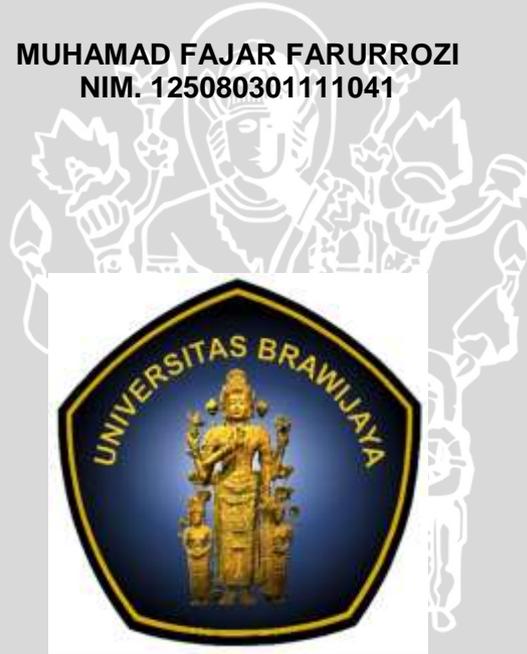


**PENGOLAHAN SOSIS FERMENTASI IKAN PATIN (*Pangasius pangasius*)
MENGUNAKAN KULTUR DAN METABOLIT *Lactobacillus fermentum*
SECARA INDIVIDU DAN KOMBINASI TERHADAP
KARAKTERISTIK MIKROBIOLOGI**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Oleh :

**MUHAMAD FAJAR FARURROZI
NIM. 125080301111041**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2017**

**PENGOLAHAN SOSIS FERMENTASI IKAN PATIN (*Pangasius sp*)
MENGUNAKAN KULTUR DAN METABOLIT *Lactobacillus fermentum*
SECARA INDIVIDU DAN KOMBINASI TERHADAP
KARAKTERISTIK MIKROBIOLOGI**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
Di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

Oleh :

**MUHAMAD FAJAR FARURROZI
NIM. 125080301111041**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2017**

SKRIPSI

**PENGOLAHAN SOSIS FERMENTASI IKAN PATIN (*Pangasius pangasius*)
MENGUNAKAN KULTUR DAN METABOLIT *Lactobacillus fermentum*
SECARA INDIVIDU DAN KOMBINASI TERHADAP
KARAKTERISTIK MIKROBIOLOGI**

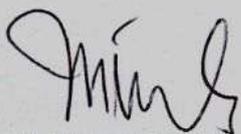
Oleh :

MUHAMAD FAJAR FARURROZI

NIM. 125080301111041

telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 6 Januari 2017
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji



(Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP)

NIP. 19680919 200501 1 001

Tanggal : 23 JAN 2017

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

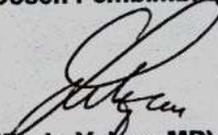


(Dr. Ir. Happy Nursyam, MS)

NIP. 19600322 198601 1 001

Tanggal : 23 JAN 2017

Dosen Pembimbing II



(Dr. Ir. Yahya, MP)

NIP. 19630706 199003 1 003

Tanggal : 23 JAN 2017



Mengetahui,
Ketua Jurusan
Manajemen Sumberdaya Perairan

(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)

NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal : 23 JAN 2017



PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar merupakan hasil karya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 4 Desember 2016

Mahasiswa

Muhamad Fajar Farurrozi
NIM. 12508030111041



UCAPAN TERIMA KASIH

Atas terselesaikannya laporan skripsi ini penulis menyampaikan terima kasih sedalam-dalamnya kepada:

1. Allah S.W.T yang selalu mengabulkan doa saya.
2. Ibu, Bapak, adik, saudara-saudara semua atas doa, dukungan, semangat, kesabaran, kasih sayang, dan bantuan yang diberikan selalu.
3. Ibu Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS selaku Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.
4. Ibu Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS selaku Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perikanan
5. Bapak Dr. Ir. Happy Nursyam, MS dan bapak Dr. Ir. Yahya, MP selaku dosen pembimbing, untuk arahan dan bimbingannya.
6. Bapak Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP dan Ibu Dr. Ir. Dwi Setijawati, M. Kes selaku dosen penguji skripsi yang telah memberikan masukan dan saran.
7. Bu Erma selaku Laboran Nutrisi Ikan, Mbak Megawati Kusuma selaku Laboran Keamanan Hasil Perikanan dan Mbak Titin Yuniatutik, S.TP selaku Laboran Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang yang telah mendampingi dan banyak membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
8. Teman kos, teman bimbingan, serta sahabat "KUBOGEM" semua atas kebersamaan dan bantuan yang diberikan.
9. Semua pihak yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Malang, 4 Desember 2016

Penulis

RINGKASAN

Muhamad Fajar Farurrozi. Pengolahan Sosis Fermentasi Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) Menggunakan Kultur Dan Metabolit *Lactobacillus fermentum* Secara Individu dan Kombinasi Terhadap Karakteristik Mikrobiologi (Dibawah bimbingan **Dr. Ir. Happy Nursyam, MS** dan **Dr. Ir. Yahya, MP**).

Ikan patin (*Pangasius pangasius*) merupakan jenis ikan air tawar yang memiliki nilai ekonomis yang sangat penting. Akan tetapi, ikan pada umumnya mudah mengalami pembusukan (*perishable food*). Untuk mengatasi hal tersebut, maka perlu dilakukan upaya teknologi pengolahan ikan salah satunya melalui produk sosis fermentasi berbahan baku ikan. Sosis fermentasi merupakan produk fermentasi olahan daging dengan penggunaan kultur bakteri asam laktat. Bakteri yang berperan dalam pembuatan sosis fermentasi adalah *Lactobacillus fermentum*. *Lactobacillus fermentum* menghasilkan senyawa antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan starter bakteri asam laktat *Lactobacillus fermentum*, metabolit *Lactobacillus fermentum* serta kombinasi keduanya selama penyimpanan 0 dan 28 hari terhadap karakteristik mikrobiologi sosis fermentasi ikan patin.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimen dengan observasi langsung. Terdapat dua variabel yaitu variabel bebas yang meliputi penambahan bakteri asam laktat *L. fermentum*, metabolit serta kombinasi keduanya dan variabel terikat meliputi analisa a_w , pH, total bakteri asam laktat, total patogen (*enterobacteriaiceae*) serta analisa TPC (*Total Plate Count*).

Pada penelitian ini data rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap faktorial. Hasil dari penelitian kemudian dianalisis menggunakan Analisa Keragaman (ANOVA), dimana jika terdapat pengaruh nyata atau sangat nyata maka dilakukan uji lanjut menggunakan uji lanjut Duncan dengan menggunakan aplikasi software SPSS 16. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan penambahan kultur, metabolit dan juga kombinasi berpengaruh nyata terhadap nilai *Total Plate Count* (TPC), total patogen *Enterobacteriaceae*, total bakteri asam laktat, pH dan a_w . Serta penambahan perlakuan kultur, metabolit dan juga kombinasi berinteraksi ($p < 0.05$) dengan lama penyimpanan.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan ucapan syukur dipanjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi dengan judul “ Pengolahan Sosis Fermentasi Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) Menggunakan Kultur dan Metabolit *Lactobacillus fermentum* Secara Individu dan Kombinasi Terhadap Karakteristik Mikrobiologi”. Atas terselesaikannya laporan skripsi ini penulis menyampaikan terima kasih sedalam-dalamnya kepada :

1. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS dan Dr. Ir. Yahya, MP selaku Dosen Pembimbing, yang telah banyak memberikan pengarahan serta bimbingan sejak penyusunan usulan sampai dengan selesainya penyusunan laporan skripsi ini.
2. Kepada keluarga yang selalu memberikan doa dan dukungan selama penyusunan laporan skripsi ini.
3. Serta seluruh pihak yang telah membantu terselesaikannya laporan skripsi, yang tidak bisa disebutkan satu-persatu, saya ucapkan terima kasih.

Dengan segala keterbatasan kemampuan dan kerendahan hati, semoga laporan skripsi ini dapat bermanfaat dan memberikan informasi bagi pembaca. Amin.

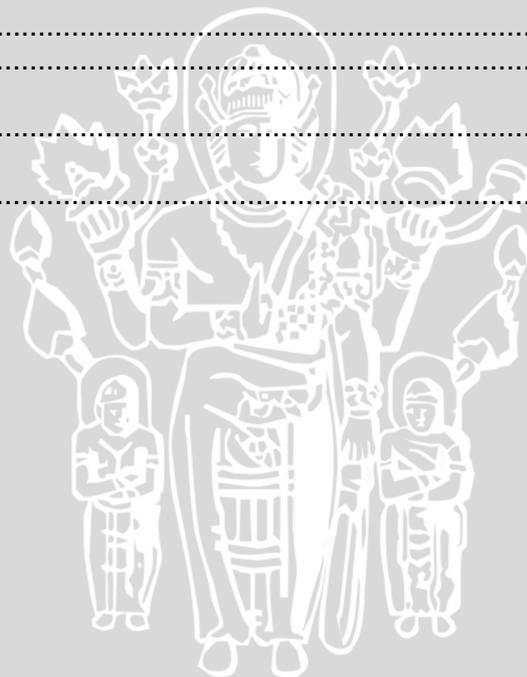
Malang, 4 Desember 2016

Penyusun

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
UCAPAN TERIMA KASIH	iii
RINGKASAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis	4
1.5 Kegunaan	4
1.6 Waktu dan Tempat Penelitian	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Ikan Patin	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	6
2.1.2 Kandungan Gizi Ikan Patin	7
2.2 Sosis Fermentasi	7
2.3 Kultur Bakteri Asam Laktat	9
2.4 Metabolit	11
2.4.1 Metabolit Primer	11
2.4.2 Metabolit Sekunder	12
2.5 Bahan Penyusun Sosis Fermentasi	13
2.5.1 Daging Ikan	13
2.5.2 Garam	13
2.5.3 Air.....	14
2.5.4 Gula	14
2.5.5 Nitrit	14
2.5.6 Bahan Penyedap dan bumbu	15
2.5.7 Casing sosis	15
2.6 Pengasapan.....	16
3. METODE PENELITIAN	
3.1. Materi Penelitian	18
3.1.1 Alat	18
3.1.2 Bahan.....	18
3.2. Metode Penelitian	19
3.2.1 Metode	19
3.2.2 Variabel Penelitian	20
3.2.3 Rancangan Percobaan	20
3.3. Pelaksanaan Penelitian	21
3.3.1 Penelitian Pendahuluan	22
3.3.2 Penelitian Utama	22

3.3.2.1 Kultur Bakteri Asam Laktat	22
3.3.2.2 Metabolit	24
3.3.2.3 Pembuatan Sosis Fermentasi	25
3.4. Prosedur Analisis	27
3.4.1 Analisa pH	27
3.4.2 Analisa aW	27
3.4.3 Analisa Total Bakteri Asam Laktat.....	27
3.4.4 Analisa Total Plate Count.....	28
3.4.5 Analisa Total Enterobacteriaceae	28
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Analisa Aktivitas Air (a_w)	29
4.2 Analisa Derajat Keasaman (pH)	30
4.3 Analisa <i>Total Plate Count</i>	32
4.4 Analisa Total Bakteri Asam Laktat	34
4.5 Analisa Total Patogen (<i>Enterobacteriaceae</i>)	36
5. KESIMPULAN	
5.1 Kesimpulan	39
5.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	44



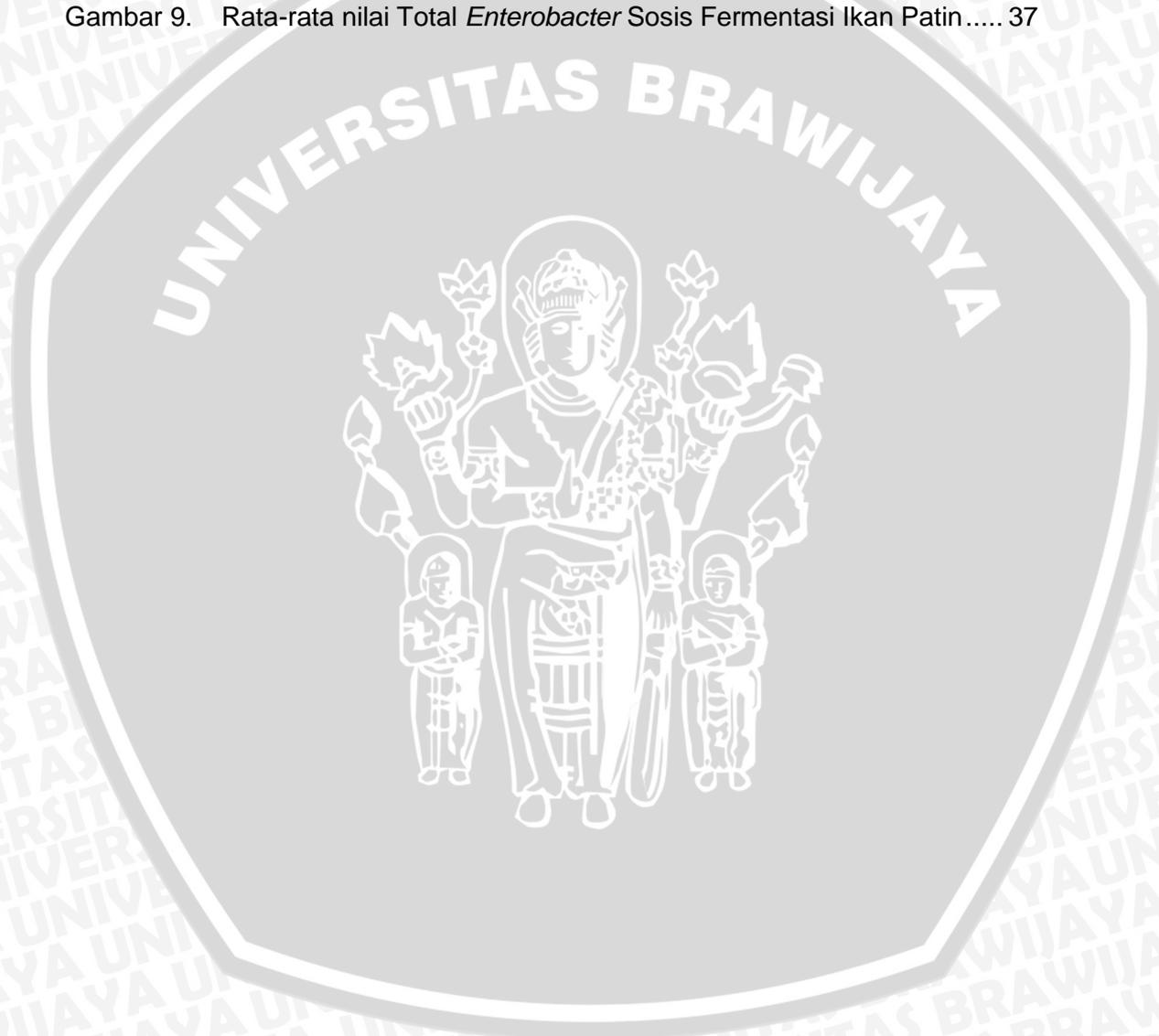
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Syarat Mutu Sosis Ikan	8
Tabel 2. Rancangan Percobaan Bentuk RAL Faktorial	21
Tabel 3. Tabel sidik ragam pada RAL Faktorial	21
Tabel 4. Formulasi Pembuatan Sosis Ikan	22



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Ikan Patin	6
Gambar 2. Prosedur Kultur Bakteri Asam Laktat	23
Gambar 3. Proses Kultur Metabolit	24
Gambar 4. Diagram Alir Proses Pembuatan Sosis Fermentasi	26
Gambar 5. Rata-rata nilai a_w Sosis Fermentasi Ikan Patin	29
Gambar 6. Rata-rata nilai pH Sosis Fermentasi Ikan Patin	31
Gambar 7. Rata-rata nilai TPC Sosis Fermentasi Ikan Patin	33
Gambar 8. Rata-rata nilai Total BAL Sosis Fermentasi Ikan Patin	35
Gambar 9. Rata-rata nilai Total <i>Enterobacter</i> Sosis Fermentasi Ikan Patin	37



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Analisis (ANOVA) a_w Sosis Fermentasi Ikan Patin Pada Lama Penyimpanan 0 dan 28 hari	44
Lampiran 2. Analisis (ANOVA) pH Sosis Fermentasi Ikan Patin Pada Lama Penyimpanan 0 dan 28 hari	47
Lampiran 3. Analisis (ANOVA) TPC Sosis Fermentasi Ikan Patin Pada Lama Penyimpanan 0 dan 28 hari	50
Lampiran 4. Analisis (ANOVA) Total BAL Sosis Fermentasi Ikan Patin Pada Lama Penyimpanan 0 dan 28 hari	53
Lampiran 5. Analisis (ANOVA) Total Patogen Sosis Fermentasi Ikan Patin Pada Lama Penyimpanan 0 dan 28 hari	56
Lampiran 6. Proses Pembuatan Sosis	59
Lampiran 7. Pembuatan Kultur Bakteri <i>Lactobacillus fermentum</i>	61
Lampiran 8. Pembuatan Metabolit <i>Lactobacillus fermentum</i>	62



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan patin (*Pangasius sp*) merupakan salah satu komoditas dari perikanan air tawar di Indonesia. Ikan patin dapat dibudidayakan dengan tingkat produktivitas yang cukup tinggi. Ketersediaan ikan patin di Indonesia seharusnya didukung oleh pemanfaatan dan proses pengolahannya (Ibrahim, 2009).

