

## **Penilaian mikrobiologi daging salai bersalut salutan antimikrob**

(Microbiology evaluation of smoked meat coated with antimicrobial coating)

Raja Arief Deli Raja Nasharuddin, Siah Watt Moey,  
Aida Mohamad dan Ashahida Amran

### **Pengenalan**

Daging salai merupakan makanan yang disediakan dengan teknik mengasap, mengawet dan menambah baik rasa serta tekstur makanan yang kaya dengan sumber protein ini. Mekanisme penyahidratan serta pengasapan mampu menjadikan daging salai lebih lembut dan mampu disimpan lebih lama. Daging salai lazimnya didapati di Negeri Sembilan kerana budaya masakan yang sering menggunakan bahan utama daripada daging salai seperti masak lemak cili api dan rendang. Kini, produk daging salai telah dikomersialkan dan semakin diminati di seluruh Malaysia.

Namun, tempoh penyimpanan daging salai yang disediakan secara konvensional adalah sangat pendek iaitu 2 – 3 minggu pada suhu 2 °C manakala dua hari sahaja pada suhu bilik disebabkan oleh pertumbuhan mikroorganisma. Keadaan ini membataskan produk salai dijual pada skala besar dalam industri makanan lalu menjadikan ia hanya dijual secara kecil-kecilan sahaja. Justeru, kaedah penyalutan antimikrob bersama salutan boleh dimakan dicadangkan kepada usahawan bagi menghalang kontaminan mikrob seterusnya melanjutkan jangka hayat produk daging salai di pasaran.

Agen antimikrob boleh digabungkan dengan salutan boleh dimakan untuk meningkatkan fungsinya kerana agen ini boleh menghad atau menghalang pertumbuhan mikroorganisma perosak dan patogen. Daging salai akan diuji dengan bahan penyalut antimikrob dan tanpa antimikrob bagi jangka masa tertentu. Salutan antimikrob terdiri daripada formulasi gabungan bahan pengawet komersial seperti *potassium sorbate* dan *sodium benzoate* berdasarkan had yang dibenarkan oleh *General Standard For Food Additives, Codex Stan 192-1995*. Objektif kajian ini dijalankan adalah untuk menilai keberkesanan bahan penyalut antimikrob terhadap jangka hayat daging salai di samping penilaian faktor kebersihan dan keselamatan makanan.

### **Kaedah analisis mikrobiologi terhadap daging salai (Kajian jangka hayat daging salai)**

Dalam kajian ini, penilaian bagi kesan penyalut antimikrob terhadap kualiti daging salai merupakan data aplikasi dari premis usahawan. Sampel kajian daripada premis usahawan diuji dengan secepat mungkin di makmal bagi analisis

mikrobiologi. Kajian telah dilaksanakan dari 18 September 2018 hingga 26 November 2018. Daging yang dipotong dengan saiz 10 cm x 5 cm x 5 cm (panjang x lebar x tinggi) disalai di dalam kebuk salai selama 90 minit (satu jam 30 minit) pada suhu  $80\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  (*Gambar 1*). Selepas itu, daging salai direndam dalam larutan penyalut selama tiga minit (*Gambar 2*). Seterusnya, daging tersebut disalai selama 1 jam pada suhu yang sama. Selepas proses menyalai tamat, daging salai dibiarkan sejuk di dalam kabinet sebelum dibungkus secara vakum dan disimpan pada suhu  $2\text{ }^{\circ}\text{C}$  (*Gambar 3*).



