

4. PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan uji eksperimental untuk mengetahui kemampuan minuman serbuk N dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Dalam penelitian ini menggunakan metode enumerasi *spread plate*. Metode ini dapat melihat jumlah bakteri *E. coli* pada minuman serbuk N dengan berbagai perlakuan, jumlah bakteri yang ada pada pelarut *buffer pepton*, minuman serbuk tanpa penyimpanan setelah proses produksi, minuman serbuk yang telah disimpan selama 4 bulan setelah produksi, minuman serbuk yang telah disimpan selama 8 bulan setelah produksi, dan minuman serbuk yang telah disimpan selama 12 bulan setelah produksi memiliki jumlah yang berbeda.

NaCl fisiologis tidak memiliki zat aktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri khususnya *Escherichia coli*. Pada penelitian ini pelarut yang digunakan untuk mengencerkan bakteri *Escherichia coli* adalah NaCl 0,9%.

Pada penelitian ini, *buffer pepton* digunakan sebagai pelarut produk yang akan diuji karena memiliki pH yang sudah diketahui dan mampu menjaga pH produk agar stabil. *Buffer pepton* sebagai pelarut produk tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba, hal ini ditunjukkan dengan hasil uji pada *buffer pepton* yang menunjukkan jumlah bakteri 0 dimana hal ini membuktikan bahwa *buffer pepton* tidak akan menambah jumlah bakteri. Media *Tryptic Soy Agar* digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri secara universal, dari hasil penelitian ini dapat dilihat bahwa bakteri *Escherichia coli* mampu tumbuh pada media ini.

Satu sachet minuman serbuk N memiliki berat bersih 7 gram, dalam 7 gram minuman serbuk N mengandung vitamin C sebanyak 100 mg, jeruk nipis sebanyak 180 mg, lo han kuo sebanyak 60 mg, kayu manis sebanyak 10 mg, dan pulosari sebanyak 65 mg. pada penelitian ini menggunakan konsentrasi 5% dari minuman serbuk N yang berasal dari 5 gram dalam satu sachet minuman serbuk N yang dilarutkan dengan *buffer pepton* add 100 ml ada labu takar. Perkiraan kandungan bahan dari minuman serbuk N 5 gram ini menjadi vitamin C sebanyak 71,43 mg; jeruk nipis 128,57 mg; lo han kui sebanyak 42,86 mg; kayu manis 7,14 mg; dan pulosari sebanyak 46,43 mg. Minuman serbuk N yang digunakan adalah minuman serbuk N yang telah selesai diproduksi di hari yang sama, minuman serbuk N yang sudah disimpan selama 4

bulan setelah proses produksi, minuman serbuk N yang sudah disimpan selama 8 bulan setelah proses produksi, dan minuman serbuk N yang sudah disimpan selama 12 bulan setelah proses produksi. Dari sampel minuman serbuk N yang sudah diperoleh, dilakukan uji enumerasi dengan metode *spread plate*. *Spread plate* atau cawan sebar memiliki kelebihan yaitu mikroorganisme tidak terpapar pada suhu dimana agar masih cair sehingga memungkinkan didapatkannya jumlah yang lebih tinggi dari volume yang sama dibandingkan dengan metode *pour plate*. Metode *spread plate* yang digunakan pada penelitian ini diinkubasi pada suhu 32°C selama 24 jam. Setelah 24 jam jumlah bakteri dibaca menggunakan *colony counter*.

Enumerasi adalah teknik menghitung jumlah sel bakteri. Teknik enumerasi digunakan untuk menghitung jumlah mikroba dalam suatu media tanpa mengidentifikasi jenis mikroba (Brooks, 2013). Teknik ini bertujuan untuk menentukan jumlah sel dari suatu kultur bakteri secara kuantitatif. Enumerasi secara kuantitatif bakteri dapat dilakukan dengan perhitungan jumlah bakteri secara langsung atau tidak langsung dari suatu sampel. Keuntungan menggunakan metode enumerasi mikroorganisme secara tidak langsung adalah perhitungan hanya dilakukan pada mikroba yang masih hidup sehingga hasilnya lebih akurat.

Untuk menumbuhkan mikroba hasil pengenceran di dalam cawan petri dapat dilakukan dengan metode *spread plate* atau metode *pour plate*. Metode *pour plate* dilakukan dengan cara menuang 20 ml medium steril dengan suhu kira-kira 45-50°C inokulum sebanyak 1 ml yang sudah dimasukkan ke dalam cawan petri steril. Selanjutnya cawan petri tersebut digoyang berputar dengan tangan di atas permukaan meja, lalu didinginkan biar agar menjadi beku. Metode *spread plate* dilakukan dengan cara menuang 20 ml medium steril terlebih dahulu ke dalam cawan Petri dan dibiarkan menjadi dingin. Selanjutnya inokulum diinokulasikan di tengah cawan petri dan disebar dengan batang L yang telah disterilisasi dengan oven.