Manfaat ikan patin bagi kesehatan menurut Andriani (2014), yaitu adanya kandungan lemak yang lebih rendah dibanding ikan jenis lain, terutama dua asam lemak esensial yaitu DHA kira-kira sebesar 4,74% dan EPA yaitu kira-kira sebesar 0,31%. Kedua jenis omega-3 asam lemak ini biasanya dihasilkan dari jenis ikan yang hidup di perairan dingin seperti ikan salmon, ikan tuna, dan ikan sarden. Kadar lemak total yang terkandung dalam daging ikan patin sebesar 2,55% sampai dengan 3,42%, dimana asam lemak tak jenuh-nya di atas 50%.

Ikan merupakan produk yang bersifat mudah mengalami pembusukan (*perishable food*), maka dari itu untuk mengantisipasi hal tersebut perlu dilakukan teknologi pengolahan ikan, salah satunya melalui produk sosis fermentasi berbahan baku ikan (Harmain *et al.*, 2012). Sosis merupakan salah satu produk olahan daging atau campuran beberapa jenis daging yang dilumatkan serta dicampur dengan bumbu dan dibungkus selongsong sosis (Koswara, 1992).

Salah satu macam sosis adalah sosis fermentasi yaitu jenis sosis berupa daging mentah yang dimasukkan ke dalam *casing*, ditambahkan kultur starter bakteri asam laktat dari genus *Lactobacillus* dan *Pediococcus*, serta dilakukan proses fermentasi dan pematangan (Leroy *et al.*, 2006). Sosis fermentasi dengan menggunakan bakteri asam laktat berperan untuk mengawetkan daging karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan pembusukan makanan sehingga memiliki masa simpan dan dapat bertahan lama (Harmain *et al.*, 2012).

Bakteri asam laktat adalah bakteri yang dapat memfermentasi gula atau karbohidrat dalam daging dan merubahnya menjadi asam laktat. Asam laktat tersebut merupakan senyawa metabolit dan merupakan agen probiotik yang berfungsi sebagai antimikroba (Rachmawati *et al.*, 2005). Salah satu golongan bakteri asam laktat genus *Lactobacillus* berdasarkan kemampuan fermentasinya adalah obligat heterofermentatif (*L. brevis*, *L. buchneri*, *L. reuteri*, *L. fermentum*). Bakteri asam laktat, termasuk *Lactobacillus sp.* diketahui aman untuk digunakan dalam proses fermentasi pangan.

Selain terlibat dalam proses fermentasi pangan, bakteri asam laktat banyak dimanfaatkan dalam proses pengawetan pangan. Kemampuan bakteri asam laktat dalam pengawetan pangan terjadi karena bakteri tersebut menghasilkan berbagai metabolit yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri kontaminan. Metabolit tersebut antara lain asam organik, hidrogen peroksida, alkohol, dan komponen antimikrobia seperti bakteriosin (Daeschel, 1989).

Penerapan teknologi fermentasi pada produk sosis dengan memanfaatkan bakteri asam laktat diharapkan dapat mengendalikan proses dan menyeragamkan mutu produk serta meningkatkan keamanan pangan. Rantsiou *et al.*, (2005) menjelaskan bahwa bakteri asam laktat yang terdapat pada sosis fermentasi, berperan sebagai bioproteksi dan biopreservasi dalam meningkatkan keamanan pada produk tersebut.

Pada prinsipnya ketika BAL dicampur kedalam produk, akan terjadi peningkatan konsentrasi asam laktat yang disertai dengan penurunan pH. Kondisi produk yang seperti ini dapat menghambat pertumbuhan mikroba pembusuk dan patogen, sehingga produk terfermentasi yang didapat akan memiliki daya simpan lebih, namun aman dikonsumsi (Aryanta, 1996).

Berdasarkan alasan tersebut, maka dilakukan penelitian mengenai pengolahan sosis fermentasi ikan patin (*Pangasius pangasius*) menggunakan kultur dan metabolit *Lactobacillus fermentum* secara individu dan kombinasi terhadap karakteristik mikrobiologi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan penjabaran latar belakang diatas, rumusan masalah yang mendasari penelitian ini adalah sebagai berikut :

- Apakah penambahan kultur bakteri asam laktat *Lactobacillus fermentum* berpengaruh terhadap karakteristik mikrobiologi sosis fermentasi ikan patin (*Pangasius pangasius*) pada lama penyimpanan 0 dan 28 hari ?
- Apakah penambahan metabolit bakteri *Lactobacillus fermentum* berpengaruh terhadap karakteristik mikrobiologi sosis fermentasi ikan patin (*Pangasius pangasius*) pada lama penyimpanan 0 dan 28 hari ?
- Apakah penambahan kombinasi kultur bakteri asam laktat dan metabolit *Lactobacillus fermentum* berpengaruh terhadap karakteristik mikrobiologi sosis fermentasi ikan patin (*Pangasius pangasius*) pada lama penyimpanan 0 dan 28 hari ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, tujuan dari penelitian adalah sebagai berikut:

- Mengetahui pengaruh penambahan kultur bakteri asam laktat *Lactobacillus fermentum* terhadap karakteristik mikrobiologi sosis fermentasi ikan patin (*Pangasius pangasius*) pada lama penyimpanan 0 dan 28 hari.

- Mengetahui pengaruh penambahan metabolit *Lactobacillus fermentum* terhadap karakteristik mikrobiologi sosis fermentasi ikan patin (*Pangasius pangasius*) pada lama penyimpanan 0 dan 28 hari.
- Mengetahui pengaruh penambahan kombinasi kultur bakteri asam laktat dan metabolit *Lactobacillus fermentum* terhadap karakteristik mikrobiologi sosis fermentasi ikan patin (*Pangasius pangasius*) pada lama penyimpanan 0 dan 28 hari.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang mendasari penelitian ini adalah sebagai berikut :

H0 : Penambahan kultur dan metabolit *L. fermentum* secara individu atau kombinasi tidak berpengaruh pada karakteristik mikrobiologi sosis fermentasi ikan patin pada penyimpanan 0 dan 28 hari.

H1 : Penambahan kultur dan metabolit *L. fermentum* secara individu atau kombinasi berpengaruh pada karakteristik mikrobiologi sosis fermentasi ikan patin pada penyimpanan 0 dan 28 hari.

1.5 Kegunaan

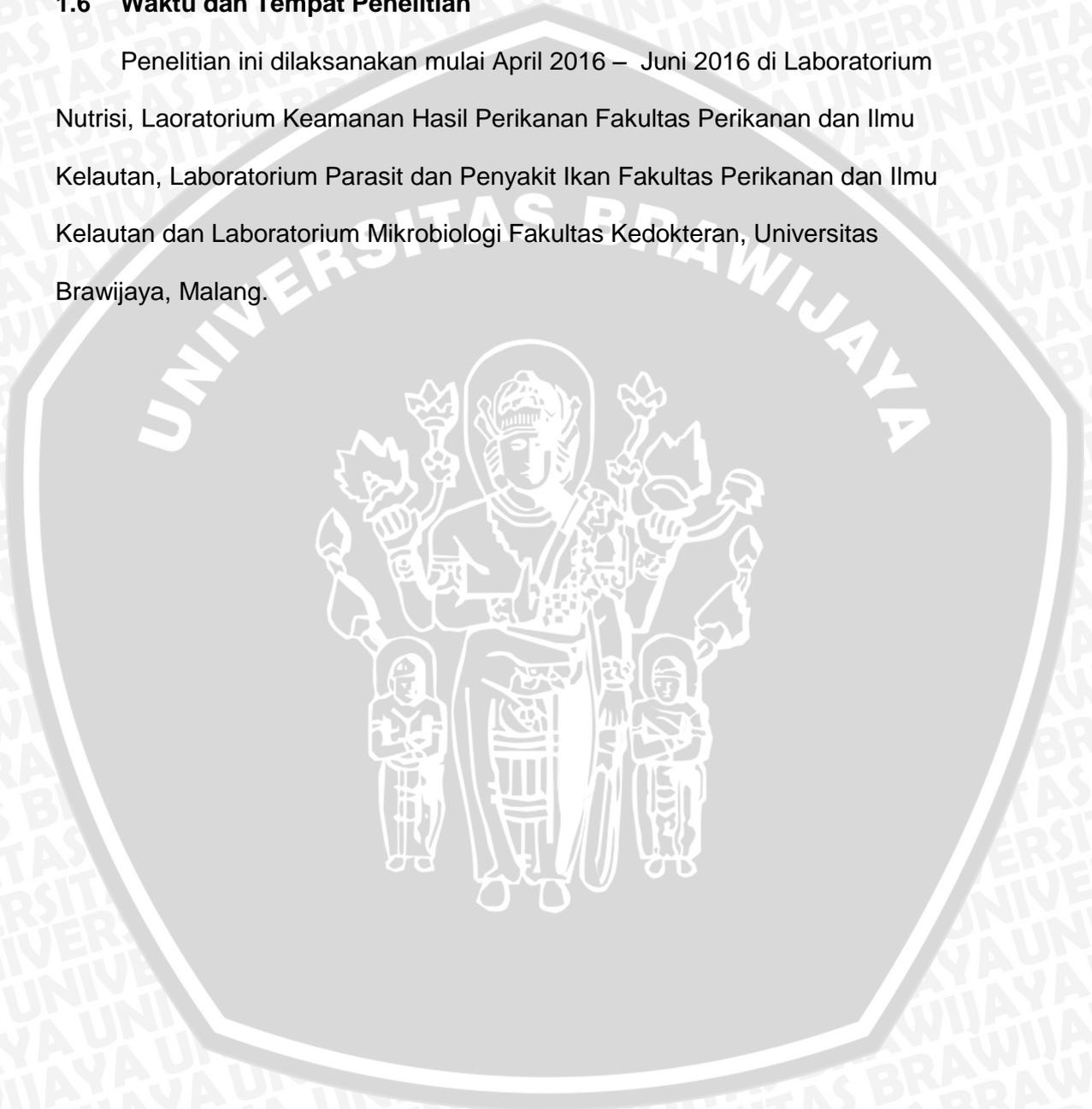
Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi beberapa pihak, yaitu sebagai berikut :

1. Untuk mahasiswa, dapat dijadikan referensi pengetahuan mengenai sosis fermentasi ikan patin (*Pangasius pangasius*) selama 28 hari pemasakan.
2. Untuk masyarakat umum, dapat dijadikan tambahan pengetahuan mengenai karakteristik mikrobiologi sosis fermentasi ikan patin (*Pangasius pangasius*).
3. Untuk industri pangan, dapat dijadikan dasar pengembangan produk sejenis maupun produk fermentasi lainnya.

4. Untuk pemerintah, dapat dijadikan bahan pertimbangan dalam menyusun kebijakan pembangunan sektor perikanan dalam upaya diversifikasi produk perikanan fungsional.

1.6 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai April 2016 – Juni 2016 di Laboratorium Nutrisi, Laoratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ikan Patin

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Ikan patin (*Pangasius pangasius*) merupakan salah satu komoditas dari perikanan air tawar yang terdapat di Indonesia. Ikan patin telah banyak dibudidayakan dengan tingkat produktivitas yang cukup tinggi. Ketersediaan ikan patin di Indonesia seharusnya didukung oleh pemanfaatan dan proses pengolahannya (Ibrahim, 2009).

Klasifikasi dan identifikasi ikan patin (*Pangasius pangasius*) menurut Saanin (1984) adalah sebagai berikut :

Phyllum	: Chordata
Sub Phylum	: Vertebrata
Kelas	: Pisces
Sub Kelas	: Teleostei
Ordo	: Ostariophysii
Sub Ordo	: Siluroidea
Famili	: Pangasidae
Genus	: Pangasius
Spesies	: <i>Pangasius pangasius</i>



Gambar 1. Ikan Patin

Ikan patin menurut Hastarini *et al.*, (2012), memiliki badan yang memanjang berwarna putih seperti perak dengan punggung berwarna kebiru – biruan. Kepala ikan patin relatif kecil dengan mulut terletak di ujung kepala agak sebelah bawah. Hal ini merupakan ciri khas golongan *catfish*. Pada sudut mulutnya terdapat dua pasang sungut pendek yang berfungsi sebagai alat peraba.

2.1.2 Kandungan Gizi Ikan Patin

Selain memiliki nilai produksi yang cukup tinggi, menurut Thammapat *et al.*, (2010) ikan patin juga memiliki nilai gizi untuk memenuhi kebutuhan protein hewani. Kandungan protein pada fillet patin cukup tinggi, berkisar antara 12,94 – 17,52% (bb), sedangkan kandungan lemaknya berkisar antara 0,89 – 1,23% (bb). Pada ikan patin kandungan lemak yang cukup tinggi berasal dari bagian perut, sebesar 54,43% (bk).

Manfaat ikan patin bagi kesehatan ditandai dengan adanya kandungan lemak yang lebih rendah dibanding ikan jenis lain, terutama dua asam lemak esensial yaitu DHA kira-kira sebesar 4,74% dan EPA yaitu kira-kira sebesar 0,31%. Kedua jenis omega-3 asam lemak ini biasanya dihasilkan dari jenis ikan yang hidup di perairan dingin seperti ikan salmon, ikan tuna, dan ikan sarden. Kadar lemak total yang terkandung dalam daging ikan patin sebesar 2,55% sampai dengan 3,42%, dimana asam lemak tak jenuh nya adalah 50%. Asam oleat adalah asam lemak tak jenuh tunggal yang paling banyak terkandung di dalam daging ikan patin yaitu sebesar 8,43% (Andriani, 2014).

2.2 Sosis Fermentasi

Menurut Badan Standar Nasional dalam SNI 7755:2013, sosis ikan adalah produk olahan hasil perikanan dengan bahan baku lumatan daging ikan atau surimi, minimal 50%, dicampur tepung dan bahan-bahan lainnya. Kemudian

pengisian ke dalam selongsong sosis dan mengalami perebusan atau pengukusan.

