

SKRIPSI

**KAJIAN HASIL RISET POTENSI ANTIMIKROBA ALAMI DAN
APLIKASINYA DALAM BAHAN PANGAN DI PUSAT INFORMASI
TEKNOLOGI PERTANIAN FATETA IPB**

**Oleh :
ROSLIANA MAWADDAH
F24104094**



**2008
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR**

Roslina Mawaddah. F24104094. Kajian Hasil Riset Potensi Antimikroba Alami dan Aplikasinya dalam Bahan Pangan di Pusat Informasi Teknologi Pertanian FATETA IPB. Di bawah bimbingan Winiati P. Rahayu dan Siti Nurjanah. 2008.

RINGKASAN

Sesuai dengan perkembangan industri pangan saat ini marak penggunaan bahan pengawet pangan sintetik di kalangan masyarakat maupun industri. Menurut Badan POM RI (2007) pengawet pangan sintetik banyak digunakan tanpa batas penggunaan yang telah ditetapkan. Di lain pihak, penyalahgunaan pengawet sintetik sebagai pengawet pangan menjadi salah satu masalah keamanan pangan di Indonesia. Oleh sebab itu, banyak dilakukan riset untuk mencari alternatif pengawet pangan dari bahan alami, salah satunya berasal dari rempah-rempah. Rempah-rempah dapat digunakan menjadi pengawet pangan karena kandungan komponen antimikroba di dalamnya yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba perusak dan patogen pangan.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kelayakan sumber antimikroba alami dari beberapa hasil riset potensi antimikroba alami yang telah dilakukan, baik rempah sebagai bahan tunggal ataupun aplikasinya dalam sistem pangan. Tahapan yang digunakan dalam kajian ini adalah kajian kepustakaan dengan mengidentifikasi sumber hasil riset potensi antimikroba alami, pengkajian hasil riset aktivitas dan aplikasi antimikroba, rekomendasi kajian riset aktivitas dan aplikasi antimikroba alami, dan verifikasi terhadap hasil kajian kepustakaan mengenai aplikasi antimikroba alami dalam bahan pangan, serta rekomendasi aplikasi antimikroba alami dalam bahan pangan. Hasil riset yang relevan dan tersedia di Pusat Informasi Teknologi Pertanian FATETA IPB adalah sebanyak 28 laporan riset, terdiri dari 23 skripsi, 2 tesis, dan 3 disertasi.

Rempah yang telah diteliti sebanyak 18 jenis rempah yaitu jahe, bawang putih, kunyit, lengkuas, temukunci, jintan hitam, pala, picung, sirih, beluntas, salam, andaliman, cabe merah, sotul, kecombrang, kayu manis, mesoyi, dan kedawung. Sebanyak 10 jenis rempah hanya diteliti mengenai aktivitasnya dalam menghambat mikroba sebagai bahan tunggal. Rempah tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif, bakteri Gram negatif, kapang, dan kamir dengan tingkat penghambatan yang berbeda. Delapan jenis lainnya telah diteliti tentang pengaruhnya dalam memperpanjang umur simpan dalam sistem pangan.

Jahe efektif menghambat bakteri, kapang, dan kamir. Bawang putih dapat menghambat kapang dan kamir. Kunyit, lengkuas, daun sirih, dan kecombrang dapat menghambat bakteri dan kapang. Picung, pala, daun salam, andaliman, sotul, cabe merah dapat menghambat bakteri. Berdasarkan tingkat efektivitas dan ketersediaan terdapat 8 jenis rempah yang layak untuk direkomendasikan sebagai pengawet pangan yaitu jahe, bawang putih, kunyit, lengkuas, daun sirih, cabe merah, pala, dan kecombrang. Beberapa antimikroba tersebut yang telah diaplikasikan dalam bahan pangan untuk pengawet mie basah adalah bawang putih, kunyit, lengkuas, pala, dan kecombrang. Rempah lain yang telah diteliti aktivitasnya dalam memperpanjang umur simpan mie basah adalah temukunci, daun salam, dan kayu manis.

Antimikroba alami dari rempah-rempah yang dinyatakan layak dan belum diaplikasikan dalam bahan pangan dapat direkomendasikan untuk dilakukan

penelitian lanjut mengenai aplikasinya dalam bahan pangan, sedangkan hasil riset aplikasi antimikroba alami pada bahan pangan yang memenuhi persyaratan standar berdasarkan SNI telah diverifikasi. Hasilnya menunjukkan antimikroba alami (bawang putih, kunyit, lengkuas, kecombrang, dan daun salam) yang diaplikasikan dalam mie basah mentah dinyatakan tidak efektif karena hanya dapat menghambat total kapang dan tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Penambahan bubuk fuli pala 10 mg/g dari berat total terigu yang digunakan hanya dapat memperpanjang umur simpan mie basah matang terhadap kontrol sebesar 3.02 jam, sedangkan perpanjangan umur simpan mie basah matang pada penelitian sebelumnya sebesar 7.84 jam. Perbedaan ini disebabkan karena perbedaan jumlah total mikroba awal yang ada pada mie basah matang.

**KAJIAN HASIL RISET POTENSI ANTIMIKROBA ALAMI DAN
APLIKASINYA DALAM BAHAN PANGAN DI PUSAT INFORMASI
TEKNOLOGI PERTANIAN FATETA IPB**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN

Pada Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan

Fakultas Teknologi Pertanian

Institut Pertanian Bogor

Oleh :

ROSLIANA MAWADDAH

F24104094

2008

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN

INSTITUT PERTANIAN BOGOR

BOGOR
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN

**KAJIAN HASIL RISET POTENSI ANTIMIKROBA ALAMI DAN
APLIKASINYA DALAM BAHAN PANGAN DI PUSAT INFORMASI
TEKNOLOGI PERTANIAN FATETA IPB**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN

Pada Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan

Fakultas Teknologi Pertanian

Institut Pertanian Bogor

Oleh :

ROSLIANA MAWADDAH

F24104094

Dilahirkan pada tanggal 26 Desember 1986

di Jakarta

Tanggal Lulus :

Menyetujui,

Bogor, 12 September 2008

Prof. Dr. Winiati P. Rahayu
Dosen Pembimbing I

Siti Nurjanah, STP. MSi
Dosen Pembimbing II

Mengetahui,

Dr. Ir. Dahrul Syah, MSc
Ketua Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Jakarta pada tanggal 26 Desember 1986. Penulis adalah anak pertama dari tiga bersaudara, dari pasangan Nurochim dan Husnul Latifah. Penulis menyelesaikan pendidikan dasar pada tahun 1998 di SDN Kebon Jeruk 01 Pagi Jakarta kemudian melanjutkan pendidikan menengah pertama di SMPN 75 Kebon Jeruk Jakarta hingga tahun 2001. Penulis menamatkan pendidikan menengah atas di SMUN 70 Jakarta pada tahun 2004. Penulis melanjutkan pendidikan tinggi di Institut Pertanian Bogor Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian melalui jalur SPMB pada tahun 2004.

Selama menjalani studi di Institut Pertanian Bogor, penulis aktif di berbagai kegiatan dan organisasi kemahasiswaan, diantaranya menjadi pengurus Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) sebagai anggota staff Hubungan Eksternal, staff Kajian Pangan Halal Forum Bina Islami FATETA, staff *Food Processing Club* HIMITEPA tahun 2005, panitia Lepas Landas Sarjana tahun 2005, panitia *Fun With English Competition* (2006), panitia BAUR tahun 2006, panitia *National Student Paper Competition* tahun 2005, dan peserta *Field Trip* Jawa-Bali ITP-41 tahun 2007. Penulis juga pernah menjadi asisten praktikum Kimia Dasar TPB IPB tahun 2006-2008, tutor privat Matematika Dasar tahun 2006-2007, dan mengikuti program Kuliah Kerja Nyata (KKN) tahun 2007.

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pertanian, penulis menyusun skripsi dengan judul “Kajian Hasil Riset Antimikroba Alami dan Aplikasinya dalam Bahan Pangan di Pusat Informasi Teknologi Pertanian FATETA IPB” di bawah bimbingan Prof. Dr. Winiati P. Rahayu dan Siti Nurjanah, STP., MSi.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur dipanjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmatNya sehingga skripsi yang berjudul “ Kajian Hasil Riset Potensi Antimikroba Alami dan Aplikasinya dalam Bahan Pangan di Pusat Informasi Teknologi Pertanian FATETA IPB” dapat penulis selesaikan. Skripsi ini merupakan pelaksanaan tugas akhir untuk mendapatkan gelar Sarjana Teknologi Pertanian pada Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

Selama melaksanakan penelitian hingga skripsi ini selesai tentunya telah mendapatkan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibunda dan ayahanda yang sangat ku cintai, yang tiada henti-hentinya memberikan kasih sayang, do'a, nasihat, dan dukungan kepada penulis.
2. Prof. Dr. Winiati P. Rahayu sebagai dosen pembimbing I yang telah membimbing dan menemani penulis selama berjuang di masa kuliah, saat penelitian hingga penulisan skripsi ini, atas bimbingan, nasihat, motivasi, dan pelajaran yang sangat berarti yang tak akan pernah terlupakan.
3. Siti Nurjanah, STP, MSc sebagai dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, nasihat, motivasi dan pelajaran dalam penulisan skripsi ini.
4. Dr. Ir. Yadi Haryadi, MSc. sebagai dosen penguji yang telah memberikan saran dan pendapat dalam penulisan skripsi ini.
5. Pusat Riset Obat dan Makanan Badan POM RI atas saran dan pembinaannya dalam pembuatan skripsi ini.
6. Adikku Rosita Mahmudah dan Amalia Hikmayanti yang telah memberikan kasih sayang, dukungan, dan do'a kepada penulis.
7. Aditya Prameswara, ST yang telah memberikan dukungan, kasih sayang, do'a, kesabaran, dan perhatian selama ini.
8. Om, tante, dan Anindya Prameswari yang telah memberikan do'a dan dukungan kepada penulis.
9. Dr. Ir. Lilis Nuraida, MSc., Dra. Suliantari, MS., Mba Ari, Siti Sofah, Bi Entin, Bu Tri, Pak Deny, Pak Junaedi, Mba Ani, Bu Sri, Bi Sari, Pak Rojak,

Pak Topik, Mba Hana, dan Mba Ira yang membantu dalam pelaksanaan Penelitian di Seafast Center, IPB.

10. Fina 'ITP 41 dan Nurina 'FKH 41 beserta chachay terima kasih atas kesediaannya menerimaku untuk menginap selama penelitian.
11. Saudara seperjuanganku Apriliana C., Arif Murtaqi, dan Jamal Lulail yang dalam suka dan duka menjalani empat tahun ini. Terima kasih atas persahabatan, persaudaraan, dan kerjasamanya selama ini.
12. Teman-temanku di Salsabilla Arum, Tika, Riska, Tia, Arin, Elsha, Sandra, Lulus, Icha, Baby, Siti, dll terima kasih atas dukungannya selama ini.
13. Teman-temanku : Ihsaniati, Inke, Ety, Mega, Nona, Dini, Chie2, Sisi, Ririn, Dyah, N-duterz (Aldilla, Amelia, Novia, Gina, Wa Odhe), Ofa, Rapper, Shofi, Aris, Nanang, Iqbal, Jambros, Dodi, Yuli, Umul, Arief Fadli, Wachyu, Sukma, Rani, Netha, Lia, Tenni, Citra, dll.
14. Rekan-rekanku di Lab. Seafast (Dhieta P "Sisi", Riska, Astrida "Auu", Edy "Echy", Anca, Chabib, Mas Ayusta, dan Mas Arief).
15. Teman-temanku di Rozzelt : Kani, Arief Sadikin, Rizqia, Eka F., Dyah, Sofyan, Gema, Fina, dan Kurnia. Terima kasih atas kerjasamanya dalam mengembangkan bisnis minuman RTD ini.
16. Rekan-rekanku di Praktikum Terpadu "Guava Juice".
17. Kepengurusan BEM FATETA 2006/2007.
18. Rekan-rekan HUBEX (Hubungan Eksternal) BEM FATETA 2006/2007 (Irfan, Bambang, Aang, Rara, Kochan, Rizqi, Bayu, dan Indra).
19. Senior 70-ku Adjeng '39 dan Dion'40 terima kasih atas saran dan bahan slide kuliah selama perkuliahan serta TPG 38, TPG 39, dan TPG 40 lainnya.
20. Teman-temanku ITP 41, 42 dan 43.
21. Pegawai perpustakaan PITP, LSI, dan PAU.
22. Serta teman-temanku dan pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangannya. Semoga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi semua pihak.

Bogor, September 2008

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RIWAYAT HIDUP	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
 I. PENDAHULUAN	 1
A. LATAR BELAKANG	1
B. TUJUAN	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	3
A. KERUSAKAN PANGAN DAN PENCEGAHANNYA	3
1. Penyebab Kerusakan Pangan	3
2. Tanda-Tanda Kerusakan Pangan.....	4
3. Pencegahan Kerusakan Pangan.....	5
B. SENYAWA DAN AKTIVITAS ANTIMIKROBA	6
1. Senyawa Antimikroba	6
a. Senyawa Terpenoid	8
b. Senyawa Alkaloid.....	8
c. Senyawa Fenolik	8
2. Ekstraksi Senyawa Antimikroba	9
3. Aktivitas Antimikroba	11
4. Pengukuran Aktivitas Antimikroba.....	13
III. METODOLOGI PENELITIAN	16
A. KAJIAN KEPUSTAKAAN	16
1. Identifikasi Sumber Informasi Antimikroba Alami	16
2. Pengkajian Data Hasil Riset Aktivitas Antimikroba Alami	16
3. Rekomendasi Kajian Riset Antimikroba Alami	18
B. VERIFIKASI HASIL KAJIAN KEPUSTAKAAN.....	18
1. Bahan dan Alat.....	18

2. Metode	19
3. Analisis	20
a. Analisis Total Mikroba dan Total Kapang	20
b. Analisis Organoleptik	21
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
A. KAJIAN KEPUSTAKAAN	23
1. Identifikasi Sumber Informasi Antimikroba Alami	23
2. Bagian Tanaman sebagai Sumber Antimikroba Alami	25
3. Cara Memperoleh Senyawa Antimikroba	25
a. Langsung	25
b. Ekstraksi.....	26
1). Jenis Pelarut	26
2). Metode Ekstraksi.....	28
4. Metode Pengujian Aktivitas Antimikroba	29
5. Efektivitas Antimikroba Alami Terhadap Mikroba Perusak dan Patogen Pangan.....	30
6. Kelayakan Rempah-Rempah sebagai Antimikroba Alami.....	41
7. Rekomendasi Kajian Riset Antimikroba Alami	43
8. Aplikasi Antimikroba Alami dalam Bahan Pangan	44
9. Rekomendasi Kajian Riset Aplikasi Antimikroba Alami.....	50
B. VERIFIKASI HASIL KAJIAN KEPUSTAKAAN	51
1. Total Mikroba Mie Basah Matang Selama Penyimpanan	51
2. Total Kapang Mie Basah Matang Selama Penyimpanan	54
3. Uji Organoleptik.....	55
V. KESIMPULAN	59
A. KESIMPULAN	59
B. SARAN	60
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN	66

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Rincian sumber informasi hasil riset antimikroba alami.....	23
Tabel 2. Rincian kajian riset antimikroba alami.....	24
Tabel 3. Bagian tanaman sebagai sumber antimikroba alami.....	25
Tabel 4. Penggunaan berbagai jenis pelarut dalam ekstraksi.....	27
Tabel 5. Penggunaan berbagai metode ekstraksi.....	28
Tabel 6. Penggunaan metode kontak dan metode sumur dalam penentuan aktivitas antimikroba.....	30
Tabel 7. Mikroba yang dapat dihambat oleh rempah-rempah	31
Tabel 8. Mikroba perusak dan patogen pangan.....	32
Tabel 9. Sumber antimikroba yang digunakan untuk menguji daya hambat terhadap mikroba perusak dan patogen pangan.....	33
Tabel 10. Komponen antimikroba yang terdapat di dalam rempah-rempah..	34
Tabel 11. Konsentrasi minimum antimikroba alami dalam menghambat bakteri.....	36
Tabel 12. Konsentrasi minimum antimikroba alami dalam menghambat kapang dan kamir.....	40
Tabel 13. Kelayakan sumber antimikroba alami.....	42
Tabel 14. Alternatif topik riset lanjutan.....	43
Tabel 15. Hasil riset antimikroba yang layak untuk dikembangkan.....	44
Tabel 16. Aplikasi rempah-rempah sebagai pengawet bahan pangan	45
Tabel 17. Efektivitas antimikroba alami terhadap total kapang mie basah mentah.....	47
Tabel 18. Efektivitas antimikroba alami terhadap total mikroba mie basah matang.....	49
Tabel 19. Efektivitas antimikroba alami terhadap total kapang mie basah matang.....	49
Tabel 20. Alternatif pangan lain yang dapat diawetkan.....	51

Tabel 21. Perbandingan umur simpan mie basah matang hasil verifikasi dan <i>reference</i> terhadap total mikroba berdasarkan pengamatan subjektif dan objektif	54
--	----

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Diagram alir pelaksanaan kajian antimikroba alami	17
Gambar 2. Diagram alir pembuatan dan penyimpanan mie basah matang.	19
Gambar 3. Pengaruh penambahan bubuk fuli pala dan garam hasil verifikasi dan <i>reference</i> terhadap total mikroba mie basah matang.....	52
Gambar 4. Grafik persamaan garis lurus nilai total mikroba mie basah matang hasil verifikasi maupun <i>reference</i>	53
Gambar 5. Pengaruh penambahan bubuk fuli pala dan garam hasil verifikasi dan <i>reference</i> terhadap total kapang mie basah matang.....	55
Gambar 6. Pengaruh penambahan bubuk fuli pala dan garam hasil verifikasi dan <i>reference</i> terhadap rasa, aroma, tekstur, warna, dan <i>overall</i> mie basah matang.....	56

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Identifikasi Sumber Antimikroba Alami	66
Lampiran 2. Antimikroba alami yang bersumber dari rimpang dan umbi-umbian.....	68
Lampiran 3. Antimikroba alami yang bersumber dari biji-bijian.....	70
Lampiran 4. Antimikroba alami yang bersumber dari daun.....	71
Lampiran 5. Antimikroba alami yang bersumber dari buah.....	73
Lampiran 6. Antimikroba alami yang bersumber dari bunga.....	75
Lampiran 7. Antimikroba alami yang bersumber dari kulit.....	76
Lampiran 8. Antimikroba alami yang diaplikasikan sebagai pengawet mie basah mentah.....	78
Lampiran 9. Antimikroba alami yang diaplikasikan sebagai pengawet mie basah matang.....	79
Lampiran 10. Metode Pembuatan dan Analisis Mie Basah Matang <i>Reference</i>	83
Lampiran 11. Jumlah total mikroba mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala 0% dan garam 4% (kontrol) hasil verifikasi.....	86
Lampiran 12. Jumlah total mikroba mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala 0% dan garam 4% (kontrol) <i>reference</i>	87
Lampiran 13. Jumlah total mikroba mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala 1% dan garam 4% hasil verifikasi.....	88
Lampiran 14. Jumlah total mikroba mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala 1% dan garam 4% <i>reference</i> ...	89
Lampiran 15. Jumlah total kapang mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala 0% dan garam 4% (kontrol) hasil verifikasi.....	90

Lampiran 16. Jumlah total kapang mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala 0% dan garam 4% (kontrol) <i>reference</i>	91
Lampiran 17. Jumlah total kapang mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala 1% dan garam 4% hasil verifikasi.....	92
Lampiran 18. Jumlah total kapang mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala 1% dan garam 4% <i>reference</i>	93
Lampiran 19. Hasil analisis sidik ragam uji hedonik rasa mie basah matang.....	94
Lampiran 20. Hasil analisis sidik ragam uji hedonik aroma mie basah matang.....	95
Lampiran 21. Hasil analisis sidik ragam uji hedonik tekstur mie basah matang.....	96
Lampiran 22. Hasil analisis sidik ragam uji hedonik warna mie basah matang.....	97
Lampiran 23. Hasil analisis sidik ragam uji hedonik <i>overall</i> mie basah matang.....	98
Lampiran 24. Nilai rata-rata kesukaan mie basah matang <i>reference</i>	99

I. PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Pangan merupakan salah satu kebutuhan dasar manusia yang terpenting sehingga harus aman, layak, dan bermutu. Pangan menjadi layak atau tidak dikonsumsi tidak terlepas dari ada tidaknya mikroba perusak dan patogen pangan. Mikroba tersebut dapat terkandung di dalam makanan disebabkan karena kontaminasi pada bahan pangan selama proses pengolahan dan penyimpanan. Selama penyimpanan, pangan seringkali mengalami kerusakan dan mungkin berbahaya bagi kesehatan manusia. Salah satu cara untuk mengatasi hal tersebut adalah dengan menambahkan bahan aditif berupa zat antimikroba sebagai pengawet pangan.