*Gambar 1. Penyalaian sampel daging dalam kebuk salai*



*Gambar 2. Daging salai direndam dalam larutan penyalut selama tiga minit*



*Gambar 3. Sampel daging salai yang telah diberi rawatan antimikrob dan disimpan dalam pembungkusan vakum*

Sejumlah 36 sampel (2 replikasi atau duplikat) telah analisis untuk menentukan keberkesanan penyalut antimikrob terhadap jangka hayat daging salai. Terdapat dua jenis rawatan terhadap daging salai iaitu penyalutan dengan penyalut antimikrob dan penyalut tanpa agen antimikrob. Kualiti penyimpanan kedua-dua rawatan ini dibandingkan dengan kualiti daging salai tanpa penyalut sebagai kawalan. Dua sampel diambil daripada setiap rawatan untuk dianalisis selang dua minggu selama sepuluh minggu. Dalam kajian ini, sampel diuji dengan analisis mikrobiologi seperti kiraan jumlah bakteria, kiraan jumlah yis dan kulat, kiraan koliform, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan ujian kehadiran *Salmonella* mengikut kaedah modifikasi daripada Wallas dan Thomas dijalankan di dalam kabinet *biohazard*. Setiap pencairan dalam analisis telah dipiringkan secara duplikat.

Bagi tujuan penyediaan sampel homogen, sebanyak 10 g sampel daging ditimbang secara steril dan dicairkan dengan 90 mL larutan *Ringers* lalu diemparkan selama dua minit. Pencairan bersiri  $10^1 - 10^5$  telah dilakukan. Bagi kiraan jumlah bakteria, sebanyak 1 mL daripada setiap pencairan dipindahkan ke dalam piring petri sebelum dicurahkan dengan *Plate Count Agar* (PCA) yang cair (suhu agar ditetapkan pada suhu 50 °C) dan agar dibiarkan mengeras pada suhu bilik. Kesemua piring petri dieram di dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 48 jam ± 2 jam. Bagi kiraan koliform dan *Escherichia coli*, sebanyak 1 mL daripada setiap pencairan dipindahkan ke atas 3M *Petrifilm* dan diratakan menggunakan plastik yang steril lalu dieram di dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 – 48 jam ± 2 jam.

Bagi kiraan jumlah yis dan kulat, agar yang digunakan ialah *Malt Extract Agar* (MEA) yang telah ditambah dengan 10% asid tartarik, manakala bagi kiraan *Staphylococcus aureus*, agar yang digunakan ialah *Baird Parker Agar* (BPA) yang telah ditambah dengan *Egg Yolk Tellurite Emulsion*. Sebanyak 0.1 mL daripada setiap pencairan dipindahkan ke dalam piring petri yang telah dituang agar yang telah mengeras. Kemudian, sampel diratakan di atas agar keras dengan menggunakan *hockey stick* yang steril. Kesemua piring petri dieram di dalam inkubator pada suhu 32 °C bagi kiraan jumlah yis dan kulat dan 37 °C bagi kiraan *Staphylococcus aureus* masing-masing selama 72 jam ± 2 jam dan 48 jam ± 2 jam.

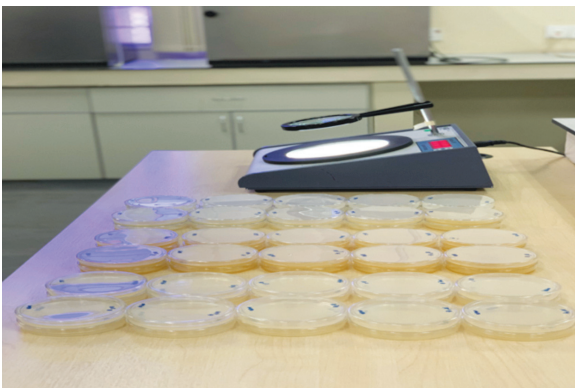
Bagi ujian *Salmonella*, sebanyak 25 g sampel telah ditimbang secara steril dan diperkayakan dalam 225 mL *Buffered Peptone Water* (BPW) yang disteril, lalu diemparkan selama dua minit. Campuran sampel dieram pada suhu 37 °C selama 24 jam ± 2 jam. Sebanyak 1 mL dan 0.1 mL daripada sampel yang telah diperkaya kemudiannya dipindahkan dalam 9 mL kaldu *Selenite Cystine* (SC) dan 9.9 mL kaldu *Rappaport-Vassiliadis* (RV), lalu dieram masing-masing pada suhu 37 °C dan 42 °C, selama 24 jam ± 2 jam. Selepas pengeraman, satu gelung daripada kaldu