Sosis merupakan daging atau campuran beberapa jenis daging yang dilumatkan serta dicampur dengan bumbu dan dibungkus selongsong sosis. Pada umumnya sosis dibuat dari daging sapi, daging ayam, daging babi, daging kelinci dan ikan (Koswara, 1992). Dalam pembuatannya, proses pembuatan sosis ikan menyerupai pembuatan sosis daging yaitu dengan mencampurkan daging ikan yang berbentuk *fillet*, lalu ditambahkan bumbu dan bahan aditif ke dalam casingnya (Erdiansyah, 2006). Standar mutu sosis menurut SNI 7755-2013 dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Syarat Mutu Sosis Ikan

No.	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1	Sensori		Min 7 (skor 3-9)
2	Air	%b/b	Maks 68.0
3	Abu	%b/b	Maks 2.5
4	Protein	%b/b	Min 9.0
5	Lemak	%b/b	Maks 7.0
6	Karbohidrat	%b/b	Maks 8.0
7	Bahan Tambahan Makanan		
	a. Pewarna		Sesuai dengan SNI 01-0222-1995
	b. Pengawet		
8	Cemaran Logam		
	a. Timbal (Pb)	mg/kg	Maks 0.3
	b. Kadmium (Cd)	mg/kg	Maks 0.1
	c. Merkuri (Zn)	mg/kg	Maks 0.5
	d. Timah (Sn)	mg/kg	Maks 40.0
	e. Arsen (As)	mg/kg	Maks 1.0
9	Cemaran Mikroba		
	a. Angka TPC	Koloni/g	Maks 5×10^4
	b. Eschericia coli	APM/g	< 3
	c. Vibrio cholera		Negati/25 g
	d. Salmonella		Negati/25 g
	e. Staphylococcus aureus	Koloni/g	Maks 1×10^2

Sumber : Badan Standarisasi Nasional, 1995

Sosis fermentasi adalah produk yang terdiri dari campuran daging, lemak, bumbu-bumbu, *curing agent*, dan bahan tambahan pangan lalu dimasukan di dalam *casing*, difermentasi dan dikeringkan (Hugas dan Monfort, 1997). Sosis fermentasi, dibagi menjadi sosis jenis kering (*dry*) dan semi kering (*semi dry*). Sosis fermentasi jenis semi kering memiliki kandungan kadar air akhir pada produk 30% - 40%, sedangkan untuk sosis kering kadar air akhirnya sekitar 20% - 30%. Contoh dari produk sosis fermentasi adalah salami, pepperoni dan chorizo (Varnam dan Sutherland, 1995).

Sosis fermentasi melibatkan mikroorganisme yang konsisten yaitu BAL (bakteri asam laktat) baik yang terdapat secara alami maupun bakteri starter yang di tambahkan dalam produknya, sehingga produk menjadi lebih awet dan meningkatkan cita rasa (Fardiaz, 1992). Bakteri asam laktat yang terdapat pada sosis fermentasi, berperan sebagai bioproteksi dan biopreservasi dalam meningkatkan keamanan pangan pada produk tersebut (Rantsiou *et al.*, 2005)

Proses fermentasi pada proses pembuatan sosis adalah dengan menurunkan pH sosis kering dan semi kering menjadi 4,8 - 5,3 dari sebelumnya dari 5,8 - 6,2. Fermentasi juga memberikan efek penyebaran air secara cepat dan merata. Asam laktat akan menyebabkan denaturasi protein daging yang mengakibatkan tekstur daging lebih kompak (Bacus, 1984).

2.3 Kultur Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) adalah bakteri yang memfermentasi gula atau karbohidrat dalam daging dan merubahnya menjadi asam laktat, sehingga menghasilkan *flavor* baru yang merupakan ciri khas produk sosis fermentasi dan menghambat pertumbuhan mikroba lain yang tidak diinginkan. Fermentasi akan berlangsung baik jika suhu adonan sama seperti suhu pertumbuhan BAL yaitu dengan suhu sekitar 80 – 100 °C (Hui *et al.*, 2001).

Menurut Fuller (1989), bakteri asam laktat digunakan sebagai produk probiotik dikarenakan kemampuannya yaitu dapat menghasilkan asam laktat yang dapat menurunkan pH, dalam kondisi aerob dapat memproduksi hidrogen peroksida dan memproduksi komponen penghambat bakteri seperti bakteriosin.

Berdasarkan hasil akhir metabolismenya, bakteri asam laktat dibagi menjadi dua kelompok yaitu yang bersifat homofermentatif dan heterofermentatif. Kelompok bakteri homofermentatif menghasilkan hanya asam laktat, sedangkan kelompok bakteri heterofermentatif menghasilkan karbondioksida dan asam volatil lain seperti alkohol dan ester disamping asam laktat (Buckle *et al.*, 1987). Bakteri asam laktat terdiri dari delapan genus yaitu *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Corinebacterium*, *Enterococcus*, dan *Bifidobacterium* (Elegado *et al.*, 2004).

Lactobacillus termasuk dalam bakteri gram positif, tidak berspora, anaerobik fakultatif, berbentuk batang yang panjang dan merupakan katalase negatif. *Lactobacillus* dapat dibedakan menjadi dua kelompok yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Bakteri homofermentatif dapat memecah gula menjadi asam laktat dan dapat tumbuh pada suhu 37 °C atau lebih, sedangkan bakteri heterofermentatif memecah gula menjadi asam laktat, produk lain seperti alkohol, asam asetat, dan karbondioksida. *Lactobacillus* berkontribusi untuk pengawetan dan ketersediaan flavor dan nutrisi (Buckle *et al.*, 1987).

Beberapa contoh bakteri asam laktat heterofermentatif adalah *Leuconostoc* dan beberapa spesies *Lactobacillus*, misalnya *L. fermentum* yang mempunyai suhu optimum relatif tinggi, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. pastorianus*, *L. hirgadii* dan *L. trichodes* yang mempunyai suhu optimum relatif rendah (Rahayu *et al.*, 1992). *Lactobacillus fermentum* merupakan kelompok bakteri heterofermentatif yang digunakan untuk membentuk gas dalam produksi keju Swiss dan tumbuh baik pada suhu diatas 37 °C. Jenis bakteri ini juga

memproduksi senyawa-senyawa volatil lainnya yang penting sebagai pembentuk cita rasa dalam makanan-makanan fermentasi (Fardiaz, 1992).

2.4. Metabolit

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan agen probiotik yang menghasilkan senyawa metabolit yang berfungsi sebagai antimikrobia. Senyawa metabolit dibagi menjadi dua kelompok yaitu yang memiliki massa molekul rendah (<1000 Da) atau metabolit primer seperti asam organik dan protein antimikrobia atau metabolit sekunder seperti bakteriosin (>1000 Da) (Naidu, 2000).

Asam laktat merupakan metabolit utama yang dihasilkan bakteri asam laktat. Efek penghambatan terjadi karena molekul asam organik masuk ke dalam membran sel dan menurunkan pH sitoplasma. Kultur bakteri asam laktat dapat menghambat pertumbuhan *E.coli* dan *S.aureus*. Penghambatan terhadap bakteri patogen dapat disebabkan oleh komponen metabolit yang dihasilkan saat fermentasi (Rachmawati, 2006).

2.4.1. Metabolit Primer

Metabolit primer adalah senyawa yang memiliki berat molekul rendah dan dihasilkan pada fase eksponensial oleh mikroba yang termasuk ke dalam produk akhir (Dharma, 2005). Metabolit primer digunakan sebagai bahan dasar pembentukan makromolekul atau dirubah menjadi koenzim. Contoh dari metabolit primer adalah asam organik seperti asam sitrat, asam fumarat dan asam amino.

Metabolit primer merupakan senyawa kimia yang merupakan produk akhir yang dihasilkan oleh mikroba untuk kebutuhan pertumbuhannya. Contoh dari metabolit primer antara lain asam laktat dan alkohol (Kunaepah, 2008). Senyawa metabolit primer digunakan untuk membentuk makromolekul atau yang dikonversikan menjadi koenzim, senyawa antara seperti asam amino nukleida

purin, pirimidin, vitamin, asam organik, seperti asam sitrat, asam fumarat, aseton, butanol, asam asetat dan enzim termasuk metabolit primer (Elisa, 2010).

Menurut Judoamidjojo *et al.*, (1992) menerangkan bahwa metabolit primer adalah produk akhir yang dihasilkan melalui proses metabolisme sel dan memiliki berat molekul rendah yang digunakan sebagai penyusun molekul yang lebih besar. Metabolit primer yang dihasilkan antara lain asam organik, nukleotida dan vitamin.

2.4.2. Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder adalah hasil metabolisme bakteri yang disintesis dan bukan merupakan kebutuhan primer bakteri untuk pertumbuhannya. Metabolit sekunder diproduksi pada akhir siklus pertumbuhan sel mikroba (pada idiofase). Hasil dari metabolisme dalam metabolit sekunder ini digunakan sebagai nutrisi darurat untuk bertahan hidup dan tidak digunakan untuk pertumbuhan. Contoh metabolit sekunder adalah vitamin, steroid dan pigmen (Judoamidjojo, 1992).

Pembentukan senyawa kimia metabolit sekunder pada organisme hidup (*natural product*) merupakan respon terhadap lingkungannya dan sebagai salah satu sistem pertahanan diri bagi organisme tersebut (Sijabat, 2009). Contoh dari metabolit sekunder adalah protein, asam lemak, karbohidrat, senyawa antimikroba dan lain-lain. Pada umumnya, metabolit primer menghasilkan metabolit sekunder dimana setiap mikroorganisme memiliki karakteristik yang unik karena bergantung kepada tempat dan lingkungan hidupnya (Wibowo, 2006).

Menurut Sumarno (1992), metabolit sekunder bersifat spesifik, yang berarti hanya dapat ditemukan dalam setiap jenis organisme yang berbeda. Hal ini dikarenakan kemampuan sel organ untuk melakukan biosintesis metabolit sekunder tersebut bergantung pada jenis enzim yang tersedia. Metabolit sekunder memiliki ciri-ciri khusus antara lain :

1. Struktur kimia yang beragam, dan penyebarannya sangat terbatas dalam organisme atau organ tertentu dalam suatu makhluk hidup.
2. Secara biosintesis pembentukannya dipengaruhi oleh enzim, aktivitasnya dan genetik tertentu, maupun faktor pembeda antara sel dalam perkembangan suatu organisme.
3. Tidak penting bagi sel penghasil, tetapi sangat berguna bagi seluruh kesatuan kehidupan organisme penghasil.

2.5. Bahan Penyusun Sosis Fermentasi

2.5.1 Daging Ikan

Daging ikan merupakan komponen utama dalam pembuatan sosis, sehingga akan menentukan produk sosis yang dihasilkan. Daging ikan yang digunakan dalam pembuatan sosis adalah bentuk *fillet*. Proses pembedakan *fillet* diawali dengan menyayat badan ikan sejajar dengan tulang punggung. Selanjutnya lembaran daging yang telah dipisahkan dari tulang punggung disayat lagi untuk menghilangkan bagian kulitnya (Afrianto, 1995).

Fillet terdiri dari beberapa jenis yaitu *fillet skin on* yaitu *fillet* berkulit, *fillet skin less* yaitu *fillet* tidak berkulit, *single fillet* yaitu *fillet* tunggal dan *butterfly fillet* yaitu dua *fillet* tunggal seekor ikan yang dihubungkan sesamanya oleh bagian yang tidak dipotong (Ilyas, 1983).

2.5.2 Garam

Pada pembuatan sosis, garam mempunyai fungsi yaitu mengekstraksi protein myofibril dari serabut daging selama penggilingan, sebagai antimikroba, membentuk tekstur sosis dan memberi rasa asin pada produk (Nakai dan Modler, 2000). Secara umum garam tersusun atas 29,29% Na dan 60,69% Cl, berbentuk kristal seperti kubus dan berwarna putih. Garam biasa digunakan untuk bahan pengawet dan pemberi rasa asin. Sebagai bahan pengawet garam memiliki

tekanan osmosis tinggi sehingga mengakibatkan terjadinya peristiwa osmosis pada produk (Adawyah, 2007). Sosis biasanya mengandung garam sekitar 1 – 5% atau 3% dari berat adonan sosis.

2.5.3 Air

Penambahan air atau es memiliki fungsi untuk meningkatkan keempukan daging, menggantikan air yang hilang selama proses, melarutkan protein yang larut air, melayani fase kontinyu dari emulsi daging dan menjaga temperatur dengan menurunkan suhu adonan selama proses penggilingan sehingga mencegah denaturasi protein akibat suhu yang meningkat saat proses *cutting* (Forrest *et al.*, 1975). Air atau es juga berfungsi untuk melarutkan bumbu dan garam sehingga tersebar lebih merata. Air juga akan banyak mempengaruhi keawetan, penampakan dan tekstur produk (Winarno, 2002).

2.5.4 Gula

Sukrosa, dekstrosa, laktosa dan gula jagung adalah pemanis yang biasa ditambahkan dalam industri sosis. Sedangkan untuk pemanis yang sering digunakan dalam fermentasi adalah sukrosa dan dekstrosa. Fungsi utama gula adalah untuk memodifikasi rasa dan menurunkan kadar air yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk tumbuh. Selain itu fungsi gula sebagai *preservatif*, misalnya pada produk sosis fermentasi adalah karena terbentuknya asam laktat di dalam produk, sehingga pH produk menurun dan produk menjadi kering selama proses pematangan (Soeparno, 2005).

2.5.5 Nitrit

Dalam pembuatan sosis, nitrit berfungsi untuk memperbaiki warna daging. Reaksi perbaikan warna pada daging terjadi ketika myoglobin (pigmen otot) berkaitan dengan NO (natrium oksida) membentuk NO-myoglobin, sehingga terbentuk warna daging yang khas. Selain itu nitrit berfungsi sebagai antioksidan dan mencegah pertumbuhan bakteri atau antibakteri (Erdiyansyah, 2006).

Penambahan nitrit dalam bahan makanan maksimal 170 ppm dan nitrit tersisa pada produk akhir adalah 200 ppm (Winarno, 2002).

2.5.6 Bahan Penyedap dan bumbu

Penyedap dan bumbu adalah istilah yang dipakai pada beberapa bahan dengan satu macam atau kombinasinya dan bertujuan untuk menambahkan rasa pada produk makanan. Dalam penambahan rasa dan aroma pada sosis, bumbu yang ditambahkan antara lain seperti lada hitam, pala, jahe, cengkeh, kayu manis dan daun-daun pewangi diketahui memiliki sifat antioksidan (Kramlilich, 1971). Fungsi bumbu yaitu sebagai penambah karakteristik warna dan tekstur, penyedap, dan sebagai agen antioksidan (Forrest *et al.*, 1975). Bumbu yang ditambahkan pada proses pembuatan sosis adalah pala, merica, bawang putih dan jahe. Bumbu dan bahan penyedap ditambahkan untuk meningkatkan flavor. Beberapa bumbu bersifat antioksidan sehingga dapat mencegah dan menghambat terjadinya ketengikan (Soeparno, 2005).

Bawang putih digunakan sebagai penyedap masakan yang membuat makanan menjadi beraroma dan mengundang selera. Zat *allicin* adalah komponen utama pada bawang putih yang memberikan aroma bawang putih dan merupakan zat aktif yang dapat membunuh bakteri (antibakteri). *Allicin* juga berperan dalam membunuh bakteri, yaitu bakteri gram positif ataupun negatif dikarenakan *allicin* mempunyai gugus asam amino para amino benzoat (Palungkun dan Budiarti, 1992).

2.5.7 Casing Sosis

Selongsong sosis atau *casing* sosis adalah sarung yang digunakan untuk membungkus dan membentuk sosis. Selongsong sosis berfungsi sebagai wadah pembentuk dan menentukan bentuk dan ukuran sosis. *Casing* sosis terdiri dari dua jenis yaitu *casing* alami dan *casing* sintetis. *Casing* alami dibuat dari usus kambing, domba, sapi atau babi, sedangkan *casing* sintesis dapat dibuat dari

selulosa atau kolagen. *Casing* sintesis jenis kolagen banyak digunakan dalam industri karena lebih konsisten dalam hal ketebalan, diameter dan sifat rengangnya serta lebih sedikit mengalami kontaminasi sehingga penggunaannya lebih bervariasi (Saffle, 1968).

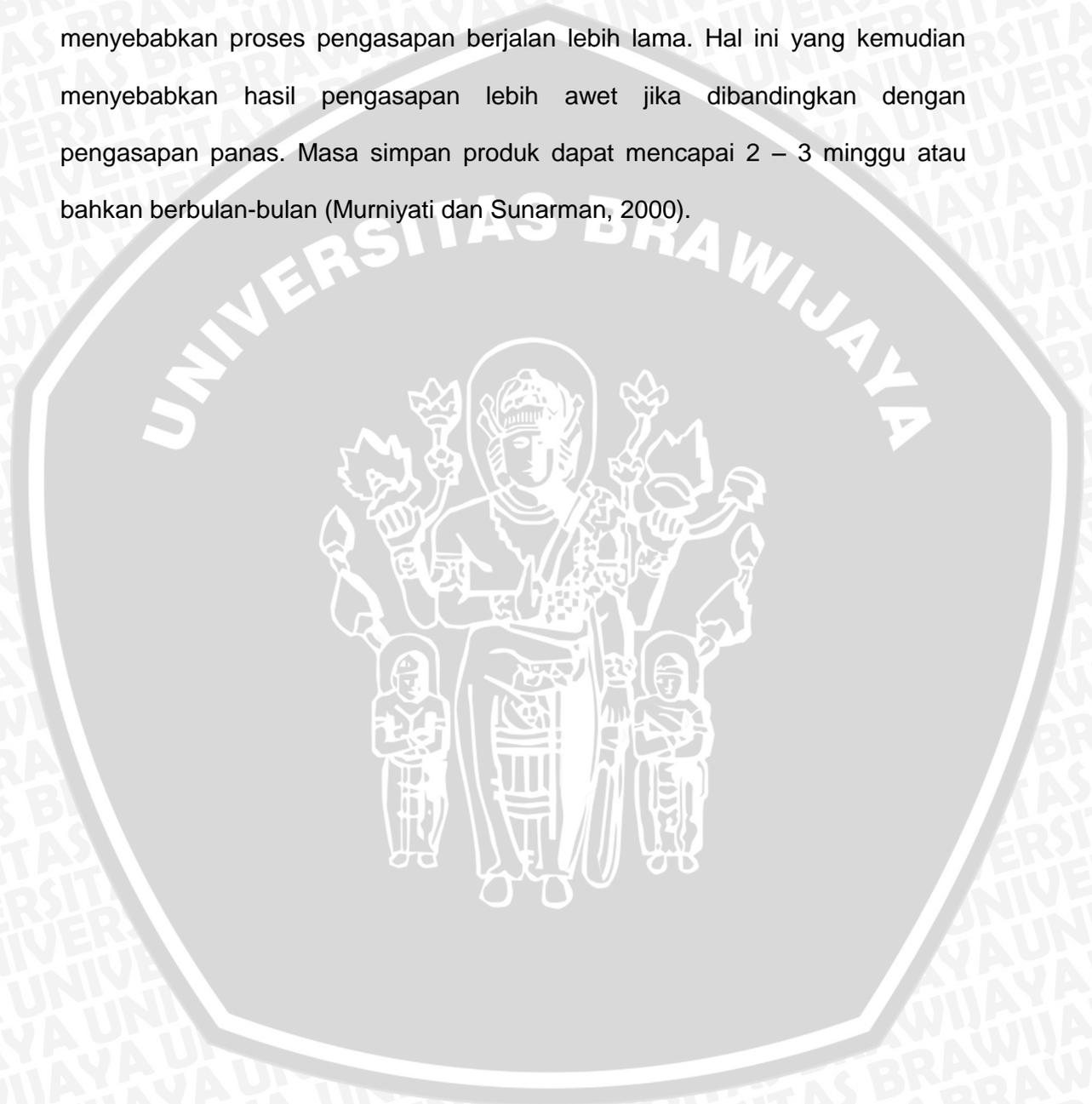
Komposisi kimia dan nilai gizi sosis tidak dipengaruhi oleh jenis *casing* yang digunakan, tetapi lebih ditentukan oleh komposisi emulsinya (Amano *et al.*, 1965). Selongsong buatan terdiri dari empat kelompok yaitu selulosa, kolagen dapat dimakan, kolagen tidak layak dimakan dan plastik. Selongsong sosis yang terbuat dari kolagen memiliki sifat mudah mengkerut, tembus air dan udara serta tetap menempel pada bahan (Soeparno, 2005).

2.6 Pengasapan

Pengasapan merupakan suatu proses pemanasan menggunakan variasi suhu di dalam *smokehouse* yang umumnya digunakan pada produk daging. Suhu yang digunakan pada proses pengasapan sosis antara lain 21 - 24 °C untuk sosis kering dan 30 - 37 °C untuk sosis semi kering. Lama pengasapan yang dilakukan pada produk sosis tergantung pada diameter *casing* yang digunakan. Pengasapan dimaksudkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri, memperlambat oksidasi lemak dan memberi *flavour* pada daging yang sedang diproses (Lawrie, 2003).

Pemasakan memanfaatkan senyawa kimia alami hasil pembakaran bahan bakar alami (kayu). Pada proses pemasakan akan terbentuk senyawa asap dalam bentuk uap dan butiran tar serta dihasilkan panas. Senyawa kimia yang terbentuk selanjutnya akan menyentuh permukaan produk dan akan larut dalam lapisan air pada bagian permukaan. Proses ini yang menyebabkan terbentuknya aroma dan rasa khas pada produk yang diasap (Wibowo, 1996).

Adapun pengasapan dibagi menjadi dua metode yaitu pengasapan dingin dan pengasapan panas. Pengasapan dingin merupakan pengasapan produk secara perlahan dengan temperatur yang rendah ($15^{\circ}\text{C} - 30^{\circ}\text{C}$) untuk mencegah terjadinya koagulasi protein otot. Suhu yang tidak terlalu tinggi menyebabkan proses pengasapan berjalan lebih lama. Hal ini yang kemudian menyebabkan hasil pengasapan lebih awet jika dibandingkan dengan pengasapan panas. Masa simpan produk dapat mencapai 2 – 3 minggu atau bahkan berbulan-bulan (Murniyati dan Sunarman, 2000).



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat

Alat yang digunakan dalam pembuatan sosis fermentasi ikan patin (*Pangasius pangasius*) terbagi menjadi empat macam yaitu alat pembuat sosis, analisa mikrobiologi (TPC, Total BAL, dan Total Bakteri Patogen *Enterobacteriaceae*), analisa a_w dan analisa pH.

Alat yang digunakan pada pembuatan sosis terdiri dari *food processor*, *meat grinder*, talenan, pisau, baskom, timbangan digital, penjepit, termometer, *freezer*, lemari es dan lemari pengasapan. Alat yang digunakan untuk analisis mikrobiologi meliputi analisa TPC (*Total Plate Count*), total BAL (Bakteri Asam Laktat) dan analisa total bakteri patogen (*Enterobacteriaceae*) terdiri dari cawan petri, mikropipet, tabung reaksi, rak tabung reaksi, timbangan digital, erlenmeyer, bunsen, autoklaf, inkubator, *laminar air flow* (LAF), *crushable tank*, spatula, mortar dan alu, *colony counter*, penjepit, pipet volume, pipet tetes dan *sprayer*.

Alat yang digunakan untuk analisa *water activity* (a_w) terdiri a_w , cawan petri dan cawan pengukur. Untuk analisa pH alat yang digunakan adalah pH meter, mortar alu, gelas ukur, *beaker glass* dan tabung reaksi.

3.1.2 Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan patin (*Pangasius pangasius*) yang diperoleh dari Loka Supermarket, Malang. Sedangkan *casing* sosis yang digunakan diperoleh dari Surabaya. Kultur bakteri asam laktat dan metabolit *Lactobacillus fermentum* dengan kepadatan 10^8 cfu/mL yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang. Bahan tambahan yang digunakan untuk pembuatan sosis fermentasi ikan patin (*Pangasius pangasius*) meliputi garam, gula (glukosa,

fruktosa, suksosa), merica, lada, pala, jahe, es batu dan bawang putih yang diperoleh dari Pasar Merjosari, Malang. Bahan yang digunakan untuk pembuatan stok kultur dan kultur siap pakai adalah MRSA (*de Man Rogosa and Sharpe Agar*). Bahan tambahan 0,1% pepton, akuades, alkohol 70%, Na Fisiologis, kapas, plastik, tali pengikat dan natrium agar.

Bahan yang digunakan untuk analisa mikrobiologi meliputi *total plate count* (TPC), total bakteri asam laktat (BAL), dan total bakteri patogen *Enterobacteriaceae* adalah PCA (*Potato count agar*), MRSA (*de Man Rogosa and Sharpe Agar*), VRBA (*Violet Red Bile Agar*), aquades, NaCl, spirtus, alkohol, kapas, kertas saring dan plastik.

3.2 Metode penelitian

3.2.1 Metode

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan kultur dan metabolit *Lactobacillus fermentum* secara individu dan kombinasi terhadap karakteristik mikrobiologi sosis fermentasi ikan patin (*Pangasius pangasius*). Metode yang digunakan adalah metode eskperimen dengan observasi langsung.

Menurut Sugiono (2006), metode eksperimental merupakan metode yang dapat dilakukan jika data yang ingin diperoleh belum tersedia sehingga variabel yang akan diukur harus dibangkitkan datanya melalui suatu percobaan. Observasi terhadap data, baru bisa dijalankan setelah dilakukan percobaan tersebut. Tujuan dari metode eksperimen adalah untuk menyelidiki ada atau tidaknya hubungan sebab akibat dan ukuran dari hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimen dan menyelidiki kontrol untuk perbandingan.

3.2.2 Variabel Penelitian

Variabel adalah objek penelitian yang menjadi titik perhatian suatu penelitian. Variabel dibedakan menjadi dua yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Menurut Surachmad (1994), variabel bebas adalah variabel yang menyebabkan terjadinya pengaruh. Sedangkan variabel terikat adalah variabel yang akan timbul dari pengaruh variabel bebas.

Pada penelitian ini, variabel bebas adalah sosis dengan penambahan kultur *Lactobacillus fermentum*, penambahan metabolit *Lactobacillus fermentum*, dan penambahan kombinasi kultur dan metabolit *Lactobacillus fermentum*, serta lama penyimpanan 0 dan 28 hari. Sedangkan yang menjadi variabel terikat adalah uji pH, uji a_w , uji TPC, uji total BAL, dan uji total patogen (*Enterobacteriaceae*)

3.2.3 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) faktorial dengan dua faktor. Perlakuan percobaan pada penelitian ini meliputi perlakuan yang berbeda pada sosis fermentasi (A) dan lama penyimpanan (B). Pada faktor perlakuan sosis fermentasi terbagi menjadi empat taraf yaitu A = Kontrol (tanpa penambahan kultur starter), B = sosis dengan penambahan kultur starter *L. fermentum*, C = sosis dengan penambahan metabolit, dan D = sosis dengan penambahan metabolit dan BAL dengan perbandingan 1:1. Pada faktor lama penyimpanan terdiri dari dua taraf yaitu penyimpanan hari ke-0 dan ke-28. Model rancangan percobaan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rancangan percobaan bentuk RAL faktorial

Jenis Kultur starter	Perlakuan		Ulangan			Total
	Lama Penyimpanan (hari)		1	2	3	
A	0		A ₀₁	A ₀₂	A ₀₃	TA ₀
	28		A ₂₈₁	A ₂₈₂	A ₂₈₃	TA ₂₈
B	0		B ₀₁	B ₀₂	B ₀₃	TB ₀
	28		B ₂₈₁	B ₂₈₂	B ₂₈₃	TB ₂₈
C	0		C ₀₁	C ₀₂	C ₀₃	TC ₀
	28		C ₂₈₁	C ₂₈₂	C ₂₈₃	TC ₂₈
D	0		D ₀₁	D ₀₂	D ₀₃	TD ₀
	28		D ₂₈₁	D ₂₈₂	D ₂₈₃	TD ₂₈

Hasil dari analisa dilanjutkan dengan analisa sidik ragam (ANOVA).

Bentuk analisa sidik ragam dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Tabel sidik ragam pada rancangan acak lengkap (RAL) faktorial

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Ulangan						
Perlakuan						
Interaksi						
Galat						
Jumlah						

Jika hasil analisa sidik ragam (ANOVA) menunjukkan hasil yang nyata atau sangat nyata, maka dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan dengan menggunakan aplikasi software SPSS 16.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi dan Biokimia, Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang mulai April sampai Juni 2016 yang terdiri dari penelitian pendahuluan dan penelitian utama.

3.3.1 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan bertujuan untuk mengetahui komposisi terbaik pada pembuatan sosis fermentasi ikan patin (*Pangasius pangasius*).

Pada penelitian pendahuluan ini didapatkan formulasi sosis fermentasi ikan patin (*Pangasius pangasius*) terbaik yang mengacu pada formulasi pembuatan sosis fermentasi ikan lele dumbo berdasarkan Nursyam (2011) yang dimodifikasi.

Bahan-bahan pembuatan sampel dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Formulasi Pembuatan Sosis Ikan

No	Bahan	Komposisi (g)
1	Daging ikan	1000
2	NaCl	20
3	Sodium Nitrat	0,2
4	Sodium Nitrit	0,1
5	Sukrosa	4
6	Glukosa	3
7	Fruktosa	3
8	Lada Putih	1
9	Lada Hitam	1
10	Lengkuas	0,7
11	Jahe	0,7
12	Kayu Manis	0.6
13	Bawang putih	0,5
14	Cengkeh	0,5

Sumber : Nursyam (2011)

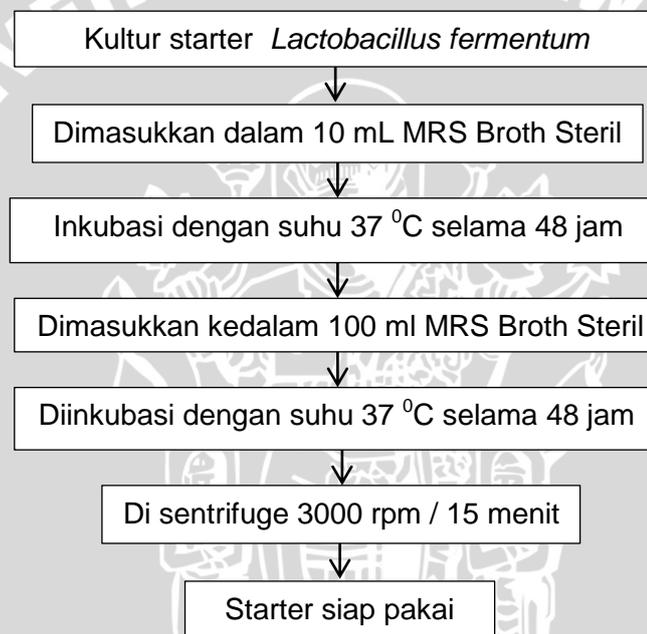
3.3.2 Penelitian Utama

Penelitian utama dilakukan pada bulan April-Juni 2016 di Laboratorium Nutrisi dan Biokimia Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang. Penelitian utama bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan kultur *Lactobacillus fermentum* secara individu, penambahan metabolit *Lactobacillus fermentum*

secara individu dan penambahan kultur bakteri dan metabolit *Lactobacillus fermentum* secara kombinasi terhadap karakteristik mikrobiologi dari sosis fermentasi ikan patin (*Pangasius pangasius*).

3.3.2.1 Kultur Bakteri Asam Laktat

Penelitian ini menggunakan *Lactobacillus fermentum* sebagai salah satu perlakuannya. Biakan *Lactobacillus fermentum* didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya Malang. Pembuatan starter BAL bisa dilihat pada gambar 2.

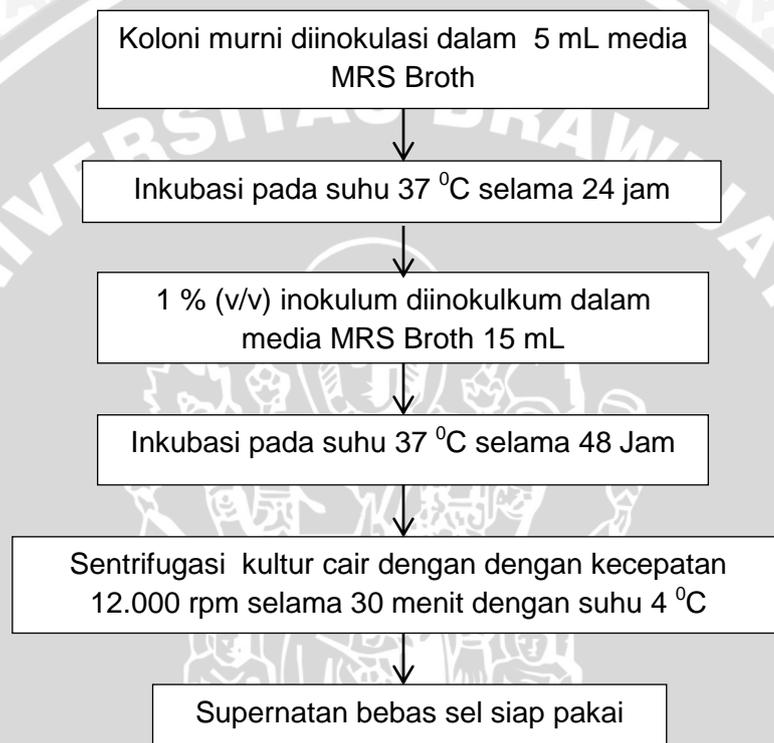


Gambar 2. Prosedur Kultur Bakteri Asam Laktat

Penyegaran kultur dilakukan dengan menumbuhkan isolat pada media MRS *broth* dengan lama inkubasi 48 jam pada suhu 37 °C. Pengulangan penyegaran terus dilakukan hingga kultur beradaptasi untuk hidup pada media tersebut dan jumlahnya cukup banyak dengan ditandai kekeruhan pada media tumbuh. Kultur yang memenuhi syarat untuk siap dijadikan kultur starter untuk sosis fermentasi adalah dengan populasi $\geq 10^8$ cfu/mL (Arief *et al.*, 2010).

