

**EFEKTIVITAS ANTIBAKTERIAL ASAP CAIR TEMPURUNG KELAPA
TERHADAP PERTUMBUHAN *Salmonella thyphosa* DAN *Morganella morganii*
DENGAN METODE SUMUR (*WELL DIFFUSION*) DAN METODE
PENGECERAN TABUNG (*TUBE DILUTION TEST*)**

**LAPORAN SKRIPSI
TEKNOLOGI INDUTRI HASIL PERIKANAN**

OLEH:

JURYATIN

NIM. 0310830052



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
TEKNOLOGI INDUSTRI HASIL PERIKANAN
MALANG
2008**



KATA PENGANTAR

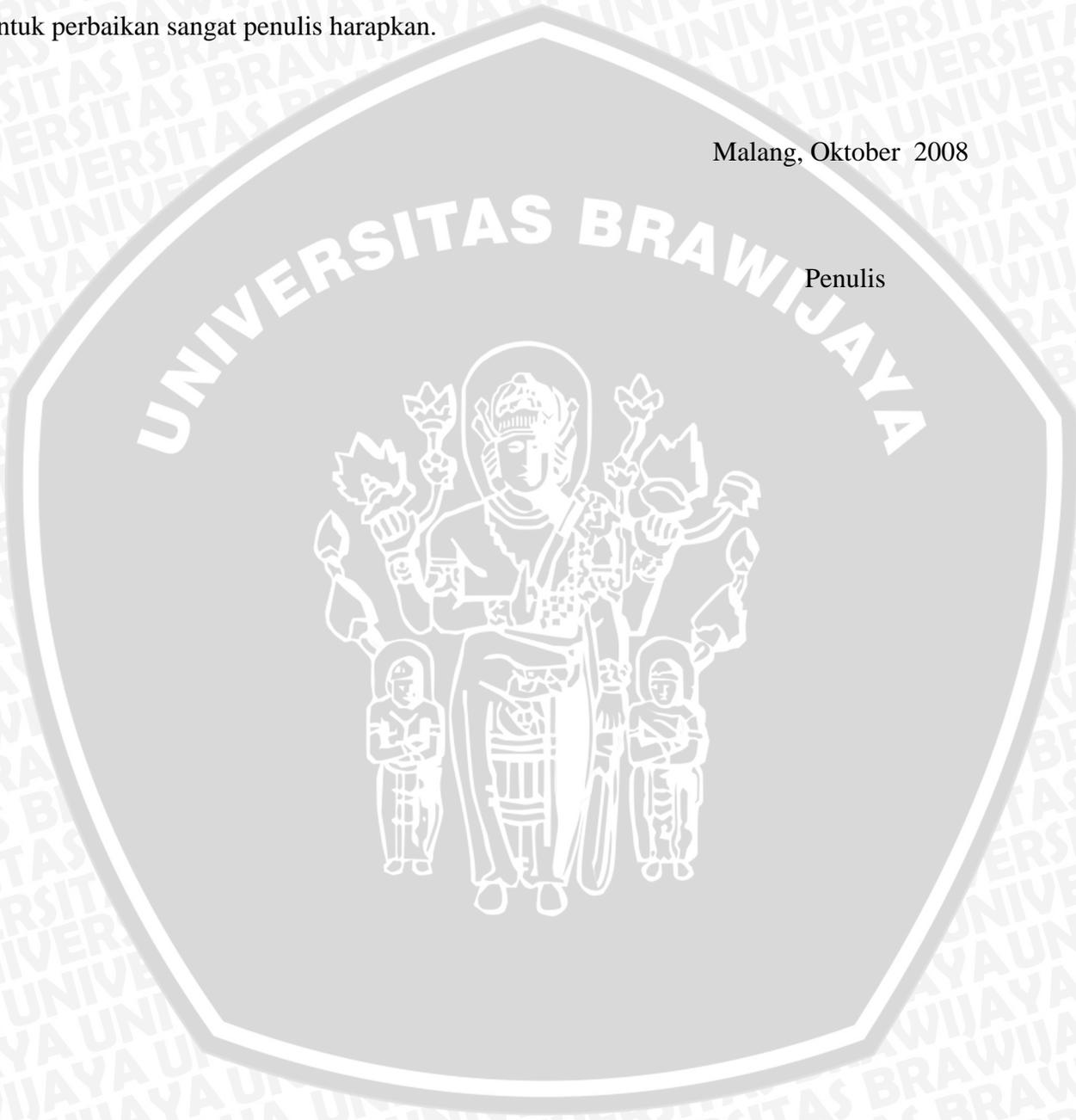
Bismillahirrohmannirrohim. Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat, taufik dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi sampai penyusunan laporannya. Skripsi ini berisi tentang efektivitas antibakterial asap cair tempurung kelapa terhadap pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii*. *Salmonella thyposa* atau *Salmonella thypi* adalah bakteri patogen penyebab bermacam-macam infeksi, mulai dari gastroenteritis yang ringan sampai dengan demam tifoid yang berat disertai bakteremia. Sedangkan *Morganella morganii* adalah bakteri pembentuk histamin yang menyebabkan keracunan. Sebagai pengawet alami asap cair digunakan sebagai antimikrobal terutama antibakterial yang sangat efektif dalam membunuh dan menghambat beberapa pertumbuhan bakteri dan antifungal. Bahan utama pada penelitian ini adalah asap cair dari tempurung kelapa yang merupakan limbah kelapa terpadu. Salah satu usaha untuk mengurangi ketergantungan terhadap pengawet makanan yang berbahaya maka mengusahakan asap cair tempurung kelapa sebagai alternatif zat antibakterial yang dapat dikembangkan sebagai komoditas yang efektif sebagai pengawet alami produk perikanan. Skripsi ini disusun untuk mengetahui efektivitas pemberian asap cair tempurung kelapa terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* serta untuk mengetahui konsentrasi minimal asap cair tempurung kelapa yang dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii*.

Ucapan terimakasih tidak lupa penulis berikan kepada: Bapak Ir. Yahya, MP. selaku Dosen Pembimbing I dan Ibu Ir. Sri Dayuti selaku Dosen Pembimbing II yang telah

memberikan masukan, bimbingan dan arahan dalam penyusunan laporan ini. Ayah, Mama, Mz serta saudaraku dan teman-temanku THP 2003 yang selalu mendoakan. Penulis menyadari bahwa laporan ini masih jauh dari sempurna, sehingga kritik dan saran untuk perbaikan sangat penulis harapkan.

Malang, Oktober 2008

Penulis



RINGKASAN

JURYATIN. Skripsi. Efektivitas Antibakterial Asap Cair Tempurung Kelapa Terhadap Pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* Dengan Metode Sumur (*Well Diffusion*) dan Metode Pengenceran Tabung (*Tube Dillution Test*) (dibawah bimbingan Ir. Yahya, MP dan Ir. Sri Dayuti)

Liquid Smoke atau lebih dikenal sebagai asap cair merupakan suatu hasil destilasi atau pengembunan dari uap hasil pembakaran tidak langsung maupun langsung dari bahan-bahan yang banyak mengandung karbon serta senyawa-senyawa lain. Bahan baku yang banyak digunakan untuk menghasilkan asap cair antara lain kayu, bongkol kelapa sawit, ampas hasil penggergajian kayu, dan lain-lain.

Analisa kandungan asap cair menunjukkan bahwa asap cair tempurung kelapa mengandung zat-zat kimia seperti : fenol, karbonil, asam, furan, alkohol, dan ester, lakton dan polisiklik hidrokarbon. Asap cair tempurung kelapa mengandung senyawa-senyawa antimikroba dan antioksidan yang tinggi, senyawa antimikroba ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan bakteri patogen. Asap cair juga menunjukkan adanya properti antimikrobia terutama antibakterial yang sangat efektif dalam membunuh dan menghambat beberapa pertumbuhan bakteri dan antifungal.

Salmonella thyposa adalah bakteri patogen penyebab bermacam-macam infeksi, mulai dari gastroenteritis yang ringan sampai dengan demam tifoid yang berat disertai bakteremia. Sedangkan *Morganella morganii* adalah bakteri pembentuk histamin yang menyebabkan keracunan.

Keamanan pangan (*food safety*) adalah keadaan pangan yang bebas dari resiko kesehatan disebabkan oleh kerusakan, pemalsuan dan kontaminasi baik oleh bakteri maupun senyawa kimia.

Penggunaan bahan pengawet berbahaya sebaiknya dikurangi, sehingga perlu dicari alternatif lain yang secara preventif mampu mengatasi masalah penyakit bakterial yang disebabkan oleh *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* dengan memanfaatkan asap cair. Asap cair selain menghasilkan asam juga bersifat bakteriostatik, bakterisidal dan fungisidal terhadap pertumbuhan bakteri.

Penelitian tentang efektivitas antibakterial asap cair tempurung kelapa terhadap pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian asap cair tempurung kelapa terhadap efektivitas pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* serta untuk mengetahui berapa konsentrasi minimal asap cair tempurung kelapa yang dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii*.

. Parameter yang diukur meliputi diameter zona hambat dan pengamatan secara visual kekeruhan dan mengukur nilai absorbansinya.

. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya Fakultas Perikanan pada bulan April – Mei 2008.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif. Metode deskriptif pada dasarnya memusatkan perhatian pada pemecahan masalah yang ada sekarang, kemudian data dikumpulkan dan disusun, dijelaskan dan dianalisa. Tujuan metode deskriptif adalah untuk membuat gambaran atau deskripsi secara sistematis,

aktual dan akurat mengenai fakta-fakta, sifat-sifat serta hubungan antara variabel yang diselidiki. Adapun perlakuan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah konsentrasi asap cair (v/v) sebesar 0%, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 1 faktor yaitu perbedaan konsentrasi asap cair dengan 6 perlakuan dan diulang sebanyak 5 kali. Data yang didapatkan dari hasil penelitian selanjutnya dianalisis menggunakan uji *Kruskall-Wallis* dan grafik linear.

Dari hasil penelitian diperoleh hasil kadar fenol dan pH asap cair didapatkan nilai fenol sebesar 0,42% dan pH 4,3. Konsentrasi minimal asap cair tempurung kelapa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* adalah 20% dan untuk bakteri *Morganella morganii* adalah 10%. Sedangkan konsentrasi minimal yang dapat membunuh bakteri *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* adalah 80%. Volume penambahan asap cair tempurung kelapa mempengaruhi aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri uji. Semakin besar volume asap cair tempurung kelapa yang digunakan maka semakin sedikit bakteri uji yang dapat tumbuh. Besarnya zona hambatan pada pengujian daya antibakteri asap cair tempurung kelapa menunjukkan bahwa respon hambatan pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* terhadap asap cair tempurung kelapa bersifat tidak ada sampai sedang. Sedangkan bahwa respon hambatan pertumbuhan bakteri *Morganella morganii* terhadap asap cair tempurung kelapa bersifat tidak ada sampai kuat.



DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PERSETUJUAN	i
RINGKASAN	ii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GRAFIK	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.5 Hipotesis	5
1.6 Tempat dan Waktu Penelitian	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Asap Cair dan Senyawa Kimia	6
2.1.1 Bahan Baku Penghasil Asap Cair	9
2.1.2 Kandungan Antibakteri Asap Cair	11
2.2 Cemaran Mikrobia Pada Produk Perikanan	12
2.3 Zat Antibakteri	13
2.4 Bakteri	
2.4.1 <i>Salmonella thyposa</i>	17
2.4.2 <i>Morganella morganii</i>	20
2.5 Metode Uji Antibakteri	
2.5.1 Metode Sumur (<i>Well Diffusion</i>)	22
2.5.2 Metode Pengenceran Tabung	25
3. MATERI DAN METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian	26
3.1.1 Bahan Penelitian	26
3.1.2 Peraatan Penelitian	26
3.2 Metode Penelitian	26
3.2.1 Metode	26
3.2.1 Variabel	28
3.3 Kerangka Konsep dan Prosedur Penelitian	28
3.3.1 Kerangka Konsep	28
3.3.2 Prosedur Penelitian	30
3.4 Parameter Pengamatan	41
3.5 Rancangan Percobaan dan Analisa Data	42
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Asap Cair	45
4.2 Zona Hambatan	46

4.2.1 <i>Salmonella thyposa</i>	46
4.2.2 <i>Morganella morganii</i>	50
4.3 Penghambatan Minimal	54
5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	65
5.2 Saran	66
DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN	71



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan adalah salah satu bahan pangan yang banyak mengandung protein yang sangat dibutuhkan oleh manusia. Komposisi kimia ikan adalah 60,0-84,0% air; 18,0-30% protein; 0,1-2,2% lemak; 0,0-1,0% karbohidrat dan sisanya adalah vitamin dan mineral. Dengan kandungan protein cukup tinggi, ikan termasuk komoditi yang sangat mudah busuk dan tidak dapat disimpan dalam bentuk segar (Afrianto dan Liviawaty, 1989). Ikan selain mempunyai gizi yang tinggi juga mempunyai potensi yang besar terhadap keracunan makanan karena daging ikan mengandung sedikit sekali tenunan pengikat sehingga sangat mudah dicerna oleh enzim autolisis yang menyebabkan daging menjadi sangat lunak sehingga merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme (Fardiaz, 1992).

Bahan makanan dapat bertindak sebagai agen penularan atau pemindahan bakteri yang mencemarinya. Pencemaran bahan makanan ini dapat terjadi sejak proses produksi, pengolahan, transportasi, penyimpanan, distribusi, dan sampai ke penyediaan hingga siap untuk dikonsumsi. Pencemaran bahan makanan oleh bakteri ini tidak selalu menyebabkan perubahan yang nyata terlihat, terlihat oleh lidah si konsumen atau tercium oleh hidung, sehingga sering timbul akibat yang dapat bersifat fatal. Pencemaran bahan makanan oleh bakteri dibagi menjadi dua macam yaitu: infeksi saluran pencernaan oleh bakteri karena si korban menelan bakteri yang mencemari makanan dengan jumlah banyak dan keracunan makanan yang disebabkan oleh toksin bakteri dalam makanan (*intoksikasi* oleh bakteri). Baik infeksi maupun *intoksikasi*, dapat menimbulkan akibat yang fatal,

tergantung pada patogenitas dan jumlah bakteri serta kerentanan orang yang terkena (Jekti, 1990).

Keamanan pangan (*food safety*) adalah keadaan pangan yang bebas dari resiko kesehatan disebabkan oleh kerusakan, pemalsuan dan kontaminasi baik oleh bakteri maupun senyawa kimia. Akhir-akhir ini banyak terjadi peningkatan gangguan kesehatan saluran pencernaan (*gastrointestinal* ataupun *enterocolitis*) akibat keracunan bahan pangan yang disebarkan oleh mikroorganisme patogenik yang termakan bersama bahan pangan yang tercemar (Buckle *et al.*, 1984).

Salmonella thyposa atau *Salmonella thypi* adalah bakteri patogen penyebab bermacam-macam infeksi, mulai dari gastroenteritis yang ringan sampai dengan demam tifoid yang berat disertai bakteremia (Staf Pengajar Mikrobiologi FKUI, 1994). Sedangkan *Morganella morganii* adalah bakteri pembentuk histamin yang menyebabkan keracunan. Senyawa pada ikan Scombroidea yang dapat menyebabkan keracunan adalah histamin yang merupakan hasil perombakan asam amino bebas histidin oleh enzim histidin dekarboksilase. Enzim histidin dekarboksilase ini dihasilkan oleh bakteri pembentuk histamin yaitu yang salah satunya adalah *Morganella morganii* (Suryati, dkk, 2003).

Zat antimikrobal merupakan zat yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme. Dua senyawa dalam asap cair yang diketahui mempunyai sifat bakterostatik dan bakterisidal adalah fenol dan asam-asam organik, dalam kombinasinya kedua senyawa tersebut bekerja sama secara aktif untuk mengontrol pertumbuhan bakteri (Pszczola, 1995). Fenol dan derivat fenol yang terdapat pada asap

cair menyebabkan bocornya membran sel bakteri, pada konsentrasi yang tinggi fenol akan menyebabkan koagulasi protein (Fardiaz, 1992).

Liquid Smoke atau lebih dikenal sebagai asap cair merupakan suatu hasil destilasi atau pengembunan dari uap hasil pembakaran tidak langsung maupun langsung dari bahan-bahan yang banyak mengandung karbon serta senyawa-senyawa lain.

Salah satu jenis kayu keras yang dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan asap cair adalah tempurung kelapa. Penelitian tentang analisa kandungan asap cair menunjukkan bahwa asap cair tempurung kelapa mengandung zat-zat kimia seperti : fenol, karbonil, asam, furan, alkohol, dan ester, lakton dan polisiklik hidrokarbon. Asap cair tempurung kelapa mengandung senyawa-senyawa antimikroba dan antioksidan yang tinggi, senyawa antimikroba ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan bakteri patogen (Yulistiani, dkk. 1997). Penelitian oleh Mahsun (2002) menunjukkan bahwa asap cair tempurung kelapa dapat menghambat bakteri patogen seperti *Escherichia coli* dan *Vibrio cholera*. Sedangkan Kusharyati, dkk. (1999) melaporkan bahwa komponen kimiawi asap cair mempunyai efek dalam menghambat bakteri pembentuk histamin *Morganella morganii*. Kandungan fenol pada konsentrasi tertentu dalam asap cair akan merusak membran sitoplasma sehingga menyebabkan bocornya membran metabolit penting, hal ini akan menginaktifkan sistem enzim bakteri sehingga dapat mengganggu pertumbuhan bakteri, bahkan bisa menyebabkan kematian (Volk dan Wheller, 1998). Dari hasil penelitian, penyebab keracunan pada produk *seafood* adalah adanya kandungan histamin sementara kandungan histamin dapat meningkat akibat pengolahan maupun penanganan pasca panen yang kurang tepat.

Berdasarkan uraian di atas, maka penulis tertarik untuk melakukan uji antibakterial asap cair tempurung kelapa. Pengujian efektivitas antibakterial asap cair tempurung kelapa menggunakan metode sumur (*well diffusion*) yang diketahui lebih baik dari metode yang selama ini sering digunakan. Hasil pengujian dengan mengukur diameter zona terang (*clear zone*) yang mana hasil pengukuran merupakan respon penghambatan pertumbuhan yang akan diklasifikasikan menurut Greenwood (1995).

1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini adalah bagaimana efektivitas antibakterial asap cair tempurung kelapa terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* serta besar daya hambat asap cair tempurung kelapa terhadap pertumbuhan dan daya bunuh pada bakteri *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii*.

Pada ikan sering ditemukan bakteri patogen yang dapat digunakan indikator kontaminasi makanan seperti *Salmonella sp.* dan bakteri pembentuk histamin seperti *Morganella morganii*.

Penggunaan bahan pengawet berbahaya sebaiknya dikurangi, sehingga perlu dicari alternatif lain yang secara preventif mampu mengatasi masalah penyakit bakterial yang disebabkan oleh *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* dengan memanfaatkan asap cair tempurung kelapa. Asap cair selain menghasilkan asam juga bersifat bakteriostatik, bakterisidal dan fungisidal terhadap pertumbuhan bakteri. Dari uraian tersebut diatas muncul beberapa permasalahan antara lain:

1. Apakah pemberian asap cair tempurung kelapa dapat berpengaruh terhadap efektivitas pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii*.

2. Berapa konsentrasi minimal asap cair tempurung kelapa yang dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii*.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian asap cair tempurung kelapa terhadap efektivitas pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii*.
2. Untuk mengetahui berapa konsentrasi minimal asap cair tempurung kelapa yang dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii*.

1.4 Manfaat Penelitian

Asap cair tempurung kelapa mengandung bahan-bahan kimiawi yang dapat menekan aktivitas bakterial dan menghambat pertumbuhannya. Penelitian efektivitas antibakterial asap cair tempurung kelapa terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* dapat menunjukkan kemampuan asap cair tempurung kelapa sebagai salah satu alternatif zat antibakterial yang dapat dikembangkan sebagai komoditas yang efektif sebagai pengawet alami produk perikanan.

1.5 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April – Mei 2008 di Laboratorium Mikrobiologi Dasar Universitas Brawijaya Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Asap Cair dan Senyawa Kimia

Asap adalah suatu jenis suspensi koloid yang mengandung partikel-partikel padat, partikel cair dan uap yang dihasilkan secara komersial dengan membakar kayu dibawah kondisi yang terkontrol terutama tanpa adanya udara (Pszczola, 1995).

Asap cair merupakan suatu campuran larutan dan dispersi koloid dari uap panas kayu dalam air yang diperoleh dari hasil pirolisa kayu atau dibuat dari campuran senyawa murni. Salah satu cara membuat asap cair yaitu dengan mengkondensasikan asap hasil pembakaran tidak sempurna dari kayu. Pembakaran tidak sempurna merupakan pembakaran dengan jumlah oksigen (O_2) terbatas. Selama pembakaran komponen utama dari kayu yaitu selulosa, hemiselulosa dan lignin akan mengalami pirolisa menghasilkan bermacam senyawa yaitu fenol, karbonil, asam, furan, alkohol, lakton dan hidrokarbon polisiklis aromatis (Girrad, 1992).

Asap cair memiliki sifat antioksidatif dan dapat digolongkan sebagai antioksidan alami. Senyawa yang berperan sebagai antioksidan adalah fenol terutama fenol dengan titik didih yang tinggi, yaitu 2,6-dimetoksifenol (siringol); 2,6-dimetoksi-4-metilfenol dan 2,6-dimetoksi-4 etilfenol yang juga dapat memberikan cita rasa spesifik. Fenol dengan titik didih rendah merupakan antioksidan yang lemah. Senyawa-senyawa ini dapat menghambat oksidasi lemak, mencegah oksidasi lipid dengan menstabilkan radikal bebas dan efektif mencegah kehilangan citarasa dan aroma akibat oksidasi lemak.

Senyawa-senyawa kimia paling penting yang diketahui dalam asap dan asap cair antara lain; phenol, karbonil, asam, furan, alkohol, dan ester, lakton dan polisiklik

hidrokarbon. Saat ini sejumlah besar komponen yang telah diidentifikasi dari beberapa senyawa kimia yang ada dalam asap cair antara lain: 45 senyawa fenol, lebih dari 70 senyawa karbonil seperti keton dan aldehyd, 20 asam, 11 furan, 13 alkohol dan ester, 13 lakton dan 27 polisiklik aromatis hidrokarbon (PAH) (Gilbert dan Knowlen, 1975; Kim, *et al.*, 1974; Obiedzinski dan Borys, 1976 *dalam* 1976).

Asap memiliki kemampuan untuk mengawetkan bahan makanan karena adanya senyawa asam, fenolat dan karbonil. Seperti yang dilaporkan Darmadji (1996) yang menyatakan bahwa pirolisis tempurung kelapa menghasilkan asap cair dengan kandungan senyawa fenol sebesar 4,13 %, karbonil 11,3 % dan asam 10,2 %.

Senyawa fenol, karbonil, serta kandungan asam pada asap cair mempunyai sifat fungsional pada kualitas produk yang diasap yaitu sebagai penentu rasa, bersifat antioksidan dan antibakteri. Berdasarkan hasil penelitian Yulistiani, dkk. (1997), diketahui bahwa dua senyawa utama yang terdapat dalam asap cair tempurung kelapa adalah fenol dan asam asetat sebanyak 1,28% dan 9,60%, kedua senyawa tersebut mempunyai sifat bakterisidal terhadap bakteri pembusuk dan bakteri patogen. Hal ini terjadi karena kerja dari komponen-komponen yang ada pada asap cair seperti fenol dan asam asetat yang menempel pada permukaan bahan sehingga komponen tersebut dapat mencegah pertumbuhan spora serta menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur (Daun, 1979 *dalam* Darmadji, 2001).

Asam-asam yang banyak terdapat dalam asap cair antara lain asam asetat, asam propionat, asam format dan asam butirat (Porter, *et al.*, *dalam* Darmadji, 1996).

Keasaman asap cair ini bersama-sama dengan senyawa karbonil dan senyawa fenol

mempunyai peranan yang penting dalam menentukan sifat antibakteri dan sifat sensoris asap cair. Senyawa-senyawa yang terdapat dalam asap cair disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Senyawa-senyawa yang terdeteksi dalam asap cair

Golongan Senyawa	Banyak macam senyawa dalam kondensat
Fenol	85
Karbonil (keton dan aldehid)	45
Asam-asam	35
Polisiklik Aromatis Hidrokarbon (PAH)	47
Hidrokarbon alifatik	1
Alkohol dan ester	15
Furan	11
Lakton	13

Sumber: Girrad, 1992.

Berdasarkan hasil penelitian Fretheim *et al.*, (1980) diketahui bahwa asap cair dengan konsentrasi 1000 ppm dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, sedangkan pada konsentrasi 10.000 ppm dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus cereviceae*.

Menurut Pelezar (1988), kandungan mikroorganisme pada suatu spesimen pangan memberikan keterangan yang mencerminkan bahan mentahnya, keadaan sanitasi pada pengolahan pangan tersebut, serta keefektifan metode pengawetannya. Kebanyakan bahan makanan merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikrobial.

Mikroorganisme juga merupakan salah satu penyebab kerusakan pangan. Menurut Ray (1996), kerusakan bahan pangan ditandai dengan terjadinya perubahan baik tekstur, akumulasi oleh gas, dan hilangnya cairan yang terkandung dalam bahan pangan tersebut. Semua perubahan itu terjadi seiring dengan pertumbuhan mikroorganisme pada bahan makanan tersebut.