Bahan pengawet pangan adalah bahan tambahan pangan yang mencegah atau menghambat fermentasi, pengasaman atau penguraian lain terhadap makanan yang disebabkan oleh mikroba (Depkes, 1988). Bahan pengawet umumnya juga digunakan untuk mengawetkan pangan yang memiliki sifat mudah rusak atau pangan yang disukai sebagai medium tumbuhnya kapang, jamur, dan bakteri.

Pengawet pangan dibagi menjadi dua yaitu sintetik dan alami. Pengawet sintetik dibagi menjadi organik dan anorganik. Asam sorbat, asam propionat, asam benzoat, asam asetat, dan epoksida termasuk zat organik. Zat pengawet anorganik adalah sulfit, nitrat, dan nitrit. Pengawet sintetik mempunyai risiko terhadap kesehatan jika digunakan secara tidak tepat. Sedangkan pengawet alami dapat berasal dari tumbuhan maupun hewan dan memiliki jenis yang sangat banyak, serta umumnya tidak berbahaya. Pengawet alami dari tumbuhan yang sering diaplikasikan dalam bahan pangan adalah rempah-rempah.

Rempah-rempah adalah tanaman atau bagian dari tanaman yang dapat berupa kulit, bunga, buah, akar, daun, rimpang, biji, umbi, pucuk daun, maupun bagian lainnya yang dapat digunakan sebagai bahan obat-obatan, wangi-wangian, kosmetika, dan produk industri lainnya. Selain berfungsi sebagai bahan pemberi citarasa (*flavoring agent*), rempah-rempah juga

mempunyai sifat antimikroba. Efek penghambatan terhadap pertumbuhan mikroba oleh suatu jenis rempah-rempah bersifat khas. Hal ini disebabkan oleh perbedaan kandungan dan jenis senyawa antimikroba dalam setiap rempah-rempah. Komponen minyak atsiri yang terkandung dalam rempah-rempah memiliki aktivitas antimikroba yang dapat menghambat atau membunuh mikroba (Dorman dan Deans, 2000).

Beberapa jenis rempah-rempah yang diketahui memiliki aktivitas antimikroba antara lain bawang putih, kunyit, jahe, lengkuas, pala, picung (kluwak), jintan, cabe merah, andaliman, sotul, daun salam, daun sirih, kayu manis, kecombrang, dan kedawung.

Riset mengenai rempah dilakukan di Pusat Informasi Teknologi Pertanian FATETA IPB, karena riset tersebut sudah beragam dan jumlahnya sudah cukup banyak untuk dikaji. Hasil riset menunjukkan bahwa sejumlah rempah ternyata mempunyai potensi antimikroba dan dapat pula diaplikasikan sebagai pengawet pada bahan pangan nabati. Namun, banyak hasil riset mengenai sumber antimikroba dari rempah-rempah yang telah terangkum dalam sebuah karya tulis hanya menjadi koleksi dan pajangan untuk mengisi lemari buku di perpustakaan dan masih jarang yang mengkaji hingga tahap pengaplikasian dalam bahan pangan sehingga belum dapat diketahui apakah komponen tersebut layak digunakan sebagai pengawet pangan dan memiliki peluang sebagai alternatif pengawet pangan alami. Oleh karena itu, diperlukan pengkajian mengenai efektivitas antimikroba alami agar dapat diaplikasikan sebagai pengawet pangan.

B. TUJUAN

Penelitian ini bertujuan mengkaji hasil riset antimikroba yang bersumber dari rempah, sehingga hasil riset yang dinyatakan layak dapat dimanfaatkan oleh masyarakat luas sebagai pengawet pangan. Sasaran yang ingin dicapai dari pengkajian ini adalah merekomendasikan hasil kajian riset kepada kalangan yang mempunyai kepentingan atau membutuhkan informasi mengenai antimikroba, khususnya mengenai aplikasi rempah sebagai antimikroba alami dalam bahan pangan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. KERUSAKAN PANGAN DAN PENCEGAHANNYA

1. Penyebab Kerusakan Pangan

Bahan pangan disebut busuk atau rusak jika sifat-sifatnya telah berubah sehingga tidak dapat diterima lagi oleh panca indera. Kerusakan yang terjadi pada bahan pangan dapat berupa penyimpangan susunan kimia bahan, tekstur maupun struktur bahan, penyimpangan pada bentuk penampakan, warna atau rasa, dan bau yang menyimpang.

Jika ditinjau dari penyebab kerusakan bahan hasil pertanian, kerusakan tersebut dapat dibagi menjadi beberapa jenis, yaitu kerusakan fisik, fisiologis, mekanis, biologis, mikrobiologis, dan kimia. Kerusakan fisik disebabkan akibat perlakuan fisik yang digunakan misalnya terjadinya *case hardening* dalam pengeringan, *chilling injuries* dan *freezing injuries* dalam pendinginan. Kerusakan fisiologis disebabkan oleh reaksi-reaksi metabolisme dalam bahan atau oleh enzim-enzim yang terdapat di dalamnya secara alamiah sehingga terjadi proses autokatalisis yang berakhir dengan kerusakan dan pembusukan. Kerusakan mekanis disebabkan adanya benturan-benturan mekanis, misalnya benturan antar bahan-bahan itu sendiri atau karena benturan alat dengan bahan tersebut. Kerusakan biologis disebabkan oleh serangga, binatang pengerat, burung, dan hewan lainnya. Kerusakan mikrobiologis merupakan bentuk kerusakan yang banyak merugikan hasil pertanian serta terkadang menyebabkan bahaya terhadap kesehatan manusia. Menurut Fardiaz, dkk., 1988 kerusakan bahan pangan terutama disebabkan oleh mikroba pembusuk yang memanfaatkan bahan pangan tersebut untuk metabolismenya. Dengan demikian, semakin tinggi populasi mikroba pembusuk di dalam pangan, maka semakin besar kemungkinan kerusakan bahan pangan tersebut. Perubahan yang tidak diinginkan dalam bahan pangan dapat juga diakibatkan oleh terbentuknya racun yang dieksresi oleh mikroba. Kerusakan kimiawi biasanya saling berhubungan dengan kerusakan lain, misalnya adanya panas yang tinggi

pada pemanasan minyak mengakibatkan rusaknya beberapa asam lemak (*thermal oxidation*). Adanya oksigen dalam minyak menyebabkan terjadinya oksidasi asam lemak tidak jenuh yang mengakibatkan pemecahan senyawa tersebut atau menyebabkan terjadinya ketengikan minyak.

2. Tanda-Tanda Kerusakan Pangan

Tanda-tanda kerusakan pangan dapat ditandai dengan adanya perubahan tekstur, warna, dan aroma, seperti sebagai berikut :

a. Perubahan tekstur

Pembusukan dapat diartikan sebagai bentuk kerusakan dari produk pangan dengan tekstur yang cukup baik seperti buah-buahan dan sayuran yang pertumbuhan mikroba di dalamnya merusak bagian-bagian struktur bahan pangan sehingga menjadi produk yang sangat lunak dan berlendir serta menimbulkan tekstur yang menyimpang dari kondisi normal. Pelunakan tekstur yang terjadi (contohnya pada sayuran) disebabkan karena pertumbuhan *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas marginalis*, dan *Sclerotinia sclerotiorum* dan perubahan kekenyalan pada produk-produk daging dan ikan dapat disebabkan pemecahan struktur daging oleh berbagai bakteri. Kondisi anaerobik akan terbentuk di dalam bahan pangan yang tercemar seperti pada pengalengan daging dan sayuran yang diolah secara kurang sempurna yang akan mempercepat terjadi pembusukan selama penyimpanan. Pembentukan lendir pada bahan pangan dikaitkan dengan pembentukan bahan kapsul oleh mikroba, sedangkan pada beberapa bahan pangan lainnya dapat disebabkan oleh hidrolisis dari pati dan protein untuk menghasilkan bahan bersifat lekat yang tidak berbentuk kapsul. Lendir terbentuk karena pertumbuhan mikroba seperti *Leuconostoc mesenteroides*, *Bacillus subtilis*, dan *Lactobacillus plantarum* pada permukaan bahan pangan yang basah seperti sayuran, daging, dan ikan. Selain bahan pangan tersebut, lendir ini dapat terbentuk pada bahan pangan lain seperti misalnya minuman ringan, anggur, cuka, susu, dan roti.

b. Perubahan warna

Perubahan warna terjadi karena mikroba yang menghasilkan koloni-koloni berwarna atau mempunyai pigmen yang dapat memberi warna baik di dalam maupun di permukaan bahan pangan yang tercemar. Mikroba tersebut antara lain: *Serratia mercescens* dan *Rhodotorulla* yang memberikan warna merah, spesies *Penicillium* yang memberikan warna hijau, *Pseudomonas fluorescens* yang memberikan warna hijau dengan *fluorescens*, dan *Aspergillus niger* yang memberikan warna hitam. Permukaan bahan pangan yang menjadi berbulu dan berwarna hitam sebagai hasil produksi miselium dan spora kapang yang melapisi permukaan bahan pangan. Perubahan warna pada sayuran dan buah-buahan menjadi kecokelatan dapat dikarenakan reaksi *browning* secara enzimatis atau non-enzimatis. Karamelisasi gula pada suhu tinggi yang membentuk warna yang tidak diinginkan yaitu warna coklat dan aroma gosong. Perubahan warna pada beberapa jenis pigmen seperti khlorofil dan antosianin disebabkan oleh perubahan pH.

c. Perubahan aroma

Perubahan aroma dapat ditimbulkan oleh berbagai bakteri karena terbentuknya amonia, H_2S , Indol, dan senyawa-senyawa amin seperti diamin kadaverin dan putresin yang dapat menimbulkan aroma busuk dan terbentuknya trimetilamin (TMA) dan histamin yang menyebabkan bau anyir pada ikan. Perubahan aroma yang terjadi pada minyak goreng dapat berupa ketengikan disebabkan oleh hasil oksidasi asam lemak tidak jenuh dalam minyak goreng. Dekomposisi anaerobik dari protein menjadi peptida atau asam-asam amino yang terjadi pada bahan pangan berprotein juga dapat menimbulkan bau busuk karena terbentuknya hidrogen sulfida, amonia, metil sulfida, amin, dan senyawa-senyawa bau lainnya.

3. Pencegahan Kerusakan Pangan

Cara pencegahan kerusakan pangan antara lain: (1) pencegahan kerusakan fisika-kimia dengan cara menghindari pengaruh panas, cahaya, dan oksigen terhadap vitamin dan komponen lain yang penting dari bahan

pangan; (2) pencegahan kerusakan fisiologis dengan cara memperlambat proses metabolisme (kontrol suhu atau oksigen); (3) pencegahan kerusakan mekanis dengan cara pemanenan yang hati-hati, pengepakan yang baik, penggunaan bantalan di tepi wadah atau antara bahan, dan pengangkutan yang baik; (4) pencegahan kerusakan biologis dengan cara menerapkan cara penggudangan yang tepat dan higienis; dan (5) pencegahan kerusakan mikrobiologis dengan mencegah terjadinya kontaminasi, mencegah pertumbuhan mikroba dengan mengganggu lingkungan hidupnya, dan membunuh mikroba pembusuk dengan eliminasi secara sebagian maupun eliminasi secara total. Selain itu, pencegahan terhadap terjadinya perbanyakan atau pertumbuhan mikroba pada masa simpan tertentu dari bahan pangan dapat pula dilakukan dengan penambahan senyawa antimikroba.

B. SENYAWA DAN AKTIVITAS ANTIMIKROBA

Antimikroba merupakan senyawa biologis atau kimia yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri atau kapang (bakteristatik atau fungistatik) atau membunuh bakteri atau kapang (bakterisidal atau fungisidal). Zat aktif yang terkandung dalam berbagai jenis ekstrak tumbuhan diketahui dapat menghambat beberapa mikroba patogen maupun perusak pangan. Senyawa antimikroba memiliki aktivitas penghambatan terhadap mikroba yang berbeda-beda. Ekstraksi senyawa antimikroba juga mempengaruhi aktivitas antimikroba dalam menghambat mikroba perusak dan patogen pangan.

1. Senyawa Antimikroba

Salah satu jenis bahan pangan yang mengandung senyawa antimikroba sebagai pengawet pangan alami adalah rempah-rempah. Rempah-rempah menurut Farrell (1990) didefinisikan sebagai bahan yang dikeringkan, dan merupakan tanaman atau bagian dari tanaman baik dalam bentuk utuh atau potongan, serta lebih berfungsi sebagai bahan penyedap rasa dibandingkan untuk meningkatkan nilai gizi suatu pangan, dan dapat berupa kulit kayu, pucuk, umbi, bunga, buah, daun, rimpang, akar atau biji tanaman. Sumber

antimikroba dari rempah-rempah tersebut antara lain rimpang (jahe, kunyit, lengkuas), umbi (bawang putih dan bawang merah), biji (jintan hitam, lada, cengkeh, picung), daun (salam dan sirih), buah (andaliman, antarasa, cabe merah, pala, dan sotul), bunga (kecombrang), dan kulit (kayu manis, kayu mesoyi, dan kedawung).

Senyawa antimikroba yang berasal dari tanaman, sebagian besar diketahui merupakan metabolit sekunder tanaman, terutama golongan fenolik dan terpenoid dalam minyak atsiri. Menurut Herbert (1995), sebagian besar metabolit sekunder dibiosintesis dari banyak metabolit primer seperti dari asam-asam amino, asetil ko-A, asam mevalonat, dan metabolit antara. Beberapa senyawa yang bersifat antimikroba alami berasal dari tanaman diantaranya adalah fitoleksin, asam organik, minyak esensial (atsiri), fenolik, dan beberapa kelompok pigmen tanaman atau senyawa sejenis (Nychas dan Tassou, 1999).

Oleoresin adalah suatu gugusan kimiawi yang terdapat dalam tanaman dan cukup kompleks persenyawaannya (Rismunandar, 1988). Oleoresin terdiri dari minyak atsiri, resin organik larut, dan bahan lainnya yang terdapat di dalam rempah dan juga asam lemak non volatil (Farrell 1990). Menurut Ketaren (1987), minyak atsiri terutama terdiri dari persenyawaan kimia mudah menguap (volatil), termasuk golongan hidrokarbon asiklik dan hidrokarbon isosiklik serta turunan hidrokarbon yang telah mengikat oksigen. Beberapa persenyawaan mengandung nitrogen dan belerang. Minyak atsiri mempunyai kelebihan antara lain higienis, kualitas aroma konsisten, tidak memberikan pengaruh warna pada produk, bebas enzim dan tanin, dan stabil dalam penyimpanan. Fraksi minyak atsiri merupakan senyawa antimikroba paling umum yang terdapat di dalam tanaman yang diperoleh dari bahan tanaman melalui destilasi uap dan atau dengan perlakuan dingin dan destilasi vakum (Farrell, 1990). Senyawa-senyawa dalam minyak atsiri tersebut dapat digolongkan ke dalam 4 kelompok besar yang dominan menentukan sifat minyak atsiri yaitu terpenoid, persenyawaan berantai lurus, tidak mengandung rantai cabang, turunan benzena, dan bermacam-macam persenyawaan lainnya. Selain senyawa yang terdapat

dalam minyak atsiri, terdapat pula senyawa lain yang memiliki aktivitas antimikroba seperti senyawa alkaloid dan fenolik.

a. Senyawa Terpenoid

Terpenoid mencakup sejumlah besar senyawa tanaman dan dikenal sebagai salah satu senyawa utama dalam tanaman yang menyusun minyak atsiri. Minyak atsiri merupakan metabolit sekunder yang kaya akan senyawa dengan struktur isopren dan terdapat dalam bentuk diterpen, triterpen, tetraterpen, hemiterpen, dan sesquiterpen. Zat inilah yang menyebabkan timbulnya wangi, harum, atau bau yang khas pada banyak tanaman (Harborne, 1996). Senyawa terpenoid yang mempunyai aktivitas antimikroba menurut Conner (1993) antara lain borneol, sineol, pinene, kamfene, dan kamfor.

b. Senyawa Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan terbesar dari metabolit sekunder tanaman. Menurut Harborne (1996) alkaloid terkadang beracun bagi manusia dan memiliki banyak kegiatan fisiologi yang menonjol sehingga digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Semua alkaloid mengandung setidaknya 1 buah atom nitrogen. Sebagian besar alkaloid dibentuk dari asam-asam amino seperti lisin, ornitin, fenilalanin, tirosin, dan tritofan. Beberapa jenis lain berupa senyawa aromatik seperti kolkhisina yang mengandung gugus basa sebagai gugus rantai samping.

c. Senyawa Fenolik

Menurut Gould (1995) senyawa fenolik merupakan substansi yang mempunyai cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil dan alkil. Senyawa fenolik dikelompokkan menjadi tiga, antara lain (1) fenol sederhana (vanilin, gingerol, shogaol, gualakol, dan eugenol) dan asam fenol (p-kresol, 3-etilfenol, hidrokuinon, asam galat, dan siringit), (2) turunan asam hidroksisinamat (p-kumarin, kafein, dan ferulin), dan (3) flavonoid (antosianin, flavonon, flavanon, flavanol, dan tanin).

Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenolik. Sebagian besar senyawa fenolik dan minyak atsiri dan terutama kumarin, flavonoid yang ditemukan di dalam tanaman obat, tanaman jamu, dan rempah-rempah, memiliki fungsi sebagai antimikroba.

2. Ekstraksi Senyawa Antimikroba

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa antimikroba dari bahan asalnya. Senyawa antimikroba yang terdapat dalam rempah-rempah dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan terpenoid (Branen dan Davidson, 1993). Struktur kimia yang berbeda-beda akan mempengaruhi kelarutan dan stabilitas senyawa-senyawa tersebut terhadap pemanasan, udara, cahaya, logam berat, dan derajat keasaman, sehingga dengan diketahuinya jenis senyawa yang terkandung dalam sumber antimikroba akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat.

Pemilihan jenis pelarut yang tepat merupakan hal yang penting dalam proses ekstraksi karena akan mempengaruhi jumlah rendemen ekstrak yang dihasilkan. Pada dasarnya pelarut yang digunakan terbagi menjadi 3 jenis, yaitu pelarut yang bersifat polar, semipolar, dan nonpolar. Pelarut polar akan melarutkan senyawa polar. Pelarut yang bersifat semipolar digunakan dengan maksud untuk mendapatkan komponen yang bersifat polar sekaligus nonpolar. Sedangkan pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa nonpolar.

Menurut Houghton dan Raman (1998), metode ekstraksi yang dilakukan tergantung pada beberapa faktor, antara lain tujuan dilakukan ekstraksi, skala ekstraksi, sifat-sifat komponen yang akan diekstraksi, dan sifat-sifat pelarut yang akan digunakan. Metode ekstraksi juga merupakan faktor yang dapat mempengaruhi rendemen ekstrak yang dihasilkan. Ekstraksi komponen antimikroba dapat menggunakan distilasi uap, distilasi dengan pelarut, ekstraksi dengan pelarut, ekstraksi dengan lemak dan minyak, ekstraksi dengan karbon dioksida cair atau dengan sublimasi vakum. Ekstraksi dengan pelarut adalah cara yang paling sering digunakan (Kochhar dan Rossell, 1990). Prinsip ekstraksi menggunakan pelarut adalah bahan yang akan

diekstrak dikontakkan langsung dengan pelarut selama selang waktu tertentu, sehingga komponen yang akan diekstrak terlarut dalam pelarut kemudian diikuti dengan pemisahan pelarut dari bahan yang diekstrak. Ekstraksi dengan pelarut dapat dilakukan dengan metode refluks, soxhlet, maserasi, dan perkolasi.

Prinsip dari kerja alat refluks adalah ketika dipanaskan campuran antara pelarut dan sampel yang ada di dalam labu pemanas akan menguap ke atas melewati kolom fraksinasi. Komponen volatil bersama uap akan naik terus sampai ke bagian kolom paling atas dan akhirnya melewati kondensor, dimana uap tersebut akan diubah menjadi cair. Proses tersebut akan berlanjut sampai semua komponen volatil yang ada di dalam campuran pelarut dan sampel habis terekstrak. Soxhlet juga membutuhkan pemanasan saat proses ekstraksi berlangsung. Prinsip dari alat soxhlet adalah penggunaan panas untuk menguapkan pelarut agar naik ke atas dan mengembun membasahi serbuk sampel yang ada di dalam selongsong kertas sehingga komponen aktifnya terekstrak. Namun, jika rempah-rempah dikeringkan atau dipanaskan, maka minyak volatil yang terdapat di dalamnya dapat menguap sehingga sifat bakteriostatiknya mungkin akan hilang.

Teknik maserasi digunakan untuk mengekstrak komponen aktif yang mudah larut dalam cairan pengekstrak dan tidak mengembang dalam cairan pengekstrak. Keuntungan dari teknik ekstraksi maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Sedangkan kelemahannya metode ini membutuhkan waktu pengerjaan yang lama dan pengekstrakkan yang kurang sempurna. Menurut Heath (1987) diacu dalam Sari (2000), teknik perkolasi dilakukan dengan penambahan pelarut ke dalam bahan yang akan diekstrak pada perbandingan tertentu, kemudian diaduk dengan pengaduk magnet. Pengadukan bertujuan mempercepat pelarutan zat padat ke dalam medium pelarut. Berbeda dengan teknik maserasi, teknik perkolasi menggunakan panas (suhu sekitar 50°C), dimana ekstraksi dengan menggunakan panas lebih cepat mengekstrak senyawa yang diinginkan karena pemanasan akan memperbesar kelarutan. Hasil riset yang menggunakan minyak atsiri juga dilakukan untuk menguji

aktivitas antimikroba pada rempah-rempah seperti lengkuas, daun sirih, bunga kecombrang, dan kayu mesoyi. Minyak atsiri dari rempah-rempah diperoleh melalui proses distilasi uap. Proses distilasi uap lebih banyak digunakan untuk senyawa organik yang tahan pada suhu yang cukup tinggi, yang lebih tinggi dari titik didih pelarut yang digunakan.

3. Aktivitas Antimikroba

Senyawa antimikroba yang terkandung di dalam berbagai ekstrak tanaman diketahui dapat menghambat beberapa mikroba perusak dan patogen pangan (Branen dan Davidson, 1993). Aktivitas antimikroba suatu senyawa kimia tidak dapat ditentukan secara absolut, karena tidak saja dipengaruhi oleh sifat-sifat dan mekanismenya, tetapi juga ditentukan oleh konsentrasinya (Fardiaz, dkk., 1988). Umumnya hampir semua senyawa kimia pada konsentrasi yang sangat tinggi bersifat racun terhadap mikroba, dan sebaliknya. Jadi yang menentukan suatu senyawa kimia sehingga dapat disebut sebagai antimikroba adalah efisiensinya dalam menghambat mikroba pada konsentrasi rendah.

Senyawa antimikroba dapat menghambat pertumbuhan kapang, jamur, dan bakteri perusak dan patogen pangan baik Gram negatif maupun Gram positif. Bakteri Gram positif lebih sensitif terhadap senyawa antimikroba dibandingkan dengan bakteri Gram negatif (Dorman dan Deans, 2000). Hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan susunan dinding sel. Dinding sel bakteri Gram positif 90% terdiri atas lapisan peptidoglikan, selebihnya adalah asam teikoat dan memiliki struktur lapis tunggal, sedangkan bakteri Gram negatif komponen dinding selnya mengandung 20-50% peptidoglikan, selebihnya terdiri dari protein, lipopolisakarida, dan lipoprotein serta memiliki struktur multilapis (*multilayer*). Selain itu, bakteri dalam bentuk sel vegetatif juga lebih rentan terhadap aktivitas antimikroba dalam rempah-rempah dibandingkan dalam bentuk spora.

Menurut Pelczar, dkk. (1986), kerja dari senyawa antimikroba ada beberapa cara, yaitu merusak dinding sel mikroba, mengubah permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan terjadinya kebocoran nutrisi

dari dalam sel, mendenaturasi protein sel, dan menghambat kerja enzim di dalam sel.

Kerusakan dinding sel oleh antimikroba menyebabkan terjadinya lisis. Efek kerusakan lainnya yaitu terbentuknya protoplast. Protoplast merupakan susunan sel tanpa dinding dan bersifat lebih rentan mengalami lisis. Contoh senyawa antimikroba yang dapat merusak dinding sel yaitu lisozim dan penisilin. Gangguan permeabilitas sel menyebabkan berkurangnya kemampuan sel dalam menjaga keutuhan struktur sel dan turunnya selektifitas membran. Selain itu, gangguan permeabilitas membran juga dapat mengganggu kelangsungan metabolisme sel. Contoh senyawa yang dapat mengganggu permeabilitas sel antara lain komponen fenol dan komponen amonium kuaterner. Gangguan terhadap metabolisme oleh antimikroba dapat berwujud penghambatan aktivitas enzim dan antimetabolit. Antimetabolit merupakan senyawa analog yang akan bersaing dengan substrat terhadap permukaan enzim. Contoh senyawa penghambat aktivitas enzim yaitu dinitrofenol yang menghambat fosforilasi oksidatif. Sedangkan contoh senyawa antimetabolit adalah sulfanilamid yang menghambat sintesis asam folat. Aktivitas antimikroba terhadap sel bisa berupa penghambatan sintesis asam nukleat atau bisa berupa perusakan molekul protein dan asam nukleat. Penghambatan sintesa asam nukleat dapat menyebabkan terhambatnya sintesis protein yang berakibat pertumbuhan sel terhambat atau kematian sel. Sedangkan kerusakan molekul protein dan asam nukleat dapat menyebabkan kerusakan sel yang fatal.

Beberapa faktor yang harus dipertimbangkan dalam memilih suatu senyawa antimikroba antara lain sifat bahan yang akan diberi antimikroba, jenis mikroba, dan kondisi lingkungan. Selain itu, zat-zat yang digunakan sebagai antimikroba harus mempunyai beberapa kriteria ideal antara lain tidak bersifat racun bagi bahan pangan, ekonomis, tidak menyebabkan perubahan flavor, citarasa dan aroma pangan, tidak mengalami penurunan aktivitas karena adanya komponen pangan, tidak menyebabkan timbulnya galur resisten dan sebaiknya membunuh daripada hanya menghambat pertumbuhan mikroba (Fardiaz,dkk. 1988; Frazier dan Westhoff, 1988).

Berbagai senyawa antimikroba pada konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba. Tidak ada satu pun senyawa antimikroba yang ideal untuk semua tujuan, karena terdapat perbedaan dalam sensitivitas sel mikroba terhadap senyawa antimikroba (Fardiaz, dkk., 1988).

4. Pengukuran Aktivitas Antimikroba

Metode yang digunakan dalam menganalisis aktivitas antimikroba dipengaruhi oleh media analisis, senyawa antimikroba, dan prosedur analisis. Komponen antimikroba memiliki aktivitas yang baik pada kondisi pengujian, belum tentu menunjukkan aktivitas yang cukup baik saat diaplikasikan pada produk pangan.

Metode untuk menganalisis aktivitas antimikroba dapat dibedakan menjadi dua, yaitu *in vitro* dan aplikasi pada produk pangan (Branen dan Davidson, 1993). Metode *in vitro* tidak dapat mengaplikasikan senyawa antimikroba pada produk pangan, hanya menunjukkan adanya potensi antimikroba pada bahan. Metode *in vitro* dapat dibedakan menjadi tiga, yaitu metode pengenceran (*dilution methods*), metode difusi agar, dan metode turbidimetri. Masing-masing metode tersebut memiliki kekurangan dan kelebihan.

Metode difusi agar memiliki kelebihan yaitu sederhana untuk dilakukan dan dapat digunakan untuk melihat sensitivitas berbagai jenis mikroba terhadap antimikroba pada konsentrasi tertentu. Kekurangan dari metode difusi agar adalah senyawa antimikroba yang akan diuji harus bersifat hidrofilik agar dapat berdifusi dengan baik ke dalam agar. Metode pengenceran memiliki keunggulan, yaitu dapat diketahui terjadinya kontaminasi dan dapat dilakukan untuk bahan yang warnanya keruh (Barry 1986 diacu dalam Branen dan Davidson, 1993). Metode turbidimetri memiliki kelebihan, yaitu cepat tidak destruktif, dan tidak mahal. Sedangkan kekurangannya, yaitu sensitifitasnya rendah. Metode yang selama ini paling banyak dilakukan dalam penelitian adalah metode *in vitro*, yaitu dengan metode difusi agar (sumur) dan metode pengenceran.

Metode difusi agar dilakukan dengan memasukkan senyawa antimikroba ke dalam agar melalui kertas cakram atau dengan membuat sumur (metode sumur). Komponen akan berdifusi ke dalam agar dan menghambat pertumbuhan mikroba yang terkandung dalam agar. Metode sumur dilakukan dengan membuat sumur berdiameter 6 mm pada media agar yang telah dituang ke dalam cawan petri yang kemudian diisi dengan senyawa antimikroba selanjutnya dimasukkan ke dalam *refrigerator* selama 2 jam untuk memberi kesempatan senyawa berpenetrasi sebelum dilakukan inkubasi. Setelah diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam dilakukan pengamatan dan pengukuran zona atau diameter penghambatan pertumbuhan mikroba (mm) yang ditandai dengan adanya areal bening yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba uji. Pengukuran diameter penghambatan tidak termasuk diameter sumur.

Menurut Piddock (1990) diacu dalam Branen, Davidson, dan Sofos (2005), aktivitas antimikroba yang menghasilkan diameter penghambatan 30-35 mm dinyatakan aktivitas antimikrobanya digolongkan tinggi. Jika diameter penghambatan antara 20-30 mm, maka aktivitas antimikrobanya digolongkan sedang, dan jika diameter penghambatan 15-20 mm, maka aktivitas antimikrobanya digolongkan rendah, serta jika diameter penghambatan 15-20 mm aktivitas antimikrobanya digolongkan tidak efektif (resisten). Dalam pengujian sensitivitas kapang terhadap senyawa antimikroba digunakan diameter pertumbuhan koloni. Diameter pertumbuhan koloni kapang diamati tiap selang waktu tertentu pada masa inkubasinya. Pengujian terhadap kapang sulit dilakukan dengan metode difusi agar dan metode kontak dengan tabung reaksi. Pada metode dengan tabung reaksi, pertumbuhan kapang di dalam kultur cair sukar diamati karena tidak terbentuk suspensi yang homogen, tetapi mempunyai kecenderungan untuk tumbuh pada permukaan. Pada metode difusi agar, pembentukan areal penghambatan terhadap kapang juga sukar diamati karena kapang membentuk miselium yang cepat menyebar dan menutupi permukaan agar (Fardiaz, dkk., 1988). Efektivitas antimikroba pada pengukuran diameter pertumbuhan koloni ditentukan dari laju pertambahan lebar diameter

pertumbuhan koloni kapang terhadap waktu. Efektivitas antimikroba pada pengujian ini ditunjukkan dengan adanya penurunan laju pertumbuhan diameter pertumbuhan terhadap waktu dibandingkan dengan kontrol. Semakin kecil laju pertumbuhan diameter yang terukur maka semakin efektif antimikroba tersebut.

Metode kontak juga dapat digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antimikroba berdasarkan perkembangan atau kematian jenis mikroba dengan mengukur jumlah mikroba setelah diberi sejumlah zat antimikroba dan dikontakkan pada waktu tertentu. Metode kontak dilakukan dengan memasukkan ekstrak antimikroba dalam satu konsentrasi ke dalam satu tabung. Kemudian diinkubasi dalam inkubator goyang dengan suhu 30°C dan dilakukan pemupukan cawan pada waktu kontak tertentu dengan tingkat pengenceran yang berbeda. Cawan tersebut diinkubasi pada suhu ruang selama 24-48 jam untuk bakteri dan 2-3 hari untuk kapang. Selanjutnya dihitung jumlah logaritma N_t dibagi logaritma N_0 untuk setiap jenis antimikroba, konsentrasi, dan mikroba. Nilai N_t menunjukkan jumlah koloni pada waktu t , sedangkan nilai N_0 menunjukkan jumlah koloni pada waktu awal (0).

Pengujian aktivitas antimikroba terhadap aktivitas pertumbuhan mikroba dinyatakan dengan nilai LPS (Laju Pertumbuhan Spesifik). LPS adalah hasil bagi logaritma jumlah koloni yang tumbuh pada inkubasi t jam terhadap logaritma jumlah koloni yang tumbuh pada inkubasi 0 jam, untuk setiap konsentrasi yang sama di dalam medium. LPS pada setiap konsentrasi dalam medium konak dibagi dengan LPS kontrolnya bernilai <1 berarti telah terjadi penghambatan pertumbuhan pada konsentrasi tersebut. Jika hasil baginya >1 menunjukkan adanya stimulasi pertumbuhan. Sedangkan apabila hasil baginya sama dengan 1, pada konsentrasi tersebut tidak mempengaruhi pertumbuhan bakteri (Dewanti, 1984).

III. METODOLOGI PENELITIAN

Pengkajian antimikroba alami dilakukan dalam beberapa tahap (Gambar 1), sebagai berikut:

A. KAJIAN KEPUSTAKAAN

1. Identifikasi Sumber Informasi Antimikroba Alami

Sumber informasi antimikroba alami sebagai pengawet pangan yang dikaji berasal dari hasil riset yang sudah dilakukan sebelumnya. Hasil riset tersebut merupakan skripsi, tesis, dan disertasi yang berkaitan dengan pengawet alami yang meliputi informasi daya hambatnya terhadap mikroba dan aplikasinya dalam bahan pangan. Sumber informasi yang dikaji diperoleh dari Pusat Informasi Teknologi Pertanian. Pada tahap ini dibuat daftar sumber informasi antimikroba alami yang dikaji. Daftar tersebut berisi judul riset, nama penulis, tahun, dan jurusan. Tujuan dari tahap ini adalah menentukan sumber mana yang layak untuk dikaji dan berhubungan dengan antimikroba alami sebagai pengawet pangan dan penghambat mikroba perusak dan patogen pangan dan menjamin semua sumber yang dapat dikaji tidak terlewatkan.