3.3.2.2 Metabolit

Menurut Nofiani *et al.*, (2009), fase eksponensial pertumbuhan bakteri ditunjukkan pada jam ke-19. Pada jam tersebut terdapat jumlah pertumbuhan bakteri terbanyak, sehingga dapat dilakukan pemanenan metabolit primer dan metabolit sekunder. Prosedur pemanenan sampel berupa metabolit primer dan sekunder dari bakteri asam laktat dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Prosedur Kultur Metabolit

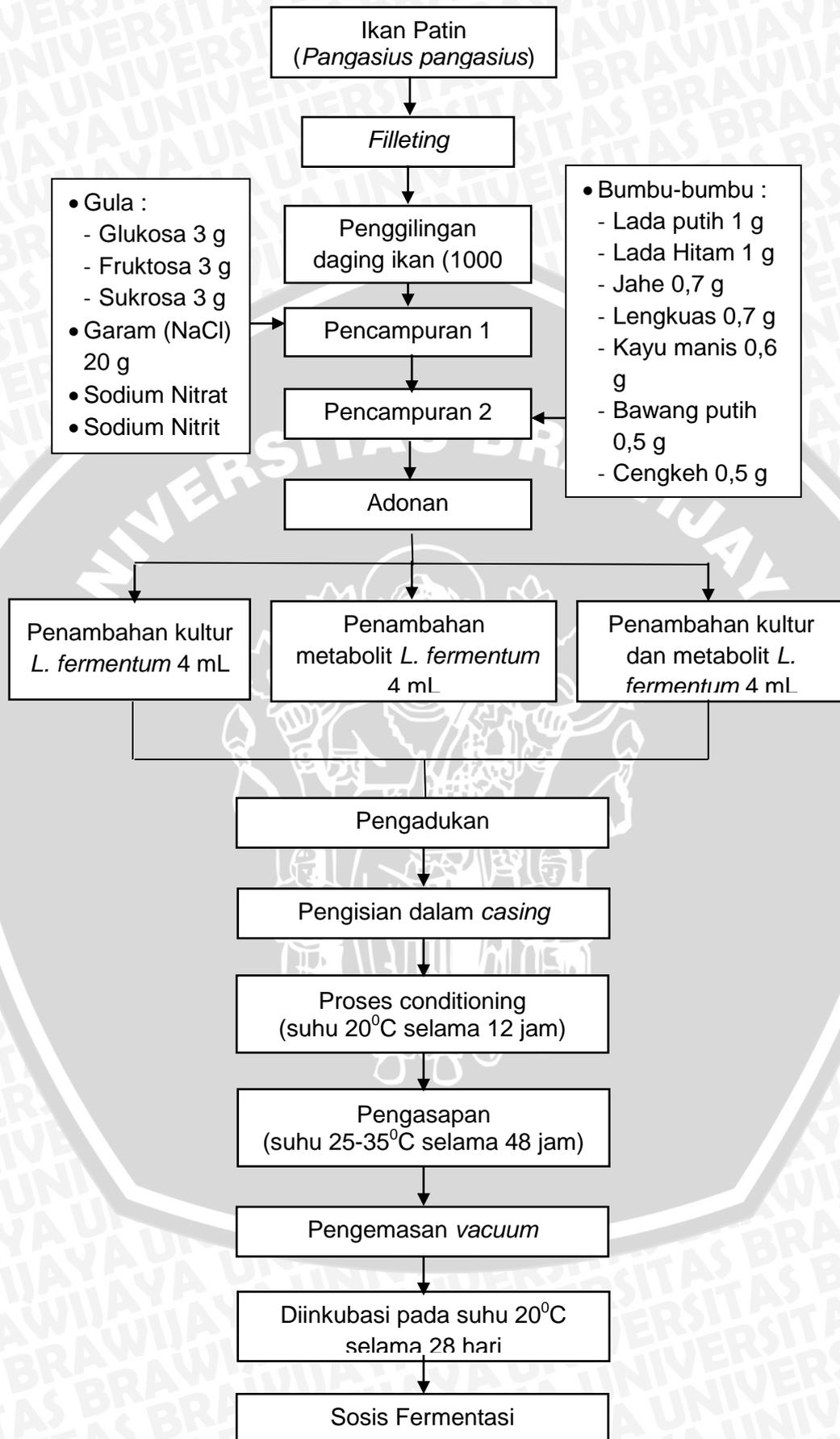
Dalam proses pemanenan metabolit ekstraseluler, tahap awal yang dilakukan adalah menginokulasi kultur bakteri asam laktat sebanyak 1 ose ke dalam 5 mL medium MRS *Broth* dengan menggunakan Erlenmeyer, setelah itu inokulum diinkubasi dalam *shaking incubator* pada 150 rpm dengan suhu 37 °C selama 24 jam, dengan standar kekeruhan OD 0,1. Kemudian suspensi sel ditransfer ke 1L media MRS *Broth* pada inokulum 1% (v / v) untuk subkultur dan diinkubasi kembali dalam *shaking incubator* pada 120 rpm pada suhu 37 °C

selama 48 jam. Hasil dari proses tersebut adalah media yang menjadi keruh, hal ini disebabkan karena bakteri mengalami pertumbuhan. Selanjutnya, tahap yang dilakukan adalah sentrifugasi menggunakan alat *ultracentrifuge* dengan kecepatan 12.000 rpm selama 30 menit dengan suhu 4 °C. Pada saat proses sentrifugasi akan terjadi kerusakan pada metabolit yang ditandai dengan hilangnya nutrisi didalamnya, oleh karena itu digunakan suhu 4 °C agar tidak terjadi kerusakan pada nutrisi didalam metabolit. Lalu didapatkanlah supernatan bebas sel yang berisi hasil metabolisme bakteri (Desniar *et al.*, 2011).

3.3.2.3 Pembuatan Sosis Fermentasi

Proses pembuatan sosis fermentasi diawali dengan menggiling daging ikan patin yang telah difillet, dibersihkan dan ditimbang. Daging ikan patin digiling dengan menggunakan alat *meat grinder*. Setelah daging ikan patin halus, daging ikan patin dicampur dengan garam, sodium nitrat, sodium nitrit, sukrosa, fruktosa, glukosa, lada putih, lada hitam, lengkuas, jahe, kayu manis, bawang putih, cengkeh, bakteri asam laktat, metabolit bakteri asam laktat *Lactobacillus fermentum*.

Kultur bakteri asam laktat *Lactobacillus fermentum* ditambahkan dengan konsentrasi 10^8 cfu/mL. Penambahan kultur bakteri asam laktat dan metabolit bakteri asam laktat *Lactobacillus fermentum* kedalam daging ikan patin yang telah dihaluskan yaitu sebanyak 2 mL untuk 500 gram daging ikan patin. Setelah adonan tercampur rata, adonan dimasukkan kedalam selongsong kolagen dengan menggunakan *stuffer*. Sosis dibuat dengan panjang 10 cm kemudian diikat dengan tali pada kedua ujungnya. Kemudian sosis diinkubasi selama 24 jam pada suhu 20 °C. Selanjutnya dilakukan pengasapan dengan suhu 25 -35 °C selama 48 jam. Sosis yang telah diasap diinkubasi selama 28 hari pada suhu 20 °C. Proses pembuatan sosis fermentasi dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram alir proses pembuatan sosis fermentasi ikan patin

3.4 Prosedur Analisis

3.4.1 Analisa pH (AOAC, 1995)

Sampel dalam wadah diukur pH-nya dengan menggunakan pH meter. Terlebih dahulu pH meter dinyalakan, kemudian elektroda pH-meter dimasukkan dalam buffer pH 4,31 dan 6,86. Sampel ditimbang sebanyak 1 gram, kemudian dilarutkan dalam 10 mL akuades dan dimasukkan ke dalam gelas ukur. Setelah itu elektroda dicelupkan pada larutan sampel dan dibiarkan beberapa saat sampai diperoleh pembacaan yang stabil. Nilai yang diperoleh dari hasil pembacaan pada pH meter sampai angka digital menunjukkan nilai pH tetap.

3.4.2 Analisa a_w

Pengukuran a_w dilakukan dengan cara menggunakan a_w -meter Shibaura WA-360. Sebelumnya alat dikalibrasi dengan menggunakan larutan NaCl jenuh pada kertas saring dan diletakkan pada cawan, kemudian nilai a_w di set sampai 0.7509. Selanjutnya sampel dipotong dengan ketebalan 0,2 cm dan diletakan dalam cawan pengukur. Setelah ditutup dan dikunci alat dijalankan sampai menunjukan tanda *completed* sehingga nilai a_w dapat dibaca.

3.4.3 Analisis Total Bakteri Asam Laktat (Fardiaz, 1992)

Sampel sosis sebanyak 5 gram diencerkan menggunakan larutan BPW sebanyak 45 mL dan dihomogenisasi menggunakan *stomacher*, didapatkan pengenceran sepersepuluh ($P-1 = 10^{-1}$). Pengenceran dilanjutkan untuk memperoleh 10^{-3} , 10^{-5} , 10^{-7} , sampai 10^{-9} . Pemupukan dilakukan secara aseptik dengan cara memipet 1 mL dari masing-masing pengenceran ke dalam cawan petri steril yang telah diisi medium MRSA (*de Man Rogosa Sharpe Agar*). Kemudian diratakan dengan menggunakan *stick hockey*. Setelah itu dilakukan inkubasi selama 24 - 48 jam dengan suhu 37°C , lalu dihitung jumlah populasinya dengan metode SPC (*Standart Plate Count*).

$$\text{Colony Forming Unit (CFU) per gram} = \text{jumlah koloni} + \frac{1}{\text{Pengenceran}}$$

3.4.4 Analisis *Total Plate Count* (Badan Standarisasi Nasional, 1995)

Sebanyak 25 g sampel sosis dimasukkan ke dalam plastik steril lalu ditambahkan 225 mL NaCl 0,85% steril, kemudian dikocok diremas-remas hingga diperoleh campuran yang homogen. Sampel ini kemudian diencerkan dengan NaCl 0,85 % hingga pengenceran keenam (P-6). Sampel dipipet secara aseptik pada pengenceran P-4 sampai P-6 dan sebanyak 1 mL dipipet ke dalam cawan petri steril dan tuang media *potato count agar* (PCA) sebanyak 10 - 12 mL. Inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu 37 °C dengan posisi terbalik. Jumlah bakteri ditentukan dengan metode hitungan cawan dan formula penentuan jumlah koloni pada setiap perlakuan dengan jumlah koloni antara 25-250 cfu/g adalah:

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)]}$$

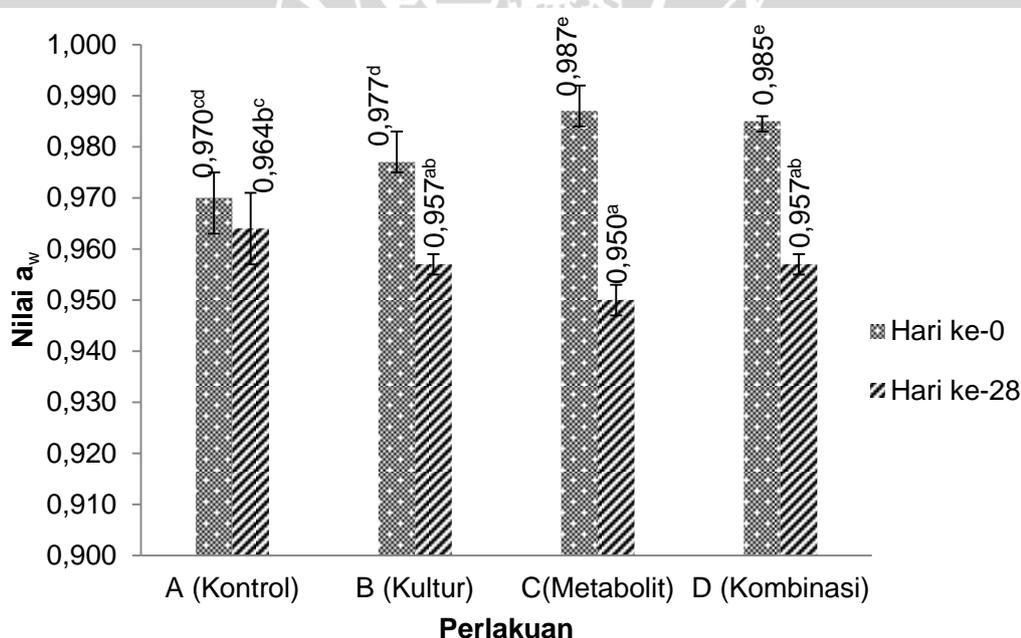
3.4.5 Analisis *Total Enterobacteriaceae* (Jenie dan Fardiaz, 1989)

Perlakuan sampel sama dengan perlakuan pada analisis *total plate count*, namun terdapat perbedaannya yaitu pada medium yang digunakan yaitu VRBA dengan penambahan glukosa sebanyak 1%. Penuangan agar tersebut dilakukan secara overlay yaitu menambahkan agar secara tipis diatas permukaan agar yang telah membeku. Setelah itu diinkubasi pada suhu 35 °C selama 2 - 3 hari, kemudian diamati adanya pertumbuhan koloni yang berwarna merah, diameter 1 - 2 mm dan dikelilingi oleh areal dengan endapan merah pada VRBA. Jumlah koloni yang tumbuh dihitung berdasarkan metode *standar plate count*.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Analisa Aktivitas Air (a_w)

Pengukuran aktivitas air bertujuan sebagai indikator adanya sejumlah air dalam suatu bahan pangan yang dibutuhkan untuk media pertumbuhan mikroorganisme. Data pengamatan dan hasil analisa a_w pada sosis fermentasi ikan patin pada lama penyimpanan 0 dan 28 hari dapat dilihat pada Lampiran 1. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian perlakuan yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap nilai a_w sosis fermentasi ikan patin ($P \geq 0,05$), sedangkan lama penyimpanan dan interaksi antara keduanya berpengaruh nyata terhadap nilai a_w sosis fermentasi ikan patin ($P \leq 0,05$). Rata-rata nilai a_w sosis fermentasi ikan patin pada lama penyimpanan 0 dan 28 hari dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Rata-rata nilai a_w Sosis Fermentasi Ikan Patin

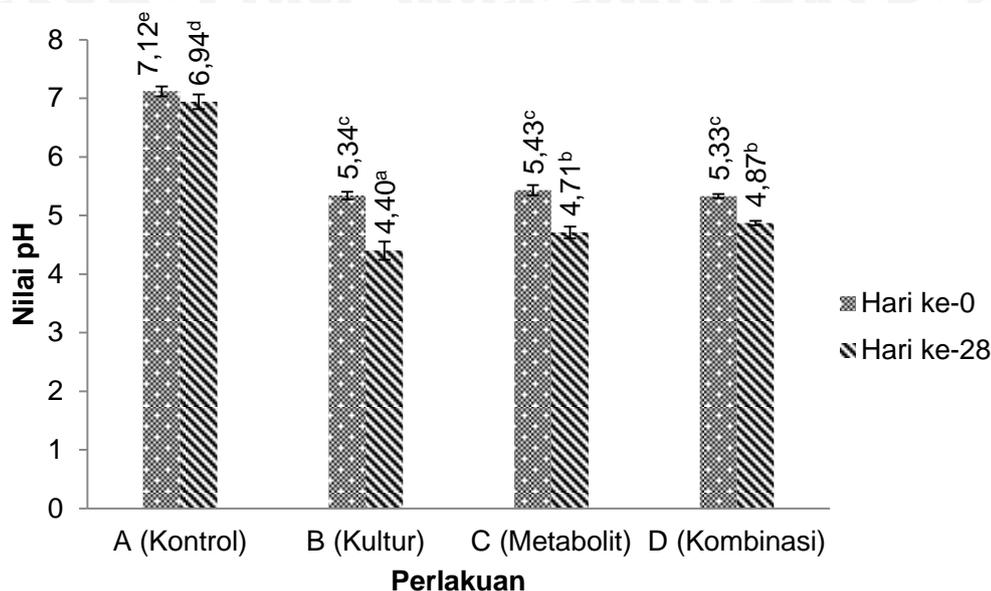
Berdasarkan Gambar 5 menunjukkan bahwa nilai a_w pada sosis fermentasi ikan patin mengalami penurunan dari waktu penyimpanan hari ke-0 hingga hari ke-28. Kisaran nilai a_w pada lama penyimpanan 0 hari, yaitu 0,977-0,985 sedangkan pada lama penyimpanan 28 hari, yaitu 0,950-0,957. Menurunnya nilai a_w diduga disebabkan oleh terjadinya penguapan air bebas dari sosis karena pengaruh pengasapan dan selongsong sosis yang bersifat permeabel terhadap air dan udara sehingga air bebas mudah keluar. Pertumbuhan bakteri asam laktat yang meningkat disertai oleh menurunnya pH akan menyebabkan produk sosis fermentasi ikan patin menjadi asam dan mempengaruhi menurunnya nilai a_w . Menurut Arief (2000), yang menyatakan bahwa semakin rendah nilai pH akan mengakibatkan daging mengkerut karena struktur daging akan saling berikatan kuat. Hal ini menyebabkan dayat ikat air sosis fermentasi menurun sehingga air mudah lepas dari produk akibatnya nilai a_w juga menurun.