2.1.1. Bahan Baku Penghasil Asap Cair

Kayu sebagai komponen utama dalam pengasapan mengandung bahan yang mudah terbakar. Bahan yang mudah terbakar tersebut meliputi selulosa, lignin, pentosan, asam tanat, senyawa protein, resin dan terpenin, sedangkan bahan yang tidak dapat terbakar seperti air dan abu (Zaitzev *et al.*, 1969).

Pirolisis merupakan proses dekomposisi termal dengan tanpa adanya oksigen, yaitu untuk mengatur suhu dan waktu serta kondisi bahan baku sehingga diperoleh biopreservatif yang menghasilkan sifat preservatif yang tinggi, namun terkontrol senyawa toksiknya.

Proses itu akan menghasilkan gas-gas hasil pirolisis yang kemudian dikondensasi agar berubah menjadi cairan berwarna kuning kecokelatan. Cairan hasil destilasi itu disebut *wood vinegar*, *wood oil*, ataupun *bio-oil*. Proses pirolisa melibatkan berbagai reaksi-reaksi yaitu dekomposisi, oksidasi, polimerisasi dan kondensasi. Reaksi-reaksi yang terjadi selama pirolisa kayu adalah proses penghilangan air dari kayu pada suhu 120-150°C, pirolisa hemiselulosa pada suhu 200-250°C, pirolisa selulosa pada suhu 280-320°C dan pirolisa lignin pada suhu 400°C ini menghasilkan senyawa yang mempunyai kualitas organoleptik tinggi, namun pada suhu lebih tinggi akan terjadi reaksi kondensasi yang diikuti senyawa ter serta polisiklik aromatis hidrokarbon (Girrad, 1992) dalam Darmadji (2001).

Hemiselulosa adalah komponen kayu yang mengalami pirolisa paling awal dan menghasilkan senyawa furfural dan asam asetat dan senyawa karbonil. Pirolisa lignin akan menghasilkan senyawa fenol, guaikol, siringol bersama derivatnya (Darmadji, 2001).

Tahap penting dalam pengasapan adalah memilih jenis bahan bakar yang bertindak sebagai sumber panas maupun sumber asap. Dari berbagai bahan, kayu diketahui dapat digunakan sebagai bahan bakar yang baik (Tranggono, 1991). Jenis kayu yang digunakan yaitu kayu keras yang menghasilkan bau dan rasa yang enak. Kayu keras yang umumnya digunakan antara lain jati, mahoni, lamtoro, kamper, bengkirai, kruing, glugu dan tempurung kelapa (Afrianto dan Liviawaty, 1989). Pengasapan tidak menggunakan kayu lunak karena mengandung zat-zat yang menyebabkan bau kurang baik (Moeljanto, 1982). Asap yang dihasilkan dari pembakaran kayu keras akan berbeda komposisinya dengan asap yang dihasilkan dari pembakaran kayu lunak. Pada umumnya kayu keras akan menghasilkan aroma yang lebih unggul, lebih kaya kandungan aromatis dan lebih banyak mengandung senyawa asam dibandingkan kayu lunak (Girard, 1992).

Tempurung kelapa merupakan bahan baku pembuatan asap cair yang paling baik ditinjau dari sifat antibakterinya yang paling tinggi dibandingkan dengan bahan baku yang lain, asam-asam organik yang terdapat pada asap cair dari tempurung kelapa juga lebih tinggi dibandingkan bahan baku lainnya (Yulistiani, *et al.*, 1997). Lebih lanjut Darmadji (1996) menambahkan bahwa selain menghasilkan senyawa-senyawa antibakteri dan antioksidan yang tinggi, tempurung kelapa juga menghasilkan kadar abu yang rendah. Data komposisi kimia tempurung kelapa disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Kimia Tempurung Kelapa

Komponen	Presentase (%)
Selulosa	34,6
Lignin	44,7
Kadar Air	11,4
Kadar Abu	1,0

Sumber: Darmadji (1996)

2.1.2 Kandungan Antibakteri Asap Cair

Salah satu sifat penting dari asap adalah pengaruhnya terhadap populasi bakteri, asap cair ini akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Hal ini disebabkan oleh kandungan dari asap cair (Yulistiani *et al.*, 1997).

Fenol dan persenyawaan fenolat bersifat bakterisidal dan bakteriostatik tergantung pada konsentrasi yang digunakan. Kerja fenol dan derivatnya ini adalah mendenaturasi protein dari sel bakteri serta merusak membran sel. O-Fenilfenol dan persenyawaan fenolat lainnya ternyata efektif pada pengenceran yang tinggi, namun pH alkali dapat mengurangi aktifitas antibakteri fenol dan fenolat, demikian halnya dengan suhu rendah dan sabun (Pelezar dan Chan, 1988).

Komponen fenol, asam organik bermolekul rendah dan aldehid adalah komponen yang terdapat pada asap cair dan merupakan konstituen yang memegang peranan penting dalam pengawetan bahan pangan, yakni berpotensi sebagai antibakteri (Luck dan Martin, 1993). Pada konsentrasi tertentu senyawa fenol akan merusak membran sitoplasma sehingga menyebabkan bocornya membran metabolit penting, hal ini akan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan membran metabolit ini akan memungkinkan ion organik nukleotida koenzim dan asam amino merembes keluar sel. Selain itu kerusakan semacam ini akan mencegah masuknya bahan-bahan penting ke dalam sel karena membran sitoplasma yang bertugas mengendalikan bahan-bahan penting dalam sel tidak berfungsi dengan baik. Hal ini akan mengganggu pertumbuhan bakteri, bahkan bisa menyebabkan kematian (Volk dan Wheeler, 1998).

Komponen fenol seperti 2,6-dimethoxyphenol, 2,6-dimethoxy 4-methylphenol dan 2,6-dimethoxy 4-ethylphenol mempunyai aktifitas bakteri yang tinggi. Komponen fenol

ini akan menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menghambat fase lag, sementara fase eksponensial tidak terpengaruh oleh fenol kecuali pada konsentrasi yang tinggi (Estrada-Munoz *et al.*, 1998). Selain karena asam fenol, dalam asap cair juga terdapat senyawa urotrepin sebagai derivat dari piridin dan senyawa asam piroligin yang diperkirakan ikut berperan dalam penghambatan pertumbuhan bakteri (Girard, 1992).

2.3 Cemaran Mikrobia Pada Produk Perikanan

Aspek mikrobiologi mempunyai peranan yang sangat penting dalam penilaian produk pangan. Secara umum adanya mikrobiologi dalam produk pangan tidak selalu merugikan atau membahayakan. Meskipun demikian, adanya kandungan mikrobiologi dalam produk pangan haruslah dihadapi dengan waspada dan perlu disadari arti pentingnya penanganan produk selanjutnya, agar infeksi penyakit dari bahan pangan dapat dihindari (Soekarto, 1990).

Menurut Afriati (2004), penyakit yang ditularkan melalui makanan akan muncul setelah memakan makanan yang tercemar oleh mikroba patogen. Soekarto (1990) mengemukakan bahwa mikrobiologi pada produk perikanan terdiri dari dua golongan besar yaitu mikrobiologi patogenik dan non patogenik. Mikroba patogenik sangat penting dalam kaitannya dengan mutu produk perikanan. Mikroba patogenik ini dapat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu: mikrobiologi fekal, mikrobiologi yang berasal dari sampah rumah tangga, dan mikrobiologi non fekal. Mikrobiologi yang banyak dijumpai pada produk perikanan dapat mengkontaminasi pangan melalui tiga jalur, yaitu:

1. Kontaminasi mikrobiologi dari air dimana ia tinggal
2. Kontaminasi dari bahan-bahan pembantu selama proses pengolahan produk perikanan.

3. Kontaminasi dari manusia yang mengolah produk perikanan tersebut.

Sampah rumah tangga dapat menjadi sumber pencemaran mikrobial pada produk perikanan (Connell, 1995). Produk-produk perairan seperti ikan, udang, kerang, dan sebagainya mempunyai potensi besar sebagai penyebab keracunan makanan. Meskipun makanan-makanan hasil laut langsung dikonsumsi setelah ditangkap, tetapi kontaminasi oleh bakteri patogen dapat terjadi selama penangkapan, penanganan, dan pengolahan. Beberapa cemaran mikrobial yang patut dicurigai antara lain: *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Staphylococcus*, *Proteus sp.*, dan *E. coli* (Fardiaz, 1992).

2.3 Zat Antibakteri

Kehadiran bahan antimikroba pada permulaan abad ke-20 memberikan andil dalam memperpanjang dan memperbaiki kualitas manusia. Obat antimikroba banyak digunakan di Negara berkembang, dimana angka infeksi masih sangat tinggi ditemukan. Obat antimikroba membunuh dan menghambat pertumbuhan mikrobiologi yang membahayakan tanpa merusak sel host (Ryan, 1994).

Sejak 1953, sejumlah besar agen obat kimia telah dikembangkan. Senyawa kimia tersebut pada umumnya dibuat secara sintesis dilaboratorium, sedangkan yang lain dibuat dari hasil sampingan kegiatan metabolisme bakteri atau fungi. Agen obat kimia diberi nama umum antibiotika (Volk dan Wheeler, 1993). Antibiotika adalah bahan-bahan bersumber hayati yang pada kadar rendah sudah menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Sedangkan menurut Firegold dan Baron (1986), antibiotik merupakan substansi atau zat yang diproduksi oleh organisme yang dapat menekan pertumbuhan mikroorganisme lain yang pada akhirnya membunuh mikroorganisme tersebut. Jadi,

antibiotika merupakan salah satu jenis antimikrobia. Asap cair merupakan suatu jenis antimikrobia.

Pertumbuhan mikroorganisme dapat dikendalikan melalui proses fisik dan kimia. Pengendalian dapat berupa pembasmian dan penghambatan populasi mikroorganisme. Menurut Pelezar dan Chan (1986), Zat antimikrobia adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan dan metabolisme melalui mekanisme penghambatan pertumbuhan mikroorganisme. Zat antimikrobia terdiri dari antijamur dan antibakterial. Menurut Boyd dan Marr, 1980 dalam Pelezar, 1988, Beberapa hal yang perlu dipertimbangkan dalam memilih zat antimikrobia kimiawi adalah:

1. Jenis zat dan mikroorganisme

Zat antibakterial yang akan digunakan harus sesuai dengan jenis mikroorganismenya karena memiliki kerentanan yang berbeda-beda.

2. Konsentrasi dan intensitas zat antibakterial

Semakin tinggi konsentrasi zat antibakterial yang digunakan, maka semakin tinggi pula daya kemampuannya dalam mengendalikan mikroorganisme.

3. Suhu

Suhu yang optimal dapat menaikkan efektifitas zat antibakterial.

4. Bahan organik

Bahan organik asing dapat menurunkan efektifitas zat antibakterial dengan cara menginaktifkan bahan tersebut atau melindungi mikroorganisme. Akumulasi bahan organik terjadi pada permukaan sel mikroorganisme sehingga menjadi pelindung yang mengganggu kontak antara zat antibakterial dan mikroorganisme.

Menurut Schlegel (1994), Kriteria obat kimia yang digunakan sebagai kemoterapi adalah sebagai berikut:

1. Toksisitas obat terhadap sel inang harus rendah sementara memusnahkan atau menghambat agen penyakit. Dengan kata lain, obat itu harus menunjukkan toksisitas selektif bagi agen penyakit.
2. Inang harus tidak menjadi alergi (sangat peka) terhadap obat.
3. Organisme tidak boleh dengan mudah menjadi resisten terhadap obat yang digunakan.
4. Obat itu harus mencapai tempat infeksi.

Menurut Pelezar dan Chan (1986), Mekanisme kerja antimikroba dapat ditinjau menurut struktur serta komposisi sel bakteri sehingga akan terjadi kerusakan dari salah satu situs yang dapat mengawali terjadinya perubahan-perubahan yang menuju pada matinya sel. Perubahan-perubahan tersebut antara lain:

1. Kerusakan pada dinding sel

Dinding sel merupakan penutup lindung bagi sel dan juga ikut berpartisipasi dalam proses fisiologi tertentu. Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk.

2. Perubahan permeabilitas sel

Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu didalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain. Membran memelihara integritas komponen-komponen selular. Kerusakan pada membran ini mengakibatkan peningkatan permeabilitas dan terjadi kebocoran sel yang

diikuti dengan keluarnya materi seluler sehingga dapat menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel.

3. Perubahan molekul protein atau asam nukleat

Hidupnya suatu sel bergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiah. Suatu kondisi atau substansi yang mengubah keadaan ini, yaitu mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi yang pekat juga dapat mengakibatkan koagulasi irreversible komponen-komponen selular sel ini.

4. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

DNA, RNA dan protein memegang peranan penting didalam proses kehidupan normal sel. Hal itu berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel.

Sedangkan menurut Jawetz., *et al* (1986), penghambatan yang dilakukan zat antimikroba meliputi 4 tahapan yaitu:

- Penghambatan sintesis dinding sel
- Penghambatan fungsi selaput sel
- Penghambatan sintesis protein (yaitu, hambatan translasi dan transkripsi bahan genetik)
- Penghambatan sintesis asam nukleat

2.4 Bakteri

2.4.1 *Salmonella thyposa*

Salmonella adalah suatu genus enterobakteria, bakteri gram negatif berbentuk tongkat yang menyebabkan penyakit paratifus, tifus dan penyakit foodborne. Spesies-spesies *Salmonella* bisa bergerak bebas dan menghasilkan hydrogen sulfide. *Salmonella* ini di beri nama oleh Daniel Edward salmon, ahli patologi Amerika Serikat, meskipun sebenarnya rekannya Theobald smith yang pertama kali menemukan bakteri ini pada tahun 1885 pada tubuh babi (Johnson *et al.*, 1994).

Klasifikasi Mikroba:

Kingdom : Procaryotae

Divisio : Protophyta

Class : Schyzomycetes

Ordo : Enterobacteriales

Familia : Enterobacteriaceae

Genus : Salmonella

Spesies : *Salmonella thyposa* (Jawetz, dkk. 1996).

Kuman berbentuk batang, tidak berspora, pada pewarnaan gram bersifat gram negatif, ukuran $0,6-0,7 \mu\text{m} \times 2,0-3,0 \mu\text{m}$, besar koloni rata-rata $2-4 \mu\text{m}$, mempunyai flagel peritrikih (Tim Mikrobiologi FKUI, 1994). *Salmonella* merupakan bakteri gram negatif, tidak membentuk spora basil. *Salmonella* tumbuh dengan cepat pada kebanyakan media tapi tidak dapat memfermentasi laktosa, sukrosa, atau salisin; Mereka dari asam dan gas dari glukosa, maltose, manitol dan dextrin. *Salmonella* resisten pada pendinginan dan

pada bahan kimia tertentu, seperti brillian hijau, sodium tetrathionat, dan sodium deoksikholat.

Kuman berbentuk batang, tidak berspora dan tidak bersimpai tetapi mempunyai flagel feritrik (fimbriae), pada pewarnaan gram bersifat negative, ukuran 2-4 mikrometer \times 0.5 - 0.8 mikrometer dan bergerak, pada biakan agar darah koloninya besar bergaris tengah 2 sampai 3 milimeter, bulat, agak cembung, jernih, licin dan tidak menyebabkan hemolisis (Gupte, 1990).

Bakteri tumbuh pada suasana aerob dan fakultatif anaerob, pada suhu 15 - 41°C (Suhu pertumbuhan optimum 37,5°C) dan pH pertumbuhan 6-8. Pada Umumnya isolat kuman *Salmonella* dikenal dengan sifat-sifat; gerak positif, reaksi fermentasi terhadap manitol dan sorbitol positif dan memberikan hasil negatif pada reaksi indol, DNase, fenilalanin deaminase, Urease, Voges Proskauer, reaksi fermentasi terhadap sukrose, laktose, adonitol serta tidak tumbuh dalam larutan KCN (Gupte, 1990). Sedangkan menurut Supardi dan Sukanto (1999), Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu antara 5-47°C, dengan suhu optimum 35-37°C. Beberapa sel dapat tetap hidup selama penyimpanan beku. Disamping itu, *Salmonella thyposa* dapat tumbuh pada pH 4,1 – 9,0, dengan pH optimum 6,5 – 7,5. Nilai pH minimum bervariasi tergantung kepada serotip, suhu inkubasi, komposisi media, aw dan jumlah sel. Pada pH di bawah 4,0 dan di atas 9,0 *Salmonella thyposa* akan mati secara perlahan.

Bakteri ini mati pada suhu 56°C juga pada keadaan kering. Dalam air bisa bertahan selama 4 minggu. Hidup subur pada garam yang mengandung empedu, tahan terhadap zat warna hijau brillian dan senyawa Natrium tetrathionat, dan Natrium deoksikholat. Senyawa-senyawa ini menghambat pertumbuhan kuman koliform sehingga senyawa-

senyawa tersebut dapat digunakan di dalam media untuk isolasi kuman *Salmonella* dari tinja (Gupte, 1990).

Demam tifoid merupakan suatu penyakit infeksi sistemik yang disebabkan oleh *Salmonella typhosa* yang masih dijumpai secara luas di berbagai negara berkembang yang terutama terletak di daerah tropis dan subtropis. Penyakit ini juga merupakan masalah kesehatan masyarakat yang penting karena penyebarannya berkaitan erat dengan urbanisasi, kepadatan penduduk, kesehatan lingkungan, sumber air dan sanitasi yang buruk serta standar higiene industri pengolahan makanan yang masih rendah (Pawitro UE, Noorvitry M, Darmowandowo W, 1990 dalam Soegijanto 2002).

Penyebab utama dari penyakit ini adalah kuman *Salmonella typhosa* atau *Salmonella typhi*, A, B, dan C. Kuman ini banyak terdapat di kotoran, tinja manusia, dan makanan atau minuman yang terkena kuman yang di bawa oleh lalat. Sebenarnya sumber utama dari penyakit ini adalah lingkungan yang kotor dan tidak sehat. Tidak seperti virus yang dapat beterbangan di udara, bakteri ini hidup di sanitasi yang buruk seperti lingkungan kumuh, makanan, dan minuman yang tidak higienis. "Dia masuk ke dalam tubuh melalui mulut, lalu menyerang tubuh, terutama saluran cerna (Sudarto, 1996).



Gambar 1. *Salmonella typhosa*
<http://www.google.com>

2.4.2 *Morganella morganii*

Organisme *Proteus* merupakan gram negatif, motil, basil aerobik. Banyak spesies hidup bebas di air, tanah, dan limbah. Anggota dari genus *Proteus* biasanya terdapat pada manusia, hewan dan lingkungan dan didapatkan dari limbah, tanah, sayuran dan material lainnya. Merupakan organisme gram negatif, bersifat motil, tidak memiliki kapsul, pleomorphic dan basillus koliform (Glynn, 1972).

Morganella morganii adalah salah satu spesies dari genus *proteus*. *P. morganella* merupakan penyebab diare pada anak. *Proteus* tidak dapat memfermentasi laktosa, cepat mencairkan gelatin, memisahkan urea untuk membebaskan ammonia, dan cenderung membentuk 'swarm' *spreading* yang berlebihan dengan cepat pada media padat. *Morganella morganii* merupakan patogen nosokomial, urea positif (Jawetz *et al.*, 2001). *Morganella morganii* merupakan salah satu bakteri penyebab dekarboksilasi dari asam amino histidin menjadi histamin yang menimbulkan keracunan histamin pada manusia, penelitian yang dilakukan oleh Middlebrooks., *et al* (1998), bahwa makarel yang diinkubasi pada suhu 0°C, 15°C dan 30°C terjadi dekarboksilasi pada jaringan otot makarel, ditemukan 14 jenis bakteri salah satunya adalah *Morganella morganii*.

Keracunan makanan akibat mengkonsumsi produk perikanan sering terjadi, sehingga perlu ditangani dengan serius karena berbahaya bagi konsumen. Pada umumnya keracunan makanan akibat mengkonsumsi ikan disebabkan oleh toksin yang terdapat pada beberapa jenis ikan, yaitu : ciguatoxin, scombrotxin dan tetradotoxin. Keracunan scombrotxin disebabkan karena mengkonsumsi ikan dari golongan Scombroidea seperti: tuna, cakalang, tongkol, marlin dan mackerel. Senyawa pada ikan Scombroidea yang dapat menyebabkan keracunan adalah histamin yang merupakan hasil perombakan asam

amino bebas histidin oleh enzim histidin dekarboksilase yang dimiliki oleh bakteri pembentuk histamin *Morganella morganii*. Pada ikan jenis Scombroidea kandungan daging merahnya lebih tinggi dari pada jenis ikan lainnya dan pada daging merah tersebut terdapat kandungan asam amino histidin yang lebih tinggi daripada bagian daging putihnya. Keracunan histamin (intoksikasi kimiawi) terjadi dalam beberapa menit sampai beberapa jam setelah mengkonsumsi ikan yang mengandung histamin tinggi. Intoksikasi histamin tersebut terjadi dengan gejala seperti : kemerahan di sekitar leher dan wajah, badan terasa panas dan gatal-gatal. Gejala penderitaan yang dialami konsumen biasanya selama beberapa jam, tetapi pada beberapa kasus gejala tersebut dapat sampai beberapa hari (Suryati, dkk, 2003).

Meskipun enzim pemecah karboksil dapat berasal dari daging tubuh ikan sendiri, sebagian besar enzim pemecah tersebut dapat dihasilkan oleh mikroba yang terdapat dalam saluran pencernaan ikan serta mikroba lain yang mengkontaminasi ikan dari luar (Winarno, 1993).

Histamin adalah senyawa yang terdapat pada daging ikan dari famili *scombroidae*, subfamili *scombroidae*, atau ikan lain yang telah membusuk yang di dalam dagingnya terdapat kadar histidin yang tinggi. Histamin dalam daging diproduksi oleh hasil karya enzim yang menyebabkan pemecahan histidin yaitu enzim *histidin dekarboksilase*. Melalui proses dekarboksilasi (pemotongan gugus karboksil) dihasilkan histamin. Satuan Kadar histamin dalam daging ikan dinyatakan dalam mg/g; mg% atau ppm (mg/1000 g) (Hadiwiyoto, 1993).

“Histidin bebas” yang terdapat dalam daging ikan erat sekali hubungannya dengan terbentuknya histamin dalam daging. Semua daging yang berwarna merah tinggi

kandungan histidin bebasnya. Ikan-ikan berdagang putih rendah kandungan histidin bebasnya dan ketika busuk tidak menghasilkan histamin sampai 10 mg% setelah dibiarkan 48 jam pada suhu 25°C. Kadar histamin ikan dapat dipakai sebagai indikator tingkat kerusakan produk perikanan. Apabila kadar histamin lebih dari 15 mg%, sudah mulai terbentuk kerusakan, kadar 50mg% atau lebih sudah berbahaya untuk kesehatan, dan kadar 100mg% atau lebih sudah bersifat racun pada manusia (SNI 01-2360, 1991); sedangkan untuk kadar histamin dari produk perikanan yang masih aman untuk dikonsumsi adalah kurang dari 10 mg% (Suryati, dkk, 2003).



Gambar 2. *Morganella morganii*
<http://www.google.com>

2.5 Metode Uji Antibakteri

2.5.1 Metode Sumur (*Well Diffusion*)

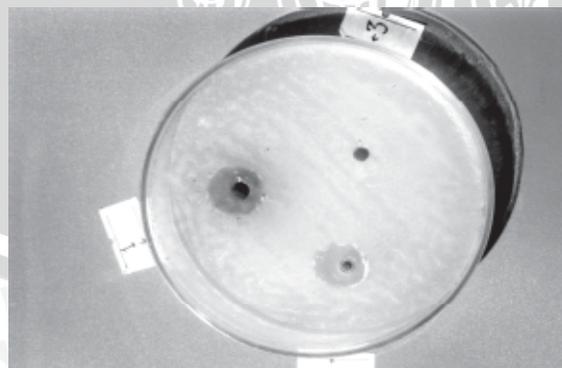
Kerentanan suatu mikroorganisme terhadap antibiotik dan zat kemoterapeutik antara lain dapat ditentukan dengan dua metode yaitu metode dilusi (dengan menggunakan media cair) dan metode difusi cakram.

Pada penelitian uji daya hambat asap cair terhadap bakteri *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* ini menggunakan metode difusi yaitu menggunakan metode sumur (*well diffusion*). *Well diffusion* adalah modifikasi dari metode lempeng, dimana cairan supernatan dan gas adalah salah satu faktor penghambat dalam proses perubahan aliquot

dalam sumur (lubang). Proses ini terjadi dalam media agar dengan menggunakan suatu strain sebagai indikator. Terjadi zona penghambatan yang menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan merupakan hasil dari uji strain atau uji cairan supernatant dan gas. Dua metode agar tersebut merupakan bentuk dasar dari metode agar untuk metodologi pengujian lempeng agar, dan penggabungan dua metode tersebut telah mengalami perkembangan (Toba *et al.*, 1991).

Metode ini merupakan metode yang sering digunakan untuk pengujian antimikrobal. Metode ini lebih sederhana, lebih mudah dan cepat teramati, sehingga metode ini menjadi ideal bagi para petugas laboratorium yang sibuk (Bailey and Scoot, 1978).

Pada metode sumur ini, sampel bakteri uji disiapkan untuk menyamakan turbiditas standar dan dibiarkan selama beberapa menit pada temperatur ruang. Kemudian lubang dibuat pada tempat inokulasi dengan menggunakan garpu steril dan dibiarkan selama 30 menit agar berinkubasi (Vaidya, 2005). Contoh zona hambat zat antibakteri yang terbentuk dengan menggunakan metode sumur agar dapat dilihat pada Gambar di bawah ini.



Gambar 3. Metode Sumur (*well diffusion*)
<http://www.google.com>

Sensitivitas klinik dari bakteri kemudian ditentukan dari tabel klasifikasi menurut Greenwood (1995). Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada

Tabel 3.

Tabel 3. Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri

Diameter Zona Terang (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri
>20	Kuat
16-20	Sedang
10-15	Lemah
... <	Tidak Ada

Sumber: (Greenwood, 1995)

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi ukuran zona penghambatan dan harus dikontrol adalah:

a. Konsentrasi bakteri pada permukaan medium

Semakin tinggi konsentrasi bakteri maka zona penghambatan akan semakin kecil.

b. Kedalaman medium pada cawan petri.

Semakin tebal medium pada cawan petri maka zona penghambatan akan semakin kecil.

c. Nilai pH dari medium

Beberapa antibiotika bekerja dengan baik pada kondisi asam dan beberapa basa kondisi alkali/basa.

d. Kondisi aerob/anaerob

Beberapa antibakterial kerja terbaiknya pada kondisi aerob dan yang lainnya pada kondisi aerob.

2.5.2 Metode Pengenceran Tabung

Uji pengenceran tabung dianggap paling akurat untuk mengetahui kemampuan antibiotik terhadap mikroorganisme. Pada metode ini konsentrasi antibiotik dibuat secara menurun melalui pengenceran serial, kemudian bakteri uji ditumbuhkan pada media cair yang telah diberi antibiotik dan dilihat tingkat pertumbuhannya (Bailay dan Scoot, 1978) dalam Anonymous 2001).

Beberapa antibakteri tidak hanya menghambat pertumbuhan bakteri tetapi juga membunuh. Bahan antibakteri bersifat menghambat pada konsentrasi kecil, namun dalam konsentrasi yang tinggi dapat mematikan mikroorganisme. Berdasarkan hal inilah perlu diketahui konsentrasi minimal yang menghambat pertumbuhan bakteri yang sering disebut *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) atau Kadar Hambat Minimal (KHM), disamping itu juga perlu diketahui konsentrasi minimal yang dapat membunuh bakteri yang disebut *Minimal Killing Concentration* (MKC) atau Kadar Bunuh Minimal (KBM).

Konsentrasi minimum penghambatan atau lebih dikenal dengan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) adalah konsentrasi terendah dari antibiotika atau antibakterial yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri tertentu. Nilai MIC adalah spesifik untuk tiap-tiap kombinasi dari antibiotika dan bakteri. (Greenwood, 1995) MIC dari sebuah antibiotika terhadap bakteri digunakan untuk mengetahui sensitivitas dari bakteri terhadap antibiotika. Nilai MIC berlawanan dengan sensitivitas bakteri yang diuji. Semakin rendah nilai MIC dari sebuah antibiotika, sensitivitas dari bakteri akan semakin besar. MIC dari sebuah antibiotika terhadap spesies bakteri adalah rata-rata MIC terhadap seluruh strain dari spesies tersebut. Strain dari beberapa spesies bakteri adalah sangat berbeda dalam hal sensitivitasnya.

3. MATERI DAN METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain asap cair yang berasal dari Fakultas MIPA Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Bakteri uji meliputi *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii*. *Salmonella thyposa* di dapat dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya sedangkan *Morganella morganii* yang didapat dari Laboratorium Pusat Antar Universitas Pangan-Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Bahan yang digunakan sebagai media pertumbuhan adalah *Trypton Soya Broth* (TSB), sedangkan media uji yang digunakan adalah *Salmonella-Shigella Agar* (SSA), *Nutrient Broth (difco)* dan *Trypton Soya Agar* (TSA). Bahan-bahan lain yang digunakan antara lain aquades dan alkohol 90%.

3.1.2 Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, inkubator merk Heraeus, neraca analitik merk And-610i, tabung reaksi, erlenmeyer 100 ml dan 400 ml, cawan petri, pipet 1 ml, pipet volume 5 ml dan 10 ml, laminar vortex, jarum ose dan lain-lain.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif. Metode deskriptif pada dasarnya memusatkan perhatian pada pemecahan masalah yang ada

sekarang, kemudian data dikumpulkan dan disusun, dijelaskan dan dianalisa (Surakhmad, 1989). Tujuan metode deskriptif menurut Nazir (1988) adalah untuk membuat gambaran atau deskripsi secara sistematis, aktual dan akurat mengenai fakta-fakta, sifat-sifat serta hubungan antara variabel yang diselidiki. Sedangkan menurut Surakhmad (1989), Apabila dilihat dari kegunaannya, metode deskriptif dapat digunakan untuk berbagai tujuan khusus, penelitian dengan metode deskriptif ini telah banyak membantu menemukan jalan baru terutama dalam penelitian yang bersifat longitudinal, genetik dan klinik.

Sedangkan menurut Suryabrata (1988) bahwa tujuan penelitian deskriptif adalah untuk membuat pencandraan secara sistematis, faktual, dan akurat mengenai fakta-fakta dan sifat-sifat populasi daerah tertentu. Secara harfiah, penelitian deskriptif adalah penelitian yang bermaksud untuk membuat pencandraan (deskripsi) mengenai situasi-situasi atau kejadian-kejadian. Dalam arti ini penelitian deskriptif itu adalah akumulasi data dasar dalam cara deskriptif semata-mata adalah tidak adanya kontrol terhadap variabel bebas.

Pada penelitian ini metode deskriptif digunakan untuk mengetahui konsentrasi minimal yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji serta konsentrasi minimal yang dapat membunuh bakteri uji.

Pada pengujian konsentrasi asap cair terhadap besarnya diameter zona hambat digunakan metode kuantitatif melalui eksperimen yakni dengan mengadakan serangkaian percobaan untuk memperoleh suatu hasil atau hubungan kausal antar variabel yang diteliti (Muhammad, 1992).

3.2.2 Variabel

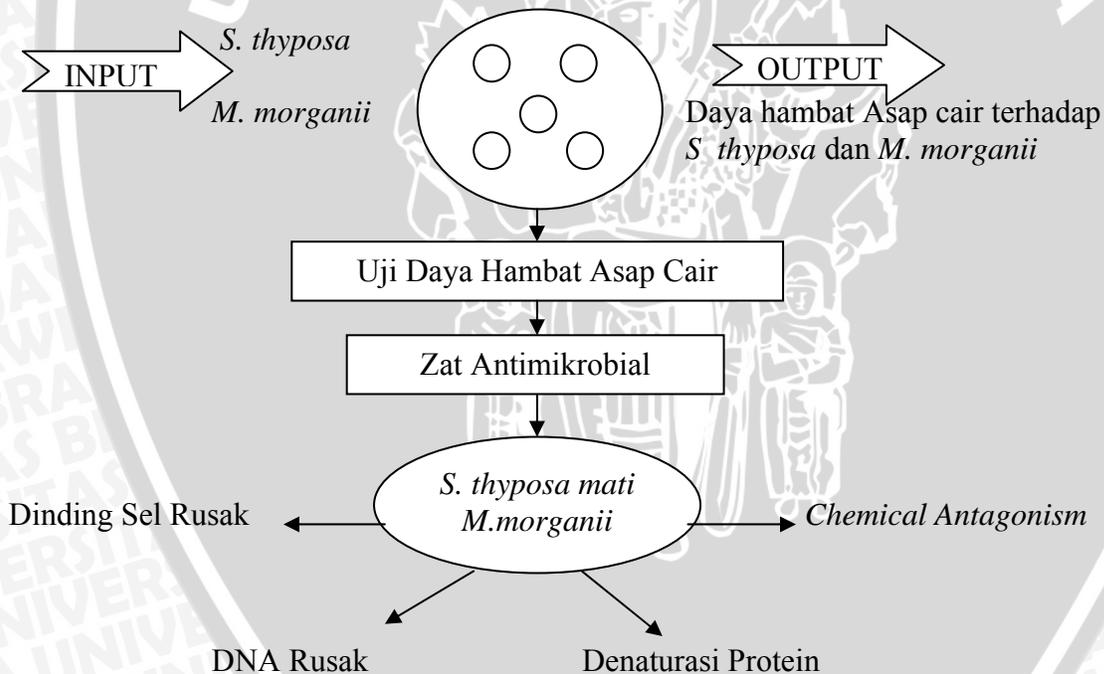
Variabel penelitian merupakan segala sesuatu yang akan menjadi objek penelitian. Variabel ini akan dibedakan menjadi variabel bebas dan variabel terikat, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang menjadi pusat percobaan (Suryabrata, 1999).

Pada pengujian antimikroba pada asap cair terhadap penghambatan bakteri terdapat 2 variabel yang digunakan, yaitu:

1. Variabel bebas, yakni perbedaan konsentrasi asap cair yang digunakan.
2. Variabel terikat, yakni besarnya diameter zona hambat.

3.3 Kerangka Konsep dan Prosedur Penelitian

3.3.1 Kerangka Konsep



Dari kerangka konsep diatas bisa dijabarkan bahwa input dilakukan dengan menumbuhkan *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* masing-masing dalam media selektif. Kemudian pada cawan petri yang berisi bakteri uji dan media yang sudah padat dilubangi dengan menggunakan jarum ose steril yaitu dibuat sumur sebesar 5 mm.

Dalam sumur ditambahkan asap cair dengan konsentrasi 0%, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Asap cair ini akan menghasilkan daya hambat terhadap *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* yang diketahui dengan uji hambat asap cair yaitu dengan menginkubasi cawan petri tadi pada suhu dan waktu optimum bagi pertumbuhan bakteri uji tersebut yaitu 37°C selama 24 jam untuk *Salmonella thyposa* dan 30°C selama 24 jam untuk *Morganella morganii*. Pada asap cair terdapat zat antimikroba yang akan menghambat pertumbuhan bahkan membunuh bakteri uji. Hal ini dibuktikan dengan adanya zona terang atau bening disekitar sumur. Bakteri uji yaitu *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* akan terhambat pertumbuhannya bahkan dibunuh karena bakteri uji mengalami dinding sel rusak, *chemical antagonism*, DNA rusak atau karena denaturasi protein.

3.3.2 Prosedur penelitian

Penelitian dilakukan dalam dua tahap yaitu:

1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan ini dilakukan untuk menentukan perlakuan terbaik (Konsentrasi terbaik yang dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii*). Tahapan dalam penelitian pendahuluan ini meliputi optimasi pertumbuhan bakteri berdasarkan penelitian Mahsun (2000), pengujian daya antibakteri asap cair dilakukan menggunakan metode sumur (*well diffusion*) menurut Wolf and Gibbons (1996). Konsentrasi asap cair yang digunakan yaitu 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%. Penelitian ini dilakukan dengan presisi sebanyak 3x.

Hasil penelitian pendahuluan ini disajikan pada Tabel 4 dan Tabel 5.

Tabel 4. Diameter zona hambat *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* dengan metode sumur (*well diffusion*) pada penelitian pendahuluan

Perlakuan konsentrasi asap cair (%)	Rerata diameter zona hambat (mm) <i>Salmonella thyposa</i>	Rerata diameter zona hambat (mm) <i>Morganella morganii</i>
A (0%) (kontrol +)	0	0
B (10%)	1.79	3.8
C (20%)	9.16	9.9
D (30%)	9.5	9.03
E (40%)	10.7	10.0
F (50%)	11.6	12.1
G (60%)	14.9	13.26
H (70%)	15.9	15.9
I (80%)	18.8	18.1
J (90%)	18.73	19.9
K (100%) (Kontrol -)	20.1	22.7



Tabel 5. Data pengujian kadar hambat minimal pada penelitian pendahuluan

Konsentrasi Asap Cair (%)	Ulangan	Pertumbuhan	
		<i>Salmonella thyposa</i>	<i>Morganella morganii</i>
45	1	-	-
	2	-	-
	3	-	-
22,5	1	+	-
	2	+	-
	3	-	-
11,25	1	+	-
	2	++	++
	3	+	+
5,625	1	+	+
	2	++	+
	3	+	+
2,8125	1	++	+
	2	+	+
	3	++	+
1,40625	1	+	++
	2	++	++
	3	++	+
0,703125	1	++	+
	2	++	++
	3	++	++
0,3515	1	++	++
	2	++	++
	3	++	++
0	1	++	++
	2	++	++
	3	++	++

Ket:

- : Jernih (tidak ada pertumbuhan)
- + : Agak keruh (ada sedikit pertumbuhan)
- ++ : Keruh (Pertumbuhan banyak)

Tabel 6. Data pengujian kadar bunuh minimal pada penelitian pendahuluan

Konsentrasi Asap Cair (%)	Ulangan	Jumlah koloni	
		<i>Salmonella thyposa</i>	<i>Morganella morganii</i>
45	1	11	2
	2	9	5
	3	7	7
22,5	1		
	2		
	3		
11,25	1		
	2		
	3		
5,625	1		
	2		
	3		

Keterangan: - tidak ada pertumbuhan koloni

Berdasarkan Tabel 4, nilai diameter zona hambat *Salmonella thyposa* tertinggi terdapat pada perlakuan I (konsentrasi asap cair 80%) sebesar 18,8 mm (Sedang) dan terkecil diperoleh pada perlakuan A (konsentrasi asap cair 0%) sebesar 0 mm (tidak ada). Sedangkan nilai diameter zona hambat *Morganella morganii* tertinggi terdapat pada perlakuan I (konsentrasi asap cair 90%) sebesar 19,9 mm (Sedang) dan terkecil diperoleh pada perlakuan A (konsentrasi asap cair 0%) sebesar 0 mm (tidak ada). Kenaikan diameter zona hambat terjadi karena adanya senyawa-senyawa kimia yang terdapat dalam asap cair. Senyawa-senyawa tersebut antara lain fenol dan turunannya beserta asam-asam organik, senyawa ini akan mengganggu pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii*. Dengan konsentrasi yang tinggi maka komponen-komponen kimia seperti fenol dan asam-asam organik yang diserap oleh media agar juga semakin besar sehingga memberikan efek yang semakin besar pula.

Konsentrasi asap cair tempurung kelapa yang baik yang akan diuji dengan metode sumur (*well diffusion*) pada penelitian inti yaitu 0%, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%.

Berdasarkan Tabel 5 diatas, kadar hambat minimal bakteri *Salmonella thyposa* adalah 22,5% sedangkan kadar hambat minimal bakteri *Morganella morganii* adalah 11,25%.

Berdasarkan Tabel 6 diatas, kadar bunuh minimal bakteri *Salmonella thyposa* adalah 90% dan kadar bunuh minimal bakteri *Morganella morganii* 90%. Konsentrasi asap cair yang terbaik yang digunakan pada penelitian inti untuk pengujian ml asap cair yang efektif membunuh masing-masing bakteri uji adalah 80%.

2. Penelitian Inti

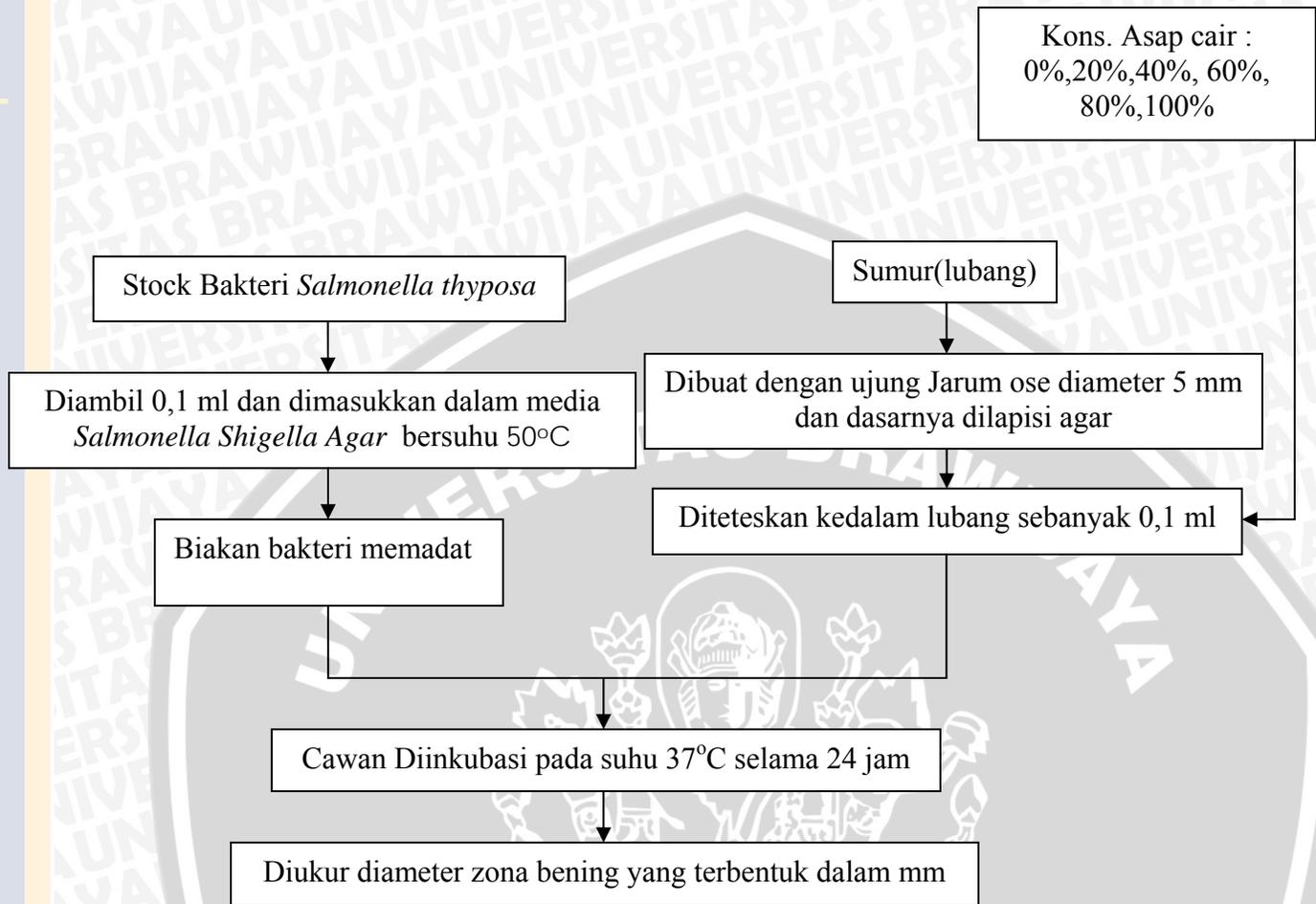
Penelitian inti dilakukan berdasarkan hasil terbaik pada penelitian pendahuluan yaitu dengan konsentrasi asap cair tempurung kelapa yang akan diuji dengan metode sumur (*well diffusion*) dan metode pengenceran tabung (*tube dilution test*) pada penelitian inti yaitu 0%, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Prosedur pengujian antibakterial asap cair dengan metode sumur (*well diffusion*) bakteri uji pada penelitian inti disajikan pada Gambar 4 dan Gambar 5. Sedangkan metode pengenceran secara invitro menggunakan konsentrasi asap cair terbaik 80%,. Parameter uji yang diamati adalah diameter zona hambat (*clear zone*) dan pengamatan visual. Perlakuan konsentrasi asap cair dengan metode sumur (*well diffusion*) pada penelitian inti disajikan pada Tabel 7 sedangkan penentuan ml asap cair yang efektif membunuh asap cair dengan perlakuan konsentrasi asap cair terbaik 80% disajikan pada Tabel 8.

Tabel 7. Perlakuan konsentrasi asap cair pada penelitian inti

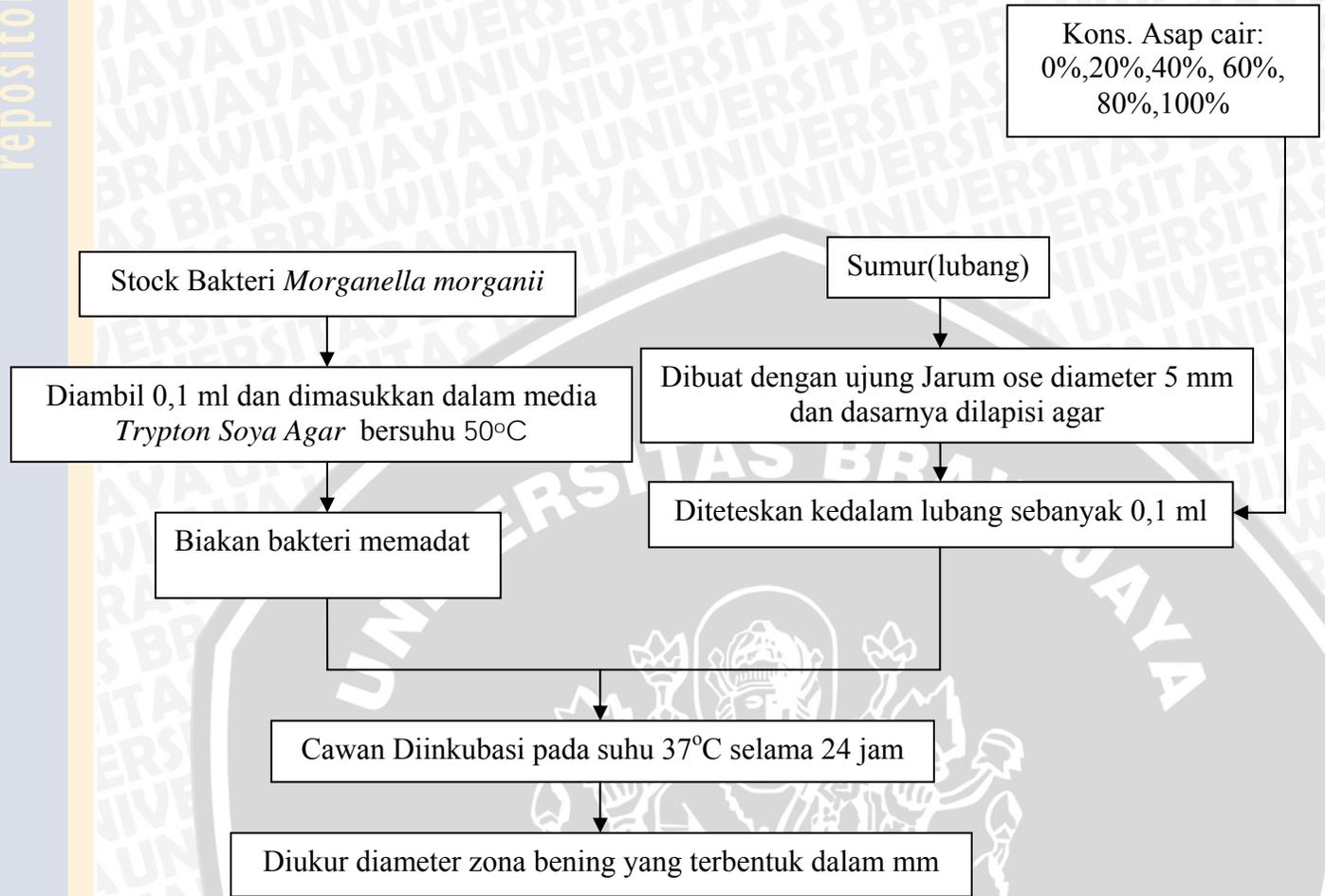
Perlakuan Konsentrasi asap cair	Asap Cair	Aquades	Bakteri
A (0%) (Kontrol +)	0 ml	10 ml	0,1ml
B (20%)	2 ml	8 ml	0,1 ml
C (40%)	4 ml	6 ml	0,1 ml
D (60%)	6 ml	4 ml	0,1ml
E (80%)	8 ml	2 ml	0,1 ml
F (100%) (Kontrol -)	10 ml	0 ml	0,1 ml

Tabel 8. Perlakuan kadar bunuh minimal dengan penambahan konsentrasi asap cair terbaik 80% pada penelitian inti

No. Tabung	Konsentrasi asap cair 80%	Media yang ditambahkan (ml)	Bakteri uji (ml)
0	0	10	1
1.	0,1	9,9	1
2.	0,2	9,8	1
3.	0,3	9,7	1
4.	0,4	9,6	1
5.	0,5	9,5	1
6.	0,6	9,4	1
7.	0,7	9,3	1
8.	0,8	9,2	1
9.	0,9	9,1	1
10.	1,0	9,0	1



Gambar 4. Prosedur pengujian antibakteri asap cair pada *Salmonella typosa* dengan metode sumur (*well diffusion*) menurut Wolf dan Gibbons (1996)



Gambar 5. Prosedur pengujian antibakteri asap cair pada *Morganella morganii* dengan metode sumur (*well diffusion*) menurut Wolf dan Gibbons (1996).

Tahapan-tahapan pada penelitian inti yaitu:

1. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan dilakukan untuk membunuh semua bakteri agar alat dan bahan steril saat akan digunakan. Tabung reaksi, Erlenmeyer, penjepit, jarum ose, cawan petri, spatula, *Trypton Soya Agar*, *Nutrient Broth*, *Trypton Soya Broth* dan *Salmonella-Shigella Agar*, dan seluruh alat dan bahan (kecuali asap cair) yang akan digunakan disterilisasi di dalam autoklaf selama 20 menit dengan mengatur tekanan sebesar 15 dyne/cm³ (1 atm) dan suhu sebesar 121°C setelah sebelumnya dicuci bersih, dikeringkan, dan dibungkus dengan kertas (Capuccino dan Sherman, 2001).