SC dan RV dicoret pada medium *Xylose Lysine Desoxycholate* (XLD), *Xylose Lysine Tergitol-4* (XLT-4) dan *Rambach* (RB) lalu dieram pada suhu 37 °C selama 24 – 48 jam ± 2 jam. Isolat koloni yang menunjukkan ciri-ciri tipikal mengikut arahan pengilang dianggap andaian *Salmonella* dan dituliskan dengan coretan pada medium *Nutrient Agar* (NA). Koloni yang telah dipencilkan akan melalui pewarnaan *Gram* dan diuji melalui ujian biokimia berikut; *catalase*, *cytochrome oxidase*, *triple sugar iron*, *lysine iron*, *urease*, *indole* dan *motility test*.

### **Hasil analisis mikrobiologi terhadap daging salai (tempoh penyimpanan sehingga 10 minggu)**

Analisis mikrobiologi (*Gambar 4*) menunjukkan sampel daging salai dengan penyalut antimikrob (DAM) mempunyai tempoh jangka hayat selama empat minggu pada 2 °C ± 2 °C manakala sampel kawalan tanpa penyalut (KWL) dan sampel dengan penyalut tanpa agen antimikrob (PLD) mempunyai tempoh jangka hayat hanya selama dua minggu pada suhu 2 °C ± 2 °C (*Jadual 1*). Ini dibuktikan dengan data bacaan kiraan jumlah bakteria dan kiraan jumlah yis dan kulat yang masih memuaskan pada minggu keempat bagi sampel DAM manakala masing-masing pada minggu kedua bagi sampel KWL dan PYD secara signifikan. Julat mikrobiologi ini penting kerana pertumbuhannya menyebabkan kerosakan makanan lalu menentukan jangka hayat produk.

Dalam kajian ini, aras bacaan bakteria bagi daging salai dirujuk kepada *Microbiological Reference Criteria for Food* (MRCFF) Australia berikutan Akta Makanan 1983 masih belum mempunyai rujukan rasmi bagi kategori daging salai. Bagi analisis koliform, sampel DAM menunjukkan bacaan yang memuaskan sehingga minggu keempat manakala sampel KWL dan PYD hanya menunjukkan bacaan yang baik sehingga minggu kedua, secara signifikan. Aras koliform secara umumnya digunakan sebagai indikator bagi kondisi kebersihan dan kualiti mikrobiologi. Bakteria perosak ini mampu tumbuh dengan cepat dalam makanan jika dikenakan suhu dan masa yang sesuai.



*Gambar 4. Analisis mikrobiologi yang telah dijalankan terhadap daging salai*

Jadual 1. Analisis mikrobiologi sampel daging salai disalut sepanjang 10 minggu tempoh simpanan pada suhu 2 °C