Selain itu faktor lain yang menyebabkan menurunnya nilai a_w adalah bahan-bahan yang ditambahkan dalam pembuatan sosis fermentasi seperti gula dan garam nitrit. Soeparno (2005), mengatakan bahwa gula dan garam mengikat air dalam bahan pangan sehingga meningkatkan tekanan osmotik medium yang juga berimplikasi dengan rendahnya nilai a_w .

4.2 Anallisa Derajat Keasaman (pH)

Pengujian pH adalah suatu cara yang digunakan untuk mengetahui derajat keasaman dari suatu bahan pangan. Data pengamatan dan hasil analisa nilai pH sosis fermentasi ikan patin (*Pangasius pangasius*) pada lama penyimpanan 0 dan 28 hari dapat dilihat pada Lampiran 2. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan antara pemberian perlakuan yang berbeda dan lama penyimpanan menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P \leq 0,05$). Rata-rata nilai pH sosis

fermentasi ikan patin dalam masa penyimpanan 0 dan 28 hari dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Rata-rata nilai pH Sosis Fermentasi Ikan Patin

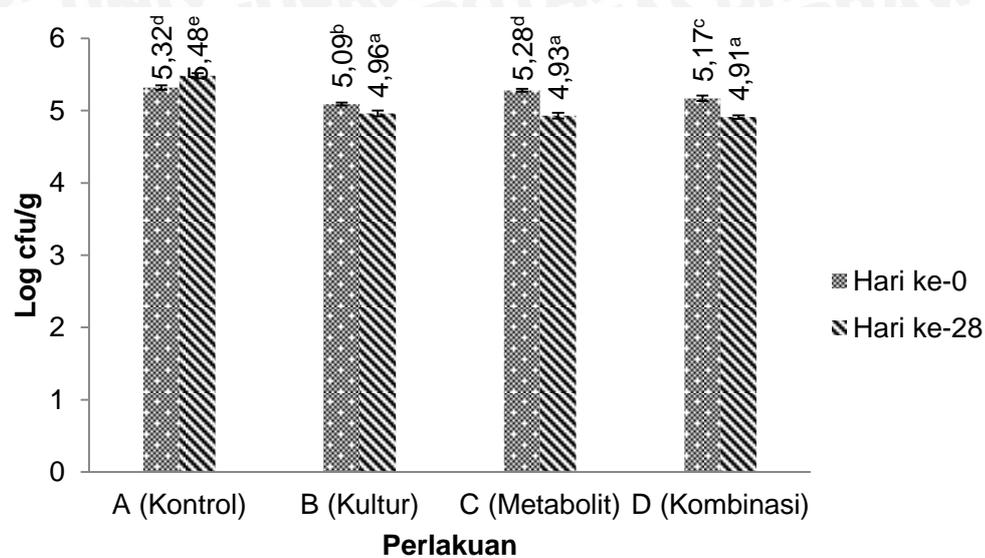
Berdasarkan Gambar 6 rata-rata nilai pH pada lama penyimpanan 0 hari berkisar antara 5,33 - 7,12, sedangkan rata-rata nilai TPC pada lama penyimpanan 28 hari berkisar antara 4,40 - 6,94. Pada sosis fermentasi ikan patin tanpa penambahan kultur (kontrol) memiliki pH cenderung netral. Hal ini dikarenakan tidak adanya penambahan bakteri asam laktat. Sedangkan pH sosis fermentasi ikan patin dengan penambahan kultur bakteri, metabolit serta kombinasi pada penyimpanan hari ke-28 mengalami penurunan. Nilai pH yang menurun dikarenakan tingginya aktivitas dari bakteri asam laktat yang menghasilkan asam-asam organik berupa asam laktat yang disertai oleh turunnya pH produk dan juga lamanya fermentasi. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Fardiaz (1992), bakteri asam laktat adalah bakteri yang menghasilkan asam laktat dan asam laktat yang terbentuk akan menurunkan nilai pH lingkungan pertumbuhannya dan menimbulkan rasa asam. Selain itu

semakin lama fermentasi, semakin banyak mikroorganisme yang aktif, berkembangbiak dan jumlahnya bertambah. Dengan bertambah banyaknya bakteri yang terbentuk dan berkembangbiak, maka kemampuan memecah substrat semakin baik sehingga menghasilkan asam laktat yang lebih banyak.

Penurunan pH disebabkan oleh adanya aktivitas fermentasi, yang mengubah karbohidrat atau gula dalam bahan makanan menjadi asam. *Lactobacillus* mampu merombak senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan hasil akhirnya yaitu asam laktat. Asam laktat dapat menghasilkan pH yang rendah pada substrat sehingga menimbulkan suasana asam (Nahariah *et al.*, 2013).

4.3 Analisa Total Plate Count

Total Plate Count (TPC) merupakan salah satu metode perhitungan yang umumnya digunakan untuk menghitung jumlah mikroba dalam suatu bahan pangan. Data Pengamatan dan hasil analisa nilai TPC sosis fermentasi ikan patin (*Pangasius pangasius*) pada lama penyimpanan 0 dan 28 hari dapat dilihat pada Lampiran 3. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan pemberian perlakuan yang berbeda dan lama penyimpanan 0 dan 28 hari berpengaruh nyata terhadap nilai TPC sosis fermentasi ikan patin ($P \leq 0,05$), sedangkan interaksi antara keduanya memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai TPC sosis fermentasi ikan patin ($P \leq 0,05$). Hasil analisa TPC sosis fermentasi ikan patin dalam masa penyimpanan 0 dan 28 hari dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Rata-rata nilai TPC Sosis Fermentasi Ikan Patin

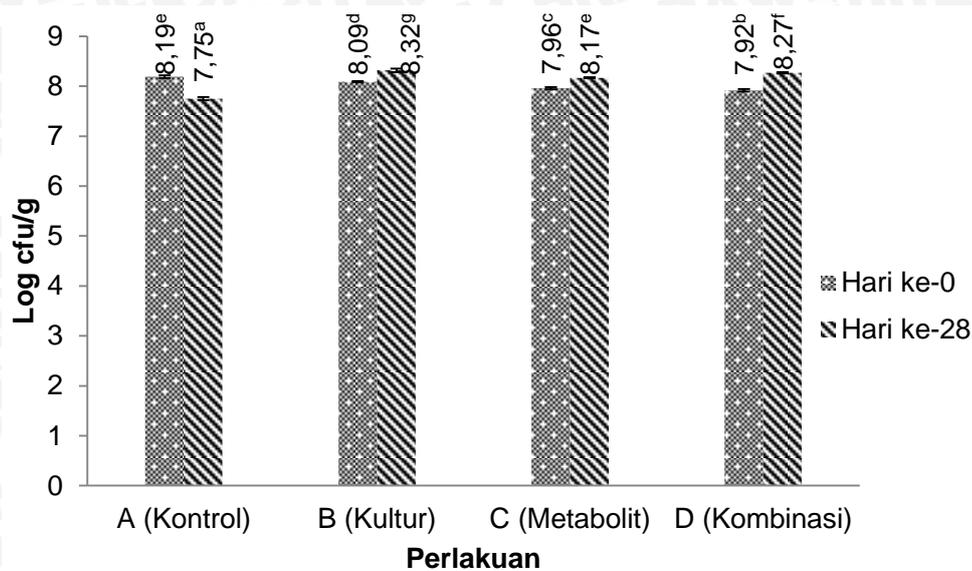
Berdasarkan Gambar 7 nilai TPC sosis fermentasi ikan patin pada lama penyimpanan 0 hari lebih tinggi dibandingkan nilai TPC sosis fermentasi ikan patin pada lama penyimpanan 28 hari di semua perlakuan. Rata-rata nilai TPC pada lama penyimpanan 0 hari berkisar antara 5,09-5,32 log cfu/g, sedangkan rata-rata nilai TPC pada lama penyimpanan 28 hari berkisar antara 4,93-5,48 log cfu/g. Penurunan nilai TPC sosis fermentasi tersebut disebabkan oleh jumlah nutrisi yang tersedia dalam media (sosis) sudah mulai berkurang sehingga mengakibatkan terjadinya kompetisi antar mikroba yang mengakibatkan menurunnya jumlah mikroba. Selain itu dapat disebabkan oleh rendahnya nilai pH dan a_w . Hal tersebut didukung oleh pernyataan Buckle *et al.*, (1987), yang menyatakan bahwa terdapat faktor-faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroorganisme yaitu suplai gizi (makanan), pH, a_w , suhu, waktu dan tersedianya oksigen. Ditambahkan oleh Fardiaz (1992), penurunan jumlah total bakteri diduga disebabkan bakteri memasuki fase menuju kematian dan fase kematian. Pada fase ini sebagian populasi bakteri mulai mengalami kematian

karena beberapa sebab yaitu nutrisi didalam medium sudah habis dan energi cadangan didalam sel habis.

Nilai TPC yang semakin menurun pada sosis fermentasi ikan patin juga oleh meningkatnya aktivitas bakteri asam laktat, sehingga bakteri tersebut dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain. Dengan meningkatnya aktivitas bakteri asam laktat, hasil metabolisme bakteri asam laktat juga meningkat dan terjadi penurunan pH yang menyebabkan tidak tumbuhnya mikroba yang tidak tahan terhadap pH rendah. Hal ini sesuai dengan pernyataan Buckle *et al.*, (1987), yang menyatakan bahwa meningkatnya asam laktat akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen asal makanan dan mikroorganisme lainnya yang tidak dikehendaki. Amin dan Leksono (2001), mengemukakan bahwa efek bakterisidal dari asam laktat berkaitan dengan penurunan pH lingkungan sehingga pertumbuhan bakteri lain termasuk bakteri pembusuk akan terhambat.

4.4 Analisa Total Bakteri Asam Laktat

Total bakteri asam laktat adalah menghitung jumlah bakteri asam laktat yang tumbuh baik yang secara sengaja ditambahkan starter kultur ataupun yang tumbuh alami pada daging ikan. Data pengamatan dan hasil analisa nilai total BAL sosis fermentasi ikan patin (*Pangasius pangasius*) pada lama penyimpanan 0 dan 28 hari dapat dilihat pada Lampiran 4. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa interaksi antara perlakuan dengan lama penyimpanan berpengaruh nyata ($P \leq 0,05$) terhadap total BAL sosis fermentasi ikan patin. Rata-rata total bakteri asam laktat pada sosis fermentasi ikan patin selama lama penyimpanan 0 dan 28 hari dapat dilihat pada Gambar 8.



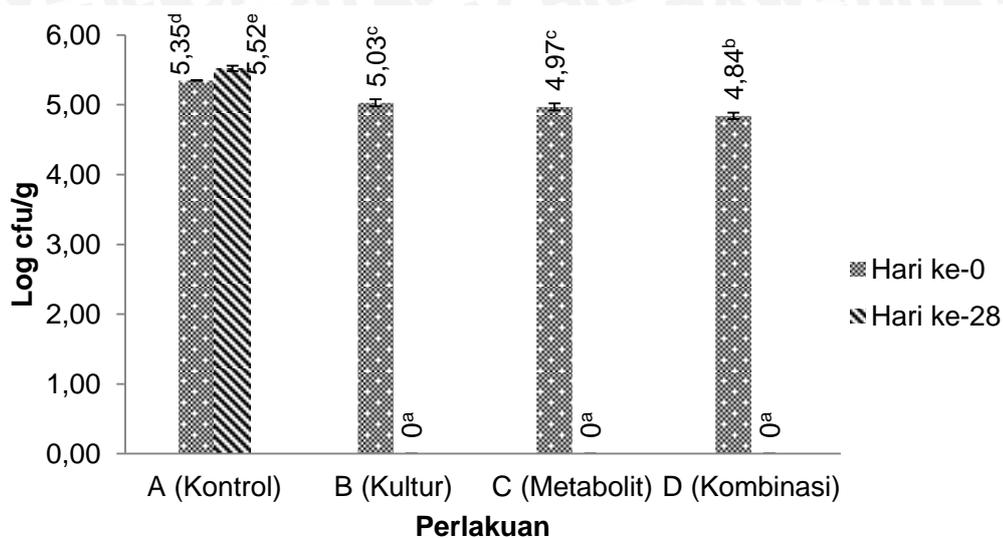
Gambar 8. Rata-rata nilai Total BAL Sosis Fermentasi Ikan Patin

Berdasarkan Gambar 8 nilai total bakteri asam laktat sosis fermentasi ikan patin pada lama penyimpanan 0 hari lebih rendah dibandingkan pada lama penyimpanan 28 hari pada semua perlakuan. Rata-rata nilai total BAL pada lama penyimpanan 0 hari berkisar antara 7,92-8,19 log cfu/g, sedangkan pada lama penyimpanan 28 hari berkisar antara 7,75-8,32 log cfu/g. Meningkatnya nilai bakteri asam laktat diduga disebabkan karena pada saat proses pembuatan sosis fermentasi ikan patin sudah menciptakan kondisi lingkungan yang sesuai untuk pertumbuhan BAL, seperti nilai pH yang rendah serta adanya bahan-bahan pengawet seperti garam dan sodium nitrit. Hal ini didukung oleh pernyataan Sufyan (1999), bahwa BAL bersifat adaptif pada kondisi lingkungan dengan pH rendah karena menghasilkan senyawa-senyawa berupa asam-asam organik seperti asam laktat. Sebaliknya, mikroba lain akan menjadi terhambat pertumbuhannya karena tidak sesuai dengan kondisi lingkungan hidupnya, ditambah oleh faktor nilai a_w dan tekanan osmosis.