2. Pembuatan Stok Suspensi Bakteri

Pembuatan stok suspensi bakteri dilakukan untuk memperbanyak stok bakteri pathogen yang akan kita uji, dengan cara:

1. Menginokulasikan 1 ose biakan murni ke dalam 50 ml *Trypton Soya Broth*.
2. Diinkubasi pada suhu 37°C untuk pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* dan 37°C untuk pertumbuhan *Morganella morganii*.

3. Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri Uji

Pembuatan media pertumbuhan *Trypton Soya Broth* sebagai media untuk optimasi pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii*. Prosedur pembuatan media pertumbuhan bakteri uji adalah sebagai berikut:

1. *Trypton soya Broth* dibuat masing-masing sebanyak 100 ml
2. Disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit.

4. Pembuatan Stok Variabel Konsentrasi

Pembuatan stok variabel konsentrasi asap cair dibuat untuk digunakan pada pengujian daya antibakteri asap cair dengan metode sumur (*well diffusion*) dan metode pengenceran tabung (*tube dilution test*). Konsentrasi asap cair yang akan divariasikan adalah mulai dari 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% yang kesemuanya berjumlah 6 variabel.

5. Penyediaan Inokulum

Penyediaan inokulum dilakukan dengan cara:

1. Dibuat media *Trypton Soya Agar* (TSA) dan *Salmonella-Shigella Agar* (SSA) masing-masing sebanyak 100 ml.
2. Disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit.
3. Setelah didinginkan, inokulasikan biakan *Salmonella thyposa* pada media *Salmonella-Shigella Agar* (SSA) dan *Morganella morganii* pada media *Trypton soya Agar* (TSA) yang berumur 24 jam.
4. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* dan 37°C untuk pertumbuhan bakteri *Morganella morganii*.

6. Optimasi Pertumbuhan Bakteri Uji

Optimasi pertumbuhan bakteri uji dilakukan untuk mengoptimalkan pertumbuhan bakteri uji pada masing-masing media sehingga diperoleh koloni yang diinginkan.

Gambar optimasi pertumbuhan bakteri uji disajikan pada Lampiran 1 dan 2. Prosedur Optimasi pertumbuhan bakteri uji adalah sebagai berikut:

1. Masing-masing sebanyak satu ose isolat murni dari masing-masing bakteri uji ditumbuhkan pada media cair.
2. *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* masing-masing ditumbuhkan pada 50 ml *Trypton soya Broth* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan 30°C untuk pertumbuhan *Morganella morganii*.
3. Bakteri uji yang telah tumbuh diambil 0,1 ml dan ditumbuhkan pada media *Salmonella-Shigella Agar (SSA)* untuk pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan *Trypton Soya Agar (TSA)* untuk *Morganella morganii*
4. Kemudian bakteri uji tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C yang merupakan suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri uji tersebut
5. Diamati koloni yang terbentuk.

7. Pengujian Antibakteri dengan Metode Sumur (*Well Diffusion*) (Wolf dan Gibbons, 1996)

Metode yang digunakan untuk pengujian daya antibakteri asap cair tempurung kelapa ini adalah dengan menggunakan metode sumur (*well diffusion*) menurut Wolf dan Gibbons (1996).

Prosedur pengujian antibakteri asap cair dengan metode sumur (*well diffusion*) pada Gambar 2 dan Gambar 3 di atas. Asap cair tempurung kelapa yang menghasilkan substansi antibakteri akan melakukan penghambatan terhadap bakteri *Salmonella typhosa* dan *Morganella morganii* yang dibuktikan dengan adanya zona bening di sekitar sumur. Besarnya aktifitas antibakteri tersebut ditentukan dengan cara mengukur diameter zona bening disekitar sumur.

8. Metode Pengenceran Tabung (*Tube Dilution Test*)

Kemampuan penghambatan bakteri *Salmonella typhosa* dan *Morganella morganii* oleh asap cair ditunjukkan dengan nilai konsentrasi minimal penghambatan (MIC = *Minimum Inhibitory Concentration*). Pada pengujian ini digunakan 9 tabung reaksi untuk masing-masing bakteri uji. Untuk pengujian terhadap bakteri *Salmonella typhosa* dan *Morganella morganii* disiapkan tabung reaksi berisi masing-masing 5 ml *Nutrient broth* steril, sebanyak 5 ml asap cair dengan konsentrasi 800 µl/ml dimasukkan pada tabung satu. Dari tabung satu diambil 5 ml dan dimasukkan tabung dua, dari tabung dua diambil 5 ml dan dimasukkan tabung tiga sampai delapan, pada tabung delapan diambil 5 ml dan dibuang, tabung kesembilan digunakan sebagai kontrol sehingga tidak perlu ditambahkan asap cair. Kemudian masing-masing bakteri uji diinokulasikan pada tabung \pm 1 ml. Setelah diinkubasi 24 jam kemudian tanam. Konsentrasi akhir dari asap cair tempurung kelapa pada masing-masing tabung dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 9. Konsentrasi asap cair pada pada penelitian inti

Nomor Tabung	Konsentrasi Asap Cair (%)
1	40
2	20
3	10
4	5
5	2,5
6	1,25
7	0,625
8	0,3125
9	0

Tabung-tabung yang berisi *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, setelah itu diamati kekeruhan pada tabung. Kadar hambat minimal adalah konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung.

Kadar bunuh minimal diketahui dengan cara menanam isi tabung yang tidak menunjukkan pertumbuhan (yang tidak keruh) pada medium agar dan diinkubasi sesuai dengan suhu optimum bagi pertumbuhan masing-masing bakteri uji selama 24 jam. Kadar bunuh minimal adalah konsentrasi minimal dimana pada media agar tidak menunjukkan adanya pertumbuhan koloni. Prosedur pengujian ini dapat dilihat pada lampiran 3. Untuk mengetahui ml asap cair yang efektif menghambat dan membunuh bakteri uji maka dilanjutkan dengan uji pengenceran tabung dengan konsentrasi terbaik yaitu asap cair 80% dan kemudian diukur nilai kekeruhannya dengan spektrofotometri DR 2000 yang diasumsikan kekeruhan sebagai tingkat pertumbuhan bakteri

3.4 Parameter Pengamatan

Uji antibakteri asap cair dilakukan terhadap bakteri pembentuk histamin dan bakteri patogen yang umum pada daging ikan yaitu *Salmonella thyposa* dan *Morganella*

morganii dengan metode sumur (*well diffusion*) dengan mengukur diameter zona hambat dalam mm dan pengenceran secara *in vitro* dengan pengamatan secara visual untuk mengetahui konsentrasi minimal yang dapat menghambat dan membunuh bakteri uji dan mengukur nilai absorbansinya.

3.5 Rancangan Percobaan dan Analisa Data

Menurut Yitnosumarto (1993), Rancangan acak Lengkap (RAL) merupakan rancangan yang sederhana dan umumnya dipergunakan untuk percobaan-percobaan dalam laboratorium, rumah kaca, dan percobaan-percobaan terkendali lainnya. Persyaratan yang harus dipenuhi dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) adalah perlakuan media, dan lingkungan harus homogen. Disamping itu, penempatan perlakuan ke dalam satuan-satuan percobaan dilakukan secara acak lengkap.

Rancangan yang digunakan dalam pengujian daya hambat asap cair terhadap bakteri ini dengan metode sumur (*well diffusion*) adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 1 faktor yaitu perbedaan konsentrasi asap cair dengan 6 perlakuan dan diulang sebanyak 5 kali. Aquades digunakan sebagai pelarut asap cair. v/v adalah perbandingan asap cair dan pelarut yaitu aquades., keenam perlakuan itu adalah:

- A. Konsentrasi asap cair tempurung kelapa 0% (v/v)
- B. Konsentrasi asap cair tempurung kelapa 20% (v/v)
- C. Konsentrasi asap cair tempurung kelapa 40% (v/v)
- D. Konsentrasi asap cair tempurung kelapa 60% (v/v)
- E. Konsentrasi asap cair tempurung kelapa 80% (v/v)
- F. Konsentrasi asap cair tempurung kelapa 100% (v/v)

Tabel 10. Model Analisa Rancangan Acak Lengkap (RAL)

Perlakuan (Konsentrasi Asap Cair)	Ulangan					Total	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
A	A1	A2	A3	A4	A5	ΣA	
B	B1	B2	B3	B4	B5	ΣB	
C	C1	C2	C3	C4	C5	ΣC	
D	D1	D2	D3	D4	D5	ΣD	
E	E1	E2	E3	E4	E5	ΣE	
F	F1	F2	F3	F4	F5	ΣF	
TOTAL							

Untuk menganalisa data hasil penelitian, digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data hasil uji diameter zona hambat (*nonparametric*) dihitung dengan analisis *Kruskall-Wallis*, jika diketahui ada pengaruh maka dilakukan uji lanjut, jika tidak ada pengaruh maka tidak dilakukan uji lanjut. Analisa ragam non parametrik ini dihitung menggunakan program Minitab 13.

Respon hambatan pertumbuhan bakteri uji dievaluasi berdasarkan ada atau tidaknya zona terang/zona bening (*clear zone*). Penilaiannya dibagi atas 4 kriteria, yaitu 1 = tidak ada respon hambatan pertumbuhan; 2 = Respon hambatan pertumbuhan bakteri oleh antimikroba bersifat lemah; 3 = Respon hambatan pertumbuhan bakteri oleh antimikroba bersifat sedang; 4 = Respon hambatan pertumbuhan bakteri oleh antimikroba bersifat kuat.

Data yang diperoleh merupakan hasil pengamatan secara grafik regresi linear dari ke-6 perlakuan berskala ordinal untuk mengetahui bentuk dan keeratan hubungan antara konsentrasi asap cair dan diameter zona hambat yang selanjutnya dianalisis dengan menggunakan statistik non-parametrik. Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan respon hambatan ke-6 perlakuan, dilakukan analisis dengan uji *Kruskal-Wallis*.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Masalah pertama kali timbul dalam sejarah pengasapan pada saat ditemukannya suatu zat yang bersifat karsinogenik di dalam tar batu bara yaitu benzo(a)pyren atau 3,4 benzopyren (Rhee dan Bratzler, 1970). Pada dasarnya prinsip pengasapan adalah mengatur suhu dan kecepatan aliran udara serta kepekatan asap agar produksi fenol dan karbonil seperti yang diinginkan yaitu pembentukan PAH sekecil mungkin. PAH berasal dari asap kayu terutama lignin dan selulosa. Fraksi hidrokarbon dari asap kayu mengandung lebih dari 24 jenis PAH. Walaupun tidak semua jenis PAH tersebut bersifat karsinogenik, Benzopirena (BP), salah satu jenis PAH adalah indikator karsinogenitas (Sikorski, 1988). Senyawa hidrokarbon polisiklik aromatis adalah kelompok senyawa kimia yang struktur dasarnya terdiri atom-atom karbon dan hidrogen yang tersusun dalam bentuk fusi dua atau lebih cincin aromatis (benzene). PAH terutama dihasilkan dari pembakaran tidak sempurna bahan-bahan organik pada temperatur yang sangat tinggi. PAH memiliki lipofilisitas yang tinggi dan dapat terakumulasi hingga mencapai kadar yang membahayakan pada sistem biologis.

Pengasapan tradisional yang menggunakan aerosol banyak mengandung Polisiklis Aromatis Hidrokarbon (PAH). Hasil perikanan segar mengandung sedikit PAH sebagai derivat hasil ikutan dari metabolisme yang larut dalam air. Dalam jumlah besar, senyawa karsinogen akibat perlakuan pengolahan, penanganan atau penyimpanan yang tidak baik.

Senyawa mudah menguap tersebut apabila dikondensasikan akan menghasilkan produk asap cair. Hasil analisa dari beberapa bahan dasar yaitu kadar fenol, karbonil dan total asam sangat bervariasi.

Parameter yang digunakan untuk mengetahui sifat antibakteri asap cair terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* yaitu adanya zona hambatan.

Untuk mengetahui respon hambatan pertumbuhan bakteri yang terjadi pada produk perikanan setelah pemberian asap cair, maka pada penelitian ini digunakan *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* sebagai model. Hal ini disebabkan karena *Salmonella thyposa* merupakan bakteri patogen penyebab diare dan demam thypoid sedangkan *Morganella morganii* merupakan bakteri pembentuk histamin yang menyebabkan keracunan apabila mengkonsumsi makanan hasil perikanan.

4.1 Asap Cair

Asap cair ini merupakan produk dari limbah pengolahan kelapa terpadu, yaitu dengan bahan dasar tempurung kelapa. Asap cair merupakan campuran larutan dari dispersi asap kayu dalam air yang dibuat dengan mengkondensasikan asap cair hasil dari pirolisis. Asap cair hasil pirolisis ini tergantung pada bahan dasar dan suhu pirolisis. Asap cair ini memiliki kemampuan untuk mengawetkan bahan makanan karena adanya senyawa

fenolat, asam dan karbonil. Untuk mengendapkan senyawa tar dapat dilakukan proses pengendapan dan penyaringan (Tranggono dkk ,1977 dalam Mashuri, 2007).

Berdasarkan hasil pengujian terhadap kadar fenol dan pH asap cair didapatkan nilai fenol sebesar 0,42% dan pH 4,3. Fatimah (1998) dalam Lia (2008) menyatakan bahwa golongan – golongan senyawa penyusun asap cair adalah air (11,92%), fenol (0,2–2,9%), asam (2,8–9,5%), karbonil (2,6–4,0%), dan tar (1–7%). Kandungan senyawa fenol dalam asap tergantung pada temperatur pirolisis kayu. Kandungan maksimum senyawa senyawa fenol, karbonil, dan asam dicapai pada temperatur pirolisis 600°C.

4.2 Zona Hambatan

Sifat daya antibakteri asap cair tempurung kelapa pada bakteri *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* dapat dilihat dari besarnya zona hambat yang terbentuk di sekitar sumur. Semakin besar zona bening yang terbentuk bisa dikatakan bahwa daya antibakteri dari asap cair juga semakin besar.

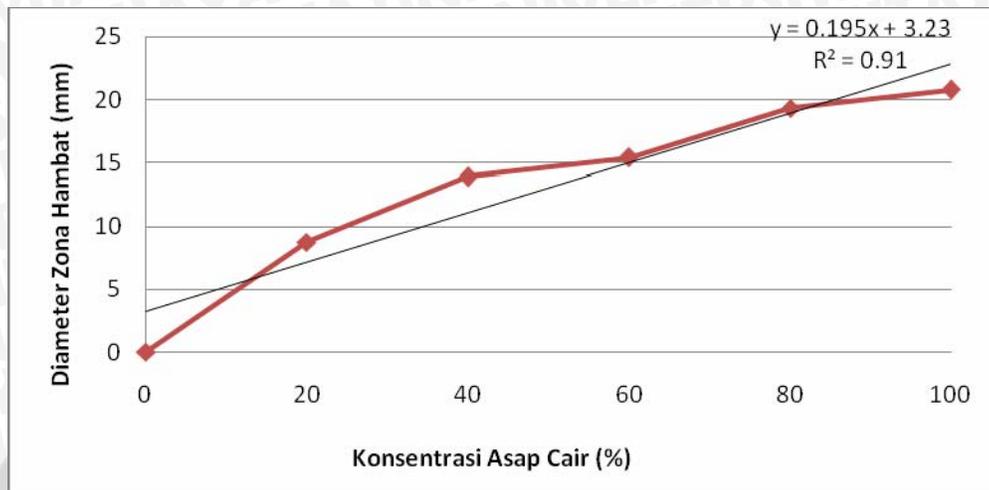
4.2.1 *Salmonella thyposa*

Diameter zona hambat yang memiliki nilai paling tinggi dianggap memiliki sifat daya antibakteri yang terbaik. Uji daya antibakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah diameter zona hambat. Hasil uji rerata diameter zona hambat *Salmonella thyposa* disajikan pada Tabel 11 dibawah ini.

Tabel 11. Rerata Diameter Zona Hambat *Salmonella thyposa*

Perlakuan konsentrasi asap cair	Rerata diameter zona hambat (mm)	notasi
A (0%)	0.00	a
B (20%)	8.76	a
C (40%)	13.94	ab
D (60%)	15.4	ab
E (80%)	19.28	b
F (100%)	20.84	b

Ket: * notasi yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan
* n ulangan 5 x



Gambar 6. Grafik regresi hubungan konsentrasi asap cair terhadap diameter zona hambat *Salmonella thyposa*

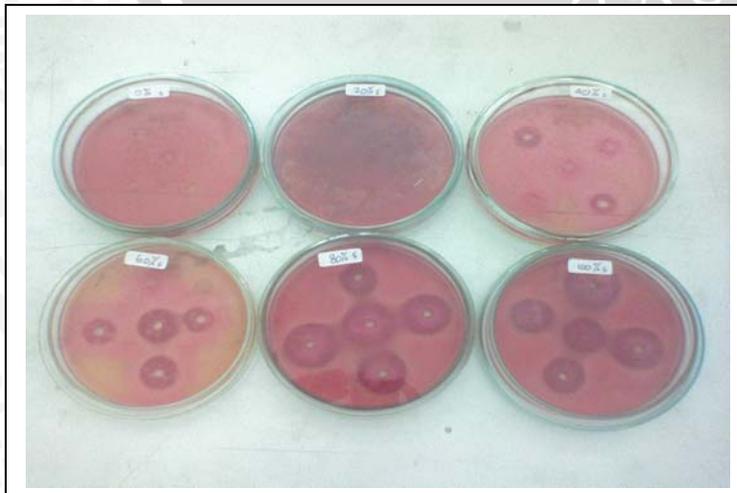
Hubungan antara konsentrasi asap cair dengan diameter zona hambat ditunjukkan dengan regresi $Y = 0,195x + 3,23$ dengan koefisien $R^2 = 0,91$. Hal ini menunjukkan hubungan positif bahwa setiap penambahan konsentrasi asap cair, maka akan meningkatkan diameter zona hambat sebesar 0,195 kali. Koefisien determinasi 0,91 artinya 91% kenaikan diameter zona hambat dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi asap cair.

Zona bening yang terbentuk disekitar sumur (lubang) menunjukkan bahwa pertumbuhan *Salmonella thyposa* terhambat dengan pemberian asap cair. Besarnya zona bening yang terdapat di sekitar sumur (lubang) menunjukkan besarnya sifat antibakteri yang dimiliki oleh asap cair. Pada asap cair, senyawa asam bersama-sama senyawa fenol dan karbonil secara sinergis sebagai antimikroba. Semakin tinggi konsentrasi asap cair yang digunakan akan menimbulkan efek penghambatan yang semakin besar, karena fenol sebagai senyawa antibakteri juga akan meningkat dan senyawa asam juga akan semakin

besar jumlahnya.(Tranggono dkk ,1977 dalam Mashuri, 2007). Jumlah-jumlah asam yang semakin tinggi akan mempengaruhi derajat keasaman sehingga pH juga akan mengalami penurunan seiring dengan tingginya konsentrasi. Hal ini terlihat pada perlakuan E (konsentrasi asap cair 80%) dan perlakuan F (konsentrasi asap cair 100%).

Asap cair diketahui memiliki beberapa efek farmakologis yang penting, antara lain sifat antibakteri baik terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif. Sifat antibakteri dari asap cair ini bukan semata-mata disebabkan oleh karena senyawa tunggal, namun karena efek sinergis dari beberapa senyawa yang terdapat pada asap cair yang bersifat antibakteri yakni: fenol, karbonil dan asam organik. Fenol dan derivat fenol yang terdapat pada asap cair menyebabkan bocornya membran sel bakteri, pada konsentrasi yang tinggi fenol dan turunannya akan mengakibatkan koagulasi protein.

Disamping itu, tingginya asap yang terdapat pada asap cair akan mengganggu pertumbuhan *Salmonella thyposa* karena bakteri ini tidak tahan pada pH yang rendah. Menurut Supardi dan Sukamto (1999), pH yang baik untuk pertumbuhan *Salmonella thyposa* adalah 4,1–9,0, dengan pH optimum 6,5–7,5. Pada pH di bawah 4,0 dan di atas 9,0, *Salmonella thyposa* akan mati secara perlahan. Hasil uji penghambatan ini disajikan pada Gambar 7.

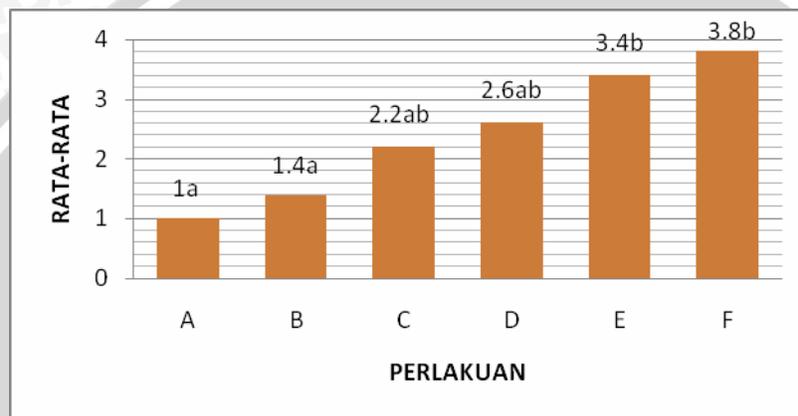


Keterangan:

- A. Konsentrasi asap cair 0%
- B. Konsentrasi asap cair 20%
- C. Konsentrasi asap cair 40%
- D. Konsentrasi asap cair 60%
- E. Konsentrasi asap cair 80%
- F. Konsentrasi asap cair 100%

Gambar 7. Hasil uji penghambatan *Salmonella thyposa*

Dari Gambar hasil uji penghambatan diatas bisa disimpulkan bahwa dari penggunaan asap cair dengan konsentrasi 0%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% diameter zona bening di sekitar sumur semakin besar dengan kenaikan konsentrasi asap cair yang berarti daya hambat asap cair terhadap pertumbuhan *Salmonella thyposa* juga semakin besar.



Gambar 8. Diagram Rata-rata perlakuan konsentrasi asap cair terhadap respon hambatan pertumbuhan *Salmonella thyposa*

Hasil uji *Kruskal - Wallis* menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi asap cair memberikan pengaruh yang nyata terhadap respon hambatan pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* yang ditunjukkan dengan nilai P value < 0.05 . Perhitungan respon hambatan pertumbuhan *Salmonella thyposa* dengan perlakuan konsentrasi asap cair dapat dilihat pada Lampiran 6. Perhitungan respon hambatan pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* terhadap perlakuan konsentrasi asap cair berkisar antara 1.0 (tidak ada) – 3.8 (sedang). Respon hambatan pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* cenderung mengalami kenaikan seiring dengan penambahan konsentrasi asap cair meskipun pada kontrol (A) nilainya tidak ada (lebih rendah dari pada perlakuan B).

Perlakuan kontrol maupun pemberian asap cair menunjukkan bahwa respon hambatan pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* dapat dikatakan mengalami kenaikan, pada perlakuan kontrol tidak ada respon hambatan pertumbuhan *Salmonella thyposa*. Pemilihan aquades sebagai bahan kontrol pada penelitian ini disebabkan karena aquades merupakan bahan yang mempunyai pH yang netral sehingga tidak menimbulkan zona bening di sekitar sumur. Rendahnya respon hambatan pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* pada perlakuan B (konsentrasi asap cair 20%) mungkin berhubungan dengan beberapa faktor antara lain: 1) Karakteristik dari asap cair yang digunakan; 2) Sifat antibakteri dan antirespon dari asap cair; 3) Konsentrasi dari asap cair.

Respon hambatan pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* tertinggi pada perlakuan E (konsentrasi asap cair 80%) dan F (konsentrasi asap cair 100%). Oleh karena asap cair yang digunakan pada penelitian ini mempunyai konsistensi yang kental, maka diduga bahwa setelah pemberian asap cair, konsentrasi larutan ini relatif masih tinggi. Konsentrasi yang masih tinggi ini erat hubungannya dengan kemampuan antibakteri dari fenol maupun asam organik. Hal ini sesuai dengan pendapat Pelezcar dan Chan (1986), bahwa semakin tinggi konsentrasi bahan antibakteri, maka daya antibakterinyapun semakin besar.

Kenaikan respon hambatan pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* ini terjadi karena adanya komponen-komponen kimia yang ada pada asap cair yaitu kerja sinergis dari fenol, karbonil dan asam organik yang bersifat antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella thyposa*. Dari uji *Kruskal - Wallis* tersebut bisa diketahui bahwa respon penghambatan pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* oleh asap cair termasuk bersifat tidak ada dan sedang. Dari uraian diatas, bisa disimpulkan bahwa asap cair

memiliki efek antibakteri yang bersifat tidak ada dan sedang terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa*.

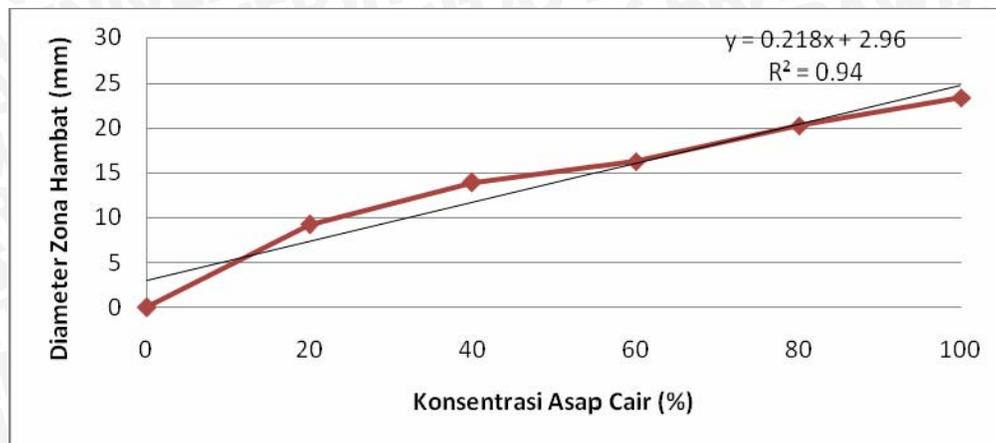
4.2.2 *Morganella morganii*

Pengujian diameter zona hambat *Morganella morganii* dilakukan untuk menentukan tingkat penerimaan perlakuan konsentrasi asap cair terhadap diameter zona hambat berdasarkan uji *different test* menggunakan uji *scoring* dengan nilai 1-4 (Lampiran 8). Diameter zona hambat yang memiliki nilai paling tinggi dianggap memiliki sifat daya antibakteri yang terbaik. Uji daya antibakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah diameter zona hambat. Hasil uji rerata diameter zona hambat *Morganella morganii* disajikan pada Tabel 12.

Tabel 12. Rerata Diameter Zona Hambat *Morganella morganii*

Perlakuan konsentrasi asap cair	Rerata diameter zona hambat (mm)	notasi
A (0%)	0	a
B (20%)	9.224	a
C (40%)	13.888	ab
D (60%)	16.18	ab
E (80%)	20.38	b
F (100%)	23.08	b

Ket: * notasi yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan
* n ulangan 5 x



Gambar 9. Grafik regresi hubungan konsentrasi asap cair terhadap diameter zona hambat *Morganella morganii*

Hubungan antara konsentrasi asap cair dengan diameter zona hambat ditunjukkan dengan regresi $Y = 0,218x + 2,96$ dengan koefisien $R^2 = 94$. Hal ini menunjukkan hubungan positif bahwa setiap penambahan konsentrasi asap cair, maka akan meningkatkan diameter zona hambat sebesar 0,218 kali. Koefisien determinasi 0,94 artinya 94% kenaikan diameter zona hambat dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi asap cair.

Zona bening yang terbentuk disekitar sumur (lubang) menunjukkan bahwa pertumbuhan *Morganella morganii* terhambat dengan pemberian asap cair. Besarnya zona bening yang terdapat di sekitar sumur (lubang) menunjukkan besarnya sifat antibakteri yang dimiliki oleh asap cair. Pada asap cair, senyawa asam bersama-sama senyawa fenol dan karbonil secara sinergis sebagai anti mikroba. Semakin tinggi konsentrasi asap cair yang digunakan akan menimbulkan efek penghambatan yang semakin besar, karena fenol sebagai senyawa antibakteri juga akan meningkat dan senyawa asam juga akan semakin besar jumlahnya (Tranggono dkk, 1977 dalam Mashuri, 2007). Jumlah-jumlah asam yang semakin tinggi akan mempengaruhi derajat

keasaman sehingga pH juga akan mengalami penurunan seiring dengan tingginya konsentrasi. Hal ini terlihat pada perlakuan E (konsentrasi asap cair 80%) dan perlakuan F (konsentrasi asap cair 100%).

Morganella morganii bersifat urease – positif, menyebabkan hidrolisis urea yang cepat dengan pembentukan ammonia dan sedikit membentuk asam (Jawetz et al., 1996). Karena *Morganella morganii* merupakan bakteri yang sedikit menggunakan asam sebagai sumber karbonnya maka zona bening yang terbentuk sebagai akibat pemberian asap cair juga semakin besar dengan semakin meningkatnya konsentrasi asap cair. Hasil uji penghambatan bakteri *Morganella morganii* disajikan pada gambar di bawah ini.

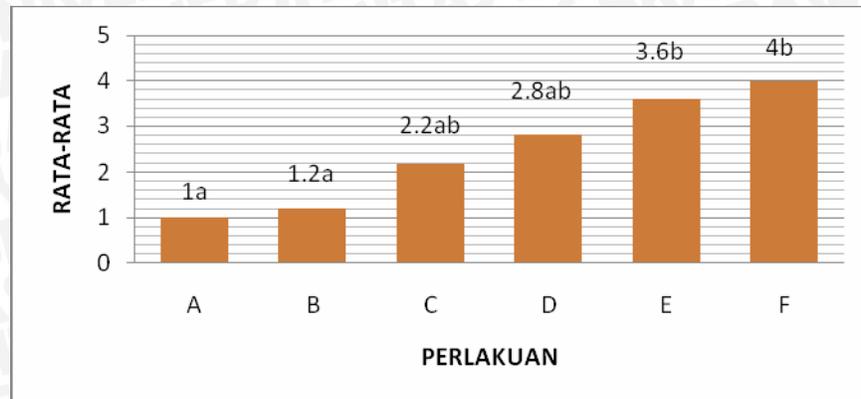


Keterangan:

- A. Konsentrasi asap cair 0%
- B. Konsentrasi asap cair 20%
- C. Konsentrasi asap cair 40%
- D. Konsentrasi asap cair 60%
- E. Konsentrasi asap cair 80%
- F. Konsentrasi asap cair 100%

Gambar 10. Hasil uji penghambatan *Morganella morganii*

Dari Gambar hasil uji penghambatan diatas bisa disimpulkan bahwa dari penggunaan asap cair dengan konsentrasi 0%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% diameter zona bening di sekitar sumur semakin besar dengan kenaikan konsentrasi asap cair yang berarti daya hambat asap cair terhadap pertumbuhan *Salmonella thyposa* juga semakin besar.



Gambar 11. Diagram Rata-rata perlakuan konsentrasi asap cair terhadap respon hambatan pertumbuhan *Morganella morganii*

Hasil uji *Kruskal - Wallis* diatas menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi asap cair memberikan pengaruh yang nyata terhadap respon hambatan pertumbuhan *Morganella moorganii* yaitu dengan nilai P value < 0.05. Perhitungan respon hambatan pertumbuhan bakteri *Morganella morganii* dengan perlakuan konsentrasi asap cair dapat dilihat pada Lampiran 7. Respon hambatan pertumbuhan bakteri *Morganella morganii* terhadap perlakuan asap cair cenderung mengalami kenaikan seiring dengan penambahan konsentrasi asap cair meskipun pada kontrol (A) nilainya lebih rendah dari pada perlakuan B. Zona bening yang ada menunjukkan bahwa *Morganella morganii* terhambat pertumbuhannya dengan pemberian asap cair. Besarnya zona bening menunjukkan besarnya sifat antibakteri yang dimiliki oleh asap cair. Semakin tinggi konsentrasi asap cair akan memberikan efek penghambatan yang semakin tinggi, hal ini terlihat pada perlakuan E (konsentrasi asap cair 80%) dan F (konsentrasi asap cair 100%).

Dari hasil uji *Kruskal - Wallis* tersebut bisa diketahui bahwa respon hambatan pertumbuhan bakteri *Morganella morganii* oleh asap cair termasuk bersifat tidak ada sampai kuat. Komponen asap cair seperti fenol, karbonil dan asam organik secara sinergis bekerja dengan baik sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri

Morganella morganii. Dari uraian diatas, bisa disimpulkan bahwa asap cair sebagai antibakteri yang bersifat tidak ada sampai kuat terhadap penghambatan pertumbuhan *Morganella morganii*.

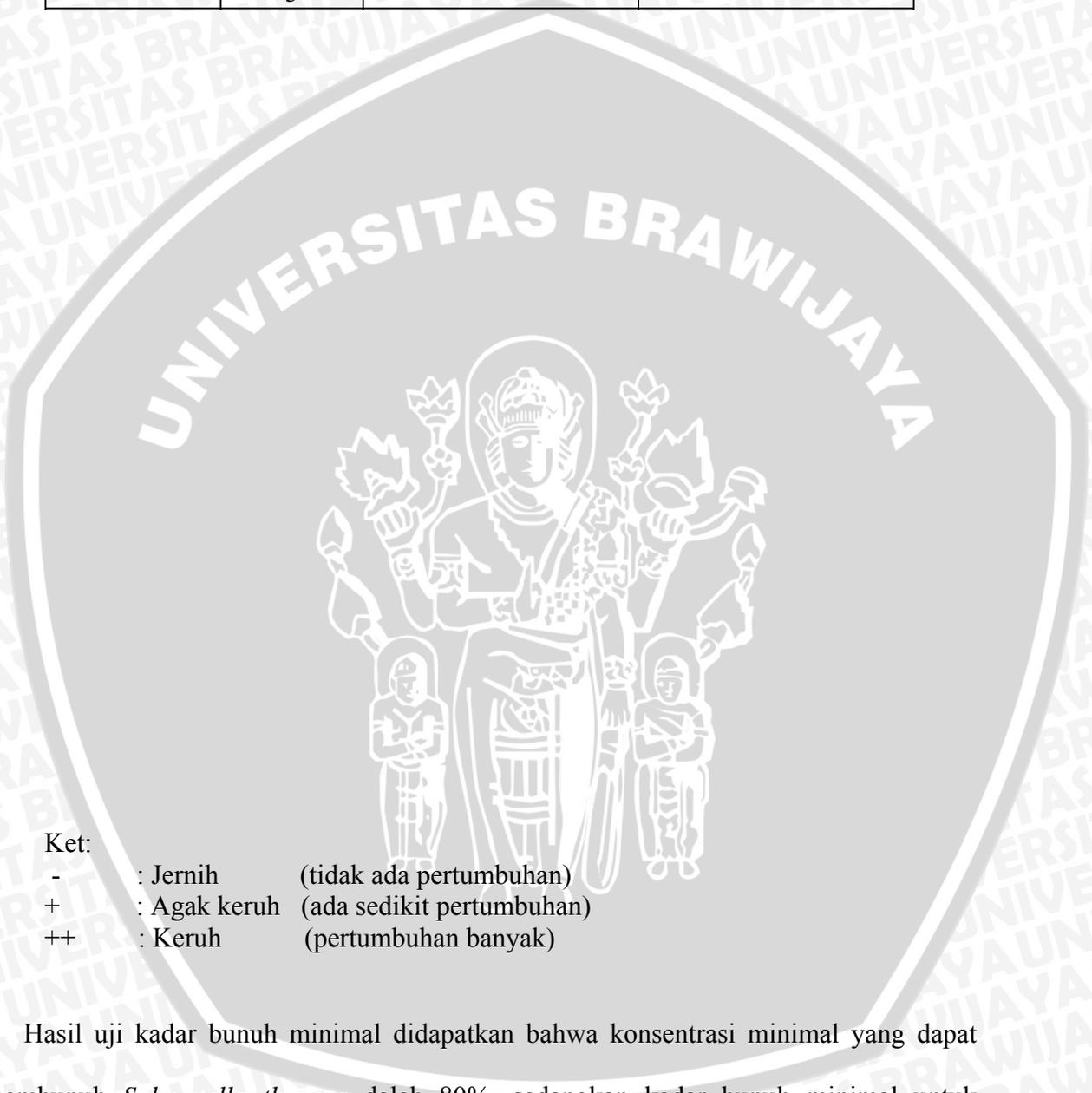
4.3 Penghambatan Minimal

Pengujian konsentrasi minimal yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* dilakukan dengan metode pengenceran tabung. Berdasarkan hasil pengenceran tabung secara serial pada pengujian kadar hambat minimal diketahui bahwa konsentrasi minimal yang dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella thyposa* adalah 20%, dan *Morganella morganii* dihambat pada konsentrasi 10%. Hasil uji ini disajikan pada tabel dibawah ini.

Tabel 13. Data pengujian kadar hambat minimal

Konsentrasi Asap cair (%)	Ulangan	Pertumbuhan	
		<i>Salmonella thyposa</i>	<i>Morganella morganii</i>
40	1	-	-
	2	-	-
	3	-	-
20	1	+	-
	2	-	-
	3	-	-
10	1	+	-
	2	+	-
	3	+	+
5	1	+	+
	2	++	+
	3	+	+
2,5	1	++	+
	2	+	+
	3	++	+
1,25	1	+	++
	2	++	++
	3	++	+
0,625	1	++	+
	2	++	++
	3	++	++

0,3125	1	++	++
	2	++	++
	3	++	++
0	1	++	++
	2	++	++
	3	++	++



Ket:
 - : Jernih (tidak ada pertumbuhan)
 + : Agak keruh (ada sedikit pertumbuhan)
 ++ : Keruh (pertumbuhan banyak)

Hasil uji kadar bunuh minimal didapatkan bahwa konsentrasi minimal yang dapat membunuh *Salmonella thyposa* dalah 80%, sedangkan kadar bunuh minimal untuk *Morganella morganii* adalah 80%. Hasil uji ini disajikan pada Tabel 14.

Tabel 14. Data pengujian kadar bunuh minimal

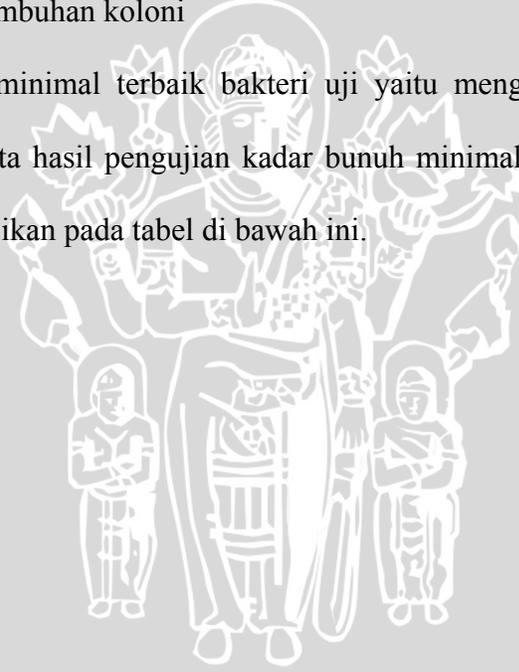
Konsentrasi Asap Cair	Ulangan	Jumlah koloni
-----------------------	---------	---------------



(%)		<i>Salmonella thyposa</i>	<i>Morganella morganii</i>
80		-	-
		-	-
		-	-
40	1	11	4
	2	9	5
	3	9	8
20	1		
	2		
	3		
10	1		
	2		
	3		
5	1		
	2		
	3		

Keterangan: - tidak ada pertumbuhan koloni

Pengujian kadar bunuh minimal terbaik bakteri uji yaitu menggunakan asap cair dengan konsentrasi 80%. Data hasil pengujian kadar bunuh minimal terbaik bakteri uji dengan konsentrasi 80% disajikan pada tabel di bawah ini.



Tabel 15. Pengujian kadar bunuh minimal dengan konsentrasi asap cair terbaik 80% pada bakteri uji

No. Tabung	ml Konsentrasi Asap Cair 80% (v/v)	Ulangan	Pertumbuhan	
			<i>Salmonella thyposa</i>	<i>Morganella morganii</i>
0	0	1	++	++
		2	++	++
		3	++	++

1.	0,1	1	++	++
		2	++	+
		3	++	+
2.	0,2	1	++	-
		2	++	-
		3	+	-
3.	0,3	1	+	-
		2	+	-
		3	+	-
4.	0,4	1	-	-
		2	-	-
		3	-	-
5.	0,5	1	-	-
		2	-	-
		3	-	-
6.	0,6	1	-	-
		2	-	-
		3	-	-
7.	0,7	1	-	-
		2	-	-
		3	-	-
8.	0,8	1	-	-
		2	-	-
		3	-	-
9.	0,9	1	-	-
		2	-	-
		3	-	-
10.	1,0	1	-	-
		2	-	-
		3	-	-

Ket:

- : Jernih (tidak ada pertumbuhan)
- + : Agak keruh (ada sedikit pertumbuhan)
- ++ : Keruh (Pertumbuhan banyak)

Dari pengujian kadar hambat minimal asap cair pada bakteri didapatkan konsentrasi minimal yang dapat menghambat dan membunuh bakteri uji ini adalah pada konsentrasi 80% untuk bakteri *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii*. Untuk mengetahui kekuatan hambat zat antibakteri dari asap cair dilakukan metode tabung

dengan pemberian volume asap cair yang berbeda pada tiap tabung, kemudian dilakukan pengamatan dengan menggunakan spektrofotometri DR 2000 untuk mengetahui tingkat kekeruhan yang diasumsikan sebagai tingkat pertumbuhan dari bakteri. Tingkat kekeruhan ini diukur dengan spektrofotometri dengan panjang gelombang 450 nm dan kemudian dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif yaitu media *Nutrient Broth* (NB) yang ditambahkan dengan bakteri, sedangkan kontrol negatif yaitu media *Nutrient Broth* (NB) yang ditambahkan dengan zat antibakteri (asap cair).

Tabel 16. Nilai Absorbansi Uji Penghambatan Asap Cair konsentrasi 80% pada Bakteri *Salmonella thyposa*.

No. tabung	ml asap cair 80%	Kekeruhan (nm)		Rata-rata
		I	II	
0	0	0,462	0,459	0,460
1	0,1	0,337	0,331	0,334
2	0,2	0,342	0,427	0,384
3	0,3	0,341	0,335	0,338
4	0,4	0,317	0,312	0,314
5	0,5	0,315	0,312	0,313
6	0,6	0,293	0,291	0,292
7	0,7	0,285	0,279	0,282
8	0,8	0,269	0,270	0,269
9	0,9	0,264	0,268	0,266
10	1	0,248	0,257	0,252

Tabel 17. Nilai Absorbansi Uji Penghambatan Asap Cair konsentrasi 80% pada Bakteri *Morganella morganii*.

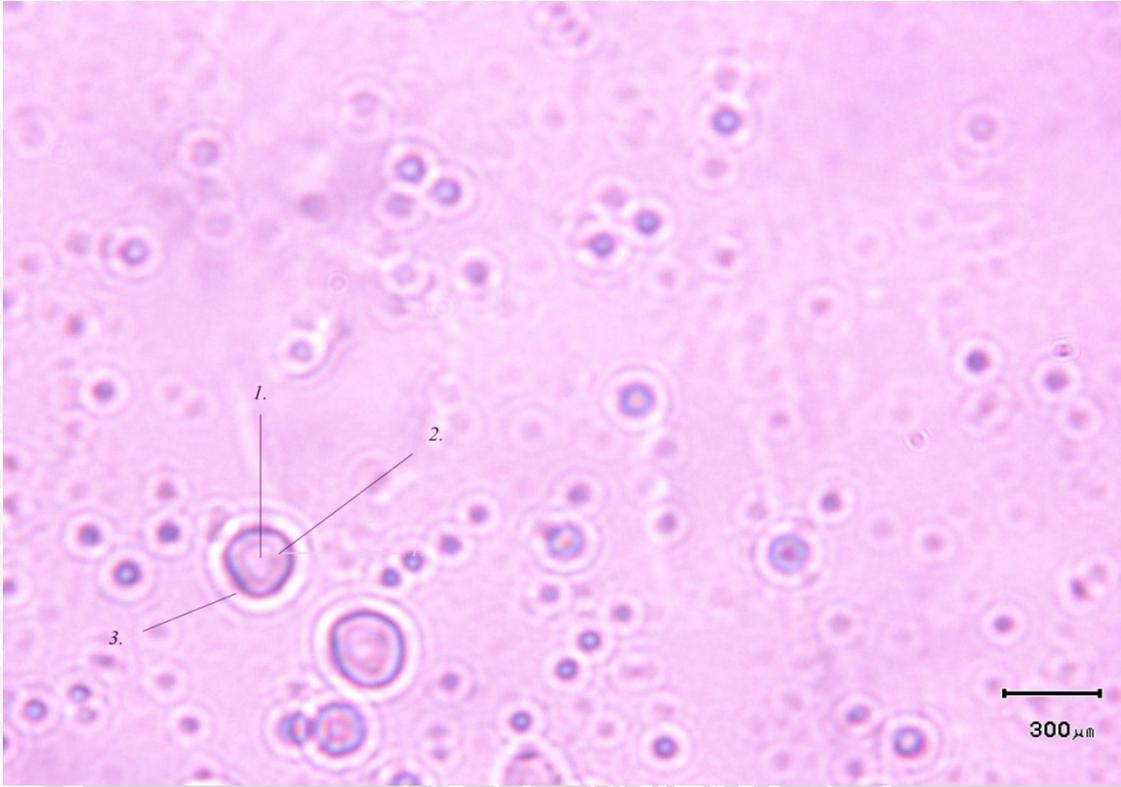
No. tabung	ml asap cair 80%	Kekeruhan (nm)		Rata-rata
		I	II	
0	0	0,467	0,425	0,446
1	0,1	0,329	0,331	0,330

2	0,2	0,322	0,332	0,327
3	0,3	0,319	0,335	0,327
4	0,4	0,315	0,312	0,313
5	0,5	0,312	0,312	0,312
6	0,6	0,287	0,291	0,289
7	0,7	0,278	0,276	0,277
8	0,8	0,269	0,259	0,264
9	0,9	0,254	0,254	0,254
10	1	0,246	0,249	0,247

Dari hasil pengamatan absorbansi uji hambat asap cair pada kedua bakteri dengan menggunakan spektrofotometri, pada tabung ke satu sampai dengan sepuluh memiliki nilai absorbansi yang lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa semakin banyak volume asap cair yang ditambahkan maka semakin kecil kekeruhan yang dihasilkan, dengan kata lain semakin sedikit jumlah bakteri yang dapat tumbuh.

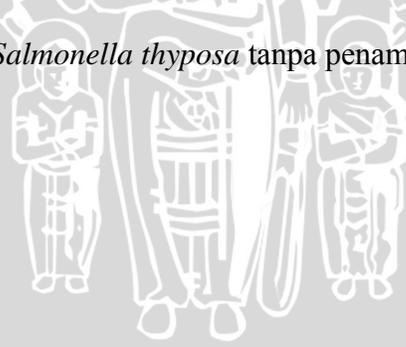
Berdasarkan tabel diatas diketahui bahwa *Salmonella thyposa* mati dengan penambahan asap cair konsentrasi 80% mulai 0,4 ml dalam 10 ml pelarut. Foto mikroskopis bakteri *Salmonella thyposa* tanpa penambahan asap cair dan bakteri mengalami lisis dan mati bisa dilihat pada Gambar 12 dan Gambar 13. Sedangkan *Morganella morganii* mati pada penambahan asap cair 80% mulai 0,2 ml dalam 10 ml pelarut. Dari hasil uji tersebut kita bisa mengetahui berapa perbandingan asap cair yang dipakai untuk mengawetkan produk perikanan untuk mencegah tumbuhnya *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* sehingga makanan yang dikonsumsi aman. Pemanfaatan asap cair pada industri pangan cukup digunakan 25% + 75% air, kemudian

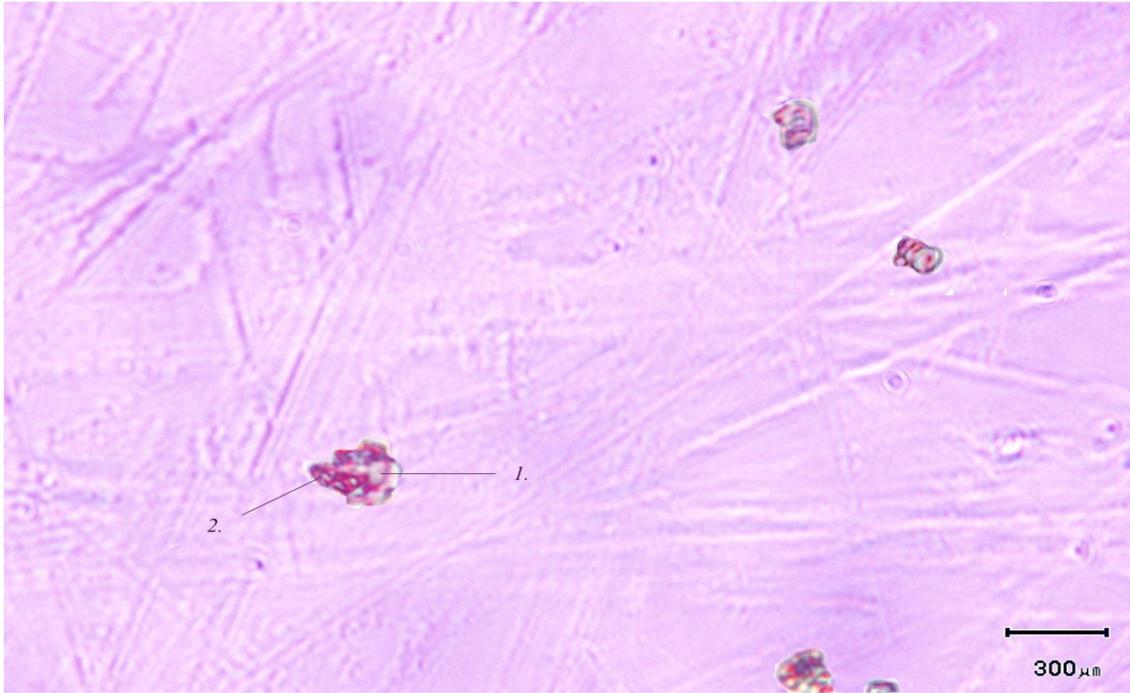
digunakan untuk merendam ikan dan daging selama 15 menit. Pengawetan ikan dengan cara ini bisa bertahan selama 25 hari (Setiadji, 2007).



Gambar 12. Foto mikroskopis *Salmonella thyposa* tanpa penambahan asap cair (0%)
Keterangan:

- 1. Nukleus
- 2. Sitoplasma
- 3. Dinding sel





Gambar 13. Foto mikroskopis *Salmonella thyposa* mati dengan pemberian asap cair 80%
Keterangan:

1. Nukleus dan sitoplasma
2. Dinding sel bocor dan lisis

Mekanisme asap cair dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* belum sepenuhnya diketahui, namun demikian Djide (2005) melaporkan adanya beberapa komponen yang terdapat pada asap cair yang menghambat pertumbuhan bakteri. Ikatan protein dengan fenol mudah lepas, sehingga fenol dapat berpenetrasi ke dalam membran sel bakteri. Senyawa turunan fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami penguraian, diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar fenol tinggi menyebabkan koagulasi protein sel dan membran sitoplasma mengalami lisis.

Jika ada kerusakan pada dinding sel atau ada hambatan dalam pembentukannya dapat terjadi lisis pada sel bakteri sehingga bakteri segera kehilangan kemampuan membentuk koloni dan diikuti kematian sel bakteri. Senyawa fenol dapat bersifat koagulator protein (Dwijoseputro, 1994). Protein yang menggumpal tidak dapat berfungsi lagi, sehingga akan mengganggu pembentukan dinding sel bakteri.

Antimikroba dapat menghambat perakitan dinding sel dan mengakibatkan penggabungan rantai glikan tidak terhubung silang ke dalam peptidoglikan dinding sel menuju suatu struktur yang lemah dan menyebabkan kematian bakteri (Morin dan Gorman, 1995).

Setiap senyawa yang menghalangi tahap apapun dalam sintesis peptidoglikan akan menyebabkan dinding sel bakteri diperlemah dan sel menjadi lisis (Jawetz *et al.*, 2001). Lisisnya sel bakteri tersebut dikarenakan tidak berfungsinya lagi dinding sel yang mempertahankan bentuk dan melindungi bakteri yang memiliki tekanan osmotik dalam yang tinggi. Tanpa dinding sel, bakteri tidak dapat bertahan terhadap pengaruh luar dan segera mati (Wattimena *et al.*, 1991).

Berdasarkan hasil uji di atas diketahui bahwa *Morganella morganii* yang paling peka terhadap pemberian asap cair karena bakteri dari genus Proteus ini merupakan Mikroba udara yang pertumbuhannya sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu, radiasi dan kelembaban relatif (RH) serta polutan oleh sebab itu bakteri ini cenderung peka terhadap pemberian asap cair. Mikroba udara seperti *Morganella morganii* merupakan jasad patogen yang merugikan kesehatan tumbuhan hewan maupun manusia. *Morganella morganii* ini memiliki antigen H yang terletak pada flagella yang bisa didenaturasi atau dihilangkan oleh panas atau alkohol (Jawetz *et al.*, 2001).

Daya tahan *Salmonella thyposa* lebih tinggi dibandingkan dengan *Morganella morganii*, hal ini karena *Salmonella thyposa* dapat membentuk asam asetat sebagai sumber karbon untuk hidupnya (Jawetz *et al.*, 1996), sehingga asam asetat yang merupakan senyawa antibakteri digunakan oleh bakteri ini yang menyebabkan berkurangnya aktivitas antibakteri dari asap cair. Selain itu juga, penggunaan obat antimikroba dapat menyebabkan terbentuknya strain-strain *Salmonella thyposa* yang peka terhadap antibiotik. Ketahanan bakteri terhadap obat-obatan ini disebabkan oleh adanya plasmid yang disebut faktor R yang umumnya terdapat pada grup enterobacteriaceae. Faktor R adalah suatu plasmid atau gen (DNA) ekstrakromosomal yang berbentuk lingkaran dan mempunyai suatu bagian (segmen) yang disebut RTF (*Resisten Transfer Faktor*) yang melakukan kontrol terhadap replikasi dan perpindahan plasmid, dan segmen-segmen lainnya yang disebut r-determinan yang mengatur ketahanan terhadap obat-obat antibakteri (Supardi dan Sukanto, 1999).

Komponen fenol, asam organik bermolekul rendah dan aldehid merupakan komponen yang terdapat dalam asap cair dan merupakan konstituen yang memegang peranan penting dalam pengawetan bahan pangan yakni berpotensi sebagai antibakteri. Senyawa fenol dapat berperan sebagai antibakteri karena dapat bereaksi dengan membran sel yang meningkatkan permeabilitas membran sel, inaktivasi enzim-enzim esensial dan merusak atau inaktivasi fungsional material genetik. Makin tinggi konsentrasi fenol akan terjadi pengendapan semua protein secara efektif (Luck dan Martin, 1993).

Pada konsentrasi tertentu senyawa fenol akan merusak membran sitoplasma sehingga menyebabkan bocornya membran metabolit penting, hal ini akan menginaktivkan system enzim bakteri. Kerusakan membran metabolit ini akan memungkinkan ion organik

nukleotida koenzim dan asam amino merembes ke luar sel. Selain itu kerusakan semacam ini akan mencegah masuknya bahan-bahan penting ke dalam sel karena membran sitoplasma yang bertugas mengendalikan bahan-bahan penting ke dalam sel tidak berfungsi dengan baik. Hal ini akan mengganggu pertumbuhan bakteri, bahkan bisa mengakibatkan kematian (Volk dan Wheller, 1998).

Asam-asam organik lemah, seperti asam asetat bersifat mampu menembus dinding sel bakteri dan secara efisien mampu menetralkan gradien pH transmembran. Efek antibakteri asam organik lemah ini dihasilkan dari kombinasi antara molekul yang tidak terdesosiasi dengan molekul yang terdesosiasi (Smitle, 2000). Efek antibakteri oleh asam organik lemah (asam asetat) oleh molekul yang tidak terdesosiasi secara langsung dapat mengasamkan sitoplasma, merusak tegangan permukaan membran dan hilangnya transport aktif makanan melalui membran sehingga mengakibatkan destabilisasi bermacam-macam fungsi dan struktur komponen sel (Ray and Sadine, 1993; Ray, 1996).

Efek antibakteri yang disebabkan oleh molekul yang terdesosiasi (menghasilkan H⁺ dan anion) yang menyebabkan penurunan pH lingkungan hidup bakteri dan dapat kontak langsung dengan dinding sel bakteri, membran sel, ruang periplasmik dan permukaan luar sitoplasma atau membran sel bagian dalam, sehingga menyebabkan kerusakan dinding sel bakteri. Girrard (1992), menambahkan bahwa karena selain asam dan fenol dalam asap cair, senyawa urotropin sebagai derivat dari piridin dan senyawa asam piroliglin yang diperkirakan ikut berperan dalam penghambatan pertumbuhan bakteri.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini adalah:

1. Kadar fenol dan pH asap cair tempurung kelapa didapatkan nilai fenol sebesar 0,42% dan pH 4,3.
2. Asap cair tempurung kelapa memberikan efek penghambatan dan mengontrol pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii*. Semakin tinggi konsentrasi asap cair yang digunakan akan memberikan efek penghambatan yang semakin besar pula yang terlihat dengan semakin besarnya zona terang (*clear zone*).
3. Konsentrasi minimal asap cair yang dapat menghambat pertumbuhan pada masing-masing bakteri adalah berbeda-beda. Konsentrasi minimal asap cair tempurung kelapa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* adalah 20% dan untuk bakteri *Morganella morganii* adalah 10%. Sedangkan konsentrasi minimal asap cair tempurung kelapa yang dapat membunuh bakteri *Salmonella thyposa* dan *Morganella morganii* adalah 80%.
4. Volume penambahan asap cair mempengaruhi aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri. Semakin besar volume asap cair yang digunakan maka semakin sedikit bakteri yang dapat tumbuh.
5. Besarnya zona hambatan pada pengujian efektivitas antibakterial asap cair tempurung kelapa menunjukkan bahwa respon hambatan pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* terhadap asap cair bersifat tidak ada sampai sedang.

Sedangkan bahwa respon hambatan pertumbuhan bakteri *Morganella morganii* terhadap asap cair bersifat tidak ada sampai kuat.

5.2 Saran

- Disarankan untuk mengetahui senyawa yang lebih berperan antara fenol dan asam-asam organik, disarankan untuk melakukan pengujian pada pH yang berbeda.
- Disarankan untuk menggunakan asap cair tempurung kelapa 80% untuk membunuh *Salmonella thyposa*.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous, 2001. Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Klinik. Laboratorium Mikrobiologi. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang.
- AOAC, 1990. *Association of Official Analytical Chemist, Official Methods of Analysis. 18th Edition*. Benyamin Franklin. Washington DC.
- Afrianto, E dan E. Liviawaty, 1989. Pengolahan Dan Pengawetan Ikan. Kanisius. Yogyakarta.
- Buckle, K. A; R. A Edwards; G. H Fleet dan M. Whooton, 1987. Ilmu Pangan. Alih Bahasa Oleh Hari Purnomo Dan Adiono. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Cappucino, J. G; Natalie Sherman, 2001. *Microbiology A Laboratory Manual. Sixth Edition*. Benyamin Cummings. San Frasisco.
- Connel, J. J. 1995. *Control of Fish Quality. Four Edition*. Finishing News Book. Victoria.
- Darmadji, P. 1996. Aktivitas Antibakteri Asap Cair Yang Diproduksi Dari Berbagai macam Limbah Pertanian. Agritech (Majalah Ilmu Dan Teknologi Pertanian). Fakultas Teknologi Pertanian. Yogyakarta.
- . 2001. Optimasi Pemurnian Asap Cair dengan Metode Redestilasi. Dalam Prosiding Seminar Teknologi Pertanian. Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan. Indonesia. Semarang.
- Edwards P. R dan W. H. Ewing, 1995. " Identifikasi Dari *Enterobacteriaceae*" , Burgess Publishing Company Minneapolis, Minn.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Firegold, S. M, Baron, J. E. 19865. *Bailley and Scoot's Diagnostic Microbiology 7th Edition*. Mosby company. St Louis. USA
- Fretheim, K; P. E Granum and E. Vold. *Influence of Generation Temperatur on the Chemical Composition Antioxidative and Antimicrobial Effect of Wood Smoke. Journal Food Science.*
- Glynn, A. A. 1972. *In Microbial Patogenicity in Man and Animals*. Edited by H. Smith and J. H. Pearce. Cambridge University Press.
- Greenwood. 1995. *Antibiotics Susceptibility (Sensitivity) Test, Antimicrobial and Chemoterapy.*

- Girrad, J. P. 1992. *Technologi of Meat And Meat Product*. Ellis Horwood. New York.
- Gupte, S. 1990. Mikrobiologi Dasar. Alih Bahasa oleh Julius ES. Edisi III. Binarupa Aksara. Jakarta.
- Hadiwiyoto, S. 1993. Teknologi Hasil Perikanan Jilid I. Liberty. Yogyakarta.
- Hamm, k. 1976. *Analysis of Smoke and Smoked Foods* dalam Putskowski (1976): *Advances in Smooking of Foods*. Pragamon Press. Oxford.
- Jawetz, Ernest.1995. Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan. Hal 299-303. EGC. Jakarta.
- Jawetz; Melnick and Alberg. 1996. Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology) Edisi 20. Alih Bahasa Oleh Edi Nugroho dan RF. Maulang. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Jekti R. P. 1990. Pencemaran Bahan Makanan oleh Mikroba. Pusat Penelitian Penyakit Menular, Badan Penelitian & Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan R.I. jurnal Cermin Dunia Kedokteran No. 6. Jakarta
- Johnson; Arthur G. 1994. Mikrobiologi Dan Imunologi. Hal 68-70. Binarupa Aksara. Jakarta.
- Kusharyati, D.F; E. Harmayani; P. Darmadji. 1999. Kajian Asap Cair Dari Beberapa Jenis Kayu Dalam Menghambat Beberapa Bakteri Pembentuk Histamin *Morganella Morganii* NCTC 10041. Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Lay, B. W. 1994. Analisis Mikrobiologi di Laboratorium. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Luck, E and Martin. 1993. *Antimicrobial Food Aditivities Characteristic Uses Effect. 2rd revesied and Enlarged Edition*.
- Moeljanto. 1982. Pengasapan dan Fermentasi Ikan. Penebar Swadaya. IKAPI. Jakarta.
- Pawitro UE, Noorvitry M, Darmowandowo W. Demam Tifoid. Dalam : Soegijanto S, Ed. Ilmu Penyakit Anak. 2002 Diagnosa dan Penatalaksanaan, Edisi 1. Jakarta : Salemba Medika :1-43.
- Pelezar, M. J. 1988. *Microbiology*. Mc. Graw Hill. New York.
- Pelezar, M. J and E. C. S. Chan. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi 2. Universitas Indonesia Press. Jakarta.

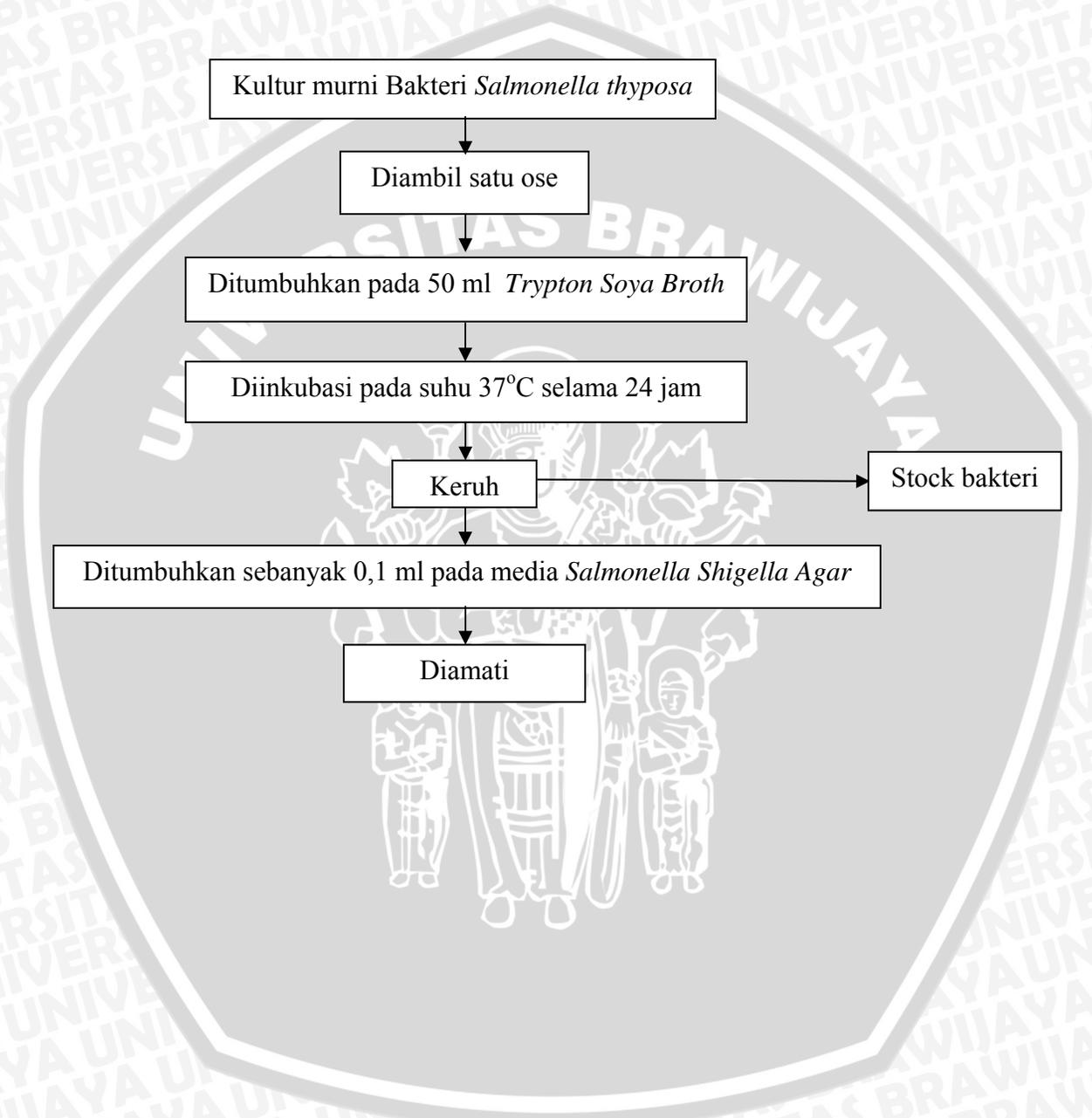
- Pszczola, D. E. 1995. *Tour Highlight Production and Use of Smoke Base Flavor*. Food Technology.
- Porter, K. W; L. J Bratzler and A. M Pearson. 1964. *Fractionation and Study of Compounds In Wood Smoke*. *Journal Food Science*.
- Ray, B. *Fundamental of Food Microbiology*. CRC Press. Boca Raton.
- Ryan, K.J. 1994. *Sherring Medical Microbiology and Introduction To Infection Yeast 3rd Edition*. Williams and wilkins. USA.
- Schlegel, H. G. 1994. *Mikrobiologi Umum*. Edisi Keenam. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Setyawan H. S; M. Husein Gasem; Tri Joko. 2005. *Studi Karier Salmonella typhi dan Salmonella paratyphi pada Pedagang Es Keliling dan Intervensi Penanggulangannya*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- Soedarto. 1996. *Penyakit – Penyakit Infeksi di Indonesia*, cet.IV. Widya Medika. Jakarta.
- Soekarto, J. R. 1979. *Dasar-Dasar Pengawasan dan Standarisasi Mutu Pangan*. PAU Pangan dan Gizi. IPB. Bogor.
- Staf Pengajar Mikrobiologi FKUI. 1994. *Mikrobiologi Kedokteran*. Binarupa Aksara. Jakarta.
- Standar Nasional Indonesia. 1991. *Syarat Mutu Kadar Histamin*. SNI 01-2360, 1991
- Suryanti; T. Wikanta dan N. Indriati. 2003. *Kandungan Histamin Pada Beberapa Produk Hasil Perikanan*. Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi. Kelautan dan Perikanan. Departemen Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia. Jakarta
- Toba, T; S. K Samant and T. itoh. 1991. *Assay System For Detecting Bacteriosin in Microdilution Wells*. *Letters in Applied Microbiology* 13, 102-104.
- Tranggono. 1991. *Analisa Hasil Perikanan*. Petunjuk Praktikum. PAU Pangan dan gizi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Volk dan Wheller, A. 1998. *Mikrobiologi Dasar*. Edisi Keenam Jilid I. Erlangga. Jakarta.
- Wolf, C. E and W. R Gibbons. 1996. *Improved Method for Qualification of Bacteriocin Nisin*. *J. Appl Bacteril*. 80:453.

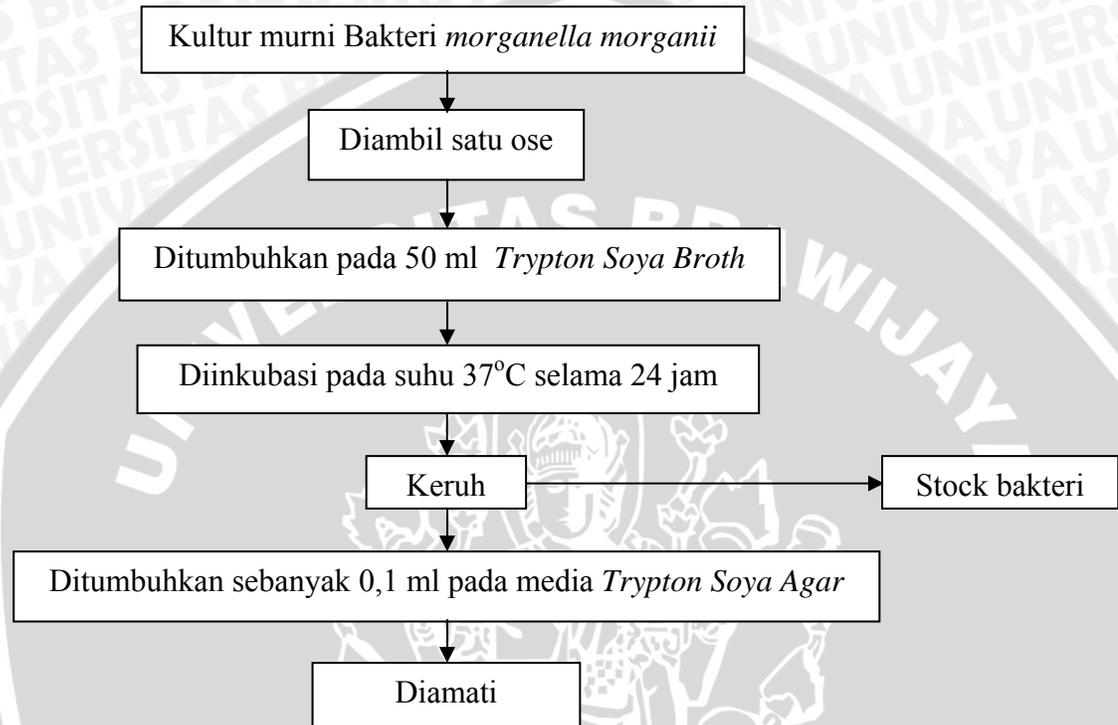
Yulistiani, R; P. Darmadji dan E. Harmayani. 1997. Kemampuan Penghambatan Asap Cair Terhadap Pertumbuhan Bakteri Pembusuk pada Lidah Sapi. Jurnal Teknologi Pangan. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Zaitzev, V. P; L. Kizevetter; L. Luginov; T. Makarova; D. Minder dan V. Ponsenator. 1969. *Fish Curring and Processing*. MIR Published. Moscow.

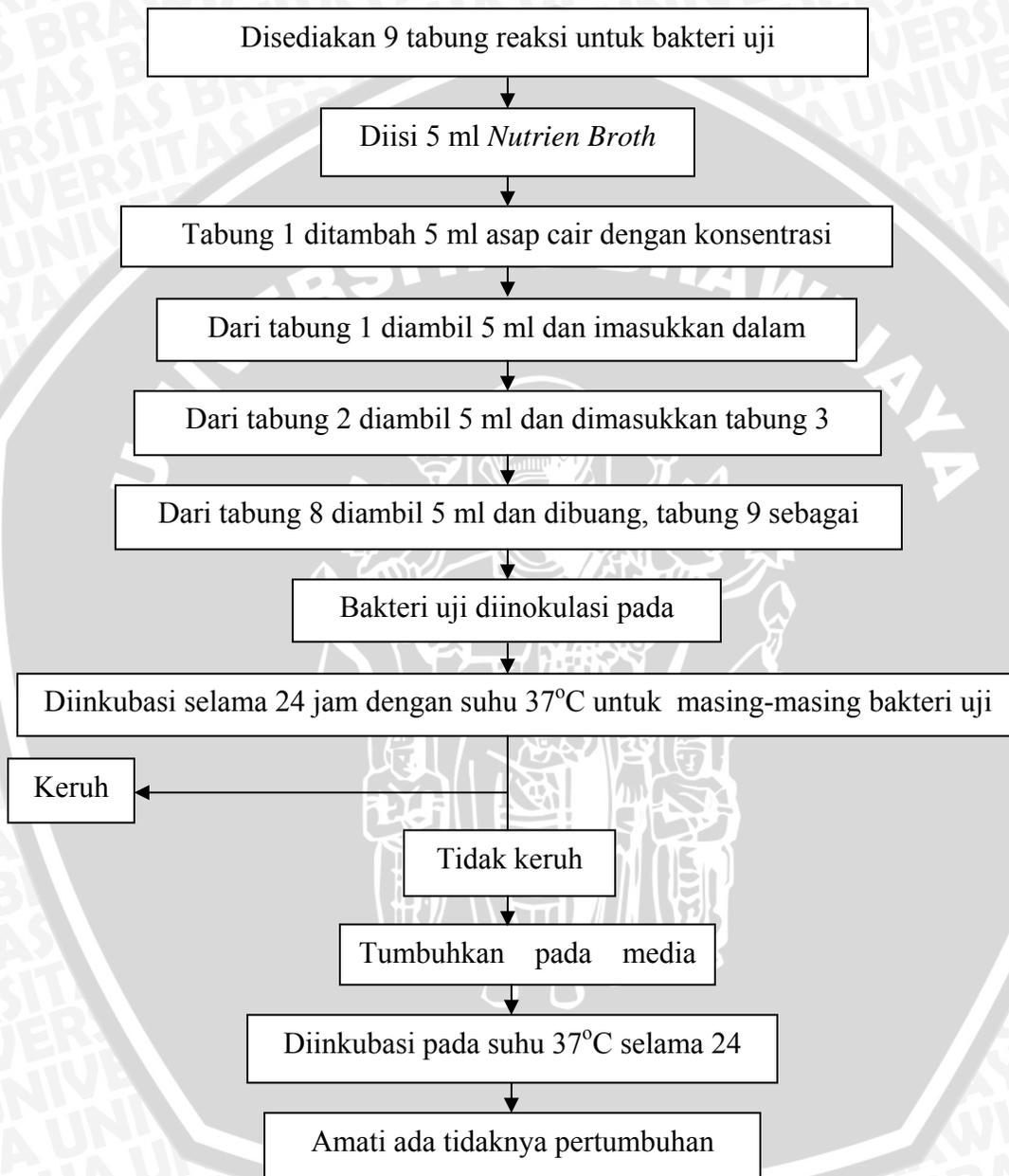


Lambran 1. Alur kerja optimasi pertumbuhan *Salmonella thyposa*

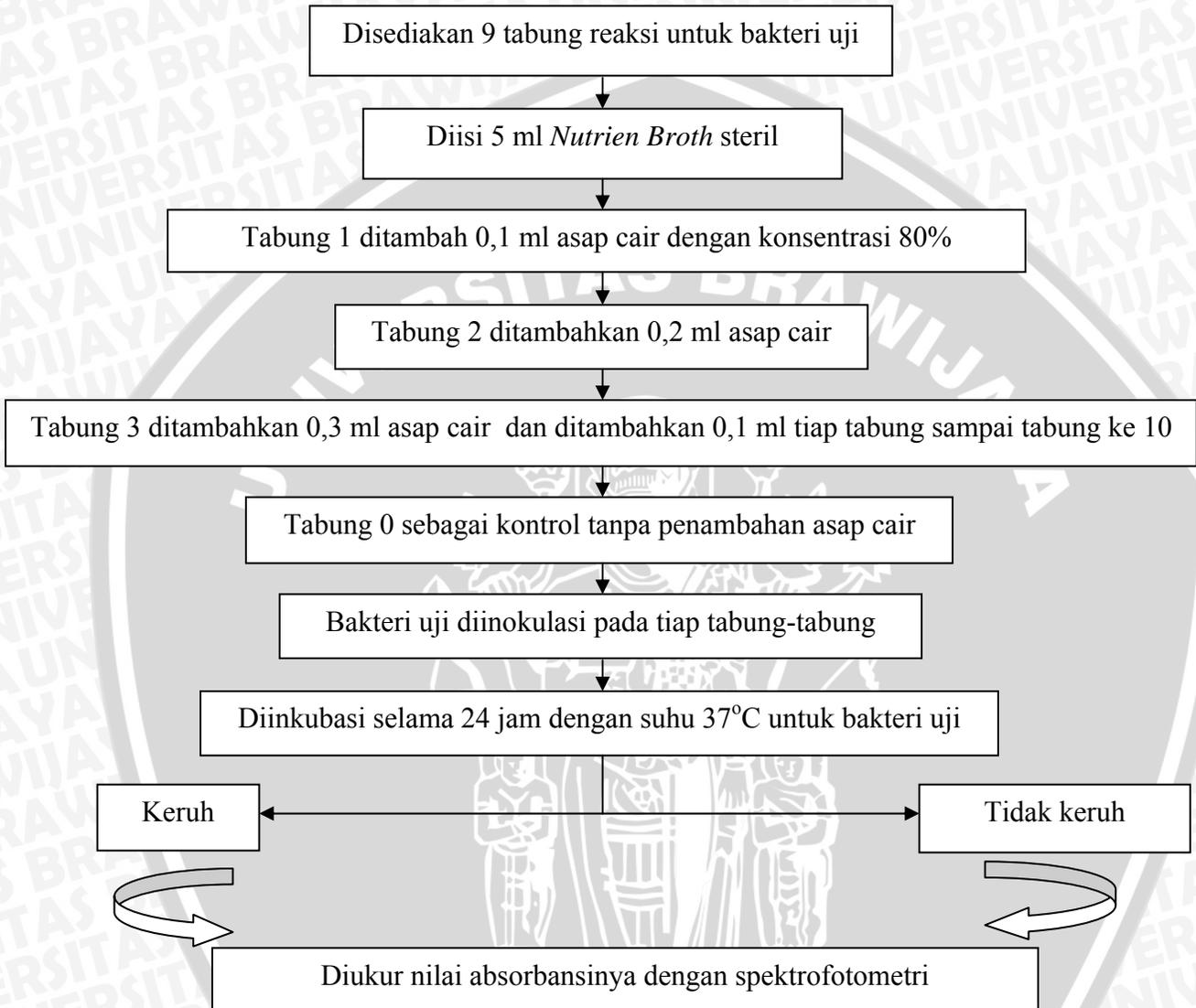


Lampiran 2. Alur kerja optimasi pertumbuhan *Morganella morganii*

Lampiran 3. Alur kerja pengujian penghambatan minimal bakteri uji dengan metode pengenceran tabung (*tube dilution test*)



Alur Kerja Pengenceran Secara In Vitro Dan Absorbansi



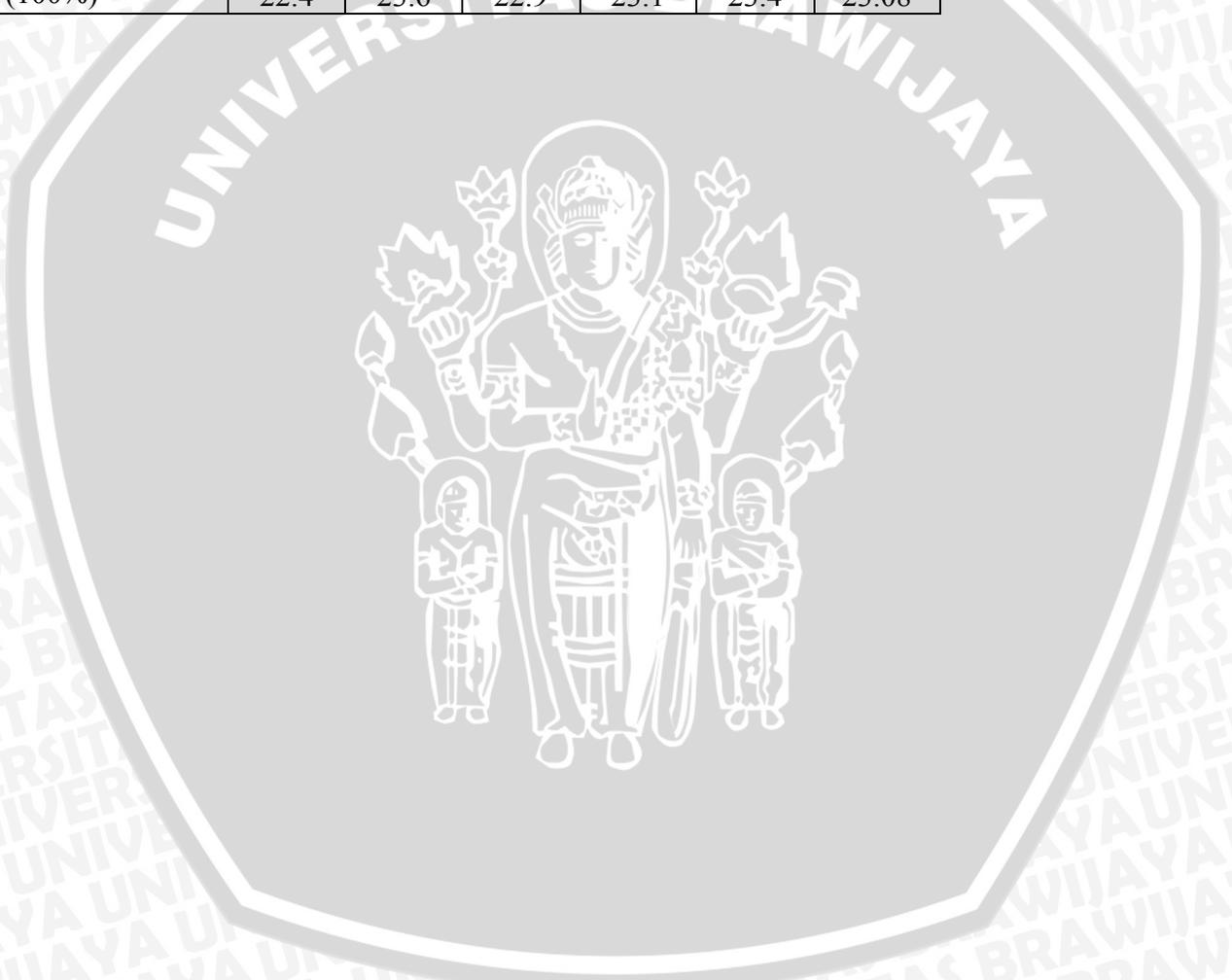
Lampiran 4. Data diameter zona hambat *Salmonella thyposa* dengan metode sumur (well diffusion)

Perlakuan konsentrasi asap cair (%)	Ulangan					
	1	2	3	4	5	rerata
A (0%)	0	0	0	0	0	0
B (20%)	7.3	10.2	10.3	7.9	8.1	8.76
C (40%)	13.2	12.9	14.1	16.1	13.4	13.94
D (60%)	16.1	16.7	13.9	16.3	14.2	15.44
E (80%)	18.4	19.1	18.7	20.1	20.1	19.28
F (100%)	19.8	20.5	21.5	21.1	21.3	20.84



Lampiran 5. Data diameter zona hambat *Morganella morganii* dengan metode sumur (*well diffusion*)

Perlakuan konsentrasi asap cair (%)	Ulangan					
	1	2	3	4	5	rerata
A (0%)	0	0	0	0	0	0
B (20%)	8.7	8.9	10.1	9.2	9.22	9.224
C (40%)	12.8	12.6	16.2	13.9	13.94	13.888
D (60%)	16.4	15.7	16.4	16.1	16.3	16.18
E (80%)	20.5	19.8	21.4	19.9	20.3	20.38
F (100%)	22.4	23.6	22.9	23.1	23.4	23.08



Lampiran 6. Data dan perhitungan analisa respon hambatan pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa*

ULANGAN	A	RA	B	RB	C	RC	D	RD	E	RE	F	RF
1	1	4.5	1	4.5	2	12.5	3	20.5	3	20.5	3	20.5
2	1	4.5	2	12.5	2	12.5	3	20.5	3	20.5	4	27.5
3	1	4.5	2	12.5	2	12.5	2	12.5	3	20.5	4	27.5
4	1	4.5	1	4.5	3	20.5	3	20.5	4	27.5	4	27.5
5	1	4.5	1	4.5	2	12.5	2	12.5	4	27.5	4	27.5
Jumlah	5		7		11		13		17		19	
Rata-Rata	1		1.4		2.2		2.6		3.4		3.8	

Kruskal-Wallis Test: RESPON HAMBATAN PERTUMBUHAN BAKTERI *Salmonella thyposa* versus PERLAKUAN ASAP CAIR

Kruskal-Wallis Test on RESPON HAMBATAN PERTUMBUHAN BAKTERI

PERLAKUAN	N	Median	Ave Rank	Z
A	5	1.000	4.5	-3.06
B	5	1.000	7.7	-2.17
C	5	2.000	14.1	-0.39
D	5	3.000	17.3	0.50
E	5	3.000	23.3	2.17
F	5	4.000	26.1	2.95
Overall	30	15.5		

H = 23.24 DF = 5 P = 0.000
 H = 24.83 DF = 5 P = 0.000 (adjusted for ties)

[P value < 0.05] Maka pemberian konsentrasi asap cair memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap perubahan diameter zona hambat (dilakukan Uji Lanjut)

Uji Lanjut

$$|R_i - R_j| \leq Z_{(1 - [\alpha/k(k-1)])} \sqrt{\frac{N(N+1)}{12} \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)}$$

Dimana :

- R_i = Rata-rata peringkat dari sampel ke-i
- R_j = Rata-rata peringkat dari sampel ke-j
- α = 0.15 (menggunakan tabel z)

K = Jumlah faktor perlakuan

n_i = Jumlah faktor perlakuan

n_j = Jumlah panelis

$N = n_i \times n_j$

$$|R_i - R_j| \leq z_{(1 - [\alpha/k(k-1)])} \sqrt{\frac{N(N+1)}{12} \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)}$$

$$z > [\alpha/k(k-1)]$$

$$z > [0.15/6(6-1)]$$

$$z > 0.005 = 2.57$$

$$|R_i - R_j| \leq 2.57 \sqrt{\frac{30(30+1)}{12} \left(\frac{1}{6} + \frac{1}{5} \right)}$$

$$|R_i - R_j| \leq 2.57 (\sqrt{23.5})$$

$$|R_i - R_j| \leq 12.46$$

TABEL UJI BEDA

Perlakuan		F	E	D	C	B	A	NOTASI
		4.5	7.7	14.1	17.3	23.3	26.1	
F	4.5	0						a
E	7.7	3.2	0					a
D	14.1	9.6	6.4	0				ab
C	17.3	12.8	9.6	3.2	0			ab
B	23.3	18.8	15.6	9.2	6	0		b
A	26.1	21.6	18.4	12	8.8	2.8	0	b

Lampiran 7. Data dan perhitungan analisa respon hambatan pertumbuhan bakteri *Morganella morganii*

ULANGAN	A	RA	B	RB	C	RC	D	RD	E	RE	F	RF
1	1	5.0	1	5.0	2	12.5	3	20.5	4	28.0	4	28.0
2	1	5.0	1	5.0	2	12.5	2	12.5	3	20.5	4	28.0
3	1	5.0	2	12.5	3	20.5	3	20.5	4	28.0	4	28.0
4	1	5.0	1	5.0	2	12.5	3	20.5	3	20.5	4	28.0
5	1	5.0	1	5.0	2	12.5	3	20.5	4	28.0	4	28.0
Jumlah	5		6		11		14		18		20	
Rata-Rata	1		1.2		2.2		2.8		3.6		4.0	

Kruskal-Wallis Test: RESPON HAMBATAN PERTUMBUHAN BAKTERI *Morganella morganii* versus PERLAKUAN

Kruskal-Wallis Test on RESPON HAMBATAN PERTUMBUHAN BAKTERI

PERLAKUAN	N	Median	Ave Rank	Z
A	5	1.000	5.0	-2.92
B	5	1.000	6.5	-2.50
C	5	2.000	14.1	-0.39
D	5	3.000	18.9	0.95
E	5	3.000	23.5	2.23
F	5	4.000	25.0	2.64
Overall	30	15.5		

H = 23.16 DF = 5 P = 0.000
 H = 25.06 DF = 5 P = 0.000 (adjusted for ties)

[P value < 0.05] Maka pemberian konsentrasi asap cair memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap perubahan diameter zona hambat (dilakukan Uji Lanjut)

Uji Lanjut

$$|R_i - R_j| \leq Z_{(1 - [\alpha/k(k-1)])} \sqrt{\frac{N(N+1)}{12} \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)}$$

Dimana :

- R_i = Rata-rata peringkat dari sampel ke-i
- R_j = Rata-rata peringkat dari sampel ke-j
- α = 0.15 (menggunakan tabel z)

K = Jumlah faktor perlakuan

n_i = Jumlah faktor perlakuan

n_j = Jumlah panelis

$N = n_i \times n_j$

$$|R_i - R_j| \leq z_{(1 - [\alpha/k(k-1)])} \sqrt{\frac{N(N+1)}{12} \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)}$$

$$z > [\alpha/k(k-1)]$$

$$z > [0.15/6(6-1)]$$

$$z > 0.005 = 2.57$$

$$|R_i - R_j| \leq 2.57 \sqrt{\frac{30(30+1)}{12} \left(\frac{1}{6} + \frac{1}{5} \right)}$$

$$|R_i - R_j| \leq 2.57 (\sqrt{23.5})$$

$$|R_i - R_j| \leq 12.46$$

TABELL UJI BEDA

Perlakuan		F	E	D	C	B	A	Notasi
		5	6.5	14.1	18.9	23.5	25	
F	5	0						a
E	6.5	1.5	0					a
D	14.1	9.1	7.6	0				ab
C	18.9	13.9	12.4	4.8	0			ab
B	23.5	18.5	17	9.4	4.6	0		b
A	25	20	18.5	10.9	6.1	1.5	0	b



Lampiran 8. Lembar uji respon hambatan pertumbuhan bakteri uji**UJI RESPON HAMBATAN PERTUMBUHAN BAKTERI UJI**

Kode Perlakuan	Diameter Zona Terang	Respon Hambatan Pertumbuhan	Skor
A	...> 20 mm	kuat	4
B	16-20 mm	sedang	3
C	10-15mm	lemah	2
D	...<	Tidak ada	1

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous, 2001. Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Klinik. Laboratorium Mikrobiologi. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang.
- AOAC, 1990. Association of Official Analytical Chemist, Official Methods of Analysis. 18th Edition. Benyamin Franklin. Washington DC.
- Afrianto, E dan E. Liviawaty, 1989. Pengolahan dan Pengawetan Ikan. Kanisius. Yogyakarta
- Buckle, K. A; R. A Edwards; G. H Fleet dan M. Whooton, 1987. Ilmu Pangan. Alih bahasa Oleh Hari Purnomo dan Adiono. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Cappucino, J. G; Natalie Sherman, 2001. Microbiology. A Laboratory Manual. Sixth Edition. Benyamin Cummings. San Frasco.
- Darmadji, P. 1996. Aktivitas Antibakteri Asap Cair Yang Diproduksi Dari Berbagai-bagai Limbah Pertanian. Agritech (Majalah Ilmu dan Teknologi Pertanian). Fakultas Teknologi Pertanian. Yogyakarta.
- . 2001. Optimasi Pemurnian Asap Cair dengan Metode redestilasi. Dalam prosiding Seminar Teknologi Pertanian. Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan. Indonesia. Semarang.
- Edwards P. R dan W. H. Ewing, 1995. “ Identifikasi dari *Enterobacteriaceae*”, Burgess Publishing Company Minneapolis, Minn.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan. Gramedia Pustaka Inti. Jakarta.
- Fretheim, K; P. E Granum and E. Vold. Influence of Generation Temperatur on the Chemical Composition Antioxidative and Antimicrobial Effect of Wood Smoke. Journal Food science.

Glynn, A. A. 1972. In *Microbial Pathogenicity in Man and Animals*. Edited by H. Smith and J. H. Pearce. Cambridge University Press.

Greenwood. 1995. *Antibiotics Susceptibility (Sensitivity) Test, Antimicrobial and Chemotherapy*.

Girrad, J. P. 1992. *Technology of Meat and Meat Product*. Ellis Horwood. New York.

Gupte, S. 1990. *Mikrobiologi dasar*. Alih Bahasa oleh Julius ES. Edisi III. Binarupa Aksara. Jakarta.

Hadiwiyot, S. 1993. *Teknologi Hasil Perikanan Jilid I*. Liberty. Yogyakarta.

Hamm, k. 1976. *Analysis of Smoke and Smoked Foods dalam Putskowski (1976): Advances in Smooking of Foods*. Pragamon Press. Oxford.

Jawetz, Ernest. 1995. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Hal 299-303. EGC. Jakarta.

Jawetz; Melnick and alberg. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology) Edisi 20*. Alih Bahasa Oleh Edi Nugroho dan RF. Maulang. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

Jekti R. P. 1990. *Pencemaran Bahan Makanan oleh Mikroba*. Pusat Penelitian Penyakit Menular, Badan Penelitian & Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan R.I. jurnal Cermin Dunia Kedokteran No. 6. Jakarta

Johnson; Arthur G. 1994. *Mikrobiologi dan Imunologi*. Hal 68-70. Binarupa Aksara. Jakarta.

Kusharyati, D.F; E. Harmayani; P. Darmadji. 1999. *Kajian Asap Cair Dari Beberapa Jenis Kayu Dalam Menghambat Beberapa Bakteri Pembentuk Histamin *Morganella Morganii* NCTC 10041*. Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Luck, E and Martin. 1993. *Antimicrobial Food Aditivities Characteristic Uses Effect*. 2nd revised and Enlarged Edition.

- Moeljanto. 1982. Pengasapan dan Fermentasi Ikan. Penebar Swadaya. IKAPI. Jakarta.
- Pawitro UE, Noorvitry M, Darmowandowo W. Demam Tifoid. Dalam : Soegijanto S, Ed. Ilmu Penyakit Anak. 2002 Diagnosa dan Penatalaksanaan, edisi 1. Jakarta : Salemba Medika :1-43.
- Pelezar, M. J; S. Chan. 1988. Dasar-Dasar Mikrobiologi 2. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Pszczola, D. E. 1995. Tour Highlight Production and Use of Smoke Based Flavor. Journal Food Technology.
- Porter, K. W; L. J Bratzler and A. M Pearson. 1964. Fractionation and Study of Compounds In Wood Smoke. J. food Science.
- Ray, B. Fundamental of food Microbiology. CRC Press. Boca Raton.
- Schlegel, H. G. 1994. Mikrobiologi Umum. Edisi Keenam. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Setyawan H. S; M. Husein Gasem; Tri Joko. 2005. Studi Karier *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi* pada Pedagang Es Keliling dan Intervensi Penanggulangannya. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- Staf Pengajar Mikrobiologi FKUI. 1994. Mikrobiologi Kedokteran. Binarupa Aksara. Jakarta.
- Suryanti; T. Wikanta dan N. Indriati. 2003. Kandungan Histami Pada Beberapa Produk Hasil Perikanan. Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi. Kelautan dan Perikanan. Departemen Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia. Jakarta
- Toba, T; S. K Samant and T. itoh. 1991. Assay System For Detecting Bacteriosin in Microdilution Wells. Letters in applied Microbiology 13, 102-104.

Tranggono. 1991. Analisa Hasil Perikanan. Petunjuk Praktikum. PAU Pangan dan gizi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Volk, W. A. 1993. Mikrobiologi Dasar. Edisi Keenam Jilid I. Erlangga. Jakarta.

Wolf, C. E and W. R Gibbons. 1996. Improved Method for Qualification of Bacteriocin Nisin.

J. Appl Bacteril. 80:453.

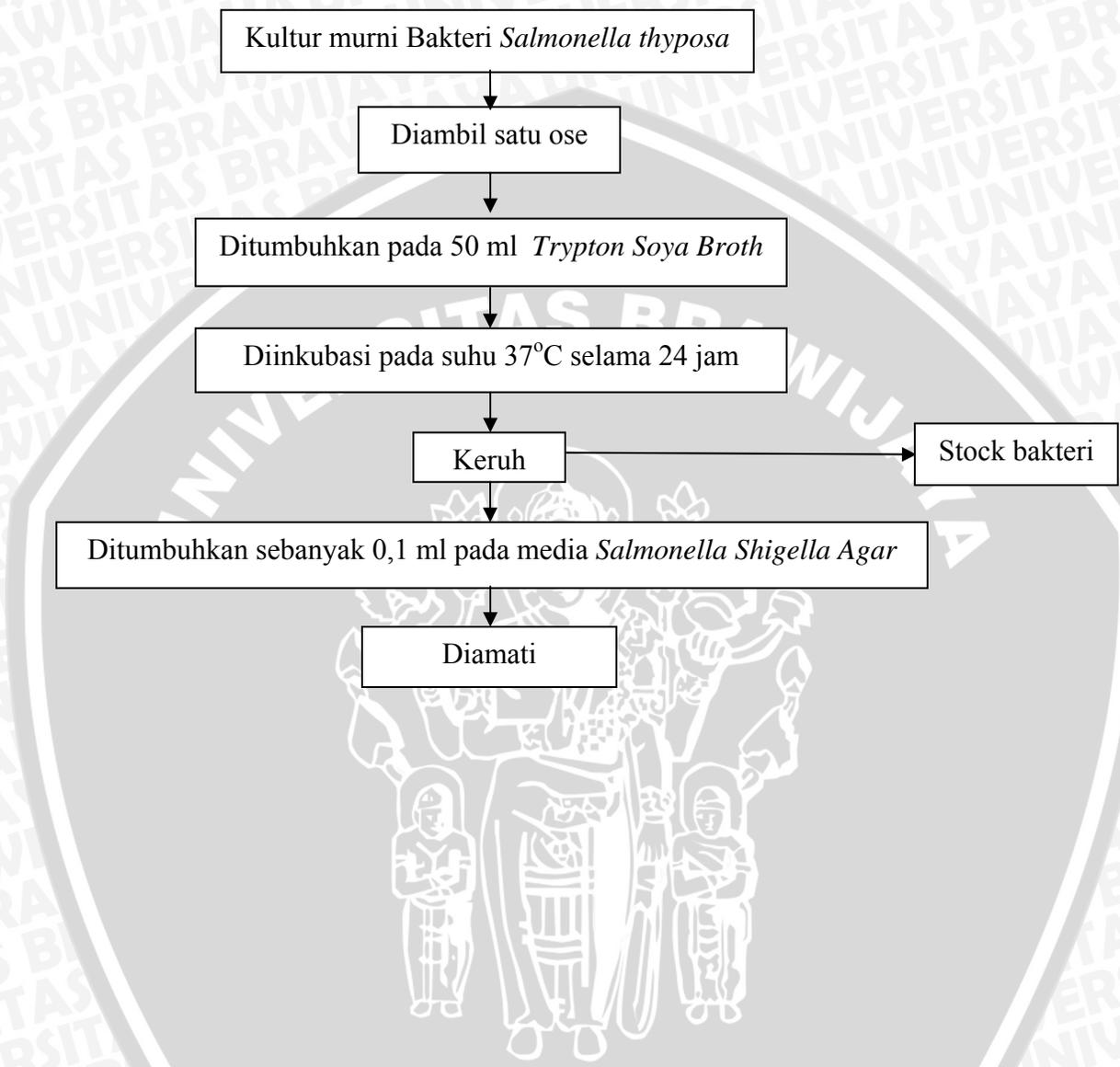
Yulistiani, R; P. darmadji dan E. Harmayani. 1997. Kemampuan Penghambatan Asap Cair Terhadap Pertumbuhan Bakteri Pembusuk pada Lidah Sapi. Jurnal teknologi Pangan. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Zaitzev, V. P; L. Kizevetter; L. Luginov; T. Makarova; D. Minder dan V. Ponsenator. 1969. Fish Curing and Processing. MIR Published. Moscow.

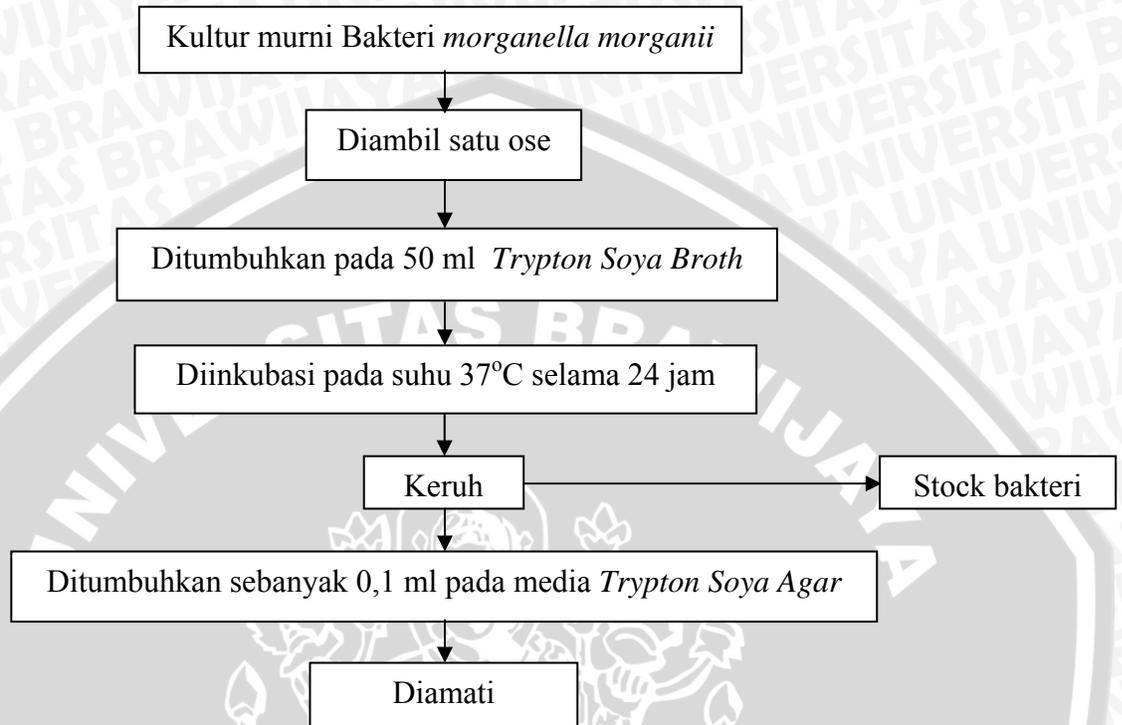
Soedarto, Penyakit – Penyakit Infeksi di Indonesia, cet.IV, Jakarta : Widya Medika, 1996.



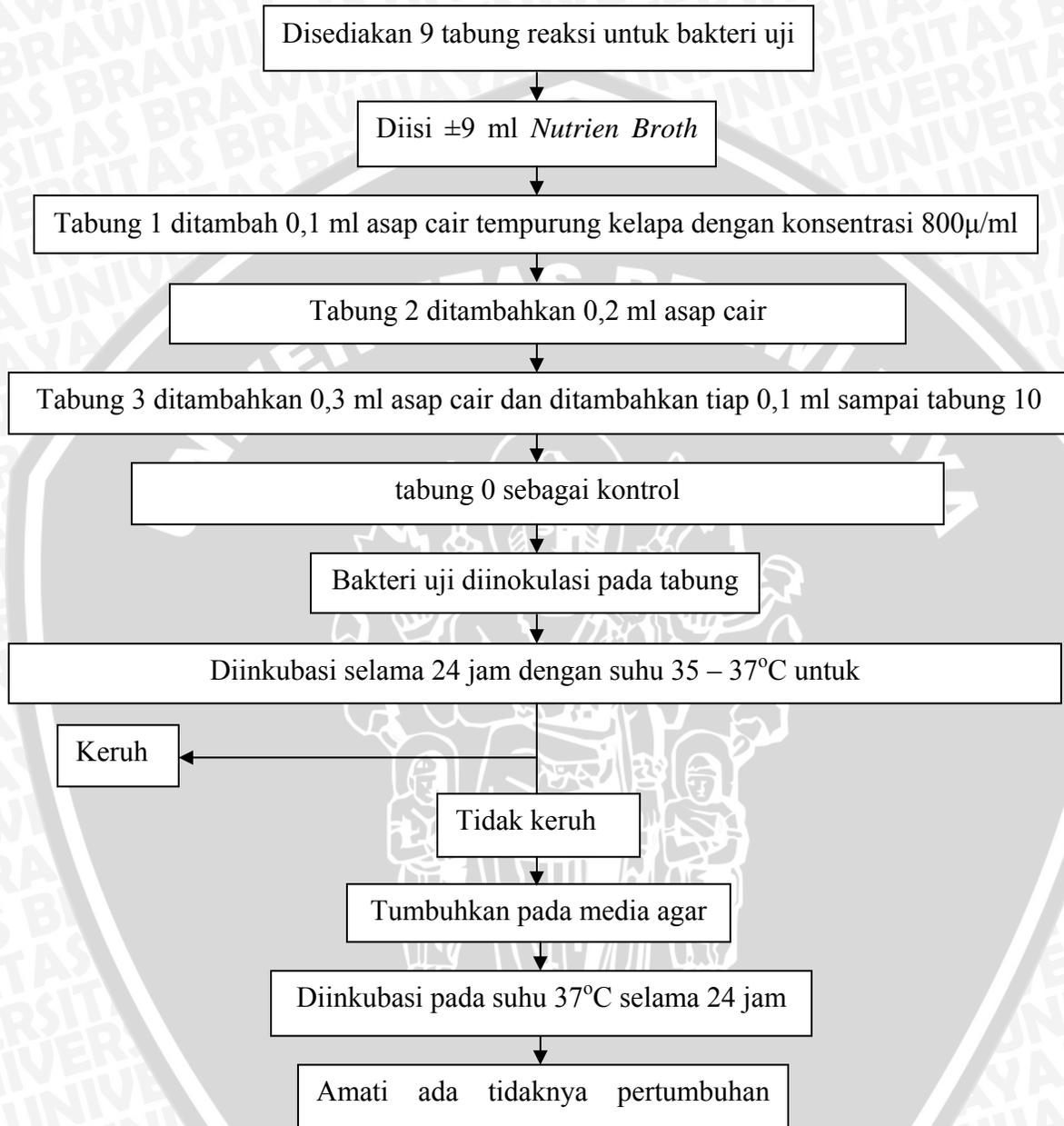
Lampran 1. Gambar alur kerja optimasi pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa*



Lampiran 2. Gambar alur kerja optimasi pertumbuhan bakteri *Morganella morganii*



Lampiran 3. alur kerja pengujian kadar hambat minimal dan kadar bunuh minimal dengan metode pengenceran tabung (*tube dilution test*) pada bakteri uji



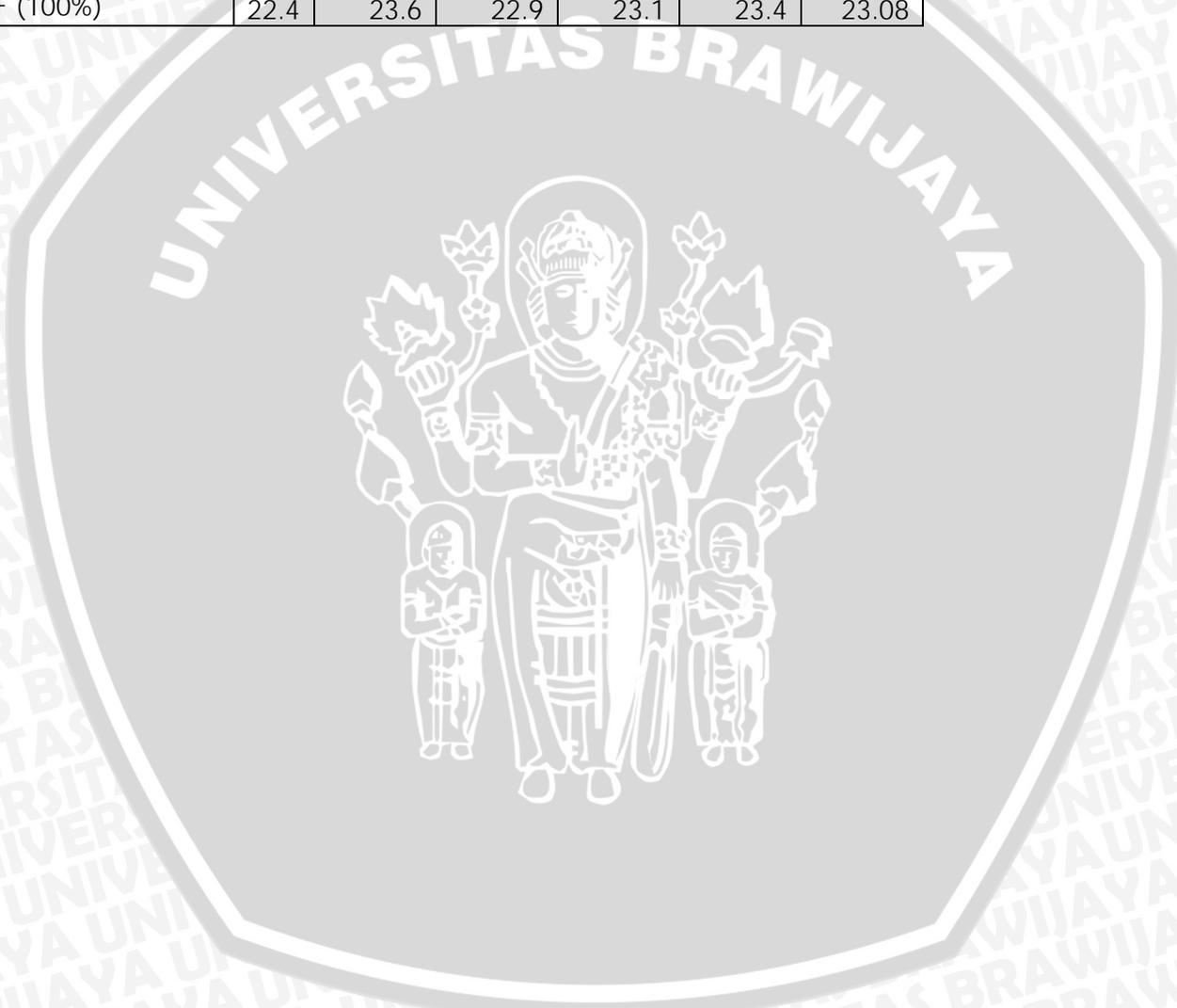
Lampiran 4. Data diameter zona hambat *Salmonella thyposa*

Perlakuan konsentrasi asap cair (%)	Ulangan					
	1	2	3	4	5	rerata
A (0%)	0	0	0	0	0	0
B (20%)	7.3	10.2	10.3	7.9	8.1	8.76
C (40%)	13.2	12.9	14.1	16.1	13.4	13.94
D (60%)	16.1	16.7	13.9	16.3	14.2	15.44
E (80%)	18.4	19.1	18.7	20.1	20.1	19.28
F (100%)	19.8	20.5	21.5	21.1	21.3	20.84



Lampiran 5. Data diameter zona hambat *Morganella morganii*

Perlakuan konsentrasi asap cair (%)	ulangan					rerata
	1	2	3	4	5	
A (0%)	0	0	0	0	0	0
B (20%)	8.7	8.9	10.1	9.2	9.22	9.224
C (40%)	12.8	12.6	16.2	13.9	13.94	13.888
D (60%)	16.4	15.7	16.4	16.1	16.3	16.18
E (80%)	20.5	19.8	21.4	19.9	20.3	20.38
F (100%)	22.4	23.6	22.9	23.1	23.4	23.08



Lampiran 6. Data dan perhitungan analisa respon hambatan pertumbuhan bakteri

Salmonella thyposa

ULANGAN	A	RA	B	RB	C	RC	D	RD	E	RE	F	RF
1	1	4.5	1	4.5	2	12.5	3	20.5	3	20.5	3	20.5
2	1	4.5	2	12.5	2	12.5	3	20.5	3	20.5	4	27.5
3	1	4.5	2	12.5	2	12.5	2	12.5	3	20.5	4	27.5
4	1	4.5	1	4.5	3	20.5	3	20.5	4	27.5	4	27.5
5	1	4.5	1	4.5	2	12.5	2	12.5	4	27.5	4	27.5
Jumlah	5		7		11		13		17		19	
Rata-Rata	1		1.4		2.2		2.6		3.4		3.8	

Kruskal-Wallis Test: RESPON HAMBATAN PERTUMBUHAN BAKTERI *Salmonella thyposa* versus PERLAKUAN

Kruskal-Wallis Test on RESPON HAMBATAN PERTUMBUHAN BAKTERI

PERLAKUAN	N	Median	Ave Rank	Z
A	5	1.000	4.5	-3.06
B	5	1.000	7.7	-2.17
C	5	2.000	14.1	-0.39
D	5	3.000	17.3	0.50
E	5	3.000	23.3	2.17
F	5	4.000	26.1	2.95
Overall	30		15.5	

H = 23.24 DF = 5 P = 0.000
 H = 24.83 DF = 5 P = 0.000 (adjusted for ties)

[P value < 0.05] Maka pemberian konsentrasi asap cair memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap perubahan diameter zona hambat (dilakukan Uji Lanjut)

Uji Lanjut

$$|R_i - R_j| \leq z_{(1 - [\alpha/k(k-1)])} \sqrt{\frac{N(N+1)}{12} \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)}$$

Dimana :

R_i = Rata-rata peringkat dari sampel ke-i

R_j = Rata-rata peringkat dari sampel ke-j

α = 0.15 (menggunakan tabel z)

K = Jumlah faktor perlakuan

n_i = Jumlah faktor perlakuan

n_j = Jumlah panelis

$N = n_i \times n_j$

$$|R_i - R_j| \leq z_{(1 - [\alpha/k(k-1)])} \sqrt{\frac{N(N+1)}{12} \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)}$$

$$z > [\alpha / k(k-1)]$$

$$z > [0.15 / 6(6-1)]$$

$$z > 0.005 = 2.57$$

$$|R_i - R_j| \leq 2.57 \sqrt{\frac{30(30+1)}{12} \left(\frac{1}{6} + \frac{1}{5} \right)}$$

$$|R_i - R_j| \leq 2.57 (\sqrt{23.5})$$

$$|R_i - R_j| \leq 12.46$$

TABEL UJI BEDA

Perlakuan		F	E	D	C	B	A	NOTASI
		4.5	7.7	14.1	17.3	23.3	26.1	
F	4.5	0						a
E	7.7	3.2	0					a
D	14.1	9.6	6.4	0				ab
C	17.3	12.8	9.6	3.2	0			ab
B	23.3	18.8	15.6	9.2	6	0		b
A	26.1	21.6	18.4	12	8.8	2.8	0	b

Lampiran 7. Data dan perhitungan analisa respon hambatan pertumbuhan bakteri

Morganella morganii

ULANGAN	A	RA	B	RB	C	RC	D	RD	E	RE	F	RF
1	1	5.0	1	5.0	2	12.5	3	20.5	4	28.0	4	28.0
2	1	5.0	1	5.0	2	12.5	2	12.5	3	20.5	4	28.0
3	1	5.0	2	12.5	3	20.5	3	20.5	4	28.0	4	28.0
4	1	5.0	1	5.0	2	12.5	3	20.5	3	20.5	4	28.0
5	1	5.0	1	5.0	2	12.5	3	20.5	4	28.0	4	28.0
Jumlah	5		6		11		14		18		20	
Rata-Rata	1		1.2		2.2		2.8		3.6		4.0	

Kruskal-Wallis Test: DIAMETER ZONA HAMBAT versus PERLAKUAN

Kruskal-Wallis Test on DIAMETER

PERLAKUAN	N	Median	Ave Rank	Z
A	5	1.000	5.0	-2.92
B	5	1.000	6.5	-2.50
C	5	2.000	14.1	-0.39
D	5	3.000	18.9	0.95
E	5	3.000	23.5	2.23
F	5	4.000	25.0	2.64
Overall	30		15.5	

H = 23.16 DF = 5 P = 0.000
 H = 25.06 DF = 5 P = 0.000 (adjusted for ties)

[P value < 0.05] Maka pemberian konsentrasi asap cair memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap perubahan diameter zona hambat (dilakukan Uji Lanjut)

Uji Lanjut

$$|R_i - R_j| \leq Z_{(1 - [\alpha/k(k-1)])} \sqrt{\frac{N(N+1)}{12} \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)}$$

Dimana :

R_i = Rata-rata peringkat dari sampel ke-i

R_j = Rata-rata peringkat dari sampel ke-j

$\alpha = 0.15$ (menggunakan tabel z)

$K =$ Jumlah faktor perlakuan

$n_i =$ Jumlah faktor perlakuan

$n_j =$ Jumlah panelis

$N = n_i \times n_j$

$$|R_i - R_j| \leq z_{(1 - [\alpha/k(k-1)])} \sqrt{\frac{N(N+1)}{12} \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)}$$

$$z > [\alpha / k(k-1)]$$

$$z > [0.15 / 6(6-1)]$$

$$z > 0.005 = 2.57$$

$$|R_i - R_j| \leq 2.57 \sqrt{\frac{30(30+1)}{12} \left(\frac{1}{6} + \frac{1}{5} \right)}$$

$$|R_i - R_j| \leq 2.57 (\sqrt{23.5})$$

$$|R_i - R_j| \leq 12.46$$

TABELL UJI BEDA

Perlakuan		F	E	D	C	B	A	Notasi
		5	6.5	14.1	18.9	23.5	25	
F	5	0						a
E	6.5	1.5	0					a
D	14.1	9.1	7.6	0				ab
C	18.9	13.9	12.4	4.8	0			ab
B	23.5	18.5	17	9.4	4.6	0		b
A	25	20	18.5	10.9	6.1	1.5	0	b

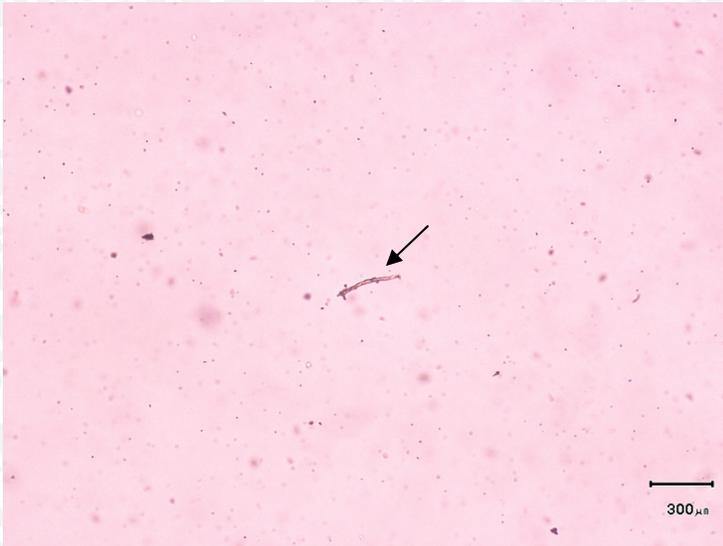
Lampiran 8. Lembar zona hambatan Pada Penelitian Inti

UJI RESPON HAMBATAN PERTUMBUHAN BAKTERI

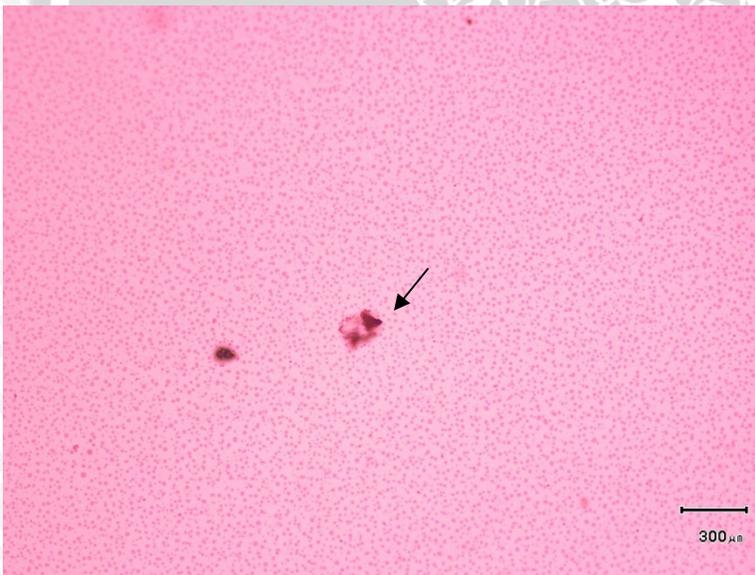
Kode Perlakuan	Diameter Zona terang	Respon Hambatan Pertumbuhan	Skor
A	... > 20 mm	kuat	4
B	16-20 mm	sedang	3
C	10-15mm	lemah	2
D	... <	Tidak ada	1



Lampiran 9. foto mikroskopik *Salmonella thyposa*



Gambar 1. Foto mikroskopik *Salmonella thyposa* pada perlakuan tanpa penambahan asap cair. Tampak koloni sel bakteri hidup setelah inkubasi selama 24 jam.



Gambar 2. Foto mikroskopik *Salmonella thyposa* pada perlakuan penambahan asap cair 80%. Tampak dinding koloni sel bakteri pecah dan bakteri mati setelah inkubasi selama 24 jam.

Data pengujian kadar hambat minimal

Konsentrasi Asap cair (µl/ml)	Ulangan	Pertumbuhan	
		Salmonella thyposa	Morganella morganii
400	1	-	-
	2	-	-
	3	-	-
200	1	+	-
	2	-	-
	3	-	-
100	1	+	-
	2	+	-
	3	+	+
50	1	+	+
	2	++	+
	3	+	+
25	1	++	+
	2	+	+
	3	++	+
12,5	1	+	++
	2	++	++
	3	++	+
6,25	1	++	+
	2	++	++
	3	++	++
3.125	1	++	++
	2	++	++
	3	++	++
0	1	++	++
	2	++	++
	3	++	++

Ket:

- : Jernih (tidak ada pertumbuhan)
- + : Agak keruh (ada sedikit pertumbuhan)
- ++ : Keruh (Pertumbuhan banyak)

Hasil uji kadar bunuh minimal didapatkan bahwa konsentrasi minimal yang dapat membunuh *Salmonella thyposa* adalah 800 µl/ml, sedangkan kadar bunuh minimal untuk *Morganella morganii* adalah 800 µl/ml. Hasil uji ini disajikan pada tabel 14.

Data pengujian kadar bunuh minimal

Konsentrasi (μ l/ml)	Ulangan	Jumlah koloni	
		Salmonella thyposa	Morganella morganii
400	1	11	4
	2	9	5
	3	9	8
200	1		
	2		
	3		
100	1		
	2		
	3		
50	1		
	2		
	3		

Keterangan: - tidak ada pertumbuhan koloni



**Pengujian kadar bunuh minimal dengan konsentrasi asap cair terbaik
800 µl/ml pada bakteri uji**

No. Tabung	ml Asap cair 800µl/ml (v/v)	Ulangan	Pertumbuhan	
			Salmonella thyposa	Morganella morganii
0	0	1	++	++
		2	++	++
		3	++	++
1.	0,1	1	++	++
		2	++	+
		3	++	+
2.	0,2	1	++	-
		2	++	-
		3	+	-
3.	0,3	1	+	-
		2	+	-
		3	+	-
4.	0,4	1	-	-
		2	-	-
		3	-	-
5.	0,5	1	-	-
		2	-	-
		3	-	-
6.	0,6	1	-	-
		2	-	-
		3	-	-
7.	0,7	1	-	-
		2	-	-
		3	-	-
8.	0,8	1	-	-
		2	-	-
		3	-	-
9.	0,9	1	-	-
		2	-	-
		3	-	-
10.	1,0	1	-	-
		2	-	-
		3	-	-

Ket:

- : Jernih (tidak ada pertumbuhan)
- + : Agak keruh (ada sedikit pertumbuhan)
- ++ : Keruh (Pertumbuhan banyak)

Nilai Absorbansi Uji Penghambatan Asap Cair konsentrasi 800 μ l/ml pada Bakteri *Salmonella thyposa*.

No. tabung	ml asap cair 800 μ l/ml	Kekeruhan (nm)		Rata-rata
		I	II	
0	0	0,462	0,459	0,460
1	0,1	0,337	0,331	0,334
2	0,2	0,342	0,427	0,384
3	0,3	0,341	0,335	0,338
4	0,4	0,317	0,312	0,314
5	0,5	0,315	0,312	0,313
6	0,6	0,293	0,291	0,292
7	0,7	0,285	0,279	0,282
8	0,8	0,269	0,270	0,269
9	0,9	0,264	0,268	0,266
10	1	0,248	0,257	0,252

Nilai Absorbansi Uji Penghambatan Asap Cair konsentrasi 800 μ l/ml pada Bakteri *Morganella morganii*.

No. tabung	ml asap cair 800 μ l/ml	Kekeruhan (nm)		Rata-rata
		I	II	
0	0	0,467	0,425	0,446
1	0,1	0,329	0,331	0,330
2	0,2	0,322	0,332	0,327
3	0,3	0,319	0,335	0,327
4	0,4	0,315	0,312	0,313
5	0,5	0,312	0,312	0,312
6	0,6	0,287	0,291	0,289
7	0,7	0,278	0,276	0,277
8	0,8	0,269	0,259	0,264
9	0,9	0,254	0,254	0,254
10	1	0,246	0,249	0,247