Jangka Hayat	Daging salai		
Minggu/Analisis	Kiraan jumlah bakteria (cfu/g)		
	KWL	PLD	DAM
0	0.95 ± 0.63 <sup>A<sub>d</sub></sup>	1.74 ± 0.48 <sup>A<sub>c</sub></sup>	1.45 ± 0.21 <sup>A<sub>e</sub></sup>
2	1.54 ± 0.34 <sup>A<sub>d</sub></sup>	1.85 ± 0.43 <sup>A<sub>c</sub></sup>	2.18 ± 0.20 <sup>A<sub>d</sub></sup>
4	<b>4.56 ± 0.39<sup>A<sub>c</sub></sup></b>	<b>4.55 ± 0.04<sup>A<sub>b</sub></sup></b>	3.26 ± 0.17 <sup>B<sub>c</sub></sup>
6	<b>5.99 ± 0.53<sup>A<sub>b</sub></sup></b>	<b>4.68 ± 0.05<sup>B<sub>b</sub></sup></b>	<b>4.11 ± 0.10<sup>B<sub>b</sub></sup></b>
8	<b>7.08 ± 0.44<sup>A<sub>ab</sub></sup></b>	<b>4.81 ± 0.04<sup>B<sub>b</sub></sup></b>	<b>4.68 ± 0.08<sup>B<sub>b</sub></sup></b>
10	<b>7.36 ± 0.69<sup>A<sub>a</sub></sup></b>	<b>5.85 ± 0.10<sup>AB<sub>a</sub></sup></b>	<b>5.46 ± 0.49<sup>B<sub>a</sub></sup></b>
Minggu/Analisis	Kiraan jumlah yis dan kulat (cfu/g)		
	KWL	PLD	DAM
0	1.00 ± 0 <sup>A<sub>e</sub></sup>	1.00 ± 0 <sup>A<sub>f</sub></sup>	1.50 ± 0.71 <sup>A<sub>c</sub></sup>
2	2.00 ± 0 <sup>A<sub>d</sub></sup>	2.00 ± 0 <sup>A<sub>e</sub></sup>	2.30 ± 0.43 <sup>A<sub>bc</sub></sup>
4	<b>4.48 ± 0.39<sup>A<sub>c</sub></sup></b>	<b>4.18 ± 0.04<sup>A<sub>d</sub></sup></b>	2.87 ± 0.98 <sup>A<sub>b</sub></sup>
6	<b>6.57 ± 0.18<sup>A<sub>b</sub></sup></b>	<b>4.58 ± 0<sup>B<sub>c</sub></sup></b>	<b>4.17 ± 0.12<sup>C<sub>a</sub></sup></b>
8	<b>7.37 ± 0.58<sup>A<sub>a</sub></sup></b>	<b>4.77 ± 0.10<sup>B<sub>b</sub></sup></b>	<b>4.70 ± 0.06<sup>B<sub>a</sub></sup></b>
10	<b>7.86 ± 0.02<sup>A<sub>a</sub></sup></b>	<b>5.95 ± 0.06<sup>B<sub>a</sub></sup></b>	<b>4.97 ± 0.04<sup>C<sub>a</sub></sup></b>
Minggu/Analisis	Kiraan koliform/ <i>Escherichia coli</i> (cfu/g)		
	KWL	PLD	DAM
0	0.50 ± 0 <sup>A<sub>e</sub></sup>	0.50 ± 0 <sup>A<sub>d</sub></sup>	0.50 ± 0.00 <sup>A<sub>c</sub></sup>
2	0.75 ± 0.35 <sup>A<sub>de</sub></sup>	0.50 ± 0 <sup>A<sub>d</sub></sup>	0.50 ± 0.00 <sup>A<sub>c</sub></sup>
4	<b>1.95 ± 0.95<sup>A<sub>cd</sub></sup></b>	<b>1.61 ± 0.15<sup>A<sub>c</sub></sup></b>	0.50 ± 0.00 <sup>A<sub>c</sub></sup>
6	<b>3.18 ± 0.30<sup>A<sub>bc</sub></sup></b>	<b>2.36 ± 0.45<sup>A<sub>b</sub></sup></b>	<b>1.24 ± 0.09<sup>B<sub>b</sub></sup></b>
8	<b>4.03 ± 0.90<sup>A<sub>ab</sub></sup></b>	<b>3.80 ± 0.21<sup>A<sub>a</sub></sup></b>	<b>1.72 ± 0.17<sup>B<sub>b</sub></sup></b>
10	<b>5.11 ± 0.05<sup>A<sub>a</sub></sup></b>	<b>4.12 ± 0.16<sup>A<sub>a</sub></sup></b>	<b>2.46 ± 0.60<sup>B<sub>a</sub></sup></b>
Minggu/Analisis	Kiraan <i>Staphylococcus aureus</i> (cfu/g) dan Ujian <i>Salmonella</i> (andaian dalam 25 g)		
	KWL	PLD	DAM
0	1.00 ± 0 <sup>A<sub>a</sub></sup>	1.00 ± 0 <sup>A<sub>a</sub></sup>	1.00 ± 0 <sup>A<sub>a</sub></sup>
2	1.00 ± 0 <sup>A<sub>a</sub></sup>	1.00 ± 0 <sup>A<sub>a</sub></sup>	1.00 ± 0 <sup>A<sub>a</sub></sup>
4	1.00 ± 0 <sup>A<sub>a</sub></sup>	1.00 ± 0 <sup>A<sub>a</sub></sup>	1.00 ± 0 <sup>A<sub>a</sub></sup>
6	1.00 ± 0 <sup>A<sub>a</sub></sup>	1.00 ± 0 <sup>A<sub>a</sub></sup>	1.00 ± 0 <sup>A<sub>a</sub></sup>
8	1.00 ± 0 <sup>A<sub>a</sub></sup>	1.00 ± 0 <sup>A<sub>a</sub></sup>	1.00 ± 0 <sup>A<sub>a</sub></sup>
10	1.00 ± 0 <sup>A<sub>a</sub></sup>	1.00 ± 0 <sup>A<sub>a</sub></sup>	1.00 ± 0 <sup>A<sub>a</sub></sup>