2. Pengkajian Data Hasil Riset Aktivitas dan Aplikasi Antimikroba Alami

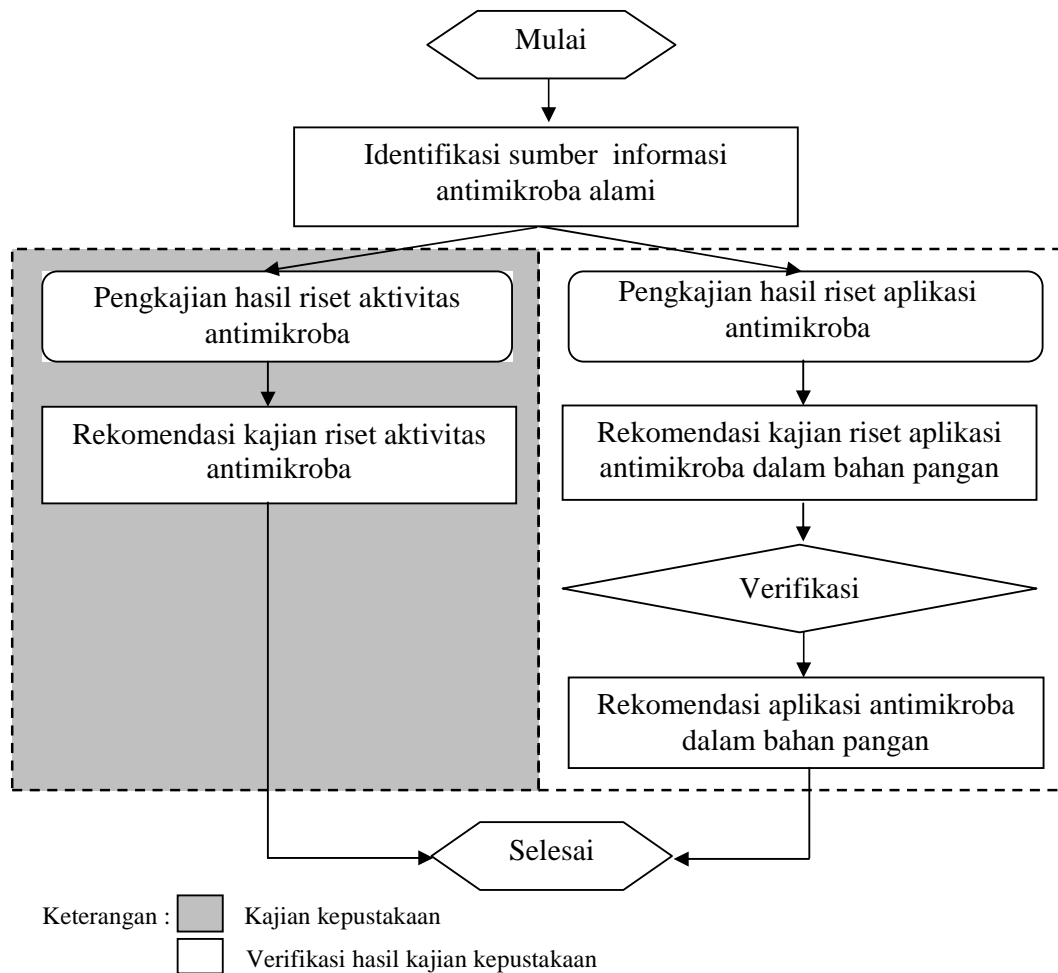
Pada tahap ini dibuat tabulasi data (hasil riset) dari sumber meliputi bagian tanaman sebagai sumber antimikroba, aktivitas penghambatan antimikroba, metode ekstraksi senyawa antimikroba, metode pengujian aktivitas antimikroba, konsentrasi yang dipakai untuk memberikan efek antimikroba yang nyata, tingkat efektivitas, kelayakan, dan aplikasinya dalam bahan pangan. Kelayakan suatu bahan antimikroba untuk dijadikan sebagai sumber pengawet pangan dapat ditinjau dari dua aspek, yaitu efektivitas antimikroba dalam menghambat mikroba perusak dan patogen pangan dan tingkat ketersediaannya.

1. Aktivitas penghambatan antimikroba dapat disebut efektif apabila diameter penghambatannya lebih besar dari 15 mm (Piddock, 1990 diacu dalam Branen, Davidson, dan Sofos, 2005) atau memiliki nilai Laju Pertumbuhan

Spesifik (LPS) mikroba dibagi LPS kontrol lebih kecil dari satu (Dewanti, 1984). Satuan konsentrasi yang digunakan antara lain mg/ml, mg/g, dan ml/l.

2. Tingkat ketersediaan yang tinggi yaitu mudah diperoleh, jumlahnya banyak, dan diproduksi secara kontinu.

Aplikasi antimikroba alami dari hasil riset terhadap bahan pangan disebut efektif apabila umur simpan objektif lebih panjang setengahnya dibandingkan dengan umur simpan objektif kontrol (tanpa penambahan antimikroba alami) dan ditunjukkan pula dengan jumlah total kapang yang kurang dari batas standar maksimum SNI-01 2987-1992 yaitu 1.0×10^4 CFU/g dan jumlah total mikroba sebesar 1.0×10^6 CFU/g.



Gambar 1. Diagram alir pelaksanaan kajian antimikroba alami

3. Rekomendasi Kajian Riset Antimikroba Alami

Hasil pengkajian yang telah dilakukan pada tahap tersebut di atas menghasilkan bahan pengawet pangan alami yang berkontribusi nyata terhadap penghambatan mikroba pada dari media laboratoris dan perpanjangan umur simpan yang signifikan pada aplikasi antimikroba dalam bahan pangan. Hasil kajian riset aktivitas antimikroba yang dinyatakan layak selanjutnya direkomendasikan untuk diteliti lebih lanjut mengenai pengaplikasiannya. Sedangkan hasil kajian riset aplikasi antimikroba yang dinyatakan efektif dalam menghambat umur simpan bahan pangan menjadi acuan dalam melakukan verifikasi.

B. VERIFIKASI HASIL KAJIAN KEPUSTAKAAN

Verifikasi bertujuan mengetahui validitas hasil riset aplikasi antimikroba yang telah dinyatakan layak dari hasil pengkajian untuk direkomendasikan kepada kalangan yang berkepentingan atau yang membutuhkan informasi mengenai antimikroba alami. Verifikasi dilakukan melalui pengujian ulang terhadap aplikasi komponen antimikroba dalam bahan pangan. Pengujian ulang tersebut dilakukan di laboratorium SEAFast IPB. Pada tahap ini diriset mengenai pengaruh penambahan bubuk fuli pala sebagai pengawet alami dalam memperpanjang umur simpan mie basah. Hasil riset mie basah matang yang telah dilakukan sebelumnya oleh Adi Putra (2007), dalam kajian ini disebut *reference*.

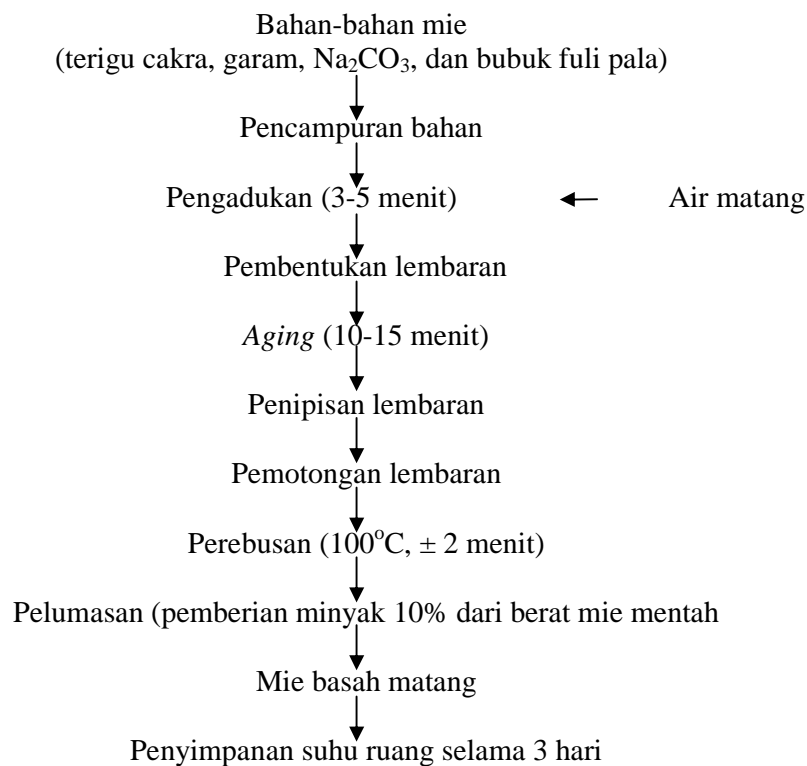
1. Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan untuk memproduksi mie basah matang adalah tepung terigu (cakra kembar) (100 %), garam (4%), natrium karbonat (Na_2CO_3) atau soda abu (0.6%), minyak sawit, bubuk fuli pala (1%) dengan kadar air 8-10% berat kering, dan air (35%) berdasarkan berat terigu yang digunakan (kontrol menggunakan garam 4% dan tanpa penambahan bubuk fuli pala). Bahan yang digunakan untuk analisis adalah media PCA (*Plate Count Agar*), APDA (*Acidified Potato Dextrose Agar*), larutan pengencer BPW (*Buffered Peptone Agar*) dan PW (*Peptone Water*), plastik HDPE steril, alkohol 70%, dan spiritus.

Alat-alat yang digunakan untuk memproduksi mie basah adalah *noodle machine*, kompor gas, panci, baskom, sendok, saringan, timbangan, gelas ukur, *sealer*. Alat-alat yang digunakan untuk analisis adalah cawan petri, *stomacher*, inkubator, bunsen, mikro pipet, autoklaf, oven, *hot plate*, neraca analitik, pH meter, dan alat-alat gelas lainnya.

2. Metode

Bubuk fuli pala ditambahkan pada tahap pencampuran adonan dalam pembuatan mie. Konsentrasi yang digunakan berdasarkan hasil kajian riset yang efektif memperpanjang umur simpan dan dapat diterima secara sensori. Proses pembuatan mie dapat dilihat pada Gambar 2. Mie basah matang dimasukkan ke dalam plastik HPDE, kemudian disimpan pada suhu ruang selama 3 hari. Mie basah matang tersebut menggunakan 2 perlakuan yaitu bubuk fuli pala 0 % + garam 4 % (kontrol) dan dengan penambahan bubuk fuli pala 1 % + garam 4 %. Ulangan dilakukan sebanyak 2 kali.



Gambar 2. Diagram alir pembuatan dan penyimpanan mie basah matang

3. Analisis

Waktu kerusakan yang diamati adalah lamanya waktu dari setelah proses pembuatan mie basah matang selesai sampai terjadinya kerusakan. Kerusakan mie basah matang diamati secara objektif (mikrobiologi) dan subjektif (sensorik).

- Pengamatan objektif dilakukan dengan mengamati pertumbuhan total mikroba (0, 12, 24, 36, dan 48 jam), total kapang (0, 12, 24, 36, 48, dan 60 jam).
- Pengamatan subjektif selama penyimpanan meliputi timbulnya lendir, bau asam, dan tekstur menjadi lunak.

Umur simpan objektif umumnya lebih singkat daripada umur simpan subjektif. Penentuan umur simpan objektif dinyatakan dengan jumlah total mikroba dan jumlah total kapang yang tidak melebihi batas maksimum standar SNI-01 2987-1992 masing-masing yaitu sebesar 1.0×10^6 CFU/g dan 1.0×10^4 CFU/g.

a. Analisis Total Mikroba dan Total Kapang (SNI-01 2987-1992)

Analisis total mikroba dan total kapang dilakukan terhadap mie basah matang yang telah diaplikasikan ekstrak fuli pala 1 % + garam 4 % dan mie basah matang kontrol. Analisis total mikroba dan total kapang dilakukan dengan metode APC (*Aerobic Plate Count*). Sebanyak 10 g sampel mie basah matang dimasukkan dalam plastik HDPE tahan panas steril yang berisi 90 ml larutan pengencer BPW (*Buffered Peptone Water*) steril untuk analisis total mikroba dan PW (*Peptone Water*) steril untuk analisis total kapang. Sampel mie basah tersebut kemudian dihancurkan dengan alat *stomacher* selama 60 detik sehingga dihasilkan sampel mie basah dengan pengenceran 1:10. Setelah itu campuran dikocok, diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml larutan pengencer steril sehingga diperoleh tingkat pengenceran 10^{-2} . Pengenceran selanjutnya yaitu 10^{-3} sampai 10^{-7} dilakukan dengan cara yang sama.

Masing-masing pengenceran tersebut diambil 1 ml suspensi sampel mie basah matang secara aseptis dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril secara duplo dan kemudian dituangkan 12-15 ml media PCA (*Plate Count Agar*) steril yang bersuhu 45°C dalam waktu 15 menit dari pengenceran pertama untuk analisis total mikroba. Sedangkan untuk analisis total kapang menggunakan media APDA (*Acidified Potato Dextrose Agar*). Media APDA dibuat dengan menambahkan larutan asam tartarat ke dalam larutan agar PDA hingga mencapai pH 3.5. Setelah media membeku, untuk analisis total mikroba cawan diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 35°C selama 2 hari, sedangkan untuk analisis total kapang diinkubasi pada suhu 25°C atau suhu ruang selama 5 hari. Kisaran koloni yang dihitung untuk total mikroba adalah 25-250 koloni, sedangkan untuk total kapang adalah 10-150 koloni. Perhitungan total mikroba dan total kapang dilakukan mengacu pada BAM (*Bacteriological Analytical Manual*)-FDA (BAM-FDA, 2001) sebagai berikut :

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0.1 \times n_2)] \times d}$$

Keterangan:

- N = jumlah koloni produk
 $\sum C$ = jumlah koloni dari tiap-tiap cawan petri
 n_1 = jumlah koloni dari pengenceran pertama yang dihitung
 n_2 = jumlah koloni dari pengenceran kedua yang dihitung
d = pengenceran terkecil

b. Analisis Organoleptik (Soekarto, 1985)

Uji organoleptik dilakukan untuk mengetahui tingkat penerimaan panelis terhadap sampel mie basah matang dengan lima parameter penilaian, yaitu warna, aroma, tekstur, rasa, dan penilaian keseluruhan (*overall*). Uji organoleptik ini dilakukan pada saat mie basah matang selesai dibuat.

Uji yang dilakukan adalah uji hedonik dengan 7 peringkat kesukaan yang menggunakan 30 orang panelis tidak terlatih. Skala yang digunakan

pada uji hedonik yaitu : (1) sangat tidak suka, (2) tidak suka, (3) agak tidak suka, (4) netral, (5) agak suka, (6) suka, dan (7) sangat suka. Data hedonik yang diperoleh, dianalisis dengan SPSS 11.5 dan dianalisis dengan uji *Compare means* jenis *Paired-Samples T Test*.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. KAJIAN KEPUSTAKAAN

1. Identifikasi Sumber Informasi Antimikroba Alami

Identifikasi sumber informasi hasil riset antimikroba alami merupakan tahap pertama yang dilakukan dalam kajian hasil riset potensi antimikroba alami dan aplikasinya dalam bahan pangan. Pada tahap ini dibuat daftar berisi sumber informasi hasil riset antimikroba alami yang dibaca dan dikaji. Sumber informasi hasil riset antimikroba alami diperoleh dari hasil riset yang telah dilakukan sebelumnya seperti skripsi, tesis, dan disertasi yang diperoleh dari Pusat Informasi Teknologi Pertanian FATETA. Daftar tersebut berisi judul riset, nama penulis, tahun, dan jurusan (Lampiran 1). Tahapan ini bertujuan menentukan sumber informasi hasil riset antimikroba alami yang layak untuk dikaji dan berhubungan dengan fungsi antimikroba alami sebagai pengawet pangan, serta memastikan semua sumber informasi hasil riset antimikroba alami yang dapat dikaji tidak terlewatkan. Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa sumber informasi hasil riset yang telah diperoleh berjumlah 28 buah. Jenis sumber informasi riset antimikroba alami yang paling banyak adalah skripsi yang berjumlah 23 buah, sedangkan yang paling sedikit adalah tesis yang berjumlah 2 buah.

Tabel 1. Rincian sumber informasi hasil riset antimikroba alami

No.	Jenis sumber informasi	Jumlah
1.	Skripsi	23 buah
2.	Tesis	2 buah
3.	Disertasi	3 buah
Total		28 buah

Data tersebut kemudian digunakan untuk mengetahui bagian tanaman sebagai sumber antimikroba alami, cara memperoleh senyawa antimikroba, metode pengujian, efektivitas dan konsentrasi minimum senyawa antimikroba terhadap mikroba perusak dan patogen pangan, kelayakan, dan aplikasinya. Pengelompokan hasil kajian sumber informasi hasil riset antimikroba alami dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rincian kajian riset antimikroba alami

No	Rempah	Jumlah	Bagian tanaman	Metode ekstraksi	Uji langsung terhadap mikroba uji	Efektif	Layak	Aplikasi	Peneliti
1.	Bawang putih	2	√	X	√	√	√	√	1, 2
2.	Jahe	2	√	X	√	√	√	X	3, 4
3.	Kunyit	2	√	X	√	√	√	√	5, 6
4.	Lengkuas	1	√	√	√	√	√	√	7
5.	Pala	3	√	√	√	√	√	√	8, 9, 10
6.	Jintan hitam	1	√	√	√	X	X	X	11
7.	Picung	1	√	√	√	√	X	X	12
8.	Daun beluntas	1	√	√	√	X	X	X	13
9.	Daun sirih	4	√	√	√	√	√	X	14,15,16,17
10.	Andaliman	2	√	√	√	√	X	X	18, 19
11.	Cabe merah	1	√	X	√	√	√	X	20
12.	Sotul	1	√	√	√	√	X	X	21
13.	Kecombrang	2	√	√	√	√	√	√	22, 23
14.	Kayu mesoyi	1	√	√	√	X	X	X	24
15.	Kedawung	1	√	√	√	X	X	X	25
16.	Temukunci	1	√	X	X	X	X	√	26
17.	Daun salam	1	√	X	X	X	X	√	27
18.	Kayu manis	1	√	X	X	X	X	√	28
Total		28	18	15	11	15	11	8	28

Keterangan :

1= Sugiarto (1986); 2= Yohana (2008); 3= Undriyani (1987); 4= Lienni (1991); 5= Suwanto (1983); 6= Sihombing (2007); 7= Rahayu (1999); 8= Susilawati (1987); 9= Putra (2007); 10= Novelianti (2007); 11= Direja (2007); 12= Kristikasari (2000); 13= Ardiansyah (2002); 14= Widarto (1991); 15= Amami (1997); 16= Sukarminah (1997); 17= Dewi (1998); 18= Siswardi (2002); 19= Parhusip (2006); 20= Dewanti (1984); 21= Andriyanto (2001); 22= Naufalin (2005); 23= Anggraeni (2007); 24= Malthaputri (2007); 25= Sari (2000); 26= Riandi (2007); 27= Sukmawati (2007); 28= Agus (2007)

- Bagian tanaman (√) : Diriset (X) : Tidak diriset
 - Metode ekstraksi (√) : Diriset (X) : Tidak diriset
 - Uji langsung terhadap mikroba uji (√) : Diriset (X) : Tidak diriset
 - Efektif (√) : Efektif (X) : Tidak efektif
 - Layak (√) : layak (X) : Tidak layak
 - Aplikasi (√) : Diriset (X) : Tidak diriset

Berdasarkan Tabel 2 tersebut dapat dilihat bahwa sumber antimikroba alami yang diperoleh dari hasil riset berjumlah 18 buah. Hasil riset sumber antimikroba alami yang berjumlah 18 buah tersebut, 15 buah diantaranya hanya diteliti aktivitas antimikrobanya (jahe, kunyit, lengkuas, bawang putih, jintan hitam, pala, picung, beluntas, sirih, andaliman, cabe merah, sotul, kecombrang, kayu mesoyi, dan kedawung), sedangkan 3 buah lainnya (temukunci, salam, dan kayu manis) hanya diteliti mengenai aplikasinya dalam bahan pangan.