Pada penelitian ini metode enumerasi yang digunakan adalah metode *spread plate* karena metode ini lebih cocok digunakan karena memiliki keuntungan jumlah koloni yang hidup. Tetapi metode ini memiliki kelemahan yaitu waktu pengerjaan sampel menjadi lebih lama dan koloni yang tumbuh menjadi sulit dihitung karena terlalu banyak bakteri yang tumbuh, hanya akan tumbuh di atas media. Jika dibandingkan dengan metode *pour plate* yang memiliki keuntungan lebih cepat dalam proses

pengerjaan sampel akan tetapi memiliki kelemahan jika bakteri yang digunakan tidak tahan panas dan memungkinkan adanya bakteri yang mati karena suhu dari media yang digunakan masih panas dan jika saat meratakan kurang rata akan menyebabkan bakteri hanya tumbuh bergerombol, bakteri yang tumbuh bergerombol, berderet, dan menempel koloni lainnya maka akan terhitung sebagai 1 koloni saja. Sedangkan sesuai *Standar Plate Count* jumlah pertumbuhan yang masuk syarat jika menunjukkan pertumbuhan 30-300 koloni setiap cawan petrinya.

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh minuman serbuk N yang tidak disimpan sampai disimpan selama 12 bulan setelah proses produksi terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Media uji yang akan digunakan telah diinkubasi terlebih dahulu, tujuannya untuk memastikan bahwa media yang akan digunakan tidak terkontaminasi mikroba lain. *Escherichia coli* yang tumbuh pada media cair akan membentuk kekeruhan. Pelarut *buffer pepton* memiliki pH diantara 6,8 hingga 7,2 fungsi dari *buffer* adalah menjaga pH dari usaha untuk mengubah pH penambahan sedikit asam, sedikit basa, atau penambahan air tidak mengubah pH larutan (Pujiyanti, 2008). Larutan penyangga atau larutan *buffer* (dapar) merupakan suatu larutan yang dapat mempertahankan nilai pH tertentu.

Pada Tabel 2. dapat dilihat bahwa jumlah bakteri pada kontrol negatif, *buffer pepton*, dan minuman serbuk N menunjukkan jumlah bakteri 0 dimana dari hasil tersebut media, pelarut, dan sampel yang akan digunakan tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri yang terbentuk. Dari hasil uji kontrol negatif dapat dipastikan bahwa tidak ada bakteri selain *Escherichia coli* yang tumbuh.

Jumlah *Escherichia coli* adalah $5,4 \times 10^6$, $5,8 \times 10^6$, $6,1 \times 10^6$, jumlah *Escherichia coli* pada minuman serbuk N tanpa penyimpanan setelah proses produksi adalah $4,2 \times 10^6$, $4,5 \times 10^6$, $4,7 \times 10^6$, jumlah *Escherichia coli* pada minuman serbuk N yang sudah disimpan selama 4 bulan setelah proses produksi adalah $4,6 \times 10^6$, $5,5 \times 10^6$, $5,6 \times 10^6$, jumlah *Escherichia coli* pada minuman serbuk N yang telah disimpan selama 8 bulan setelah proses produksi adalah $4,0 \times 10^6$, $4,7 \times 10^6$, $5,9 \times 10^6$, dan jumlah *Escherichia coli* pada minuman serbuk N yang telah disimpan selama 12 bulan setelah produksi adalah $4,0 \times 10^6$, $5,3 \times 10^6$, $6,0 \times 10^6$.

Pada Tabel 3. jumlah *Escherichia coli* pada pelarut *buffer pepton* menunjukkan hasil pertumbuhan lebih tinggi dari *Escherichia coli* yang tumbuh dengan pelarut minuman

serbuk N baik tanpa penyimpanan setelah proses produksi maupun telah disimpan selama 12 bulan setelah proses produksi. Minuman serbuk N memiliki kandungan antimikroba yaitu dengan adanya kayu manis dan jeruk nipis. Kemampuan dari kayu manis karena mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Hal ini disebabkan adanya kandungan zat aktif dalam kulit kayu manis yang diduga memiliki efek antibakteri yaitu eugenol. Eugenol juga mempunyai efek antioksidan, anti kanker dan efek anestesi (Kong, 2016).