Nota:

Penilaian mikrobiologi antara sampel daging salai mengikut jangka hayat dan jenis rawatan antimikrob telah dianalisis dengan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) (SAS version 9.3) dan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada tahap signifikan ( $p < 0.05$ )

Min yang ditandai dengan huruf yang sama pada baris yang sama (huruf besar) atau lajur yang sama (huruf kecil) adalah tidak berbeza secara signifikan antara satu sama lain ( $p > 0.05$ )

KWL = Sampel kawalan tanpa penyalut

PLD = Sampel dengan penyalut tanpa agen antimikrob

DAM = Sampel dengan penyalut antimikrob

**Bold** = Had maksimum mikrobiologi (berdasarkan rujukan antarabangsa MRCFF Australia)

Namun, sampel daging salai didapati tidak mengandungi *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* sepanjang tempoh kajian. Jika patogen yang dinyatakan wujud, tindakan pembetulan pada Prosedur Operasi Standard (SOP) mungkin perlu diambil. Dengan ketidakhadiran patogen berbahaya ini, ia menunjukkan sampel daging salai selamat untuk dimakan. Hal ini mungkin berlaku disebabkan faktor pengasapan pada daging dan faktor penyimpanannya pada suhu sejuk serta *post-processing environment* di premis usahawan yang baik menjadikan potensi pertumbuhan patogen adalah rendah.

Data yang diperoleh menunjukkan bahawa rawatan antimikrob sangat berkesan dalam meningkatkan kualiti dan tempoh jangka hayat daging salai. Ini mungkin disebabkan sinergi bahan pengawet yang digunakan iaitu *sodium benzoate* dan *potassium sorbate* dalam lapisan antimikrob. Formulasi ini memberi kesan yang positif iaitu bacaan mikroorganisma perosak yang lebih rendah, secara signifikan kepada sampel daging salai (DAM). Sampel kawalan (KWL) merekodkan bacaan mikroorganisma paling tinggi diikuti oleh sampel daging salai (PLD) berdasarkan had piawaian antarabangsa MRCFF (*Jadual 2*).

Jadual 2. Had mikrobiologi berdasarkan *Microbiological Reference Criteria for Food* (MRCFF) Australia

Kategori makanan	Mikroorganisma	Had mikrobiologi		Rujukan kaedah analisis	Rujukan utama
		Minimum	Maksimum		
Daging salai	Kiraan jumlah bakteria	10 <sup>4</sup> cfu/g	10 <sup>5</sup> cfu/g	ISO 4833:2003 FDA Bacteriological Analytical Manual Online, 2001: Chapter 3 – Aerobic plate counts	MRCFF Australia
	Kiraan koliform	10 cfu/g	10 <sup>2</sup> cfu/g	ISO 4831:2006 ISO 4832:2006 AOAC, 18 <sup>th</sup> Edition, 2005: 17.3.04 – Coliform/ <i>E. coli</i> Petrifilm	
	Kiraan <i>Staphylococcus aureus</i>	10 <sup>2</sup> cfu/g	10 <sup>3</sup> cfu/g	ISO 6888-1:1999 ISO 6888-2:1999 ISO 6888-3:2003 AOAC, 18 <sup>th</sup> Edition, 2005: 17.5.10 – <i>Staphylococcus aureus</i> Count: Petrifilm STX	
	<i>Salmonella</i>	Tiada dalam 25 g		EN/ISO 6579	