2. Bagian Tanaman sebagai Sumber Antimikroba Alami

Berdasarkan hasil kajian antimikroba alami yang dikaji berasal dari bagian tanaman, sumber antimikroba dapat digolongkan berdasarkan bagian tertentu dari tanaman rempah, seperti rimpang, umbi, biji, daun, buah, bunga, dan kulit. Pada Tabel 3 dapat dilihat sumber antimikroba menurut bagian tanaman.

Tabel 3. Bagian tanaman sebagai sumber antimikroba alami

No.	Bagian tanaman	Jenis tanaman
1.	Rimpang	Jahe, kunyit, dan lengkuas
2.	Umbi	Bawang putih dan temukunci
3.	Biji	Jintan hitam, pala, dan picung
4.	Daun	Sirih, beluntas, dan salam
5.	Buah	Andaliman, cabe merah, dan sotul
6.	Bunga	Kecombrang
7.	Kulit	Kayu manis, mesoyi, dan kedawung

Berdasarkan Tabel 3 terlihat bahwa bagian bunga dari rempah-rempah belum banyak diteliti. Hal ini disebabkan karena dalam penggunaannya sebagai sumber rempah, bagian bunga masih jarang dimanfaatkan dibandingkan dengan bagian tanaman lainnya.

3. Cara Memperoleh Senyawa Antimikroba

Cara yang digunakan untuk memperoleh manfaat komponen antimikroba dari bahan asalnya sangat beragam, salah satunya dengan menambahkan ekstrak atau minyak hasil ekstraksi bahan antimikroba ke dalam bahan pangan atau mencampurkan langsung ke dalam makanan sebagai bumbu masakan. Rempah-rempah yang diuji aktivitas antimikrobanya berdasarkan hasil riset dapat berupa rempah utuh, pasta, dan dapat pula yang telah dihancurkan menjadi bentuk bubuk. Hasil riset menunjukkan bahwa rempah yang digunakan lebih banyak yang berbentuk bubuk (75 %). Bentuk pasta (6 %) hanya digunakan untuk bawang putih, sedangkan bentuk utuh (19 %) digunakan untuk daun sirih, jahe, dan kulit batang kedawung.

a. Langsung

Cara langsung yang dimaksud adalah cara untuk memperoleh senyawa antimikroba tanpa melalui proses ekstraksi dengan pelarut. Berdasarkan hasil kajian, terdapat 26.7 % sumber antimikroba yang langsung diteliti aktivitas

antimikrobanya baik dalam bentuk pasta maupun bubuk yaitu bawang putih, kunyit, jahe, dan cabe merah.

Namun cara langsung ini kurang efektif karena tidak dapat menentukan jenis komponen yang berpengaruh terhadap aktivitas penghambatan mikroba dan jumlah bahan asal yang dibutuhkan lebih banyak karena senyawa antimikroba masih bercampur dengan bahan asal.

b. Ekstraksi

Cara ekstraksi untuk memperoleh senyawa antimikroba dari rempah-rempah membutuhkan pelarut dan metode ekstraksi yang tepat. Senyawa antimikroba yang diperoleh melalui proses ekstraksi (73.3 %) adalah lengkuas, pala, jintan hitam, picung, beluntas, sirih, andaliman, sotul, kecombrang, mesoyi, dan kedawung baik dalam bentuk utuh, pasta, maupun bubuk. Pembuatan pasta atau bubuk ini dimaksudkan untuk memperkecil luas permukaan dan menyeragamkan ukuran partikel agar mempermudah kontak antara bahan dan pelarutnya sehingga ekstraksi dapat berlangsung dengan sempurna dan waktu ekstraksi dapat menjadi lebih cepat.

1). Jenis Pelarut

Pengujian aktivitas antimikroba berdasarkan hasil riset banyak dilakukan menggunakan minyak atsiri dan ekstrak : air, heksana, metanol, etanol, metanol-air, etil asetat, dan kloroform (Tabel 4). Jenis ekstrak tersebut didasarkan pada pemilihan pelarut organik yang digunakan dalam ekstraksi. Pemilihan pelarut yang dipakai dalam proses ekstraksi, harus memperhatikan sifat kandungan senyawa yang diisolasi. Sifat yang penting adalah polaritas dan gugus polar dari suatu senyawa. Senyawa polar lebih mudah larut dalam pelarut polar dan senyawa nonpolar lebih mudah larut dalam pelarut nonpolar.

Tabel 4 menunjukkan bahwa jenis ekstrak yang banyak digunakan dalam pengujian aktivitas antimikroba adalah yang bersifat polar. Hal ini berkaitan dengan senyawa antimikroba alami yang umumnya mengandung senyawa fenolik yang bersifat polar, senyawa polar larut dalam pelarut organik yang sifatnya polar (Houghton dan Raman, 1998).

Tabel 4. Penggunaan berbagai jenis pelarut

No	Bahan	Jenis pelarut	Peneliti
1.	Lengkuas	Heksana, kloroform, metanol, dan metanol-air	1
2.	Pala	Air	2
3.	Jintan hitam	Heksana, etil asetat, metanol, etanol, dan air	3
4.	Picung	Petroleum eter dan etanol	4
5.	Beluntas	Etanol	5
6.	Sirih	Etanol dan air	6,7,8
7.	Andaliman	Etil asetat, metanol, dan etanol	9
8.	Sotul	Etil asetat dan etanol	10
9.	Kecombrang	Etil asetat dan etanol	11
10.	Kayu mesoyi	Heksana, etil asetat, metanol, dan etanol	12
11.	Kedawung	Air	13

Keterangan : 1= Rahayu (1999); 2= Susilawati (1987); 3= Direja (2007); 4= Kristikasari (2000); 5= Ardiansyah (2002); 6= Amami (1997); 7= Sukarminah (1997); 8= Dewi (1998); 9= Parhusip (2006); 10= Andriyanto (2001); 11= Naufalin (2005); 12= Malthaputri (2007); 13= Sari (2000)

Oleh karena itu, penggunaan pelarut polar dalam mengekstrak senyawa antimikroba lebih sering digunakan. Pelarut polar yang lebih banyak digunakan adalah pelarut etanol karena lebih aman dan tidak membahayakan apabila ekstraknya diaplikasikan pada bahan pangan. Sedangkan untuk pelarut polar metanol, meskipun efektif dalam mengekstrak karena bersifat lebih polar dari etanol, residu metanol dapat bersifat toksik sehingga jarang diaplikasikan dalam mengekstrak bahan pangan. Batas residu maksimum metanol sebesar 50 ppm (Farrell, 1990). Menurut Moyler (1994), persyaratan yang harus dipenuhi oleh pelarut untuk mengekstrak bahan alam antara lain tidak memiliki bau dan rasa sehingga tidak mempengaruhi mutu akhir produk, mudah berpenetrasi karena viskositasnya rendah sehingga efisien ekstraksi tinggi, mudah dipisahkan tanpa meninggalkan residu sehingga produk dapat bebas dari pelarut, serta dapat digunakan secara selektif dengan berbagai kondisi suhu dan tekanan ekstraksi untuk mendapatkan ekstrak yang bermutu baik.

Menurut Houghton dan Raman (1998), ekstraksi dapat dilakukan secara berturut-turut mulai dengan menggunakan pelarut nonpolar (heksana) lalu menggunakan pelarut yang semipolar (etil asetat dan kloroform), kemudian dengan pelarut polar (metanol, etanol, dan air). Ekstraksi secara bertingkat seperti ini akan mendapatkan ekstrak kasar yang mengandung berturut-turut senyawa nonpolar, semipolar, dan polar. Pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa seperti lilin lemak dan terpenoid yang bersifat nonpolar. Batas

residu pelarut nonpolar heksana yang diizinkan adalah 25 ppm (Farrell, 1990). Pelarut yang bersifat semipolar digunakan dengan maksud untuk mendapatkan komponen yang bersifat polar sekaligus nonpolar. Pelarut semipolar seperti etil asetat mampu melarutkan komponen dari golongan alkaloida, aglikon, dan glikosida. Pelarut polar etanol dapat mengekstrak komponen dari golongan glikosida dan sedikit minyak atsiri, serta pelarut air dapat melarutkan komponen dari golongan gula, asam amino, dan glikosida (Houghton dan Raman, 1998).

2). Metode Ekstraksi

Prinsip metode ekstraksi menggunakan pelarut organik adalah bahan yang akan diekstrak mengalami kontak langsung dengan pelarut pada waktu tertentu, kemudian diikuti dengan melakukan pemisahan dari bahan yang telah diekstrak (Parhusip, 2006). Metode ekstraksi dan jenis pelarut yang digunakan berbeda-beda, namun pada saat proses pemekatan ekstrak menggunakan alat rotavapor dan ada pula yang menggunakan vakum evaporator, kemudian sisa pelarutnya dihembuskan dengan gas N₂ sehingga tidak ada residu yang tertinggal. Beberapa teknik ekstraksi yang menggunakan pelarut adalah ekstraksi bertingkat dengan alat soxhlet atau refluks, maserasi, dan perkolasi (Tabel 5).

Tabel 5. Penggunaan berbagai metode ekstraksi

No	Bahan	Jenis ekstraksi	Peneliti
1.	Lengkuas	Distilasi uap, ekstraksi bertingkat	1
2.	Pala	Ekstraksi bertingkat	2
3.	Jintan hitam	Distilasi uap, ekstraksi bertingkat, refluks	3
4.	Picung	Ekstraksi bertingkat, soxhlet	4
5.	Beluntas	Refluks	5
6.	Sirih	Distilasi uap, ekstraksi bertingkat, soxhlet	6,7,8
7.	Andaliman	Ekstraksi bertingkat, soxhlet, refluks, maserasi	9
8.	Sotul	Distilasi uap, soxhlet, refluks	10
9.	Kecombrang	Distilasi uap, ekstraksi bertingkat, maserasi	11
10.	Kayu mesoyi	Distilasi uap, ekstraksi bertingkat, refluks	12
11.	Kedawung	Perkolasi	13

Keterangan : 1= Rahayu (1999); 2= Susilawati (1987); 3= Direja (2007); 4= Kristikasari (2000); 5= Ardiansyah (2002); 6= Amami (1997); 7= Sukarminah (1997); 8= Dewi (1998); 9= Parhusip (2006); 10= Andriyanto (2001); 11= Naufalin (2005); 12= Malthaputri (2007); 13= Sari (2000)

Dari Tabel 5 dapat diketahui bahwa metode ekstraksi bertingkat lebih banyak digunakan dalam mengekstraksi senyawa antimikroba. Hal ini dapat

disebabkan metode ekstraksi bertingkat lebih efisien karena dalam prosesnya akan didapatkan lebih dari satu jenis senyawa antimikroba tergantung jenis pelarut yang digunakan.

Ekstraksi dengan alat refluks dan soxhlet merupakan cara alternatif yang dipakai dalam proses pemisahan komponen antimikroba dari sumber antimikroba alami. Kedua teknik ini membutuhkan panas selama proses ekstraksi berjalan. Kelebihan kedua metode ini adalah komponen terekstrak dengan sempurna, hemat, dan waktu yang dibutuhkan lebih cepat dan singkat karena adanya panas. Namun hal ini dapat mengakibatkan beberapa komponen yang terdapat dalam rempah-rempah akan rusak.

4. Metode Pengujian Aktivitas Antimikroba

Pengujian aktivitas antimikroba merupakan tahap untuk mengetahui kemampuan suatu senyawa antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri perusak dan patogen pangan. Hasil kajian menunjukkan bahwa pengukuran aktivitas antimikroba umumnya dilakukan dengan metode kontak yang menghasilkan nilai pertumbuhan relatif atau Laju Pertumbuhan Spesifik (LPS) dan metode uji difusi agar yang menghasilkan nilai diameter areal penghambatan bakteri dalam milimeter (mm). Hasil kajian riset tersebut dapat dilihat pada Lampiran 2 sampai Lampiran 7. Riset antimikroba alami yang menggunakan metode sumur dan metode kontak dapat dilihat pada Tabel 6.

Berdasarkan Tabel 6 dapat dilihat bahwa intensitas penggunaan metode sumur dalam menentukan aktivitas antimikroba sedikit lebih banyak yaitu sebesar 58.8 % dibandingkan dengan metode kontak (41.2 %). Hal ini dapat disebabkan penggunaan metode sumur lebih murah karena dalam satu cawan dapat memuat lebih dari satu sumur dan masing-masing sumur dapat diisi oleh satu jenis ekstrak antimikroba. Selain itu, dengan metode sumur aktivitas antimikroba mudah diamati karena terlihat penghambatan pertumbuhan mikroba yang ditunjukkan dari diameter penghambatan.

Tabel 6. Penggunaan metode kontak dan metode sumur dalam penentuan aktivitas antimikroba

No.	Metode uji	Bahan
1.	Kontak	<ul style="list-style-type: none"> - Sirih - Andaliman - Bawang putih - Kunyit - Jahe - Pala - Cabe merah
2.	Sumur	<ul style="list-style-type: none"> - Sirih - Andaliman - Lengkuas - Jintan hitam - Picung - Beluntas - Sotul - Kecombrang - Kayu mesoyi - Kedawung

Menurut Branen dan Davidson (1993), metode sumur merupakan salah satu metode yang paling mudah dan paling cepat untuk menguji kemampuan bahan-bahan antimikroba. Namun, metode sumur juga memiliki keterbatasan antara lain sangat dipengaruhi oleh tipe dan ukuran sumur, jenis, pH, dan kemampuan bahan uji berdifusi pada medium, sifat medium, serta mikroba yang akan dianalisis. Sedangkan metode kontak lebih membutuhkan banyak bahan karena dalam satu media hanya dapat menggunakan satu jenis konsentrasi pengujian.

5. Efektivitas Antimikroba Alami terhadap Mikroba Perusak dan Patogen Pangan

Mikroba uji yang digunakan untuk melihat pengaruh dari aktivitas antimikroba antara lain adalah kapang, kamir, dan bakteri. Beberapa jenis mikroba uji hanya dapat dihambat oleh suatu jenis antimikroba tertentu saja (Tabel 7) dan Lampiran 2 sampai Lampiran 7.

Tabel 7. Mikroba yang dapat dihambat oleh rempah-rempah

No.	Jenis mikroba	Jenis rempah
1.	Bakteri	<ul style="list-style-type: none"> - Jahe - Kunyit - Lengkuas - Picung - Pala - Sirih - Kecombrang - Andaliman - Cabe merah - Sotul
2.	Kapang	<ul style="list-style-type: none"> - Jahe - Kunyit - Bawang putih - Lengkuas - Sirih - Kecombrang
3.	Kamir	<ul style="list-style-type: none"> - Jahe - Bawang putih

Tabel 7 menunjukkan bahwa jahe telah diteliti dan diketahui dapat menghambat semua mikroba (bakteri, kapang, dan kamir), sedangkan rempah lain yang terdapat di Tabel 7 sampai saat ini hanya diteliti aktivitasnya dalam menghambat 1 atau 2 jenis mikroba tertentu saja. Jenis dari masing-masing bakteri, kapang, dan kamir perusak dan patogen pangan yang dijadikan mikroba uji dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8 menunjukkan bahwa jumlah bakteri (21 jenis) lebih banyak diteliti dibandingkan dengan kapang (7 jenis) dan kamir (4 jenis). Bakteri perusak maupun patogen pangan tersebut dapat dibagi lagi menjadi Gram positif dan Gram negatif. Bakteri yang termasuk Gram positif antara lain *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. pumillus*, *B. stearothermophilus*, *S. aureus*, *S. faecalis*, *M. varians*, *Leuconostoc sp.*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, dan *L. monocytogenes*, sedangkan yang termasuk Gram negatif antara lain *Salmonella sp.*, *S. gallinarium*, *S. thompson*, *S. typhimurium*, *E. coli*, *Pseudomonas sp.*, *P. aeruginosa*, *E. aerogenes*, *V. cholerae*, dan *A. hydrophila*.

Tabel 8. Mikroba perusak dan patogen pangan

No.	Jenis mikroba	Genus	Spesies
1.	Bakteri	<i>Bacillus</i>	- <i>B. subtilis</i> - <i>B. cereus</i> - <i>B. pumillus</i> - <i>B. stearothermophilus</i>
		<i>Staphylococcus</i>	- <i>S. aureus</i> - <i>S. faecalis</i>
		<i>Micrococcus</i>	- <i>M. varians</i>
		<i>Leuconostoc</i>	- <i>Leuconostoc sp.</i>
		<i>Lactobacillus</i>	- <i>L. acidophilus</i> - <i>L. fermentum</i>
		<i>Listeria</i>	- <i>L. monocytogenes</i>
		<i>Salmonella</i>	- <i>Salmonella sp.</i> - <i>S. gallinarium</i> - <i>S. thompson</i> - <i>S. typhimurium</i>
		<i>Escherichia</i>	- <i>Escherichia coli</i>
		<i>Pseudomonas</i>	- <i>Pseudomonas sp.</i> - <i>P. aeruginosa</i>
		<i>Enterobacterium</i>	- <i>E. aerogenes</i>
		<i>Vibrio</i>	- <i>V. cholerae</i>
		<i>Aeromonas</i>	- <i>A. hydrophila</i>
2.	Kapang	<i>Aspergillus</i>	- <i>A. oryzae</i> - <i>A. niger</i> - <i>A. flavus</i>
		<i>Rhizopus</i>	- <i>R. oryzae</i> - <i>R. oligosporus</i>
		<i>Fusarium</i>	- <i>Fusarium sp.</i>
		<i>Penicillium</i>	- <i>P. funiculosum</i>
		<i>Sacharomyces</i>	- <i>S. cerevisiae</i> - <i>Shizosacharomyces pombe</i>
3.	Kamir	<i>Endomycopsis</i>	- <i>E. fibuliger</i>
		<i>Candida</i>	- <i>C. solani</i>

Mikroba perusak dan patogen pangan tersebut dapat dihambat oleh antimikroba alami yang berasal dari rempah-rempah. Tabel 9 menunjukkan bahwa pertumbuhan mikroba perusak dan patogen pangan yang telah diuji sampai saat ini hanya dapat dihambat oleh rempah tertentu saja. Berdasarkan data hasil riset diketahui bahwa rempah dapat menjadi sumber antimikroba alami karena senyawa antimikroba yang dikandungnya dan memiliki kemampuan dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroba perusak dan patogen pangan yang dapat membahayakan kesehatan.