Penelitian mengenai kemampuan *Escherichia coli* pada produk yang mengandung kayu manis pernah dilakukan sebelumnya, namun dengan metode yang berbeda. Pada penelitian ini dapat dilihat bahwa minuman serbuk N dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* karena minuman serbuk N memiliki kandungan *Cinamomum burmanii* yang berperan sebagai antibakteri. *Cinamomum burmanii* berasal dari Sri Lanka, Myanmar, Amerika Selatan, Karibia, Asia Tenggara dan Hindia Barat (Arora, 2021). Penggunaan luas kayu manis pada produk makanan dan kosmetik adalah untuk menghindari degradasi bakteri dan mengurangi kemungkinan infeksi (Abdellaoui, 2019).

Kayu manis dalam minuman serbuk N sebanyak 10 mg. *Cinnamomum burmanii* diduga tidak cukup kuat untuk memberi daya hambat pada pertumbuhan *E. coli*. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa ekstrak kayu manis menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih baik pada gram positif daripada bakteri gram negatif (Shan, 2007).

Jeruk nipis yang terdapat pada minuman serbuk N sebanyak 180 mg tiap satu sachetnya mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, minuman serbuk N tanpa penyimpanan setelah produksi maupun yang sudah disimpan selama 12 bulan setelah proses produksi. Dari penelitian ini jika dibandingkan dengan kontrol positif dari *Escherichia coli*, jumlah *Escherichia coli* yang dilarutkan dengan minuman serbuk N menunjukkan jumlah yang lebih sedikit. Penghambatan pertumbuhan *Escherichia coli* disebabkan oleh senyawa kimia yang berasal dari jeruk nipis. Dari hasil penelitian (Muhtadi, 2015), pengujian penapisan fitokimia menunjukkan bahwa jeruk nipis memiliki kandungan senyawa saponin, dan flavonoid (Hutapea, 2000) yang berperan dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.

Hasil dari penelitian ini mampu menjawab permasalahan yang ada yaitu banyak pertanyaan yang timbul di masyarakat apakah produk yang telah beredar di pasaran aman untuk dikonsumsi, menurut aturan dari Badan Pengawas Obat dan Makanan setiap produk yang akan beredar di pasaran harus melewati uji laboratorium baik kimia, fisika maupun mikrobiologi. Hasil enumerasi minuman serbuk N menunjukkan hasil 0 dan tidak ada tanda-tanda pertumbuhan *Escherichia coli*, karena produk *food and herbal* syarat lolos pengujian laboratorium mikrobiologi adalah negatif *Escherichia coli*.

Bahan kemas primer yang digunakan untuk kemasan minuman serbuk N adalah *polyethylene terephthalate* tebal 12 mcm, *polyethylene* tebal 20 mcm, aluminium tebal 20 mcm, dan *low linear density polyethylene* tebal 40 mcm. Sedangkan untuk kemas sekunder menggunakan *duplex*. Suhu penyimpanan yang disarankan pada suhu dibawah 25°C.

Kemasan lentur banyak digunakan sebagai pengganti kemasan *rigid*, karena memiliki banyak keuntungan yaitu memperpanjang masa simpan dan berat kemasan berkurang. Bentuk pouch merupakan bentuk yang paling populer dan diperkirakan akan meningkat sepanjang 2017-2022 dengan rata-rata pertahun 4,1%. Tahun 2017 konsumsi flexible packaging mencapai 27,4 juta (Metaform, 2019). *Polyethylene terephthalate* memiliki karakteristik fisik yang stabil terhadap panas sehingga tahan terhadap suhu proses tanpa terjadi degradasi (Robertson, 2005).

Fungsi dasar dari kemasan adalah sebagai tempat dan melindungi produk dari kerusakan, sehingga lebih mudah untuk disimpan dan diangkut (Syarif, 1989). Kemasan fleksibel adalah kemasan yang bersifat fleksibel yang dibentuk dari aluminium foil, film plastik, selopan, *metalized* film, kertas dan bahan perekat yang dapat berbentuk lembaran, kantong, sachet maupun bentuk lainnya (Perindustrian, 2007). Sifat mekanis aluminium foil yang sangat penting adalah “*tensile strength*“, elastisitas dan daya tahannya terhadap sobekan dan lipatan (Suyitno, 1990). Ketahanan aluminium foil terhadap panas dapat mencapai suhu 550°C, sehingga alat kedokteran dapat disterilkan dengan dibungkus aluminium foil (Astawan, 2008). Aluminium foil dapat digunakan untuk mengemas produk buah dan sayur, produk daging, ikan, produk susu dan minuman, dan obat-obatan (Julianti, 2007).