## Kesimpulan

Secara keseluruhannya, aplikasi salutan antimikrob terhadap daging salai mampu melanjutkan jangka hayat daging salai sehingga empat minggu pada suhu penyimpanan 2 °C berbanding dengan daging salai tanpa salutan antimikrob yang hanya mencapai jangka hayat dua minggu pada suhu penyimpanan 2 °C. Kajian lanjut boleh dilaksanakan dari sudut penilaian sensori dan assai resapan cakera bagi mengenal pasti potensi teknikal salutan antimikrob daging salai.

## Penghargaan

Pengarang merakamkan ucapan terima kasih kepada pasukan penyelidik dan staf yang terlibat dalam kajian ini. Projek ini dibiayai oleh Geran P-PB425 (Projek Pembangunan Usahawan Tekno Yang Kompetitif di Pasaran Domestik dan Global).

## Bibliografi

- Microbiological Reference Criteria for Food (MRCFF) (2016) Australia Food Standards Code – Microbiological limits in food, Standard 1.6.1, Schedule
- Stanojevic, D., Comic, L., Stefanovic, O. dan Solujic-Sukdolac, S. (2009). Antimicrobial effects of sodium benzoate, sodium nitrate and potassium sorbate and their synergistic action in vitro. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 15 (No.4): 307 – 311
- Wallace, H.A. dan Thomas, H.A. (1998). *Bacteriological Analytical Manual*, Edition 8, Revision A, Chapter 1
- World Health Organization (WHO). (2014). Initiative to estimate the global burden of foodborne diseases: Information and publications. Geneva: WHO
- Zachara, A., Galkowska, D. dan Juszcak, L. (2017). Contamination of smoked meat and fish products from Polish market with polycyclic aromatic hydrocarbons. *Food Control* 80: 45 – 51
- Zhang, W., Naveena, M., Jo, C., Sakata, R., Zhou, G., Banerjee, R. dan Nishiumi, T. (2017). Technological demands of meat processing – An Asian perspective. *Meat Science* 132: 35 – 44

## Ringkasan

Kajian ini dilaksanakan bagi menilai kualiti mikrobiologi dan jangka hayat simpanan terhadap daging salai yang disalut dengan salutan antimikrob dan juga salutan tanpa agen antimikrob. Berdasarkan piawaian, salutan antimikrob berjaya mengurangkan kontaminasi mikrob pada daging salai seterusnya memanjangkan jangka hayat simpanan selama empat minggu, berbanding dengan daging salai tanpa salutan antimikrob yang hanya mencapai jangka hayat dua minggu. Data mikrobiologi ini penting dari sudut keselamatan makanan bagi menembusi pasaran halal global.

**Summary**

This study aimed for the microbiology quality and shelf life evaluation of smoked meat coated with antimicrobial coating and without antimicrobial agent. Based on standard, antimicrobial coating successfully reduces bacterial contamination of smoked meat and extends the shelf life for four weeks compared to smoked meat without antimicrobial coating which only lasts for two weeks. Microbiological data is important in term of food safety to penetrate global halal market.

**Pengarang**

Raja Arief Deli Raja Nasharuddin  
Pusat Penyelidikan Sains dan Teknologi Makanan, Ibu Pejabat MARDI,  
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor  
E-mel: del@mardi.gov.my

Siah Watt Moey, Aida Mohamad dan Ashahida Amran  
Pusat Penyelidikan Sains dan Teknologi Makanan, Ibu Pejabat MARDI,  
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor