, 2, 4 ,6 , dan 8. Variabel tak bebas Y = nilai respon yang diukur yaitu analisis perbedaan warna, kadar air, dan total *Staphylococcus aureus* yang akan disimpan pada tiga suhu yang berbeda yaitu pada suhu 0°C, 100C dan 25°C. Selanjutnya, akan didapatkan data pada setiap suhu yang akan di representasikan kedalam kurva regresi linear dimana kurva tersebut akan menunjukkan perubahan yang terjadi dari respon yang diukur pada setiap kondisi suhu selama proses penyimpanan berlangsung. Kemudian dengan persamaan regresi linear dapat diketahui perubahan pada daging sapi *cured* selama penyimpanan tersebut berdasarkan respon yang diuji.

Hasil dari data dalam tabel tersebut kemudian diplot kedalam kurva sehingga akan didapatkan persamaan regresi linier y = a + bx. Penggunaan regresi linier akan memperoleh koefisien determinasi (r). Setiap nilai b yang diperoleh merupakan konstanta penurunan mutu (k) setiap suhu penyimpanan. Untuk menentukan ordo reaksi yang digunakan dibuat grafik ordo nol yaitu hubungan antara nilai k dengan lama penyimpanan dan ordo satu yaitu hubungan antara ln k dengan lama penyimpanan. Dari kedua persamaan tersebut dipilih ordo reaksi yang mempunyai nilai R2 (determinasi) terbesar untuk menentukan umur simpan (Goncalves *et al*., 2011 dalam Arif, 2016). Selanjutnya, apabila nilai-nilai k diterapkan dalam rumus *Arrhenius*, yaitu k = ko e –Ea/RT.Persamaan tersebut dapat ditulis menjadi persamaan ln k = ln ko – (Ea/RT) (1/T) karena ln ko dan –E/RT merupakan bilangan konstanta, maka persamaan tersebut dapat dituliskan menjadi ln k = A + B (1/T). Hasil dari data dalam tabel kemudian diplot ke kurva sehingga akan didapatkan regresi liniernya, sehingga apabila setiap nilai ln k (sumbu y) dan 1/T (sumbu x) diplotkan dalam sebuah grafik. Selanjutnya, nilai Ea dapat diperoleh dengan rumus dan .

Jika telah diketahui besarnya penurunan mutu (k) tersebut, maka dihitung umur simpan digunakan persamaan Labuza (1982) dalam Syarief R (1993). Persamaan kinetika untuk ordo nol yaitu . Persamaan kinetika untuk ordo satu yaitu . Dimana Qo adalah mutu awal, Qs adalah mutu aktif (mutu produk yang tidak layak konsumsi) dan ts adalah waktu kadaluwarsa.

Rancangan respon yang dilakukan pada penelitian tahap keempat adalah respon fisik yang dilakukan terhadap daging sapi *cured* yaitu analisis perbedaan warna dengan metode Kolorimetri. Respon kimia yang dilakukan terhadap daging sapi *cured* yaitu analisis kadar air metode Gravimetri. Respon mikrobiologi yang dilakukan terhadap daging sapi *cured* yaitu Perhitungan total *Staphylococcus aureus* dengan metode pengenceran/*platting method* melalui seri pengenceran menggunakan media MSA (*Mannitol Salt Agar)*.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Hasil Penelitian Tahap Pertama**

Tabel 4. Hasil Analisis Daging Sapi Segar Bagian *Chuck*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Komponen** | | **Jumlah** |
| Air (%) | | 66.8530 |
| Protein (%) | | 18.2038 |
| Angka Lempeng Total (CFU/mL) | | 2.67x105 |
| *Staphylococcus aureus* (CFU/mL) | | 2.3850x103 |
| Analisa Warna  (Kolorimetri) | L\* | 66.90 |
| a\* | 3.24 |
| b\* | -2.65 |

Menurut Soeparno (2011), menyatakan bahwa faktor genetik, misalnya spesies, bangsa, jenis kelamin, diantara otot, serta individu ternak, dan faktor lingkungan, seperti nutrisi dan pakan ternak temasuk bahan aditif, serta faktor penangananan sebelum dan sesudah pemotongan termasuk faktor fisiologis ternak dapat mempengaruhi komposisi kimia daging. Kontaminasi mikroba pada karkas maupun daging dapat terjadi sejak saat disembelih, proses penyiapan karkas hingga daging akan dikonsumsi. Awal kontaminasi dimulai dari Rumah Pemotongan Hewan (RPH) yaitu dari lantai, pisau, kulit, isi saluran pencernaan, air dan peralatan yang digunakan untuk penyiapan karkas, pemisahan daging maupun dari pekerjanya sendiri (Fathurahman, 2008 dalam Dewi, 2012).

Tabel 5. Hasil Identifikasi Senyawa Brazilin Ekstrak Kayu Secang

|  |  |
| --- | --- |
| **Jenis Ekstrak** | **Nilai Rf** |
| Ekstrak Cair | 0.6138 |
| Ekstrak Serbuk | 0.6473 |
| Larutan Ekstrak | 0.5897 |

Ekstrak serbuk memiliki Rf lebih tinggi dari ekstrak lainnya. Brazilein dari kayu secang dapat diambil dengan menggunakan teknik ekstraksi tetapi dalam bentuk larutan kurang stabil hingga perlu dilakukan pengeringan menjadi serbuk (Utari, 2017). Larutan ekstrak kayu secang memiliki nilai Rf terendah karena penggunaan akuades sebagai pelarut ekstrak serbuk. Perbedaan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dapat mempengaruhi nilai Rf. Menurut pernyataan Rohaeni (2015), perbedaan nilai Rf disebabkan karena perbedaan kecepatan perambatan dan kepolaran masing-masing senyawa pada sampel.

Tabel 6. Hasil Analisis Total Flavonoid Ekstrak Kayu Secang

|  |  |
| --- | --- |
| **Jenis Ekstrak** | **Kadar Flavonoid (%)** |
| Ekstrak Cair | 4.1377 |
| Ekstrak Serbuk | 6.2370 |
| Larutan Ekstrak | 1.1580 |

Berdasarkan hasil analisis total flavonoid ekstrak kayu secang, ekstrak serbuk memiliki kandungan flavonoid tertinggi sedangkan larutan ekstrak memiliki kandungan terendah. Hal ini dikarenakan kemampuan dan sifat pelarut dalam melarutkan senyawa flavonoid berbeda-beda, tergantung dari tingkat kepolaran pelarut dan senyawa yang diekstrak. Menurut prinsip polarisasi, suatu senyawa akan larut pada pelarut yang mempunyai kepolaran yang sama (Harborne, 1987 dalam Suryani, 2017).

*Caesalpinia sappan* L. telah diketahui mengandung sejumlah pigmen fenol dan salah satunya yang sudah lama berhasil diisolasi adalah brazilin. Senyawa kimia lain yang telah berhasil diisolasi adalah sappankhalkon yang diduga merupakan zat antara dalam biosintesis brazilin (Widowati, 2006). Kayu secang mengandung lima senyawa aktif yang terkait dengan flavonoid. Lima senyawa tersebut berupa brazilin, brazilein, 3’-O-metilbrazilin, sappanin, *chalcone*, dan *sappancalchone* yang dapat digunakan sebagai antioksidan primer maupun antioksidan sekunder (Rina, 2013).