Tabel 9. Sumber antimikroba yang digunakan untuk menguji daya hambat terhadap mikroba perusak dan patogen pangan

No.	Genus	Spesies	Sumber antimikroba
Bakteri			
1.	<i>Bacillus</i>	- <i>B. subtilis</i> - <i>B. cereus</i> - <i>B. pumillus</i> - <i>B. stearothermophilus</i>	- kunyit, jahe, dan cabe merah - lengkuas, pala, andaliman, sotul, dan kecombrang - pala - andaliman
2.	<i>Staphylococcus</i>	- <i>S. aureus</i> - <i>S. faecalis</i>	- kunyit, lengkuas, picung, sirih, andaliman, sotul, dan kecombrang - kunyit
3.	<i>Micrococcus</i>	- <i>M. varians</i>	- jahe dan pala
4.	<i>Leuconostoc</i>	- <i>Leuconostoc sp.</i>	- jahe dan pala
5.	<i>Lactobacillus</i>	- <i>L. acidophilus</i> - <i>L. fermentum</i>	- kunyit - pala dan cabe merah
6.	<i>Listeria</i>	- <i>L. monocytogenes</i>	- lengkuas, sirih, dan kecombrang
7.	<i>Salmonella</i>	- <i>Salmonella sp.</i> - <i>S. gallinarium</i> - <i>S. thompson</i> - <i>S. typhimurium</i>	- pala - kunyit - jahe - sirih, andaliman, sotul, dan kecombrang
8.	<i>Escherichia</i>	- <i>Escherichia coli</i>	- kunyit, jahe, sirih, dan kecombrang
9.	<i>Pseudomonas</i>	- <i>Pseudomonas sp.</i> - <i>P. aeruginosa</i>	- jahe, pala, dan sotul - andaliman, sirih, dan kecombrang
10.	<i>Enterobacterium</i>	- <i>E. aerogenes</i>	- jahe
11.	<i>Vibrio</i>	- <i>V. cholerae</i>	- jahe dan andaliman
12.	<i>Aeromonas</i>	- <i>A. hydrophila</i>	- kecombrang
Kapang			
13.	<i>Aspergillus</i>	- <i>A. oryzae</i> - <i>A. niger</i> - <i>A. flavus</i>	- bawang putih - jahe - lengkuas dan kecombrang
14.	<i>Rhizopus</i>	- <i>R. oryzae</i> - <i>R. oligosporus</i>	- bawang putih - lengkuas dan kecombrang
15.	<i>Fusarium</i>	- <i>Fusarium sp.</i>	- jahe
16.	<i>Penicillium</i>	- <i>P. funiculosum</i>	- kecombrang
Kamir			
17.	<i>Sacharomyces</i>	- <i>S. cerevisiae</i> - <i>Shizosacharomyces pombe</i>	- bawang putih dan jahe - jahe
18.	<i>Endomycopsis</i>	- <i>E. fibuliger</i>	- bawang putih
19.	<i>Candida</i>	- <i>C. solani</i>	- bawang putih

Namun, kandungan senyawa antimikroba dari bagian tanaman rempah tersebut berbeda-beda sehingga aktivitas penghambatannya terhadap setiap jenis mikroba juga berbeda. Senyawa antimikroba yang terdapat di dalam beberapa rempah dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Komponen antimikroba yang terdapat di dalam rempah-rempah yang dikaji

No.	Jenis rempah	Komponen Antimikroba	Pustaka
1.	Bawang putih	alilsulfonil-alilsulfida, akrolein, alisin, alinin	1
2.	Kunyit	kurkumin, feladren, zingeron, cineol	2
3.	Jahe	zingeron, shagaol, gingerol	3
4.	Jintan	limonen, dihidrokarbon, asetaldehida	4
5.	Cabe merah	gugus vanililamid, kapsaisin	5
6.	Kayu manis	sinamat aldehyd, eugenol, feladren	6
7.	Lengkuas	cineol, pinene, camphor, metil-sinamat	7
8.	Temukunci	monoterpen, seskuiterpen	8
9.	Pala	eugenol, terpineol, terpene, aldehyd, safrole	9
10.	Picung	tanin	10
11.	Sirih	safran, fenol	11
12.	Beluntas	benzil-alkohol, benzil asetat, eugenol	12
13.	Salam	cineol, eugenol, pinene, tanin	13
14.	Andaliman	polifenol, flavonoid	14
15.	Sotul	asam bryononat	15
16.	Kecombrang	steroid, terpenoid, alkaloid, glikosida	16
17.	Mesoyi	aldehyd sinamat, safrole	17
18.	Kedawung	steroid, triterpenoid, saponin	18

Keterangan : 1= Farel (1990); 2= Farel (1990); 3= Harris (1987); 4= Direja (2007); Kristikasari (2000); 5= Dewanti (1984); 6= Sutedjo (1990); 7= Rahayu (1999); 8= Dewi (1998); 9= Susilawati (1987); 10= Andriyanto (2001); 11= Sukarminah (1997); 12= Ardiansyah (2002); Malthaputri (2007); 13= Sari (2000); 14= Parhusip (2006); 15= Andriyanto (2001); 16= Naufalin (2005); 17= Harris (1987); 18= Sari (2000)

Tabel 10 menunjukkan bahwa komponen antimikroba yang terkandung di dalam rempah-rempah berbeda. Senyawa volatil yang penting di dalam bawang merah yaitu senyawa sulfur berupa alifatik disulfida dan akrolein yang bersifat antimikroba. Cengkeh yang mengandung aldehyd sinamat dan eugenol memiliki sifat bakteriostatik. Menurut Dewanti (1984), pengaruh kapsaisin yang terdapat dalam cabe merah terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh gugus vanilamid dalam senyawa kapsaisin. Bubuk jahe sebanyak 2 % (b.k.) menurut Undriyani (1987) bersifat bakterisidal terhadap pertumbuhan bakteri Gram positif dan bersifat bakteristatik terhadap bakteri Gram negatif. Menurut Bullerman (1974) diacu dalam Triana (1998), ekstrak alkohol kayu manis dapat menghambat pertumbuhan kapang karena di dalam minyak kayu manis terdapat sinamat aldehyd, eugenol, felandren, dan terpen-terpen lainnya.

Tingkat efektivitas pada pengujian aktivitas antimikroba terhadap mikroba uji berbeda-beda. Tingkat efektivitas yang dihasilkan dari metode sumur menurut Piddock (1990) diacu dalam Branen, Davidson, dan Sofos (2005)

dibagi menjadi efektivitas rendah (jika diameter penghambatan 15-20 mm), sedang (jika diameter penghambatan 20-30 mm), dan tinggi (jika diameter penghambatan 30-35 mm). Sedangkan efektivitas antimikroba terhadap kapang ditentukan dari laju pertambahan lebar diameter pertumbuhan koloni kapang terhadap waktu. Semakin kecil laju pertambahan diameter yang terukur maka semakin efektif antimikroba tersebut. Pada metode kontak, aktivitas antimikroba disebut efektif menghambat pertumbuhan mikroba apabila menghasilkan nilai perbandingan LPS mikroba pada waktu inkubasi tertentu dengan LPS kontrol untuk mikroba yang sama lebih kecil dari 1.

Berdasarkan riset antimikroba alami yang telah diteliti aktivitasnya (15 buah) diketahui bahwa ada 26.7% (4 buah) sumber antimikroba alami yang tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan mikroba uji dengan berbagai konsentrasi dan jenis ekstrak. Sumber antimikroba alami tersebut adalah jintan hitam, daun beluntas, kayu mesoyi, dan kedawung. Sedangkan 73.3% (11 buah) sumber antimikroba lainnya memiliki efektivitas dalam menghambat mikroba uji tertentu baik dalam tingkat rendah, sedang, ataupun tinggi. Sumber antimikroba alami tersebut adalah bawang putih, kunyit, jahe, lengkuas, pala, picung, daun sirih, kecombrang, andaliman, cabe merah, dan sotul.

Efektivitas senyawa antimikroba dalam menghambat pertumbuhan mikroba yang berbeda-beda diduga disebabkan oleh komposisi dari sumber antimikroba seperti kadar air, kadar lemak, dan nutrien lain yang dapat mendukung mikroba untuk tumbuh, disamping sifat dan kondisi pertumbuhan mikroba. Selain itu, metode yang digunakan untuk memperoleh senyawa antimikroba juga mempengaruhi efektivitas antimikroba karena senyawa antimikroba harus terekstrak dengan sempurna sehingga dapat menghasilkan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan mikroba yang baik.

Pengujian aktivitas antimikroba dari setiap rempah menggunakan konsentrasi yang berbeda-beda, tetapi dalam kajian ini satuan dari konsentrasinya diseragamkan. Satuan konsentrasi yang digunakan antara lain mg/ml, mg/g, dan ml/l. Konsentrasi aktivitas antimikroba dari rempah-rempah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Konsentrasi minimum antimikroba alami dalam menghambat bakteri

Jenis mikroba	Jenis ekstrak	Konsentrasi	Aktivitas penghambatan
<i>Bacillus subtilis</i>	Kunyit	2 mg/ml	LPS=1.92 inkubasi 48 jam (Bakterisidal)
	Jahe	20 mg/g	LPS=0.55 (LPS kontrol=1.28) waktu kontak 3 hari (Bakterisidal)
	Cabe merah	Cabe merah tanpa biji 3 mg/ml	LPS=0.89 (LPS kontrol=1.00)
<i>B. cereus</i>	Lengkuas	Ekstrak metanol 200 mg/ml (polar)	Diameter penghambatan=15.13 mm
		Ekstrak kloroform (0.1%) (500 mg/ml) 0-20mg ekstrak/ ml medium	Diameter penghambatan=15.31 mm <i>MIC</i> sebesar 1.0 mg/ml
	Biji pala	16 mg/ml (b.k./v)	LPS=0.33. Penurunan jml sel mjd 2 log pertumbuhan dari kontrol (7 log pertumbuhan)
	Buah andaliman	Ekstrak etil asetat 500mg/g	Nilai <i>MIC</i> dan MBC 2 mg/g dan 12 mg/g (paling peka). Aktivitas lebih peka pada fase eksponensial. Diameter penghambatan= 19.22mm
	Buah sotul	Ekstrak etanol 3.33 ml/l	Diameter penghambatan= 15.26 mm
	Bunga kecombrang	Minyak atsiri	Diameter penghambatan= 31.30 mm
		Ekstrak etil asetat 30 mg/ml	Diameter penghambatan= 18.00 mm <i>MIC</i> =6 mg/ml
<i>B. pumillus</i>	Biji pala	25 mg/ml (b.k./v)	LP=0.40. Penurunan jumlah sel sebesar 4.6 siklus log
<i>B. stearo-thermophilus</i>	Buah andaliman	Maserasi dg pelarut etil asetat : etanol = 10:1 (v/v)	Diameter penghambatan sebesar 16.50 mm
		Maserasi dg pelarut etil asetat : etanol = 10:1 (v/v)	LPS= 0.4947 (LPS kontrol= 1.3163) (Bakterisidal)
		Soxhlet dg pelarut etil asetat: etanol= 10:1 (v/v)	LPS= 0.5530 (LPS kontrol= 1.3163) (Bakterisidal)
<i>S. aureus</i>	Kunyit	2 mg/ml	LPS=2.00 inkubasi 24 jam (LPS kontrol 2.10) memperpanjang fase lag
	Lengkuas	Ekstrak heksana 330 mg/ml	Diameter penghambatan=22.00 mm
		Ekstrak kloroform (0.1%) (500 mg/ml) 0-20 mg ekstrak/ ml medium	Diameter penghambatan=17.97mm <i>MIC</i> sebesar 2.5 mg/ml
	Picung	Ekstrak etanol biji picung segar 800 mg (b.k.)/ml	Diameter penghambatan 19.30 mm <i>MIC</i> 34.6 mg/ml
	Daun sirih	Minyak atsiri 0.6 ml/l	LPS=0.89 inkubasi 24 jam (LPS kontrol=1.17)
	Buah andaliman	Ekstrak etil asetat 500 mg/g	Nilai <i>MIC</i> 12 mg/g dan MBC 28 mg/g (paling tahan). Aktivitas lebih peka pada fase eksponensial dengan diameter penghambatan=24.15 mm
		Ekstrak metanol 500 mg/g	Nilai <i>MIC</i> 16 mg/g dan MBC 50 mg/g Aktivitas lebih peka pada fase eksponensial dengan diameter penghambatan=16.20 mm
	Buah sotul	Ekstrak etanol 3.33 ml/l	Diameter penghambatan = 23.84 mm
	Bunga kecombrang	Minyak atsiri	Diameter penghambatan= 35.10 mm

Tabel 11. Konsentrasi minimum antimikroba alami dalam menghambat bakteri (lanjutan)

Jenis mikroba	Jenis ekstrak	Konsentrasi	Aktivitas penghambatan
<i>S. faecalis</i>	Kunyit	4 mg/ml	LPS= 1.95 inkubasi 24 jam (LPS kontrol 2.12) memperpanjang fase lag
<i>M. varians</i>	Jahe	20 mg/g	LPS=0.55 (LPS kontrol=1.28) waktu kontak 3 hari (Bakterisidal)
	Biji pala	25 mg/ml	LPS=0.26. Penurunan jumlah sel sebesar 6.3 siklus log
<i>Leuconostoc sp.</i>	Jahe	60 mg/g	LPS=0.60 (LPS kontrol=2.30) waktu kontak 3 hari (Bakterisidal)
	Biji pala	25 mg/ml	LPS=0.56. Penurunan jumlah sel sebesar 3.8 siklus log
<i>L. acidophilus</i>	Kunyit	2 mg/ml	LPS=0.80 inkubasi 24 jam (LPS kontrol 2.1) (Bakterisidal)
<i>L. fermentum</i>	Biji pala	16 mg/ml (b.k./v)	LPS=0.40. Penurunan jumlah sel sebesar 1.2 siklus log
	Cabe merah	Cabe merah tanpa biji 1 mg/ml	LPS=0.99 (LPS kontrol=1.00)
<i>Salmonella sp.</i>	Biji pala	98 mg/ml (b.k./v)	Bakterisidal (LPS=0)
<i>S. gallinarium</i>	Kunyit	4 mg/ml	LPS=1.45 inkubasi 24jam (LPS kontrol 2.15) dan memperpanjang fase lag (fase adaptasi), waktu inkubasi (48 dan 72jam) menstimulasi pertumbuhan.
<i>S. thompson</i>	Jahe	800 ml ekstrak /l	LPS 0.73 (LPS kontrol 1.89) waktu inkubasi 24jam (Bakterisidal)
<i>S. typhimurium</i>	Buah andaliman	Maserasi dg pelarut etil asetat : etanol = 10:1 (v/v)	LPS= 0.5973 (LPS kontrol= 1.2676) (Bakterisidal)
		Soxhlet dg pelarut etil asetat: etanol= 10:1 (v/v)	LPS= 0.7002 (LPS kontrol= 1.2676) (Bakterisidal)
		Ekstrak etil asetat 500 mg/g	Nilai MIC 8 mg/g dan MBC 28 mg/g Aktivitas lebih peka pada fase adaptasi dengan diameter penghambatan = 27.75 mm
		Ekstrak metanol 500 mg/g	Nilai MIC 12 mg/g dan MBC 32 mg/g Aktivitas lebih peka pada fase stationer dengan diameter penghambatan = 17.75 mm
	Buah sotul	Ekstrak etanol 3.33 ml/l	Diameter penghambatan = 15.47 mm
	Bunga kecombrang	Minyak atsiri	Diameter penghambatan = 39.30 mm
		Ekstrak etil asetat 30 mg/ml	Diameter penghambatan = 27.30 mm MIC=4 mg/ml
		Ekstrak etanol 30 mg/ml	Diameter penghambatan = 15.40 mm MIC=4 mg/ml
<i>L. monocytogenes</i>	Lengkuas	Ekstrak metanol 200 mg/ml	Diameter penghambatan= 20.37 mm
	Bunga kecombrang	Minyak atsiri	Diameter penghambatan= 31.30 mm
		Ekstrak etil asetat 30 mg/ml	Diameter penghambatan= 17.20 mm MIC=5 mg/ml

Tabel 11. Konsentrasi minimum antimikroba alami dalam menghambat bakteri (lanjutan)

Jenis mikroba	Jenis ekstrak	Konsentrasi	Aktivitas penghambatan
<i>Escherichia coli</i>	Kunyit	7 mg/ml	LPS=1.90 (LPS kontrol 2.10) pada inkubasi 24 jam, penambahan waktu inkubasi (48 dan 72 jam) menstimulasi pertumbuhan.
	Jahe	800 ml ekstrak /l	LPS 1.42 inkubasi 72jam (LPS kontrol 1.77)
	Daun sirih	Minyak atsiri 0.6 ml/l	LPS=0.91 inkubasi 24 jam (LPS kontrol=1.07)
	Bunga kecombrang	Minyak atsiri Ekstrak etil asetat 30mg/ml	Diameter penghambatan= 36.30 mm Diameter penghambatan= 19.40 mm MIC=4 mg/ml
<i>Pseudomonas sp.</i>	Jahe	60 mg/g	LPS=2.10 (LPS kontrol=2.32) waktu kontak 3 hari
	Biji pala	25 mg/ml	LPS=0.39. Penurunan jumlah sel sebesar 4.0 siklus log
	Buah sotul	Ekstrak etanol 3.33 ml/l	Diameter penghambatan = 26.14 mm
		Ekstrak etil asetat 3.33 ml/l	Diameter penghambatan = 17.13 mm
<i>P.aeruginosa</i>	Buah andaliman	Maserasi dg pelarut etil asetat:etanol= 10:1 (v/v)	LPS= 0.4837 (LPS kontrol = 1.2305) (Bakterisidal)
		Soxhlet dg pelarut etil asetat: etanol= 10:1 (v/v)	LPS= 0.6482 (LPS kontrol= 1.2305) (Bakterisidal)
	Bunga kecombrang	Minyak atsiri	Diameter penghambatan= 46.90 mm
		Ekstrak etil asetat 30 mg/ml	Diameter penghambatan= 22.20 mm MIC=3 mg/ml
<i>E. aerogenes</i>	Jahe	60 mg/g	LPS=1.48 (LPS kontrol=1.52) waktu kontak 3 hari
<i>Vibrio cholerae</i>	Jahe	70 ml ekstrak /l	LPS 1.07 inkubasi 72 jam(LPS kontrol =1.51)
	Buah andaliman	Maserasi dg pelarut etil asetat:etanol= 10:1 (v/v)	LPS= 0.6505 (LPS kontrol= 1.2691) (Bakterisidal)
		Soxhlet dg pelarut etil asetat: etanol= 10:1 (v/v)	LPS= 0.7038 (LPS kontrol= 1.2691) (Bakterisidal)
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Bunga kecombrang	Minyak atsiri	Diameter penghambatan= 40.10 mm
		Ekstrak etil asetat 30 mg/ml	Diameter penghambatan= 16.70 mm MIC=4 mg/ml

Tabel 11 menunjukkan konsentrasi minimum dari antimikroba alami yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri baik Gram positif maupun Gram negatif yang terlihat bahwa penambahan satu jenis antimikroba alami terhadap aktivitas pertumbuhan bakteri yang berbeda menghasilkan aktivitas penghambatan yang berbeda pula.

Perbedaan aktivitas penghambatan mikroba tersebut, salah satunya dapat dikarenakan oleh penggunaan jenis ekstrak. Bakteri Gram positif lebih peka terhadap ekstrak nonpolar dari pada ekstrak polar karena memiliki lapisan peptidoglikan yang bersifat hidrofobik sehingga lebih mudah ditembus oleh

senyawa nonpolar (Franklin dan Snow, 1989). Contohnya pada *B. cereus* lebih peka terhadap minyak atsiri bunga kecombrang yang bersifat nonpolar dibandingkan terhadap etil asetat (30 mg/ml) dengan diameter penghambatan masing-masing sebesar 31.30 mm dan 18.00 mm (Tabel 11). Adanya komponen nonpolar menyebabkan membran dapat berinteraksi dengan protein membran yang dapat menyebabkan kebocoran isi sel atau menyebabkan perubahan komposisi membran sel sehingga membran sel mengalami kerusakan. Sedangkan bakteri Gram negatif lebih peka terhadap ekstrak polar daripada nonpolar. Hal ini dapat dilihat dari aktivitas penghambatan *Pseudomonas sp.* terhadap ekstrak etanol sotul (3.33 ml/l) dibandingkan ekstrak etil asetat (3.33 ml/l) dengan diameter penghambatan masing-masing sebesar 26.14 mm dan 17.13 mm. Perbedaan aktivitas antimikroba ini disebabkan karena bakteri Gram negatif bersifat hidrofilik berupa grup protein pada lapisan membran luar sehingga ekstrak polar dapat lebih mudah menembus dinding sel mikroba (Franklin dan Snow, 1989).

Tabel 12 menunjukkan konsentrasi minimum dari antimikroba alami yang efektif menghambat pertumbuhan kapang dan kamir. Konsentrasi minimum yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan kapang dan kamir lebih tinggi (Tabel 12) daripada konsentrasi yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Tabel 11). Daya tahan yang tinggi dari kapang dan kamir terhadap penambahan senyawa antimikroba pada medium pertumbuhan diduga disebabkan struktur selnya yang kompleks dengan dinding sel yang tebal dan kandungan nutrisi dalam rempah-rempah. Kapang dan kamir tergolong dalam protista tingkat tinggi (eukariotik) sedangkan bakteri merupakan protista tingkat rendah (prokariotik). Ciri dasar yang dimiliki oleh sel prokariotik antara lain tidak terdapat membran internal yang memisahkan nukleus dari sitoplasma dan melindungi struktur dan tubuh lain yang ada di dalam sel, sedangkan sel eukariotik mempunyai sistem membran internal ekstensif yang disebut retikulum endoplasma.

Tabel 12. Konsentrasi minimum antimikroba alami dalam menghambat kapang dan kamir

Jenis mikroba	Jenis ekstrak	Konsentrasi	Aktivitas penghambatan
<i>A. oryzae</i>	Bawang putih	10 mg/ml	LPS=1.20 (LPS kontrol 1.30)
<i>A. niger</i>	Jahe	2.5 mg/g	LPS=0.90 (LPS kontrol=1.58) waktu kontak 3 hari (Fungisidal)
<i>A. flavus</i>	Lengkuas	Ekstrak heksana 330mg/ml	Diameter pertumbuhan koloni 16.25 mm (inkubasi 48 jam)
		Ekstrak metanol 200 mg/ml	Diameter pertumbuhan koloni 23.76 mm (inkubasi 48jam)
		Ekstrak kloroform (0.1%) (500 mg/ml) 0-20 mg ekstrak/ ml medium	Diameter penghambatan=23.13 mm (inkubasi 48 jam), <i>MIC</i> sebesar 3.5 mg/ml
		Ekstrak metanol-air (10 ³ mg /ml)	Diameter penghambatan= 25.88 mm (inkubasi 48 jam)
	Bunga kecombrang	Ekstrak etil asetat 15 mg/ml	Diameter pertumbuhan koloni = 0.00 mm (inkubasi 1 hari) <i>MIC</i> =10 mg/ml
		Ekstrak etanol 15 mg/ml	Diameter pertumbuhan koloni = 0.00 mm (inkubasi 1 hari) <i>MIC</i> =10 mg/ml
<i>R. oryzae</i>	Bawang putih	100 mg/ml	LPS menurun menjadi 0.91 (LPS kontrol 1.00)
<i>R. oligosporus</i>	Lengkuas	Minyak atsiri 500 ml/l	Diameter pertumbuhan koloni 31.57 mm (inkubasi 24jam)
		Ekstrak heksana 330 mg/ml	Diameter pertumbuhan koloni 41.00 mm (inkubasi 24 jam)
		Ekstrak metanol 200 mg/ml	Diameter pertumbuhan koloni 62.32 mm (inkubasi 24 jam)
		Ekstrak kloroform (0.1%) (500mg/ml) 0-20mg ekstrak/ ml medium	Diameter pertumbuhan koloni 50 mm (inkubasi 24 jam), <i>MIC</i> sebesar 2.0 mg/ml
		Ekstrak metanol-air (10 ³ mg /ml)	Diameter pertumbuhan koloni 55.00 mm (inkubasi 24 jam)
	Bunga kecombrang	Ekstrak etil asetat 30mg/ml	Diameter penghambatan = 90.00 mm (inkubasi 3 hari) <i>MIC</i> =20 mg/ml
<i>Penicillium funiculosum</i>	Bunga kecombrang	Ekstrak etil asetat 30mg/ml	Diameter penghambatan = 25.00 mm (inkubasi 3 hari) <i>MIC</i> =10 mg/ml (++)
		Ekstrak etanol 30 mg/ml	Diameter penghambatan = 21.15 mm (inkubasi 3 hari) <i>MIC</i> =10 mg/ml (++)
<i>Fusarium sp.</i>	Jahe	120 mg/g	LPS=0.65 (LPS kontrol=1.22) waktu kontak 3 hari
<i>S. cerevisiae</i>	Bawang putih	10mg/ml	LPS menurun menjadi 1.32 (LPS kontrol 1.58)
	Jahe	20 mg/g	LPS=2.70(LPS kontrol=3.60) waktu kontak 3hari
<i>Shizosacharomyces pombe</i>	Jahe	10-50 mg/g	LPS(1.60-2.09) < LPS kontrol(3.66) waktu kontak 3 hari. Penambahan waktu kontak (0-3hari) meningkatkan LPS
<i>Endomycopsis fibuliger</i>	Bawang putih	30mg/ml	LPS menjadi 1.75 (LPS kontrol 1.96)
<i>Candida solani</i>	Bawang putih	50mg/ml	LPS menurun menjadi 1.09 (LPS kontrol 1.20)

Membran tersebut meluas ke seluruh sitoplasma dan bagian-bagian penyekat sel dengan cara melindungi struktur-struktur tertentu atau kegiatan kimiawi sel dan berfungsi sebagai penghalang antara beberapa organ sel dan menjaganya dalam posisi yang relatif konstan (Pelczar dan chan, 1986). Diduga struktur sel eukariotik yang lebih kompleks dibandingkan sel prokariotik dengan membran internal yang ekstensif tersebut dapat melindungi sel dari pengaruh komponen antimikroba yang terkandung dalam rempah-rempah.

Penambahan konsentrasi senyawa antimikroba diduga dapat meningkatkan penetrasi senyawa antimikroba ke bagian dalam sel mikroba yang akan merusak sistem metabolisme sel dan dapat mengakibatkan kematian sel. Pertumbuhan bakteri, kapang, dan jamur sebagian besar akan semakin menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi antimikroba misalnya yang terjadi pada jahe. Hal ini ditunjukkan dari nilai LPS yang semakin menurun dan nilai diameter penghambatan yang semakin besar (Lampiran 2 sampai Lampiran 7). Namun, penambahan senyawa antimikroba ada pula yang dapat menstimulir pertumbuhan mikroba uji seiring dengan perpanjangan waktu inkubasi atau waktu kontak, misalnya dengan penambahan bubuk biji cabe merah konsentrasi 1, 3, dan 5 mg/ml (Lampiran 5). Hal ini diduga karena dengan perpanjangan waktu kontak dapat memberikan kesempatan kepada mikroba untuk dapat pulih kembali dan beradaptasi dengan media kontak, sehingga semakin lama waktu kontak dapat menjadikan pertumbuhan mikroba semakin baik. Selain itu, mikroba dapat memanfaatkan komponen di dalam rempah-rempah sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhannya.

6. Kelayakan Rempah-Rempah sebagai Antimikroba Alami

Kelayakan rempah-rempah sebagai antimikroba alami dapat ditentukan dari efektivitas antimikroba alami dalam menghambat mikroba perusak dan patogen pangan serta ketersediaan dari sumber antimikroba alami tersebut. Rempah-rempah disebut layak dijadikan sumber antimikroba alami apabila memenuhi kriteria yaitu bersifat efektif dalam menghambat mikroba perusak dan patogen pangan dan memiliki tingkat ketersediaan yang tinggi (mudah

diperoleh). Jika salah satu dari kriteria tersebut tidak dipenuhi maka rempah tersebut tidak layak untuk dijadikan sumber antimikroba alami.

Tingkat ketersediaan rempah-rempah berbeda-beda (Tabel 13), ada yang mudah diperoleh dan ada pula yang sulit diperoleh. Rempah yang mudah diperoleh dan terdapat di banyak tempat antara lain bawang putih, jahe, kunyit, lengkuas, temukunci, jintan hitam, picung, daun sirih, daun salam, cabe merah, pala, kecombrang, kayu manis, dan kedawung. Sedangkan rempah yang agak sulit diperoleh dan hanya terdapat di daerah tertentu antara lain beluntas (Aceh dan Madura), sotul dan andaliman (Sumatera Utara), dan mesoyi (Irian jaya).

Tabel 13. Kelayakan sumber antimikroba alami

No.	Antimikroba alami	Efektivitas	Ketersediaan	Kelayakan
1.	Bawang putih	+	+	Layak
2.	Kunyit	+	+	Layak
3.	Jahe	+	+	Layak
4.	Lengkuas	+	+	Layak
5.	Pala	+	+	Layak
6.	Jintan hitam	-	+	Tidak layak
7.	Picung*	-	+	Tidak layak
8.	Beluntas	-	-	Tidak layak
9.	Sirih	+	+	Layak
10.	Andaliman	+	-	Tidak layak
11.	Cabe merah	+	+	Layak
12.	Sotul	+	-	Tidak layak
13.	Kecombrang	+	+	Layak
14.	Kayu mesoyi	-	-	Tidak layak
15.	Kedawung	-	+	Tidak layak

Keterangan:

Efektivitas : (+) = efektif
(-) = tidak efektif

Ketersediaan : (+) = tersedia di berbagai daerah
(-) = hanya tersedia di daerah tertentu

Selain sulit diperoleh, daun beluntas dan kayu mesoyi tidak memiliki efektivitas dalam menghambat mikroba uji (Lampiran 4 dan Lampiran 7) sehingga dapat dipastikan daun beluntas dan kayu mesoyi tidak layak untuk dijadikan sebagai sumber antimikroba alami (Tabel 13). Meskipun mudah diperoleh, berdasarkan hasil riset kedawung dan jintan hitam tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan mikroba uji sehingga kedawung dan jintan hitam tidak layak dijadikan sumber antimikroba alami. Berdasarkan hasil kajian walaupun picung mudah diperoleh, tetapi dari segi efektivitas sangat rendah karena dari 5 mikroba yang diujikan hanya *S. aureus* yang dapat dihambat oleh ekstrak etanol biji picung segar. Sedangkan untuk buah sotul dan

andaliman, meski sulit diperoleh, buah sotul dan andaliman memiliki efektivitas yang relatif baik (Lampiran 5). Alternatif yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah ketersediaannya adalah dengan menyebar bibit tanaman sotul dan andaliman ke daerah lain yang sukar ditemui sehingga dapat dibudidayakan dan dimanfaatkan buahnya sebagai salah satu sumber antimikroba alami.

Berdasarkan Tabel 13 dapat dilihat bahwa sumber antimikroba alami yang dinyatakan layak sebesar 53.3 % (8 buah). Sumber antimikroba alami tersebut antara lain bawang putih, jahe, kunyit, lengkuas, daun sirih, cabe merah, pala, dan kecombrang. Sedangkan yang tidak layak sebesar 46.7 % (7 buah) yaitu daun beluntas, picung, jintan hitam, sotul, kayu mesoyi, andaliman, dan kedawung.

7. Rekomendasi Kajian Riset Antimikroba Alami

Hasil riset antimikroba alami menghasilkan beberapa rekomendasi sumber antimikroba alami yang teruji memiliki efektivitas penghambatan terhadap mikroba dan perpanjangan umur simpan. Sumber antimikroba alami yang dinilai efektif dari segi aktivitasnya dalam menghambat mikroba perusak dan patogen pangan dan memiliki tingkat ketersediaan yang tinggi, layak untuk diteliti lebih lanjut sebagai antimikroba alami dalam bahan pangan adalah bawang putih, jahe, lengkuas, kunyit, biji pala, cabe merah, daun sirih, dan kecombrang. Informasi rekomendasi hasil riset yang layak untuk dikembangkan dapat dilihat pada Tabel 14 dan Tabel 15.

Tabel 14. Alternatif topik riset lanjutan

No.	Sumber antimikroba	Rekomendasi
1.	bawang putih	Aplikasinya pada pengawetan empek-empek dan tempe
2.	kunyit	Aplikasinya pada pengawetan nasi kuning, kue, dan pangan hasil olahan hewani
3.	jahe	Aplikasinya pada pengawetan kue dan pangan hasil olahan hewani
4.	lengkuas	Aplikasinya pada pengawetan ikan
5.	biji pala	Aplikasinya pada pengawetan kue
6.	cabe merah	Aplikasinya pada pengawetan pangan hasil olahan hewani
7.	daun sirih	Aplikasinya pada pengawetan pangan hasil olahan hewani
8.	kecombrang	Aplikasinya pada pengawetan pangan hasil olahan hewani

Tabel 15. Hasil riset antimikroba yang layak untuk dikembangkan

No.	Sumber antimikroba	Rekomendasi
1.	buah sotul dan andaliman	- Pembudidayaan secara luas dan maksimal di daerah asal. - Aplikasikan untuk pengawet produk olahan hewani.
2.	picung	- Penelitian lanjut untuk mengetahui daya hambatnya terhadap mikroba uji selain <i>E. coli</i> , <i>S. thypimurium</i> , <i>P. fluorescens</i> , dan <i>B. cereus</i> . -Antiseptik pada sabun pencuci tangan

Pengaplikasian rempah sebagai pengawet pangan hasil olahan hewani didasarkan karena selain dapat menghambat pertumbuhan mikroba perusak dan patogen pangan, penggunaan rempah juga umumnya telah digunakan sebagai salah satu pelengkap bumbu masakan. Biji pala diaplikasikan pada pengawetan kue karena mempunyai senyawa aldehid yang juga terkandung dalam kayu manis yang telah banyak diaplikasikan pada kue atau *cake*. Sumber antimikroba alami yang efektif dalam menghambat mikroba perusak dan patogen pangan tetapi memiliki kendala pada ketersediaannya seperti buah sotul dan andaliman (Tabel 15), sebaiknya dibudidayakan secara luas di berbagai daerah atau dibudidayakan secara maksimal di daerah asal sehingga potensi sumber antimikroba alami tersebut dapat dioptimalkan. Kedua komoditi tersebut juga berpotensi untuk dijadikan sumber antimikroba alami sehingga dapat diaplikasikan pada produk olahan hewani sebagai bumbu pelengkap. Sedangkan untuk picung, selain dibutuhkan penelitian lanjut mengenai mikroba lain yang dapat dihambat, picung juga dapat direkomendasikan untuk menjadi antiseptik pada sabun pencuci tangan, karena ternyata picung efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* yang banyak terdapat pada kulit.

8. Aplikasi Antimikroba Alami dalam Bahan Pangan

Daya antimikroba yang berbeda pada setiap antimikroba alami mempengaruhi aktivitas penghambatan terhadap mikroba perusak dan patogen yang terdapat dalam produk pangan. Hal tersebut dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan dalam pengaplikasiannya sebagai pengawet pangan. Sumber antimikroba alami yang telah diaplikasikan sebagai pengawet alami di dalam bahan pangan yang dapat dilihat pada Tabel 16. Tidak semua rempah dapat diaplikasikan secara bersamaan dalam satu jenis produk pangan. Kombinasi

dari beberapa rempah harus menunjang citarasa dari produk pangan, bukan hanya untuk memperpanjang umur simpan.