Selama proses fermentasi bakteri yang paling banyak tumbuh adalah bakteri asam laktat dan sisanya bakteri-bakteri halofilik lain yang tahan terhadap kadar garam tinggi. Menurut Buckle *et al.* (1987), mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi adalah bakteri pembentuk asam laktat, bakteri pembentuk asam propionat, bakteri pembentuk asam asetat. Sehingga dengan berkurangnya mikroba yang tidak tahan terhadap garam, semakin banyak nutrisi yang tersedia bagi pertumbuhan bakteri asam laktat. Ditambahkan oleh Aryanta (1991), peningkatan pertumbuhan bakteri asam laktat dipengaruhi oleh penurunan pH yang semakin asam. Semakin lama waktu fermentasi maka jumlah bakteri asam laktat akan semakin meningkat. Meningkatnya jumlah bakteri asam laktat selama proses fermentasi disebabkan oleh kondisi substrat yang masih memungkinkan untuk berlangsungnya metabolisme bakteri asam laktat.

4.5 Analisa Total Patogen (*Enterobacteriaceae*)

Total bakteri patogen dalam bahan pangan erat kaitannya dengan mutu produk suatu bahan pangan. Data pengamatan dan hasil analisis total bakteri patogen *Enterobacteriaceae* pada sosis fermentasi ikan patin pada lama penyimpanan 0 dan 28 hari dapat dilihat pada Lampiran 5. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa interaksi antara perlakuan dengan lama penyimpanan berpengaruh nyata ($P \leq 0,05$) terhadap total patogen (*Enterobacteriaceae*) sosis fermentasi ikan patin. Rata-rata total patogen (*Enterobacteriaceae*) pada sosis fermentasi ikan patin selama lama penyimpanan 0 dan 28 hari dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Rata-rata Nilai Total Patogen (*Enterobacteriaceae*) Sosis Fermentasi Ikan Patin

Berdasarkan grafik pada Gambar 9 nilai total bakteri patogen *Enterobacteriaceae* pada sosis fermentasi ikan patin mengalami penurunan pada semua perlakuan penambahan kultur bakteri asam laktat, metabolit dan kombinasi selama lama penyimpanan 0 dan 28 hari. Penurunan nilai total bakteri patogen *Enterobacteriaceae* diduga disebabkan oleh kandungan asam laktat hasil metabolisme dari bakteri asam laktat yang membuat pH lingkungan menjadi asam, sifat antagonisme pertumbuhan antara bakteri asam laktat dengan bakteri patogen dan jumlah awal yang lebih sedikit dibandingkan bakteri asam laktat menyebabkan *Enterobacteriaceae* kalah bersaing dalam memperebutkan nutrisi, selain itu juga disebabkan oleh penambahan kadar garam yang tinggi dan penambahan nitrit. Bacus (1994), menyatakan bahwa kandungan asam laktat yang tinggi dan pH yang rendah mempunyai fungsi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri patogen salah satunya *Escherichia coli* yang merupakan bakteri patogen yang tumbuh pada kisaran pH 6-7 dan *Enterobacteriaceae* yang tumbuh pada kisaran pH 5 - 6. Selain itu, penambahan garam hingga 2,5 %

merupakan cara yang paling efektif untuk mengontrol pertumbuhan *Enterobacteriaceae* termasuk *Salmonella*.

Penurunan nilai total patogen *Enterobactericeae* dapat pula disebabkan karena senyawa antimikroba dari bakteri asam laktat yang dapat menghambat mikroba patogen. Hal tersebut sesuai pernyataan Jenie dan Rini (1995), bahwa bakteri asam laktat dapat menghasilkan senyawa antimikroba seperti hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida berfungsi untuk menurunkan permeabilitas molekul struktur dari bakteri patogen melalui mekanisme laktoperoksidase dan thiosianat. Hidrogen peroksida dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *E.coli*, *Enterobacter*, *Salmonella* dan *Staphylococcus*.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan diantaranya adalah sebagai berikut :

1. Penambahan kultur starter bakteri *Lactobacillus fermentum* sosis fermentasi ikan patin pada lama penyimpanan 0 dan 28 hari berpengaruh nyata terhadap nilai *Total Plate Count* (TPC), total bakteri asam laktat, total patogen (*Enterobacteriaceae*), pH, dan a_w .
2. Penambahan metabolit *Lactobacillus fermentum* sosis fermentasi ikan patin pada lama penyimpanan 0 dan 28 hari berpengaruh nyata terhadap nilai *Total Plate Count* (TPC), total bakteri asam laktat, total patogen (*Enterobacteriaceae*), pH, dan a_w .
3. Penambahan kombinasi keduanya pada sosis fermentasi ikan patin pada lama penyimpanan 0 dan 28 hari berpengaruh nyata terhadap nilai *Total Plate Count* (TPC), total bakteri asam laktat, total patogen (*Enterobacteriaceae*), pH, dan a_w .

5.2 Saran

Pada penelitian ini disarankan perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai pembuatan sosis fermentasi ikan patin dengan penambahan starter dan metabolit dengan konsentrasi yang berbeda serta perlu dilakukan pengujian total asam untuk mengetahui nilai akurat total asam laktat yang dihasilkan oleh *Lactobacillus fermentum*.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, 1995. Pengaruh Jenis Bahan Baku, Lama Penyimpanan Beku dan Metode Pengasapan Terhadap Karakteristik Sosis Ikan. Tesis. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.
- Amano, K. 1965. Fish Sausage Manufacturing. Fish As Food Vol iii. Academic Press, New York.
- Amin dan Leksono .2001. Efektivitas Bakteri Asam Laktat Dalam Menghambat Bakteri. Airlangga. Yogyakarta.
- Andriani, T. 2014. Pelatihan Pengolahan Ikan Patin Menjadi Makanan Variatif dan Produktif di Desa Sawah Kecamatan Kampar Utara Kabupaten Kampar. *Jurnal Kewirausahaan* 13(1): 72-87
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. Virginia: The Association of Official Analytical and Chemist. 16 th ed. Arlington. AOAC Inc.
- Arief, I. I. 2000. Pengaruh Aplikasi Kultur Kering dengan Beberapa Kombinasi Mikroba Terhadap Kualitas Fisiko-Kimia dan Mikrobiologi Sosis Fermentasi. Tesis. Program Pasca Sarjana IPB. Bogor.
- _____, B. S. L. Jenie, M. Astawan, dan A. B. Witarto. 2010. Efektivitas Probiotik *Lactobacillus plantarum* 2C12 Dan *Lactobacillus acidophilus* 2B4 Sebagai Pencegah Diare Pada Tikus Percobaan. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan* 33(3): 137-743
- Aryanta, W.R. 1991. Ppengaruh Konsentrasi gula Terhadap Mutu Sosis Fermentasi Alamiah. Laporan Penelitian, Universitas Udayana. Denpasar.
- _____. 1996. Karakteristik Sosis Terfermentasi Tradisional Bali. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan* 1(2): 74-77.
- Bacus, J. 1984. Utilization Of Microorganisme In Meat Processing. Washington (US): Pullman
- Badan Standarisasi Nasional. 2013. Sosis Ikan. SNI 7755;2013. Jakarta
- Buckle, K. A., R. A. Edwards, G. H. Fleet, and M. Wootton. 1987. Ilmu Pangan. Terjemahan: H. Purnomo Dan Adiono. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Daeschel, M. A. 1989. Antimicrobial Substance From Lactic Acid Bacteria For Use As Food Pereservative. *Food Technology* 43(1): 164-167.
- Dharma, B. 2005. Mikrobiologi Industri. Jakarta
- Elegado, F. B., M. A. R. V. Guerra, R. A. Macayan, H. A. Mendoza, and M. B. Lirazan. 2004. Spectrum Of Bacteriocin Activity Of *Lactobacillus plantarum* And Fingerprinting By Rapd-Pcr. *Inter. Journal of Food Microbiology*. 95(1): 11-18.

- Elisa, 2010. Fermentasi Metabolit Primer. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta
- Erdiansyah, 2006. Teknologi Penanganan Bahan Baku Terhadap Mutu Sosis Ikan Patin (*Pangasius pangasius*). Tesis. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan I. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Farnwoth, E. R. 2003. Handbook of Fermented Functional Foods. Boca Raton, Florida. CRC Press
- Forrest, J. C., E. D. Aberle, H. B. Hedrick, M. D. Judge & R. A. Merkel. 1975. Principle of Meat Science. W.H. Freeman & Co, San Fransisco.
- Fuller, R. A. 1989. Review Probiotics In Man And Animals. Joournal of *Applied Bacteriology* 66(1): 365-378.
- Hanafiah, K. A. 1995. Rancangan Percobaan, Teori dan Aplikasi. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Harmain, R.M., H. Linawati dan Z. Winarti. 2012. Mutu Sosis Fermentasi Ikan Patin (*Pangasius sp*) Selama Penyimpanan Suhu Ruang. *JPHPI* 15(2): 81-90.
- Hastarini, E., D. Fardiaz., H. E. Irianto, dan S. Budijanto. 2012. Karakteristik Minyak Ikan dari Limbah Pengolahan Filet Ikan Patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*) dan Patin Jambal (*Pangasius djambal*). *Agritech*, 32(4): 403-410
- Hugas M, Monfort Jm. 1997. Bacterial Starter Culturel For Meat Fermentation. *Food Chemist*. 4:547-554.
- Hui, Y. H., W. K. Nip., W. R. Robert, and A. Y. Owen. 2001. Meat Science and Applications. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Ibrahim, S. M. 2009. Evaluation of Production and Quality of Salt-Biscuits Supplemented With Fish Protein Concentrate. *World Journal of Dairy & Food Sciences* 4(1): 28-31
- Ilyas S. 1983. Teknologi Refrigerasi Hasil Perikanan: Teknik Pendinginan Ikan. CV. Paripurna. Jakarta.
- Jenie, B.S.L dan S.E. Rini. 1995. Aktivitas Antimikroba dari Beberapa Spesies *Lactobacillus* Terhadap Mikroba Patogen dan Pembusuk Makanan. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan* 6(1): 46-51
- Judoamidjojo, M., A.A. Darwis., dan E.G. Said. 1992. Teknologi Fermentasi. Rajawali. Jakarta.
- Koswara, S. 1992. Teknologi Pengolahan Kedelai Menjadikan Makanan Bermutu. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta

- Kunaepah, U. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa Terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah. Program Pascasarjana. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Lawrie, R.A. 2003. Ilmu Daging Edisi V, Terjemahan Amkinuddin Paraksasi, Universitas Indonesia. Depok.
- Leroy, F., J. Verluyten., and L.D. Vuyst. 2006. Functional Meat Starter Cultures For Improved Sausage Fermentation. *Journal of Food Microbiology* 106(2): 270-285.
- Murniyati, A.S dan Sunarman. 2000. Pendinginan, Pembekuan dan Pengawetan Ikan. Kanisius. Jogjakarta.
- Nahariah., A.M., E. Legowo., A. Abustam., Y.B. Hintono., Pramono dan F. Yuliaty. 2013. Kemampuan Tumbuh Bakteri *Lactobacillus plantarum* Pada Putih Telur Ayam Ras dengan Lama Fermentasi Yang Berbeda. *JITP* 3(1): 33-39.
- Naidu, A.S Dan R.A. Clemens. 2000. Natural Food Antimicrobial Systems. Crc Press, Lcc
- Nakai, S., and H.W. Modler. 2000. Food Proteins Processing Applications. Wiley-Vhc Inc. New York.
- Nofiani, R., N. Siti., dan S. Ajuk. 2009. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Bakteri Berasosiasi Spons Dari Pulau Lemukutan, Kalimantan Barat. Jurusan Kimia. FMIPA. Universitas Tanjungpura. Pontianak.
- Nursyam, H. 2011. Pengolahan Sosis Fermentasi Ikan Tuna (*Thunnus sp.*) Menggunakan Kultur Starter *Lactobacillus plantarum* Terhadap Nilai pH, Total Asam, N-Total Asam, N-Total Dan N-Amino. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 3(2): 221-228
- Palungkun dan Budiarti. 1992. Bawang Putih Dataran Rendah. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Pearson, A. M., and F.W. Tauber. 1984. Processed Meats. The Avi Publishing, Connecticut.
- Rachmawati, I., Suranto., dan S. Retno. 2005. Uji Antibakteri Bakteri Asam Laktat Asal Asinan Sawi Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Bioteknologi* 2(2): 43-48.
- Rahayu, W.P., S. Ma'oen., Suliantari., dan S. Fardiaz. 1992. Teknologi Fermentasi Produk Perikanan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rantsiou, K., R. Urso, L. Lacumin., C. Cantoni., P. Cattaneo., G. Comi., and L. Cocolin. 2005. Culture-Dependent and Independent Methods to Investigate The Microbial Ecology of Italian Fermented Sausages. *Applied and Environmental Microbiology* 71(1): 77-86.

- Saanin, M.H. 1984. Taksonomi Dan Kunci Identifikasi Ikan. Jilid 1 Dan 2. Penerbit Bina Cipta. Bogor.
- Sijabat, L. 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Sponge *Haliclona sp* Terhadap Aktivitas Proliferasi Sel Dengan Metode Hitung Agnor Pada Sel *Adenocarcinoma mammaer* Mencit. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang
- Soeparno. 2005. Ilmu Dan Teknologi Daging. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Sufyan, A. 1999. Kajian Mutu Mikrobiologis Sosis Fermentasi Bali (Urutan) Termodifikasi. Skripsi. IPB. Bogor.
- Sugiono. 2006. Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif dan R&D. Alfabeta. Bandung.
- Sumarno. 1992. Petunjuk Laboratorium Analisis Metabolit Sekunder Dengan Hplc. Penerbit Pusat Antar Universitas-Bioteknologi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta
- Surachmad, W. 1994. Dasar Metode Teknik Penelitian Ilmiah. Tarsito. Bandung
- Thammapat, P., P. Raviyan., and S. Siriamorpon. 2010. Proximate and Fatty Acids Composition of Muscles and Viscera of Asian Catfish (*Pangasius bocourti*). *Food Chem* 122(1): 223-227
- Varnam, and J.P. Sutherland. 1995. Meat And Meat Product. London (Gb): Chapman And Hall.
- Wibowo, S. 1996. Industri Pengasapan Ikan. Penebar Surabaya. Jakarta.
- _____, M.A. 2006. Biosintesis Senyawa Obat. Fakultas Farmasi. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Winarno, F.G. 2002. Kimia Pangan Dan Gizi. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Analisis (ANOVA) a_w Sosis Fementasi Ikan Patin Pada Lama Penyimpanan 0 dan 28 Hari

1. Data Pengamatan Uji a_w

Perlakuan	Lama Penyimpanan (hari)	Ulangan			Total	Rerata	Std. Deviasi
		1	2	3			
Kontrol	0	0,964	0,974	0,971	2,909	0,970	0,005
	28	0,956	0,966	0,969	2,891	0,964	0,007
Kultur	0	0,970	0,979	0,982	2,931	0,977	0,006
	28	0,955	0,959	0,956	2,870	0,957	0,002
Metabolit	0	0,987	0,983	0,992	2,962	0,987	0,005
	28	0,947	0,949	0,953	2,849	0,950	0,003
Kombinasi	0	0,986	0,985	0,984	2,955	0,985	0,001
	28	0,958	0,954	0,958	2,870	0,957	0,002

Between-Subjects Factors

	Value	Label	N
Perlakuan	1	kontrol	6
	2	kultur	6
	3	metabolit	6
	4	kombinasi	6
Lama_Penyimpanan	1	hari ke_0	12
	2	hari ke_28	12

Descriptive Statistics

Dependent Variable : a

Perlakuan	Lama_Penyimpanan	Mean	Std. Deviation	N
Kontrol	hari ke_0	.96967	.005132	3
	hari ke_28	.96367	.006807	3
	Total	.96667	.006314	6
Kultur	hari ke_0	.97700	.006245	3
	hari ke_28	.95667	.002082	3
	Total	.96683	.011890	6
Metabolit	hari ke_0	.98733	.004509	3
	hari ke_28	.94967	.003055	3
	Total	.96850	.020917	6
Kombinasi	hari ke_0	.98500	.001000	3
	hari ke_28	.95667	.002309	3
	Total	.97083	.015600	6
Total	hari ke_0	.97975	.008292	12
	hari ke_28	.95667	.006213	12
	Total	.96821	.013797	24

Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable:Patogen

F	df1	df2	Sig.
2.139	7	16	.099

Test of Between-Subjects Effects

Dependent Variable : pH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.004 ^a	7	.001	30.631	.000
Intercept	22.498	1	22.498	1.184E6	.000
Perlakuan	6.746E-5	3	2.249E-5	1.183	.347
Lama_Penyimpanan	.003	1	.003	168.265	.000
Perlakuan *	.001	3	.000	14.201	.000
Lama_Penyimpanan					
Error	.000	16	1.900E-5		
Total	22.503	24			
Corrected Total	.004	23			

**Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets**

Duncan a_w

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Metabolit hari ke-28	3	.94967				
Kultur hari ke-28	3	.95667	.95667			
Kombinasi hari ke-28	3	.95667	.95667			
Kontrol hari ke-28	3		.96367	.96367		
Kontrol hari ke-0	3			.96967	.96967	
Kultur hari ke-0	3				.97700	
Kombinasi hari ke-0	3					.98500
Metabolit hari ke-0	3					.98733
Sig.		.080	.080	.111	.056	.521



Lampiran 2. Analisis (ANOVA) pH Sosis Fementasi Ikan Patin Pada Lama Penyimpanan 0 dan 28 Hari

2. Data Pengamatan Uji pH

Perlakuan	Lama Penyimpanan (hari)	Ulangan			Total	Rata-Rata	Std. Deviasi
		1	2	3			
Kontrol	0	7,21	7,04	7,11	21,36	7,12	0,085
	28	7,04	6,80	6,98	20,82	6,94	0,125
Kultur	0	5,27	5,36	5,40	16,03	5,34	0,067
	28	4,40	4,56	4,25	13,21	4,40	0,155
Metabolit	0	5,36	5,41	5,53	16,30	5,43	0,087
	28	4,82	4,69	4,62	14,13	4,71	0,101
Kombinasi	0	5,32	5,37	5,30	15,99	5,33	0,036
	28	4,91	4,83	4,88	14,62	4,87	0,040

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Perlakuan	1	kontrol	6
	2	kultur	6
	3	metabolit	6
	4	kombinasi	6
Lama_Penyimpanan	1	hari ke_0	12
	2	hari ke_28	12

Descriptive Statistics

Dependent Variable : pH

Perlakuan	Lama_Penyimpanan	Mean	Std. Deviation	N
Kontrol	hari ke_0	7.1200	.08544	3
	hari ke_28	6.9400	.12490	3
	Total	7.0300	.13740	6
kultur	hari ke_0	5.3433	.06658	3
	hari ke_28	4.4033	.15503	3
	Total	4.8733	.52580	6
metabolit	hari ke_0	5.4333	.08737	3
	hari ke_28	4.7100	.10149	3
	Total	5.0717	.40514	6
kombinasi	hari ke_0	5.3300	.03606	3
	hari ke_28	4.8733	.04041	3
	Total	5.1017	.25246	6
Total	hari ke_0	5.8067	.79542	12
	hari ke_28	5.2317	1.04960	12
	Total	5.5192	.95694	24

Levane's Test of Equality of Error Variance

Dependent Variable : pH

F	df1	df2	Sig.
1.083	7	16	.418



Test of Between-Subjects Effects

Dependent Variable : pH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	20.917 ^a	7	2.988	330.948	.000
Intercept	731.069	1	731.069	8.097E4	.000
Perlakuan	18.446	3	6.149	680.967	.000
Lama_Penyimpanan	1.984	1	1.984	219.705	.000
Perlakuan *	.488	3	.163	18.011	.000
Lama_Penyimpanan					
Error	.144	16	.009		
Total	752.131	24			
Corrected Total	21.062	23			

Post Hoc Test

Duncan pH

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Kultur hari ke-28	3	4.4033				
Metabolit hari ke-28	3		4.7100			
Kombinasi hari ke-28	3		4.8733			
Kombinasi hari ke-0	3			5.3300		
Kultur hari ke-0	3			5.3433		
Metabolit hari ke-0	3			5.4333		
Kontrol hari ke-28	3				6.9400	
Kontrol hari ke-0	3					7.1200
Sig.		1.000	.051	.225	1.000	1.000



Lampiran 3. Analisis (ANOVA) TPC Sosis Fementasi Ikan Patin Pada Lama Penyimpanan 0 dan 28 Hari

3. Data Pengamatan Uji TPC

Perlakuan	Lama Penyimpanan (hari)	Ulangan			Total	Rata-Rata	Std. Deviasi
		1	2	3			
Kontrol	0	5,33	5,29	5,35	15,97	5,32	0,031
	28	5,44	5,48	5,51	16,43	5,48	0,035
Kultur	0	5,11	5,10	5,07	15,28	5,09	0,021
	28	5,00	4,92	4,97	14,89	4,96	0,040
Metabolit	0	5,30	5,26	5,29	15,85	5,28	0,021
	28	4,96	4,95	4,89	14,80	4,93	0,038
Kombinasi	0	5,20	5,13	5,18	15,51	5,17	0,036
	28	4,89	4,91	4,94	14,74	4,91	0,025

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Perlakuan	1	Kontrol	6
	2	Kultur	6
	3	Metabolit	6
	4	Kombinasi	6
Lama_Penyimpanan	1	Hari ke-0	12
	2	Hari ke-28	12

Descriptive Statistics

Dependent Variable : TPC

Perlakuan	Lama_Penyimpanan	Mean	Std. Deviation	N
Kontrol	Hari ke-0	5.3233	.03055	3
	Hari ke-28	5.4767	.03512	3
	Total	5.4000	.08899	6
Kultur	Hari ke-0	5.0933	.02082	3
	Hari ke-28	4.9633	.04041	3
	Total	5.0283	.07679	6
Metabolit	Hari ke-0	5.2833	.02082	3
	Hari ke-28	4.9333	.03786	3
	Total	5.1083	.19364	6
Kombinasi	Hari ke-0	5.1700	.03606	3
	Hari ke-28	4.9133	.02517	3
	Total	5.0417	.14331	6
Total	Hari ke-0	5.2175	.09808	12
	Hari ke-28	5.0717	.24675	12
	Total	5.1446	.19817	24

Levene's Test of Equality of Error Variance

Dependent Variable : TPC

F	df1	df2	Sig.
.467	7	16	.844



Test of Between-Subjects Effects

Dependent Variable : TPC

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.887 ^a	7	.127	126.207	.000
Intercept	635.202	1	635.202	6.326E5	.000
Perlakuan	.544	3	.181	180.563	.000
Lama_Penyimpanan	.128	1	.128	127.075	.000
Perlakuan *	.216	3	.072	71.562	.000
Lama_Penyimpanan					
Error	.016	16	.001		
Total	636.105	24			
Corrected Total	.903	23			

Post Hoc Tests

Duncan TPC

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Kombinasi hari ke-28	3	4.9133				
Metabolit hari ke-28	3	4.9333				
Kultur hari ke-28	3	4.9633				
Kultur hari ke-0	3		5.0933			
Kombinasi hari ke-0	3			5.1700		
Metabolit hari ke-0	3				5.2833	
Kontrol hari ke-0	3				5.3233	
Kontrol hari ke-28	3					5.4767
Sig.		.084	1.000	1.000	.142	1.000



Lampiran 4. Analisis (ANOVA) Total BAL Sosis Fementasi Ikan Patin Pada Lama Penyimpanan 0 dan 28 Hari

4. Data Pengamatan Uji BAL

Perlakuan	Lama Penyimpanan (hari)	Ulangan			Total	Rata-Rata	Std. Deviasi
		1	2	3			
Kontrol	0	8,18	8,22	8,16	24,56	8,19	0,031
	28	7,78	7,72	7,74	23,24	7,75	0,031
Kultur	0	8,07	8,1	8,09	24,26	8,09	0,015
	28	8,36	8,29	8,31	24,96	8,32	0,036
Metabolit	0	7,96	7,94	7,98	23,88	7,96	0,020
	28	8,18	8,16	8,18	24,52	8,17	0,012
Kombinasi	0	7,92	7,89	7,94	23,75	7,92	0,025
	28	8,29	8,26	8,27	24,82	8,27	0,015

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Perlakuan	1	Kontrol	6
	2	Kultur	6
	3	Metabolit	6
	4	Kombinasi	6
Lama_Penyimpanan	1	Hari ke-0	12
	2	Hari ke-28	12

Descriptive Statistics

Dependent Variable : BAL

Perlakuan	Lama_Penyimpanan	Mean	Std. Deviation	N
Kontrol	Hari ke-0	8.1867	.03055	3
	Hari ke-28	7.7467	.03055	3
	Total	7.9667	.24254	6
Kultur	Hari ke-0	8.0867	.01528	3
	Hari ke-28	8.3200	.03606	3
	Total	8.2033	.13018	6
Metabolit	Hari ke-0	7.9600	.02000	3
	Hari ke-28	8.1733	.01155	3
	Total	8.0667	.11776	6
Kombinasi	Hari ke-0	7.9167	.02517	3
	Hari ke-28	8.2733	.01528	3
	Total	8.0950	.19624	6
Total	Hari ke-0	8.0375	.11291	12
	Hari ke-28	8.1283	.23771	12
	Total	8.0829	.18781	24

Levene's Test of Equality of Error Variance

Dependent Variable : BAL

F	df1	df2	Sig.
.994	7	16	.470



Test of Between-Subjects Effects

Dependent Variable : BAL

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.802 ^a	7	.115	190.880	.000
Intercept	1568.005	1	1568.005	2.613E6	.000
Perlakuan	.171	3	.057	94.748	.000
Lama_Penyimpanan	.050	1	.050	82.507	.000
Perlakuan *	.582	3	.194	323.137	.000
Lama_Penyimpanan					
Error	.010	16	.001		
Total	1568.816	24			
Corrected Total	.811	23			

Post Hoc Tests

Duncan BAL

		Subset for alpha = 0.05						
Perlakuan	N	1	2	3	4	5	6	7
Kontrol hari ke-28	3	7.7467						
Kombinasi hari ke-0	3		7.9167					
Metabolit hari ke-0	3			7.9600				
Kultur hari ke-0	3				8.0867			
Metabolit hari ke-28	3					8.1733		
Kontrol hari ke-0	3						8.1867	
Kombinasi hari ke-28	3							8.2733
Kultur hari ke-28	3							8.3200
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.514	1.000	1.000



Lampiran 5. Analisis (ANOVA) Total Patogen (*Enterobacteriaceae*) Sosis Fementasi Ikan Patin Pada Lama Penyimpanan 0 dan 28 Hari

5. Data Pengamatan Uji Total Patogen (*Enterobacteriaceae*)

Perlakuan	Lama Penyimpanan (hari)	Ulangan			Total	Rata-Rata	Std. Deviasi
		1	2	3			
Kontrol	0	5,30	5,35	5,41	16,06	5,35	0,055
	28	5,52	5,48	5,56	16,56	5,52	0,040
Kultur Bakteri	0	5,08	4,98	5,03	15,09	5,03	0,050
	28	0	0	0	0,00	0,00	0,000
Metabolit	0	4,98	5,02	4,92	14,92	4,97	0,050
	28	0	0	0	0,00	0,00	0,000
Kombinasi	0	4,83	4,89	4,80	14,52	4,84	0,046
	28	0	0	0	0,00	0,00	0,000

Between-Subjects Factors

	Value	Label	N
Perlakuan	1	Kontrol	6
	2	Kultur	6
	3	Metabolit	6
	4	Kombinasi	6
Lama_Penyimpanan	1	Hari ke-0	12
	2	Hari ke-28	12

Descriptive Statistics

Dependent Variable : Patogen

Perlakuan	Lama_Penyimpanan	Mean	Std. Deviation	N
Kontrol	Hari ke-0	5.3533	.05508	3
	Hari ke-28	5.5200	.04000	3
	Total	5.4367	.10093	6
Kultur	Hari ke-0	5.0300	.05000	3
	Hari ke-28	.0000	.00000	3
	Total	2.5150	2.75523	6
Metabolit	Hari ke-0	4.9733	.05033	3
	Hari ke-28	.0000	.00000	3
	Total	2.4867	2.72419	6
Kombinasi	Hari ke-0	4.8400	.04583	3
	Hari ke-28	.0000	.00000	3
	Total	2.4200	2.65114	6
Total	Hari ke-0	5.0492	.20170	12
	Hari ke-28	1.3800	2.49657	12
	Total	3.2146	2.55195	24

Levene's Test of Equality of Error Variance

Dependent Variable : Patogen

F	df1	df2	Sig.
2.216	7	16	.089



Test of Between-Subjects Effects

Dependent Variable : Patogen

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	149.762 ^a	7	21.395	1.455E4	.000
Intercept	248.005	1	248.005	1.686E5	.000
Perlakuan	39.530	3	13.177	8.959E3	.000
Lama_Penyimpanan	80.777	1	80.777	5.492E4	.000
Perlakuan *	29.456	3	9.819	6.676E3	.000
Lama_Penyimpanan					
Error	.024	16	.001		
Total	397.791	24			
Corrected Total	149.786	23			

Post Hoc Tests

Duncan BAL

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Kultur hari ke-28	3	.0000				
Metabolit hari ke-28	3	.0000				
Kombinasi hari ke-28	3	.0000				
Kombinasi hari ke-0	3		4.8400			
Metabolit hari ke-0	3			4.9733		
Kultur hari ke-0	3			5.0300		
Kontrol hari ke-0	3				5.3533	
Kontrol hari ke-28	3					5.5200
Sig.		1.000	1.000	.482	1.000	1.000



Lampiran 6. Proses Pembuatan Sosis



Kultur Bakteri dan Metabolit



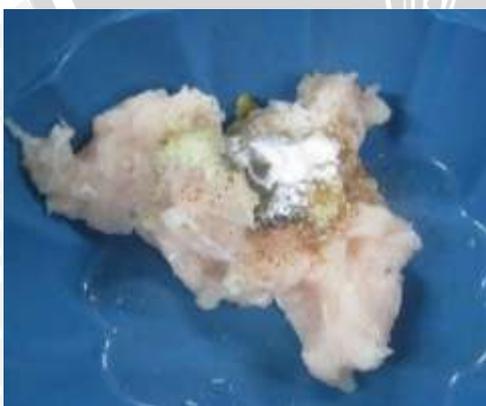
Daging Fillet Ikan Patin



Penggilingan daging ikan



Penimbangan daging giling



Pencampuran dengan Bumbu



Pencampuran dengan Kultur atau metabolit



Pengadukan



Memasukan Adonan dalam Casing



Proses conditioning



Pengasapan Sosis Fermentasi



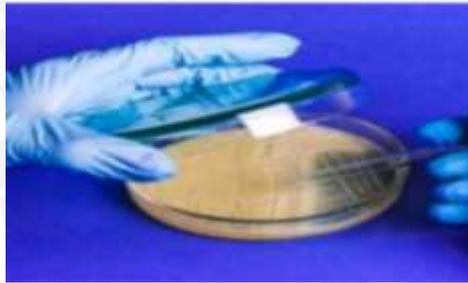
Sosis setelah diasap



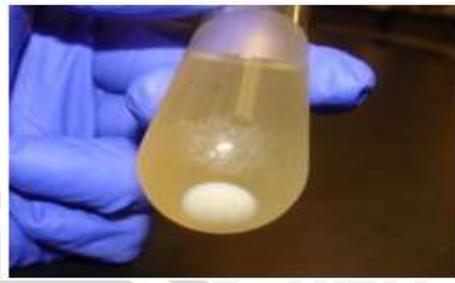
Tekstur Sosis



Lampiran 7. Pembuatan Kultur *Lactobacillus fermentum*



Kultur starter kering *Lactobacillus fermentum*



Dimasukkan dalam 10 ml MRS Broth Steril



Dimasukkan ke dalam 100 ml MRS Broth Steril



Inkubasi dengan suhu 37°C selama 48 jam



Diinkubasi dengan suhu 37°C selama 48 jam



Starter siap pakai

Lampiran 8. Pembuatan metabolit *Lactobacillus fermentum*



Koloni murni diinokulasi dalam 5 ml media MRS Broth



Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam



Inkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam



1 % (v/v) inokulum diinokulum dalam media MRS Broth 15 ml



Sentrifugasi kultur cair dengan kecepatan 12.000 rpm selama 30 menit dengan suhu 4°C



Supernatan bebas sel siap dipakai