Tabel 6. Hasil Pengujian Senyawa Antimikroba Ekstrak Kayu Secang

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Jenis Ekstrak** | **Diameter Hambat (mm)** | | | | | | | | |
| **5%** | **10%** | **20%** | **30%** | **40%** | **50%** | **60%** | **70%** | **80%** |
| Ekstrak Cair | 0.00 | 7.60 | 10.70 | 12.75 | 15.85 | 16.40 | 17.50 | 19.05 | 20.20 |
| Ekstrak Serbuk | 9.35 | 12.5 | 14.15 | 18.95 | 20.20 | 22.80 | 24.60 | 24.90 | 26.15 |
| Larutan Ekstrak | 29.5  (Konsentrasi 300000 ppm) | | | | | | | | |

Berdasarkan hasil pengujian senyawa antimikroba ekstrak cair dan serbuk kayu secang,menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi, diameter hambat pertumbuhan bakteri semakin besar. Hal tersebut menunjukkan bahwa efektivitas ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri semakin kuat. Miksusanti (2011) menjelaskan bahwa molekul-molekul yang bersifat hidrofillik lebih mudah melewati lipopolisakarida dibandingkan dengan yang hidrofobik. Brazilin bersifat polar dimana ekstrak kayu secang mengandung senyawa antimikroba yang bersifat hidrofilik. *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri gram positif dengan struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana, yaitu berlapis dengan kandungan lipid yang rendah (1-4 %) sehingga memudahkan bahan bioaktif masuk ke dalam sel (Hawley, 2003 dalam Candrasari, 2012).

Menurut Siswando (1995) dalam Fajariah (2009), brazilin merupakan senyawa golongan fenolik yang diduga dapat membunuh bakteri dengan cara mengkoagulasi atau mendenaturasi protein plasma, atau penyebab lisis dengan cara mengubah struktur membran sel sehingga terjadi kebocoran isi sel.

Penelitian yang dilakukan oleh Mohan *et al*. (2011), menunjukkan adanya aktivitas antimikroba dari ekstrak air dan etanol *C. sappan* and *Mimosa pudica* L. terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*. Penelitian aktivitas antimikroba juga dilakukan oleh Srinivasan *et al.* (2012), dari ekstrak etanol, petroleum eter dan air *C. sappan* terhadap *Salmonella typhi, Streptococcus faecalis, E. coli, Enterobacter aerogenosa, P. aerogenosa, S. aureus, A. niger,* dan *C. albican* (Karlina, 2016).

**Hasil Penelitian Tahap Kedua**

Tabel 7. Hasil Uji Skoring Daging Sapi *Cured* Penelitian Tahap Kedua

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Sampel Sampel Daging Sapi *Cured*** | **Warna** | **Aroma** | **Tekstur** |
| Ekstrak Cair Kayu Secang | 3.77 b | 4.67 a | 3.52 a |
| Ekstrak Serbuk Kayu Secang | 2.12 a | 5.18 b | 3.70 a |
| Larutan Ekstrak Kayu Secang | 4.47 c | 5.88 c | 3.20 a |

Keterangan: Nilai rata-rata perlakuan yang ditandai notasi huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata dan notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata menurut uji lanjut duncan pada taraf nyata 5%. Notasi huruf kecil dibaca vertikal.

Berdasarkan data dari Tabel 7 menunjukkan bahwa jenis ekstrak kayu secang efektif terhadap warna dan aroma karena memiliki hasil yang berbeda nyata. Pada atribut tekstur, jenis ekstrak kayu secang tidak efektif terhadap daging sapi *cured*. Ekstrak cair kayu secang masih mengandung etanol sehingga menyebabkan warna pada permukaan daging lebih pucat akibat protein yang terkoagulasi. Protein terkoagulasi merupakan hasil dari denaturasi oleh panas atau alkohol (Winarno, 2004). Menurut Azmi (2017). Ekstrak serbuk kayu secang tidak mengandung pelarut di dalamnya tetapi ekstrak sulit menembus ke dalam serabut otot daging sehingga tidak terjadi proses osmosis. Pada penelitian yang dilakukan Rina (2012), ekstrak kayu secang cair dan serbuk dalam daging cincang menyebabkan warna daging kearah kecoklatan.

Ekstrak cair kayu secang memiliki aroma paling menyengat dibandingkan ekstrak serbuk dan larutan sekstrak kayu secang. Hal tersebut disebabkan oleh tingginya kandungan etanol di dalam ekstrak cair kayu secang. Menurut Holinesti (2007), senyawa brazilein pada kayu secang memiliki bau yang aromatik.

Tekstur daging dapat menentukan keempukan daging. Kadar kolagen sebagai penyususun jaringan ikat otot mempengaruhi keempukan daging, otot yang aktif akan menghasilkan daging yang lebih alot daripada otot yang kurang aktif (Arif, 2003). Menurut Soeparno (2005), ada tiga komponen yang menentukan keempukan daging, yaitu struktur miofibril dan status kontraksinya; kandungan jaringan ikat dan tingkat ikatan silangnya; WHC dan jus daging (Prasetyo, 2013).

Tabel 8. Hasil Angka Lempeng Total Daging Sapi *Cured* Penelitian Tahap Kedua

|  |  |
| --- | --- |
| **Sampel Daging Sapi *Cured*** | **ALT (CFU/mL)** |
| Ekstrak Cair Kayu Secang | 1985 a |
| Ekstrak Serbuk Kayu Secang | 1680 ab |
| Larutan Ekstrak Kayu Secang | 1225 b |

Berdasarkan data dari Tabel 8, menunjukkan bahwa jenis ekstrak kayu secang efektif terhadap penurunan jumlah mikroba daging sapi *cured*. Larutan ekstrak kayu secang efektif terhadap penurunan jumlah mikroba yang cukup tinggi.

Semakin tinggi kepolaran suatu senyawa, maka akan lebih mudah melewati lipopolisakarida. Ekstrak cair mengandung etanol (indeks kepolaran etanol 5.2). Larutan ekstrak kayu secang mengandung air (indeks kepolaran 9.0) sebagai pelarut ekstrak serbuk kayu secang, sedangkan ekstrak serbuk akan sedikit larut karena adanya kandungan air di dalam daging.

Kayu secang mengandung brazilin dimana senyawa ini termasuk senyawa flavonoid. Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Sabir, 2005). Kerusakan dan peningkatan permeabilitas sel bakteri menyebabkan pertumbuhan sel menjadi terhambat dan akhirnya menyebabkan kematian sel (Akiyanma dkk., 2001 dan Ajizah, 2004 dalam Andriani, 2016).

**Penentuan Sampel Terpilih Penelitian Tahap Kedua**

Tabel 9. Penentuan Sampel Terpilih Penelitian Tahap Kedua

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Sampel** **Daging Sapi *Cured*** | **Uji Skoring** | | | **ALT** | **Jumlah** |
| **Warna** | **Aroma** | **Tesktur** |
| Ekstrak Cair Kayu Secang | 4 | 5 | 4 | 5 | 18 |
| Ekstrak Serbuk Kayu Secang | 2 | 5 | 4 | 6 | 17 |
| **Larutan Ekstrak Kayu Secang** | **4** | **6** | **3** | **7** | **20** |

Keterangan: Jumah nilai tertinggi merupakan sampel terpilih

Berdasarkan data dari Tabel 9, jenis ekstrak kayu secang terpilih dilihat dari skor pada respon organoleptik dan mikrobiologi adalah larutan ekstrak kayu secang dengan nilai rata-rata warna 4.47, aroma 5.88, tekstur 3.20, dan ALTsebesar 1225 CFU/mL.

**Hasil Penelitian Tahap Ketiga**

**Warna**

Tabel 10. Hasil Uji Skoring Daging Sapi *Cured* Terhadap Warna (Faktor A)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **pH Ekstrak Kayu Secang (Faktor A)** | **Rata-rata Nilai Warna** | **Taraf Nyata 5%** |
| pH 5 (a1) | 2.58 | a |
| pH 7 (a2) | 4.37 | b |
| pH 8 (a3) | 4.92 | b |

Keterangan: Nilai rata-rata perlakuan yang ditandai notasi huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata dan notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata menurut uji lanjut duncan pada taraf nyata 5%. Notasi huruf kecil dibaca vertikal.

Berdasarkan data dari Tabel 10, menunjukkan bahwa semakin tinggi pH larutan ekstrak kayu secang maka nilai rata-rata warna semakin tinggi (warna semakin merah) yang menandakan bahwa pH larutan ekstrak kayu secang efektif terhadap warna daging sapi *cured*. Semakin tinggi pH ekstrak kayu secang yang ditambahkan ke dalam daging sapi *cured* maka warna daging semakin berbeda. Hal ini sangat dipengaruhi oleh sifat kayu secang yang tidak stabil terhadap perubahan pH. Pada pH 2-5 berwarna kuning oranye, pH 6-7 berwarna merah muda, dan pH lebih dari 7 berwarna merah keunguan.

Tabel 11. Hasil Uji Skoring Daging Sapi *Cured* Terhadap Warna (Faktor B)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Konsentrasi Ekstrak Kayu Secang (Faktor B)** | **Rata-rata Nilai Terhadap Warna** | **Taraf Nyata 5%** |
| 5% (b1) | 3.74 | a |
| 10% (b2) | 3.88 | ab |
| 15% (b3) | 4.24 | b |

Berdasarkan data dari Tabel 11, menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan ekstrak kayu secang maka nilai rata-rata warna semakin tinggi yang menandakan bahwa konsentrasi larutan ekstrak kayu secang efektif terhadap warna daging sapi *cured*. Hal ini disebabkan oleh kondisi pH ekstrak kayu secang dan jumlah ekstrak yang ditambahkan pada daging sapi *cured*. Semakin meningkat konsentrasi larutan ekstrak kayu secang semakin banyak air yang pindah dari daging ke larutan ekstrak kayu secang. Mioglobin bersifat larut dalam air dan larutan garam encer. Oleh karena itu, akan terjadi proses osmosis antara larutan ekstrak kayu secang dengan mioglobin pada daging sapi segar sehingga mengakibatkan perbedaan warna.

**Aroma**

Tabel 12. Hasil Uji Skoring Daging Sapi *Cured* Terhadap Aroma (Faktor B)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Konsentrasi Ekstrak Kayu Secang (Faktor B)** | **Rata-rata Nilai Aroma** | **Taraf Nyata 5%** |
| 5% (b1) | 5.93 | b |
| 10% (b2) | 5.50 | ab |
| 15% (b3) | 5.19 | a |

Keterangan: Nilai rata-rata perlakuan yang ditandai notasi huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata dan notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata menurut uji lanjut duncan pada taraf nyata 5%. Notasi huruf kecil dibaca vertikal.

Berdasarkan data dari Tabel 12, menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan ekstrak kayu secang maka nilai rata-rata aroma semakin rendah yang menandakan bahwa konsentrasi larutan ekstrak kayu secang efektif terhadap aroma daging sapi *cured*. Menurut Holinesti (2007), senyawa brazilein pada kayu secang memiliki bau yang aromatik.

**Tekstur**

Tabel 13. Hasil Uji Skoring Daging Sapi *Cured* Terhadap Tekstur (Faktor A)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **pH Ekstrak Kayu Secang (Faktor A)** | **Rata-rata Nilai Tekstur** | **Taraf Nyata 5%** |
| pH 5 (a1) | 3.91 | a |
| pH 7 (a2) | 4.04 | ab |
| pH 8 (a3) | 4.33 | b |

Berdasarkan data dari Tabel 13, menunjukkan bahwa semakin tinggi pH larutan ekstrak kayu secang maka nilai rata-rata tekstur semakin tinggi yang menandakan bahwa pH larutan ekstrak kayu secang efektif terhadap tekstur daging sapi *cured*. Nilai tekstur juga dipengaruhi oleh pH dan WHC (*Water Holding Capacity*). Nilai WHC daging menurun dengan menurunnya pH. Hal ini disebabkan karena protein rusak dalam suasana asam. (Muchtadi, 2010). Selama perendaman terjadi proses glikolisis anaerob yang menyebabkan terbentuknya asam laktat. Semakin banyak asam laktat yang terakumulasi maka protein semakin terdenaturasi sehingga tidak mampu mengikat air. Dengan demikian semakin sedikit air bebas yang diikat oleh protein di dalam daging maka semakin rendah nilai keempukan daging (Suryani, 2017).

**Analisis Perbedaan Warna**

Tabel 14. Hasil Analisis Perbedaan Warna Daging Sapi *Cured* (Faktor A)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **pH Ekstrak Kayu Secang (Faktor A)** | **Rata-rata Nilai ΔE** | **Taraf Nyata 5%** |
| pH 5 (a1) | 1.58 | a |
| pH 7 (a2) | 2.33 | b |
| pH 8 (a3) | 3.03 | c |

Berdasarkan data dari Tabel 14, menunjukkan bahwa semakin tinggi pH larutan ekstrak kayu secang maka nilai rata-rata perbedaan warna semakin tinggi yang menandakan bahwa pH larutan ekstrak kayu secang efektif terhadap perbedaan warna daging sapi *cured*. Hal ini disebabkan oleh sifat brazilin pada ekstrak kayu secang yang tidak stabil pada kondidi pH. Menurut Rina (2013), Adanya komponen *brazeilin* memberikan ciri spesifik dari kayu secang yaitu warna merah kecoklatan jika teroksidasi atau dalam suasana basa. Pigmen brazilein seperti halnya brazilin, memiliki warna berbeda-beda tergantung tingkat keasaman lingkungannya (Azmi, 2017). Perbedaan warna pada daging disebabkan perbedaan status mioglobin terutama atom Fe (Lawrie 2003). Warna merah pada daging berasal dari oksimioglobin (MbO2) hasil reaksi mioglobin dengan oksigen (Kosim, 2015).

Tabel 15. Hasil Analisis Perbedaan Warna Daging Sapi *Cured* (Faktor B)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Konsentrasi Ekstrak Kayu Secang (Faktor B)** | **Rata-rata Nilai ΔE** | **Taraf Nyata 5%** |
| 5% (b1) | 1.93 | a |
| 10% (b2) | 2.42 | b |
| 15% (b3) | 2.59 | b |

Berdasarkan data dari Tabel 15, menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan ekstrak kayu secang maka nilai perbedaan warna semakin tinggi yang menandakan bahwa konsentrasi larutan ekstrak kayu secang efektif terhadap warna daging sapi *cured*. Hal ini disebabkan oleh kondisi pH dan proses osmosis yang terjadi pada daging sapi *cured* sehingga mengakibatkan perbedaan warna. Mioglobin dalam otot daging berwarna ungu kemerahan. Mioglobin dengan oksigen akan membentuk oksimioglobin yang berwarna merah terang. Bagian permukaan lebih terang daripada bagian dalam yang kurang mendapat oksigen. Warna merah terang dari oksimioglobin tidak stabil dan oksidasi yang berlebihan akan mengubahnya menjadi metmioglobin yang berwarna coklat (Muchtadi, 2013).

**Kadar Protein**

Tabel 16. Hasil Kadar Protein Daging Sapi *Cured* Penelitian Tahap Ketiga

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **pH Ekstrak Kayu Secang (Faktor A)** | **Rata-rata Kadar Protein (%)** | **Taraf Nyata 5%** |
| pH 5 (a1) | 14.9809 | a |
| pH 7 (a2) | 16.2609 | b |
| pH 8 (a3) | 16.1614 | b |

Berdasarkan data dari Tabel 16, menunjukkan bahwa pada kondisi asam dan basa kadar protein menurun yang menandakan bahwa pH larutan ekstrak kayu secang efektif terhadap kadar protein daging sapi *cured*. Laju glikolisis *post mortem* pada daging menyebabkan terurainya glikogen menjadi glukosa, glukosa akan mengalami penguraian oleh enzim-enzim (antara lain heksokinase, fosfatase, piruvatkinase, laktat dan dehidrokinase) menjadi asam laktat. Pemecahan protein otot oleh enzim-enzim tidak lepas dari pengaruh enzim proteolitik (proteinase netral, proteinase serine seperti tripsin, proteinase serine alkalin, katepsin) (Dewi, 2012). Menurut Thornton (1957), bahwa jika pH daging mencapai 6,8 atau lebih tinggi akan terjadi dekomposisi protein yang nyata, yaitu teradi perubahan bau, warna dan tekstur (Dina, 2017).

**Angka Lempeng Total (ALT)**

Tabel 17. Hasil Angka Lempeng Total (ALT) Daging Sapi *Cured*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **pH Ekstrak Kayu Secang (A)** | **Konsentrasi Ekstrak Kayu Secang (B)** | | |
| B1 | B2 | B3 |
| A1 | A | C | B |
| 2976.67 | 2086.67 | 1606.67 |
| C | b | A |
| A2 | B | B | C |
| 3156.67 | 1850.00 | 1710.00 |
| C | b | A |
| A3 | A | A | A |
| 2886.67 | 1703.33 | 1430.00 |
| C | b | A |

Keterangan: Nilai rata-rata perlakuan yang ditandai notasi huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata dan notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata menurut uji lanjut duncan pada taraf nyata 5%. Notasi huruf kecil dibaca vertikal. Notasi huruf capital dibaca horizontal.

Berdasarkan data dari Tabel 17, menunjukkan bahwa interaksi pH dan konsentrasi larutan ekstrak kayu secang efektif terhadap jumlah mikroba daging sapi *cured*. Semakin tinggi konsentrasi larutan ekstrak kayu secang, jumlah mikroba semakin menurun.

Menurut Stocking (2003), mikroorganisme tidak dapat tumbuh pada pH yang tidak mendukung siklus hidupnya, semakin rendah pH yang tercipta akibat semakin tingginya konsentrasi ekstrak kayu secang akan menurunkan pertumbuhan mikroorganisme (Ramadhan, 2013).

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka jumlah mikroba akan semakin menurun. Hal ini disebabkan karena kandungan brazilin pada larutan ekstrak kayu secang yang semakin tinggi seiring. Menurut Nagai dan Nagumo (1990), kayu secang mengandung berbagai macam senyawa fenol seperti brazilin, *chalcones*, protosappanin E-1 dan E-2 merupadan kombinasi dibenz [b,d] *oxocins* dan brazilin (Widowati, 2006). Cara kerja fenol sebagai antimikroba, pada konsentrasi rendah fenol bekerja dengan merusak membran sitoplasma dan menyebabkan kebocoran isi sel. Pada konsentrasi tinggi fenol akan berkoagulasi dengan protein seluler (Parwata 2008).

**Penentuan Sampel Terpilih Penelitian Tahap Ketiga**

Tabel 18. Penentuan Sampel Terpilih Penelitian Tahap Ketiga

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Sampel** | **Uji Skoring** | | | **Perbedaan Warna** | **Kadar Protein** | **ALT** | **Jumlah** |
| **Warna** | **Aroma** | **Tekstur** |
| a1b1 | 2 | 6 | 4 | 1 | 3 | 4 | 20 |
| a1b2 | 2 | 5 | 4 | 1 | 1 | 6 | 19 |
| a1b3 | 3 | 5 | 4 | 2 | 1 | 7 | 22 |
| a2b1 | 4 | 6 | 4 | 1 | 5 | 3 | 23 |
| a2b2 | 4 | 6 | 4 | 3 | 4 | 6 | 27 |
| a2b3 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 7 | 28 |
| a3b1 | 5 | 6 | 4 | 4 | 4 | 4 | 27 |
| a3b2 | 5 | 5 | 4 | 4 | 4 | 7 | 29 |
| **a3b3** | **5** | **5** | **4** | **5** | **4** | **7** | **30** |

Berdasarkan data dari Tabel 18, pH dan konsentrasi larutan ekstrak kayu secang terpilih yang memiliki jumlah skor tertinggi adalah pH 8 dengan konsentrasi larutan ekstrak kayu secang sebesar 15% dengan nilai rata-rata warna 5.30, aroma 5.43, tekstur 4.23, total perbedaan warna 3.13, kadar protein 16.0369% dan Angka Lempeng Total (ALT) sebesar 1430 CFU/mL.

**Hasil Penelitian Tahap Keempat**

**Penentuan Parameter Kritis**

Tabel 19. Hasil Uji Organoleptik Penentuan Parameter Kritis

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Jam Ke-** | **Atribut** | | | **Respon Penolakan** |
| **Warna** | **Aroma** | **Tekstur** |
| 0 | 5.33 | 4.53 | 3.87 | 1.78% |
| 12 | 3.53 | 2.60 | 3.07 | 38.67% |
| 24 | 2.40 | 1.80 | 2.67 | 54.22% |

Berdasarkan pada pengujian organoleptik, diketahui bahwa pada penyimpanan pada jam ke-24 daging sapi *cured* sudah menunjukan penurunan mutu berdasarkan atribut warna, aroma, dan tekstur.

Tabel 20. Hasil Pengujian Parameter Kritis Daging Sapi *Cured*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Parameter** | **Jam Ke-0 (Q0)** | **Jam Ke-24 (Qs)** |
| Perbedaan Warna | 3.11 | 3.78 |
| Kadar Air (%) | 71.845 | 70.531 |
| Total *Staphylococcus aureus* (CFU/mL) | 1370 | 2880 |

Berdasarkan hasil pengujian parameter kritis daging sapi *cured* dapat diketahui bahwa pada jam ke-24 daging sapi sudah tidak layak untuk dikonsumsi. Batas kritis pada jam ke-24 dari masing-masing respon tersebut menunjukkan batas keamanan pada daging sapi *cured*. Penurunan nilai mutu pada masing-masing respon menunjukkan bahwa suhu sangat mempengaruhi umur simpan daging sapi *cured*.

**Analisis Perbedaan Warna**

Tabel 21. Hasil Analisis Perbedaan Warna (ΔE) Daging Sapi *Cured* Selama Penyimpanan

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Waktu Penyimpanan (Hari)** | **Suhu Penyimpanan** | | | | | |
| **Ordo 0** | | | **Ordo 1 (ln)** | | |
| **0°C** | **10°C** | **25°C** | **0°C** | **10°C** | **25°C** |
| 0 | 3.03 | 3.03 | 3.03 | 1.11 | 1.11 | 1.11 |
| 2 | 3.05 | 3.14 | 3.26 | 1.12 | 1.14 | 1.18 |
| 4 | 3.11 | 3.22 | 3.38 | 1.13 | 1.17 | 1.22 |
| 6 | 3.16 | 3.39 | 3.54 | 1.15 | 1.22 | 1.26 |
| 8 | 3.20 | 3.50 | 3.82 | 1.16 | 1.25 | 1.34 |

Untuk mengetahui ordo yang tepat, dilakukan pemetaan data antara parameter perbedaan warna terhadap waktu penyimpanan untuk ordo reaksi 0 dan ordo reaksi 1 yang disajikan pada Gambar 1 dan 2.

Gambar 1. Grafik Analisis Perbedaan Warna Daging Sapi *Cured* Ordo 0

Gambar 2. Grafik Analisis Perbedaan Warna Daging Sapi *Cured* Ordo 1

Tabel 22. Persamaan Regresi Linier Parameter Analisis Perbedaan Warna

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Suhu  (°C) | Persamaan Regresi Linier | | R2 | |
| Ordo 0 | Ordo 1 | Ordo 0 | Ordo 1 |
| 0  10  25 | y =0.0225x + 3.0200  y =0.0595x + 3.0180  y =0.0930x + 3.0340 | y =0.0072x + 1.1055  y =0.0183x + 1.1062  y =0.0273x + 1.1134 | 0.9830  0.9881  0.9808 | 0.9833  0.9903  0.9843 |

Setelah data tersebut diplotkan ke dalam ordo 0 dan ordo 1, maka ordo reaksi yang mempunyai nilai koefisien determinasi (R2) paling tinggi yaitu ordo 1. Kemudian, didapatkan nilai k dari masing-masing persamaan regresi ordo 1. Hubungan nilai ln k dengan 1/T digambarkan dalam bentuk grafik pada Gambar 3.

Gambar 3. Grafik Hubungan ln K dan 1/T Parameter Perbedaan Warna

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu dan lama penyimpanan daging sapi *cured*,nilai perbedaan warna akan semakin tinggi. Penggunaan ekstrak kayu secang tidak efektif terhadap kestabilan warna daging sapi *cured* selama penyimpanan. Hal ini disebabkan oleh kondisi pH daging yang semakin lama semakin menurun akibat terbentuknya asam laktat.

Pada kondisi asam, ekstrak kayu secang akan berwarna kuning oranye sehingga warna daging akan berubah. Penambahan ekstrak kayu secang tidak memberikan hasil yang sama seperti *curing* dengan nitrit yang menghasilkan warna merah stabil akibat reaksi nitrit dengan mioglobin pada daging. Brazilin hanya memberikan warna pada daging sehingga menghasilkan warna yang tidak stabil akibat perubahan pH yang terus menurun. Nilai pH postmortem ditentukan oleh jumlah asam laktat yang dihasilkan dari glikogen selama proses glikolisis anaerob. Selain itu, pembentukkan asam juga disebabkan oleh pertumbuhan bakteri. Menurut Syarief (1993), akibat pertumbuhan bakteri *Micrococcus* dan *Penicillium* pada daging akan timbul noda biru kekuningan atau hijau.

**Kadar Air**

Tabel 23. Hasil Analisis Kadar Air Daging Sapi *Cured* Selama Penyimpanan

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Waktu Penyimpanan (Hari)** | **Suhu Penyimpanan** | | | | | |
| **Ordo 0 (%)** | | | **Ordo 1 (ln)** | | |
| **0°C** | **10°C** | **25°C** | **0°C** | **10°C** | **25°C** |
| 0 | 73.8916 | 73.8916 | 73.8916 | 4.30 | 4.30 | 4.30 |
| 2 | 73.5000 | 72.5490 | 71.5000 | 4.30 | 4.28 | 4.27 |
| 4 | 73.1343 | 71.9212 | 69.4581 | 4.29 | 4.28 | 4.24 |
| 6 | 72.0588 | 70.7921 | 67.6617 | 4.28 | 4.26 | 4.21 |
| 8 | 70.3883 | 69.4581 | 67.6471 | 4.25 | 4.24 | 4.21 |

Untuk mengetahui ordo yang tepat, dilakukan pemetaan data antara parameter kadar air terhadap waktu penyimpanan untuk ordo reaksi 0 dan ordo reaksi 1 yang disajikan pada Gambar 4 dan 5.

Gambar 4. Grafik Analisis Kadar Air Daging Sapi *Cured* Ordo 0

Gambar 5. Grafik Analisis Kadar Air Daging Sapi *Cured* Ordo 1

Tabel 24. Persamaan Regresi Linier Parameter Analisis Kadar Air

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Suhu  (°C) | Persamaan Regresi Linier | | R2 | |
| Ordo 0 | Ordo 1 | Ordo 0 | Ordo 1 |
| 0  10  25 | y = – 0.4224x + 74.2842  y = – 0.5312x + 73.8472  y = – 0.8164x + 73.2972 | y = – 0.0058x + 4.3081  y = – 0.0074x + 4.3022  y = – 0.0116x + 4.2947 | 0.8979  0.9883  0.9293 | 0.8942  0.9875  0.9325 |

Setelah data tersebut diplotkan ke dalam ordo 0 dan ordo 1, maka ordo reaksi yang mempunyai nilai koefisien determinasi (R2) paling tinggi yaitu ordo 0. Kemudian, didapatkan nilai k dari masing-masing persamaan regresi ordo 0. Hubungan nilai ln k dengan 1/T digambarkan dalam bentuk grafik pada Gambar 6.

Gambar 6. Grafik Hubungan ln K dan 1/T Parameter Kadar Air

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu dan lama penyimpanan daging sapi *cured*, kadar air daging akan menurun. Hal ini disebabkan karena penguapan air dari daging dan penggunaan air untuk pertumbuhan mikroba. Hal ini sesuai dengan pernyataan Afrianti (2013), bila penyimpanan refrigerasi akan dilakukan untuk penyimpanan maka perlu diambil beberapa tindakan untuk mencegah penguapan air dari bahan. Menurut Puspitasari (2013), penurunan nilai kadar air dikarenakan air digunakan oleh mikroba untuk pertumbuhannya.

Komponen utama daging yang berfungsi menahan air adalah protein. Jika protein tidak mengalami denaturasi maka akan mengikat air selama konversi otot menjadi daging. Jika ikatan protein melemah mengakibatkan kemampuan untuk mengikat cairan daging melemah dan banyak cairan daging yang keluar karena daya ikat air menurun. Penurunan nilai daya ikat air juga disebabkan oleh pH daging yang semakin menurun. Dalam kondisi daging yang lebih asam menyebabkan protein mudah rusak (Dewi, 2012).

Puspitasari *et al.* (2012) menyatakan bahwa pada saat mikroba mencapai fase pertumbuhan konstan, maka akan dihasilkan senyawa bermolekul kecil yang mengandung air. Semakin lama daging disimpan maka zat-zat makanan yang terdapat dalam daging akan terurai terutama air terikat terlepas keluar sehingga menyebabkan bertambahnya air bebas. Air bebas ini yang akan menguap.

**Total *Staphylococcus aureus***

Tabel 26. Hasil Total *Staphylococcus aureus* Daging Sapi *Cured* Selama Penyimpanan

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Waktu Penyimpanan (Hari)** | **Suhu Penyimpanan** | | | | | |
| **Ordo 0 (CFU/mL)** | | | **Ordo 1 (ln)** | | |
| **0°C** | **10°C** | **25°C** | **0°C** | **10°C** | **25°C** |
| 0 | 1240 | 1240 | 1240 | 7.12 | 7.12 | 7.12 |
| 2 | 850 | 970 | 2940 | 6.75 | 6.88 | 7.99 |
| 4 | 1250 | 2730 | 12500 | 7.13 | 7.91 | 9.43 |
| 6 | 1650 | 3040 | 49000 | 7.41 | 8.02 | 10.80 |
| 8 | 1880 | 10900 | 13600 | 7.54 | 9.30 | 9.52 |

Untuk mengetahui ordo yang tepat, dilakukan pemetaan data antara parameter total *Staphylococcus aureus* terhadap waktu penyimpanan untuk ordo reaksi 0 dan ordo reaksi 1 yang disajikan pada Gambar 7 dan 8.

Gambar 7. Grafik Total *Staphylococcus aureus* Daging Sapi *Cured* Ordo 0

Gambar 8. Grafik Total *Staphylococcus aureus* Daging Sapi *Cured* Ordo 1

Tabel 27. Persamaan Regresi Linier Parameter Total *Staphylococcus aureus*

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Suhu  (°C) | Persamaan Regresi Linier | | R2 | |
| Ordo 0 | Ordo 1 | Ordo 0 | Ordo 1 |
| 0  10  25 | y = 104x + 958  y = 1069.5x - 502  y = 3539x + 1700 | y = 0.0748x + 6.8902  y = 0.2745x + 6.7477  y = 0.3802x + 7.4513 | 0.6759  0.6860  0.3350 | 0.5959  0.8372  0.7014 |

Setelah data tersebut diplotkan ke dalam ordo 0 dan ordo 1, maka ordo reaksi yang mempunyai nilai koefisien determinasi (R2) paling tinggi yaitu ordo 1. Kemudian, didapatkan nilai k dari masing-masing persamaan regresi ordo 1. Hubungan nilai ln k dengan 1/T digambarkan dalam bentuk grafik pada Gambar 9.

Gambar 9. Grafik Hubungan ln K dan 1/T Parameter Total *Staphylococcus aureus*

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa total *Staphylococcus aureus* selama penyimpanan daging sapi *cured* mengalami perubahan. Pada hari ke-8 terjadi penurunan total *Staphylococcus aureus* pada suhu 25°C. Hal ini sesuai dengan grafik pertumbuhan mikroorganisme karena penyimpanan sudah berada pada fase kematian, sel yang berada pada fase pertumbuhan tetap akhirnya akan mati (Syarief, 1993).

Pada suhu diatas 10°C mikroorganisme pembusuk tumbuh lebih cepat. Beberapa jenis mikroorganisme penghasil toksin masih dapat tumbuh sampai suhu 3°C meskipun lambat. Pada suhu 4°C-9°C masih ada mikroorganisme yang dapat tumbuh karena tidak seluruhnya beku. Pada suhu -9°C pertumbuhannya akan dihambat secara nyata. Suhu rendah tidak mematikan semua mikroorganisme yang ada, karena begitu suhu dinaikkan maka mikroba akan tumbuh dan berkembang dengan pesat (Afrianti, 2013).

Toksin yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah enterotoksin. Enterotoksin merupakan enzim yang mampu bertahan dalam kondisi panas dan tahan terhadap suasana yang bersifat basa di dalam usus yang dapat menyebabkan keracunan makanan (Jawetz *et al.,* 2004).

Pembusukan pada keadaan aerob ditandai oleh adanya lendir, perubahan warna daging, perubahan lemak, rasa dan bau. Pada keadaan anaerob ditandai oleh campuran bau dan rasa asam yang disebabkan oleh asam lemak bebas dalam jumlah banyak serta proses pemecahan protein yang menyebabkan bau busuk seperti ammonia, H2S, dan senyawa lainnya (Hilmiati, 2016).

**Pendugaan Umur Simpan**

Pendugaan umur simpan daging sapi *cured* dihitung menggunakan persamaan regresi liniear yang memiliki nilai energi aktivasi terendah. Dari masing-masing persamaan diperoleh nilai k yang dapat digunakan untuk menghitung umur simpan. Nilai k diperoleh dari rumus lnk = ln k0-Ea/R(1/T). Nilai k yang diperoleh kemudian dimasukkan dalam persamaan kinetika reaksi berdasarkan ordo reaksinya.

Tabel 28. Persamaan Arhenius dan Energi Aktivasi Setiap Parameter

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Parameter** | **Persamaan Arrhenius** | **Energi Aktivasi (kal/mol)** |
| Analisis Perbedaan Warna | ln k = -4197.9(1/T) + 10.588 | 8337.0294 |
| Kadar Air | ln k = -2106.7(1/T) + 7.0344 | 4291.1502 |
| Total *Staphylococcus aureus* | ln k = -5082.7(1/T) + 16.26 | 10094.2422 |

Pendugaan umur simpan daging sapi *cured* dihitung menggunakan regresi liniear dari parameter yang memiliki nilai energi aktivasi terendah. Persamaan yang diperoleh untuk menduga umur simpan daging sapi *cured* yaitu y = -2106.7x + 7.0344 dengan energi aktivasi kadar air sebesar 4291.1502 kal/mol, sehingga diperoleh umur simpan daging sapi *cured* yang dijelaskan pada Tabel 29.

Hasil pengamatan dan perhitungan parameter kadar air pada daging sapi *cured* terhadap waktu penyimpanan akan di dapatkan konstanta laju penurunan mutu pada parameter kadar air. Penurunan mutu kadar air mengikuti reaksi ordo 0 yang kemudian di dapatkan umur simpan (ts) daging sapi *cured* dengan menggunakan rumus persamaan kinetika untuk ordo nol.

Tabel 29. Umur Simpan Daging Sapi *Cured* Berdasarkan Kadar Air

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Suhu** | | **Nilai k** | **Umur simpan**  **(Hari)** |
| **°C** | **K** |
| 0  10  25 | 273  283  298 | 0.4147  0.5485  0.8055 | 8.45  8.08  7.75 |

Pendugaan umur simpan daging sapi *cured* dihitung menggunakan persamaan regresi liniear yang memiliki nilai energi aktivasi terendah. Semakin rendah energi aktivasi yang didapat, maka suatu reaksi akan berlangsung lebih cepat sehingga lebih cepat pula mempengaruhi penurunan mutu suatu produk.

Syarat mutu daging sapi berdasarkan SNI 3932 tahun 2008 mengacu pada mutu mikrobiologis daging sapi. Jenis uji untuk persyaratan daging sapi antara lain Angka Lempeng Total (maks 1x106 cfu/g), Coliform (maks 1x102 cfu/g), *Staphylococcus aureus* (maks 1x102 cfu/g), *Salmonella sp.* (negatif/25 gram), serta *Escherichia coli* (maks 1x101 cfu/g) (SNI, 2008).

Oleh karena itu, penentuan umur simpan daging sapi *cured* mengacu pada respon mikrobiologi, yaitu Total *Staphylococcus aureus*. Persamaan yang diperoleh untuk menduga umur simpan daging sapi *cured* berdasarkan Total *Staphylococcus aureus* yaitu y = -5082.7x + 16.26 dengan energi aktivasi sebesar 10094.2422 kal/mol, umur simpan daging sapi *cured* yang dijelaskan pada Tabel 30. Penurunan mutu mengikuti reaksi ordo 1 yang kemudian di dapatkan umur simpan (ts) daging sapi *cured* dengan menggunakan rumus persamaan kinetika untuk ordo satu.

Tabel 30. Umur Simpan Daging Sapi *Cured*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Suhu** | | **Nilai k** | **Umur simpan**  **(Hari)** |
| **°C** | **K** |
| 0  10  25 | 273  283  298 | 0.0946  0.1827  0.4511 | 9.99  4.19  1.66 |

Kenaikan suhu dapat menyebabkan terjadinya kecepatan reaksi yang lebih besar dimana hal tersebut ditunjukkan oleh kemiringan garis yang semakin tajam dan konstanta penurunan mutu yang semakin besar. Jika kecepatan reaksi besar maka produk akan semakin cepat rusak, maka semakin pendek umur simpannya.

**KESIMPULAN DAN SARAN**

**Kesimpulan**

1. Berdasarkan penelitian tahap pertama menunjukkan daging sapi segar mengandung kadar air 66.8530%, kadar protein 18.2038%, total mikroba 2.67x105 CFU/mL, jumlah *Staphylococcus aureus* 2.385x103, dan analisa warna dengan nilai L\* 66.90, nilai a\* 3.24, serta nilai b\* -2.65. Pengujian terhadap ekstrak kayu secang menunjukkan bahwa nilai Rf ekstrak cair 0.6138, ekstrak serbuk 0.6473, dan larutan ekstrak 0.5897. total flavonoid ekstrak kayu secang sebesar 4.1377% untuk ekstrak cair, ekstrak serbuk sebesar 6.2370%, serta larutan ekstrak sebesar 1.1580%. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak kayu secang, diameter zona hambat pertumbuhan bakteri semakin besar.
2. Berdasarkan penelitian tahap kedua menunjukkan hasil bahwa jenis ekstrak kayu secang terpilih berdasarkan metode skoring adalah larutan ekstrak kayu secang dengan nilai rata-rata warna 4.47, aroma 5.88, tekstur 3.20, dan *Total Plate Count* sebesar 1225 CFU/mL.
3. Penelitian ini menunjukkan bahwa pH larutan ekstrak kayu secang efektif terhadap warna, tekstur, analisis perbedaan warna, dan kadar protein daging sapi *cured*.
4. Penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi larutan ekstrak kayu secang efektif terhadap warna, aroma, dan analisis perbedaan warna daging sapi *cured*.
5. Penelitian ini menunjukkan bahwa interaksi pH dan konsentrasi larutan ekstrak kayu secang efektif terhadap total mikroba daging sapi *cured*.
6. Berdasarkan penentuan sampel terpilih pada penelitian tahap ketiga adalah sampel dengan pH 8 dan konsentrasi larutan ekstrak kayu secang sebesar 15% (a3b3) memiliki nilai rata-rata warna 5.30, aroma 5.43, tekstur 4.23, total perbedaan warna 3.13, kadar protein 16.0369% dan *Total Plate Count* sebesar 1430 CFU/mL.
7. Berdasarkan hasil penelitian tahap keempat yaitu persamaan yang diperoleh untuk menduga umur simpan daging sapi *cured* yaitu y = -5082.7x + 16.26 dengan energi aktivasi sebesar 10094.2422 kal/mol. Umur simpan daging sapi *cured* berdasarkan respon Total *Staphylococcus aureus* pada suhu 0°C, 10°C, dan 25°C berturut-turut adalah 9.99 hari, 4.19 hari, dan 1.66 hari.

**Saran**

1. Sebaiknya dilakukan analisis mengenai kandungan senyawa-senyawa yang terdapat didalam ekstrak kayu secang
2. Perlu dilakukan penelitian mengenai metode yang dapat memperlambat laju penurunan pH daging sapi.
3. Perlu dilakukan penelitian berdasarkan parameter lain terhadap umur simpan seperti *Total Volatile Base* (TVB), kadar *Free Fatty Acid* (FFA), dan *Water Holding Capacity* (WHC).

**DAFTAR PUSTAKA**

*Afrianti, Leni Herliani. 2013.* ***Teknologi Pengawetan Pangan****. Alfabeta. Bandung.*

Andriani, Intan Aprilia Ayu. 2016. **Pemanfaatan Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) Sebagai Antibakteri Teradap Total Bakteri Pada Daging Sapi**. *Journal of Basic Medicine Veterinary* Vol.5 No.2 Universitas Airlangga. Surabaya.

Arif, 2016. **Metode *Accelarated Shelf Life Test* (ASLT) Dengan Pendekatan Arrhenius Dalam Pendugaan Umur Simpan Sari Buah Nanas. Pepaya Dan Cempedak**. Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. Bogor.

Azmi dan Eric. 2017. **Ekstraksi Zat Warna Alami Dari Kayu Secang *(Caesalpinia sappan Linn)* Dengan Metode *Ultrasound Assisted Extraction* Untuk Aplikasi Produk Pangan**. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya.

Candrasari, Anika. 2012. **Uji Daya Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Eschericia coli* ATCC 11229 dan *Candida albicans* ATCC 10231 Secara In Vitro**. Universitas Muhammadiyah. Surakarta.

Cory. 2009. **Analisis Kandungan Nitrit dan Pewarna Merah Pada Daging Burger Yang Dijual Di Grosir Bahan Baku Burger Di Kota Medan Tahun 2009**. Universitas Sumatera Utara. Medan.

*Dewi, Sri Hartati Candra. 2012.* ***Populasi Mikroba dan Sifat Fisik Daging Sapi Beku Selama Penyimpanan****. Jurnal AgriSains Vol. 3 No*.4 Universitas Mercu Buana. Yogyakarta.

Dina, D. 2017. **Pengaruh Perendaman Daging Sapi dengan Ekstrak Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior*) terhadap Susut Masak, pH dan Organoleptik (Bau, Warna, Tekstur)**. e-ISSN 2528-7109 Universitas Bengkulu. Bengkulu.

Fajariah. 2009. **Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysentriae***. Universitas Muhammadiyah. Surakarta.

Gaspersz. 1995. **Teknik Analisis Dalam Penilaian Percobaan**. Tarsito. Bandung.

Haryati. 2015. **Pendugaan Umur Simpan Menggunakan Metode *Accelerated Shelf-Life Testing* (ASLT) Dengan Pendekatan Arrhenius Pada Produk Tape Ketan Hitam Khas Mojokerto Hasil Sterilisasi**. Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol.3 No.1 p.156-165. Universitas Tribhuwana Tunggadewi. Malang.

*Hilmiati, dkk. 2016.* ***Pengaruh Pencelupan Karkas Ayam Pedaging Dalam Larutan Asam Sitrat dan Asam Asetat* Terhadap Penghambatan Waktu Pembusukan**. Jurnal Medika Veterinaria P-ISSN: 0853-1943 Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh.

Holinesti, Rahmi. 2007. **Studi Pemanfaatan Pigmen Brazilein Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) Sebagai Pewarna Alami Serta Stabilitasnya Pada Model Pangan**. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Karlina, Yenni. 2016. **Pengujian Potensi Antijamur Ekstrak Air Kayu Secang Terhadap *Aspergillus niger* dan *Candida albicans***. Chimica et Natura Acta Vol. 4 No. 2. Universitas Jendral Achmad Yani. Cimahi.

Kosim. 2015. **Sifat Fisik dan Aktivitas Antioksidan Dendeng Daging Sapi dengan Penambahan Stroberi *(Fragaria ananassa*) sebagai Bahan *Curing***. Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan Vol.03 No.3 ISSN 2303-2227. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Lawrie. 2003. ***Meat Science* (Terjemahan Paraksasi. A. Ilmu Daging)**. Universitas Indonesia. Jakarta.

Lenny, S. 2006. **Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida**. Karya Ilmiah Universitas Sumatera Utara. Medan.

Miksusanti. 2011. **Aktivitas Campuran Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap *Bacillus cereus***. Jurnal Penelitian Sains Volume 14 No. 3(C) 14309 Universitas Swiwijaya. Palembang.

Muchtadi, Sugiyono, dan Fitriyono. 2010. **Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan**. Alfabeta. Bandung.

Muchtadi, dan Sugiyono. 2013. **Prinsip Proses dan Teknologi Pangan**. Alfabeta. Bandung.

Parwata, O.A. 2008. **Isolasi dan Uji Aktifitas Antibakteri Minyak Atsiri dari Rimpang Lengkuas (*Alpinia galangal*)**. Jurnal Kimia 2.

Prasetyo, Heru. 2013. **Kajian Kualitas Fisiko Kimia Daging Sapi di Pasar Kota Malang**. Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak Vol. 8 No. 2 ISSN: 1978-0303 Universitas Brawijaya. Malang.

*Puspitasari. 2012*. **Pengaruh Penambahan Ekstrak Secang (*Caesalpinia sappan L.*) Terhadap Kualitas Dodol Garut**. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

Ramadhan. 2013. **Tingkat Penggunaan Ekstrak Angkak (*Monascus purpureus*). Sebagai *Curing* Alternatif Dengan Metode *Curing* Basah Terhadap Kualitas Kornet Daging Sapi**.Universitas Brawijaya.Malang.

Rina. 2012. **Efektifitas Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) Sebagai Bahan Pengawet Daging**. Jurnal Penelitian Pertanian Terapan Vol. 12 (3): 181-186 ISSN 1410-5020. Politeknik Negeri Lampung. Lampung.

Rina. 2013. **Identifikasi Senyawa Aktif dalam Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.)**. Univeritas Lampung. Lampung.

Rohaeni, Nine Siti. 2015**. Kajian Konsentrasi Pelarut Terhadap Ekstrak Pigmen Dari Sabut Kelapa (*Cocos nucifera* L.) Sebagai Pewarna Alami**. Universitas Pasundan. Bandung.

Soeparno. 2009. **Ilmu dan Teknologi Daging**. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Suarlan. 2017. **Sifat Organoleptik, Fisik Dan Kimia Daging Sapi Bali Yang Dimarinasi Dalam Jus Gambir (*Uncaria gambir* Roxb*)* Pada Lama Penyimpanan Yang Berbeda**. Universitas Halu Oleo. Kendari.

Suryani, Nila Sri. 2017. **Pengaruh Perendaman Dalam Berbagai Konsentrasi Larutan Jahe Merah (*Zingiber officinale var rubrum rhizome*) Terhadap Keempukan dan pH Daging Sapi Perah Afkir**. Dinamika Rekasatwa Vol. 2 No. 2 Universitas Islam Malang. Malang.

*Syarief dan Hariyadi. 1993.* ***Teknologi Penyimpanan* Pangan.** Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Cetakan ke-3 Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Utari, Febiani Dwi, Sumirat, dan Muhammad Djaeni. 2017. **Produksi Antioksidan dari Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Menggunakan Pengering Berkelembaban Rendah**. Universitas Diponegoro. Semarang.

Widowati, Wahyu. 2011. **Uji Fitokimia dan Potensi Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.)**. Universitas Kristen Maranatha. Bandung.

Winarno. 2004. **Kimia Pangan dan Gizi**. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.