Tabel 16. Aplikasi rempah-rempah sebagai pengawet bahan pangan

No.	Antimikroba alami	Aplikasi dalam bahan pangan	Peneliti
1.	Bawang putih	Mie basah mentah dan matang	1
2.	Kunyit	Mie basah mentah dan matang	2
3.	Lengkuas	Mie basah mentah dan matang	3
4.	Kecombrang	Mie basah mentah dan matang	4
5.	Fuli pala	Mie basah matang	5,6
6.	Daun salam	Mie basah mentah dan matang	3
7.	Kayu manis	Mie basah matang	7
8.	Temukunci	Mie basah matang	8

Keterangan : 1= Yohana (2007); 2= Sihombing (2007); 3= Sukmawati 2007; 4= Anggraeni (2007); 5= Putra (2007); 6= Novelianti (2007); 7= Agus (2007); 8= Riandi (2007)

Berdasarkan hasil riset diketahui bahwa terdapat 8 jenis rempah yang telah diteliti aktivitasnya dalam menghambat mikroba dan layak untuk dijadikan sebagai sumber antimikroba alami. Sumber antimikroba alami yang telah diteliti tersebut 5 diantaranya telah diaplikasikan ke dalam bahan pangan. Sumber antimikroba tersebut adalah bawang putih, kunyit, lengkuas, kecombrang, dan fuli pala (Tabel 16). Sumber antimikroba alami lain yang telah diteliti mengenai aplikasinya dalam bahan pangan namun belum terdapat hasil riset untuk aktivitasnya dan memiliki kemampuan dalam memperpanjang umur simpan bahan pangan adalah daun salam, kayu manis, dan temukunci. Penambahan antimikroba alami dalam bahan pangan dapat memperpanjang umur simpan karena dapat menghambat atau membunuh mikroba perusak dan patogen pangan.

Antimikroba alami diaplikasikan ke dalam mie basah dengan cara mencampurkan ekstrak antimikroba ke dalam adonan mie dengan persentase konsentrasi ekstrak dari total air adonan kecuali pada aplikasi bubuk fuli pala dalam mie basah matang yaitu dengan persentase konsentrasi ekstrak dari berat terigu yang digunakan. Jenis ekstrak yang diaplikasikan ke dalam adonan mie antara lain ekstrak segar dan ekstrak rebus. Ekstrak segar diperoleh dari antimikroba alami yang di-*blender* tanpa atau bersama dengan air dalam perbandingan tertentu yang kemudian disaring dengan kain saring. Ekstrak

rebus diperoleh dengan menggunakan irisan sumber antimikroba dan air pada perbandingan tertentu dan waktu perebusan tertentu.

Lampiran 8 dan Lampiran 9 menunjukkan bahwa umur simpan mie basah mentah berbeda dengan mie basah matang. Perbedaan tersebut terutama disebabkan adanya perbedaan proses pembuatan. Pada mie basah mentah, setelah pemotongan mie dilakukan pelumuran dengan tepung tapioka, sedangkan pada mie basah matang, setelah pemotongan mie dilakukan perebusan dalam air yang dicampur dengan minyak. Perebusan yang dialami mie basah matang menyebabkan tingginya kadar air sehingga lebih mudah rusak. Kadar air yang tinggi memudahkan mikroba untuk tumbuh dan berkembang biak. Kerusakan yang umum terjadi pada mie basah adalah bau asam, bau tengik timbulnya lendir, dan perubahan warna. Kerusakan pada mie basah mentah terutama disebabkan oleh kapang karena kadar air mie mentah yang relatif rendah. Menurut Yohana (2007), ciri-ciri kerusakan mie basah mentah antara lain hancur/patah-patah, keras/kering, bau asam, berlendir, lembek, dan perubahan warna mie basah mentah menjadi lebih pucat. Tekstur mie basah mentah yang keras/kering, hancur/patah-patah dapat disebabkan karena kadar airnya berkurang akibat penguapan air selama penyimpanan sehingga elastisitas mie menurun. Sedangkan kerusakan yang terjadi pada mie basah matang terutama disebabkan oleh bakteri karena kadar air mie basah matang relatif tinggi. Kerusakan mie basah matang yang disebabkan oleh bakteri antara lain lembek, kempal (menyatu), bau asam, berlendir, hancur, dan kurang kenyal.

Lampiran 8 menunjukkan bahwa bawang putih, kunyit, daun salam, dan lengkuas efektif dalam memperpanjang umur simpan mie basah mentah yang ditunjukkan dengan jumlah total kapang yang lebih kecil dari kontrol (minimal dapat menurunkan satu satuan log pertumbuhan) dan umur simpan objektif yang lebih lama dari kontrol. Namun penambahan bawang putih, kecombrang, kunyit, daun salam, dan lengkuas tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan total mikroba.

Aktivitas antimikroba alami yang paling efektif dalam memperpanjang umur simpan mie basah mentah melalui penghambatannya terhadap total kapang dapat dilihat pada Tabel 17.

Tabel 17. Efektivitas antimikroba alami terhadap total kapang mie basah mentah

Jenis rempah	Konsentrasi	Aktivitas
Bawang Putih	kontrol	Umur simpan objektif pada jam ke-36 (1.7×10^5 CFU/g).
	1000 mg /ml ekstrak segar (1:1 b/v) dari jml air adonan	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g (5.0×10^3 CFU/g).
Kunyit	kontrol	Umur simpan objektif pada jam ke-60 (1.7×10^5 CFU/g).
	Ekstrak segar (1:1 b/v) 200mg /g dr jml air adonan	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g (5.2×10^3 CFU/g).
Daun Salam	Kontrol	Umur simpan objektif pada jam ke-48 (8.9×10^4 CFU/g).
	Ekstrak rebus 5 menit (salam:air=1:6 b/v) 500mg/g dari berat air adonan	Umur simpan objektif pada jam ke-60 (1.5×10^4 CFU/g).
Lengkuas	Kontrol	Umur simpan objektif pada jam ke-48 (8.9×10^4 CFU/g).
	Ekstrak segar (lengkuas:air=1:2 b/v) 100mg/g dari berat air adonan	Umur simpan objektif pada jam ke-60 (2.4×10^4 CFU/g).

Kapang yang tumbuh pada mie mentah dapat berasal dari tepung terigu, tapioka, maupun dari ekstrak antimikroba yang ditambahkan. Menurut Christensen (1974) diacu oleh Riandi (2007), kapang yang dapat tumbuh di tepung adalah *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Fusarium*, dan *Penicillium*. Umumnya kapang dapat menggunakan berbagai komponen makanan dari yang sederhana sampai yang kompleks sebagai nutrisinya. Sebagian besar kapang memproduksi enzim hidrolitik seperti amilase, pekinase, proteinase, dan lipase. Oleh karena itu, kapang dapat tumbuh pada makanan yang mengandung pati, pektin, protein, dan lipid (Fardiaz, 1992).

Lampiran 8 menunjukkan bahwa meskipun bawang putih, kunyit, daun salam, dan lengkuas dapat menghambat pertumbuhan kapang, rempah-rempah tersebut tidak dapat dijadikan sebagai alternatif dalam memperpanjang umur simpan mie basah mentah. Hal ini disebabkan oleh tidak dapat terhambatnya pertumbuhan total mikroba dalam mie basah mentah melalui penambahan ekstrak antimikroba.

Mie merupakan sumber karbohidrat, protein, dan lemak, sehingga bakteri yang dapat tumbuh umumnya bakteri sakarolitik, lipolitik, dan proteolitik. Bakteri sakarolitik seperti *Bacillus subtilis* dan *Clostridium butyricum* dapat menghidrolisis polisakarida dan disakarida menjadi gula yang lebih sederhana. Bakteri lipolitik yang dapat memecah lemak. Bakteri proteolitik mempunyai enzim proteinase ekstraseluler yang dapat memecah protein seperti genus bakteri *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Serratia*, dan *Micrococcus*. Menurut Christensen (1974) diacu oleh Riandi (2007), bakteri yang dapat tumbuh pada tepung yang digunakan sebagai bahan baku pembuatan mie adalah *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Lactobacillus*, dan beberapa jenis *Achromobacterium*.

Umur simpan mie basah mentah (Lampiran 8) lebih panjang daripada mie basah matang (Lampiran 9). Hal ini diduga disebabkan kadar air mie basah matang yang lebih tinggi sehingga dapat menstimulir pertumbuhan mikroba. Kadar lemak pada mie basah matang yang lebih tinggi akibat penambahan minyak juga diduga dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri lipolitik sehingga mie basah matang lebih cepat rusak.

Berdasarkan Lampiran 9 dapat dilihat bahwa sumber antimikroba alami yang telah diteliti dan diketahui dapat diaplikasikan dalam memperpanjang umur simpan mie basah matang antara lain bawang putih, kayu manis, kecombrang, kunyit, bubuk dan ekstrak fuli pala, temukunci, daun salam, dan lengkuas. Namun dari sumber antimikroba alami tersebut hanya 4 buah yang efektif dalam menghambat pertumbuhan total mikroba dan total kapang yaitu kayu manis, temukunci, bubuk dan ekstrak fuli pala (Tabel 18 dan Tabel 19).

Berdasarkan Tabel 19 dapat dilihat bahwa antimikroba alami yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan total kapang pada mie basah matang adalah dengan penambahan bubuk fuli pala dengan konsentrasi 10 mg/g dari berat terigu yang ditambahkan garam sebesar 40 mg/g dari berat terigu. Penambahan bubuk fuli pala pada konsentrasi tersebut membuat mie basah matang tidak ditumbuhi kapang sampai umur simpan terlama yaitu 60 jam.

Tabel 18. Efektivitas antimikroba alami terhadap total mikroba mie basah matang

Antimikroba	Konsentrasi	Aktivitas
Kayu Manis	Garam 10mg/g dari berat terigu (kontrol)	Umur simpan objektif pada jam ke-24 total mikroba mencapai 1.6×10^6 CFU/g
	5ml/l kayu manis dari berat air; garam 40mg/g dari berat terigu	Umur simpan objektif pada jam ke-36 total mikroba mencapai 1.1×10^6 CFU/g
Fuli pala	0% v/v dari berat air; Garam 10mg/g dari berat terigu (kontrol)	Umur simpan subjektif 42 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-24 total mikroba mencapai 2.2×10^6 CFU/g
	30ml/l ekstrak fuli pala dari berat air; garam 40mg/g dari berat terigu	Umur simpan subjektif 54 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-36 total mikroba mencapai 1.3×10^7 CFU/g
Fuli pala	0% b/b dari berat terigu; garam 10mg/g dari berat terigu (kontrol)	Umur simpan subektif 42 jam dan umur simpan objektif pada jam ke-24 total mikroba mencapai 2.2×10^6 CFU/g
	10mg/g bubuk fuli pala dari berat terigu; garam 40mg/g berat terigu	Umur simpan subektif 42 jam Umur simpan objektif pada jam ke-36 total mikroba mencapai 1.8×10^6 CFU/g
Temukunci	0% v/v dari berat air (Kontrol)	Umur simpan subjektif jam ke-42. Umur simpan objektif jam ke-24 (2.20×10^6 CFU/g)
	10mg/ml ekstrak dari berat air; garam 40mg/g berat terigu	Umur simpan subjektif jam ke-54. Umur simpan objektif jam ke-36 (2.09×10^6 CFU/g).

Tabel 19. Efektivitas antimikroba alami terhadap total kapang mie basah matang

Antimikroba	Konsentrasi	Aktivitas
Kayu Manis	Garam 10mg/g dari berat terigu (kontrol)	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g (6.4×10^3 CFU/g).
	5ml/l kayu manis dari berat air; garam 40mg/g dari berat terigu	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g ($< 1.0 \times 10^1$ CFU/g).
Fuli pala	0% v/v dari berat air; garam 10mg/g dari berat terigu (kontrol)	Umur simpan objektif (jml total kapang $> 10^4$) jam ke-60 (1.1×10^4 CFU/g).
	30ml/l ekstrak fuli pala dari berat air; garam 40mg/g dari berat terigu	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g ($< 1.5 \times 10^1$ CFU/g)
Fuli pala	0% b/b dari berat terigu; garam 10mg/g dari berat terigu (kontrol)	Umur simpan objektif jam ke-60 (1.1×10^4 CFU/g).
	10mg/g bubuk fuli pala dari berat terigu; garam 40mg/g dari berat terigu	Sampai jam ke-60 belum ditumbuhi oleh kapang
Temukunci	0% v/v dari berat air (Kontrol)	Umur simpan objektif jam ke-60 (1.1×10^4 CFU/g).
	10mg /ml ekstrak temu kunci dari berat air; garam 40mg/g dari berat terigu	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g ($< 10^2$ CFU/g).

Sedangkan antimikroba alami yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan total mikroba pada mie basah matang adalah melalui penambahan ekstrak kayu manis dengan konsentrasi 5 ml/l dari berat total air adonan yang ditambahkan garam sebesar 40 mg/g dari berat terigu dan menghasilkan umur

simpan objektif yaitu 36 jam dengan total mikroba yang mencapai 1.1×10^6 CFU/g.

Selain dapat memperpanjang umur simpan mie basah matang dengan menghambat pertumbuhan total mikroba dan total kapang, penambahan antimikroba alami juga harus menunjang citarasa dari segi rasa, aroma, warna, dan tekstur. Penambahan ekstrak kayu manis membuat warna mie basah matang menjadi lebih gelap dan agak kecokelatan dibandingkan dengan kontrol (Agus, 2007). Penambahan ekstrak temukunci membuat warna mie semakin kuning, terdapat aroma khas temukunci yang tajam, dan timbulnya rasa yang agak pahit (Riandi, 2007). Penambahan fuli pala menyebabkan warna menjadi lebih gelap, terdapat aroma yang kuat, tekstur mie menjadi keras, dan timbulnya rasa getir (Novelianti, 2007). Namun menurut Novelianti (2007), aroma yang kuat dan rasa getir yang ditimbulkan dengan penambahan fuli pala pada mie basah matang dapat dikurangi dengan dilakukannya penambahan garam dalam konsentrasi yang masih dapat diterima. Selain itu, penambahan garam juga dapat memperpanjang umur simpan.

9. Rekomendasi Kajian Riset Aplikasi Antimikroba Alami

Rekomendasi kajian riset yang telah diteliti aplikasinya dan diketahui dapat memperpanjang umur simpan bahan pangan pangan (mie basah) menunjukkan bahwa yang perlu untuk diverifikasi adalah mie basah matang dengan penambahan bubu fuli pala 1 % + garam 4 %. Sedangkan 7 aplikasi antimikroba dalam mie basah lainnya (bawang putih, kunyit, kecombrang, lengkuas, daun salam, kayu manis, dan temukunci) dari segi rasa, aroma, tekstur, dan warna masih belum diterima. Mie basah yang belum dapat diterima dari segi rasa adalah mie basah dengan penambahan bawang putih, kecombrang, kayu manis, dan temukunci; segi aroma yaitu kecombrang, kayu manis dan temukunci; segi tekstur yaitu kecombrang; dan segi warna yaitu kunyit, kecombrang, daun salam, dan kayu manis. Mengingat bahwa rempah-rempah tersebut tidak cocok untuk diaplikasikan pada mie basah, maka dapat dapat dicoba untuk diaplikasikan pada bahan pangan lainnya. Kayu manis dan

daun salam perlu diteliti aplikasinya dalam bahan pangan selain mie yang dapat dilihat pada Tabel 20.

Tabel 20. Alternatif pangan lain yang dapat diawetkan

No.	Sumber antimikroba	Rekomendasi
1.	Kayu manis	Aplikasinya pada pengawetan <i>cookies</i> , roti, dan <i>cake</i>
2.	Daun salam	Aplikasinya pada pengawetan pangan hasil olahan hewani

B. VERIFIKASI HASIL KAJIAN KEPUSTAKAAN

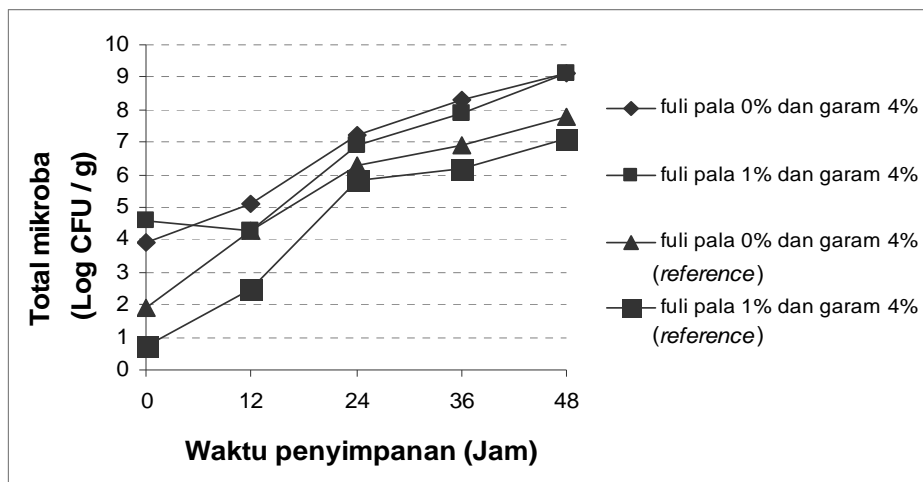
Tahap verifikasi perlu dilakukan pada aplikasi bubuk fuli pala dalam mie basah matang untuk mengetahui validitas terhadap hasil penelitian Adi putra (*reference*) mengenai aplikasi antimikroba alami pada bahan pangan tersebut. Pemilihan sumber antimikroba alami dari pala sebagai pengawet alami mie basah matang ini juga didasarkan pada tingkat efektivitas dalam menghambat mikroba, tingkat ketersediaan yang tinggi, dan dapat diperoleh dengan harga murah, serta dapat menambah nilai guna dari fuli pala. Metode yang digunakan dalam *reference* dapat dilihat pada Lampiran 10. Mie basah matang baik hasil verifikasi maupun *reference* telah mengalami kerusakan pada jam pengamatan ke-42 ditandai dengan adanya bau asam dan terbentuknya lendir pada jam ke-54. Selain itu, kerusakan mie basah matang dapat diamati dengan mengetahui total mikroba dan total kapang.

1. Total Mikroba Mie Basah Matang Selama Penyimpanan

Pada Gambar 3 dapat dilihat bahwa jumlah total mikroba pada mie basah matang yang dibuat dengan bubuk fuli pala 0 % + garam 4 % (kontrol) ketika jam ke-24 telah mencapai batas maksimum SNI-01 2987-1992 (10^6 CFU/g) yaitu 1.5×10^7 CFU/g (Lampiran 11), sedangkan total mikroba pada mie dengan bubuk fuli pala 0 % + garam 4 % (*reference*) sebesar 2.1×10^6 CFU/g (Lampiran 12). Padahal berdasarkan pengamatan subjektif, tanda-tanda kerusakan (bau asam dan mulai timbulnya lendir) untuk mie basah matang terdeteksi setelah 48 jam. Perbedaan tersebut menunjukkan walaupun jumlah total mikroba telah mencapai batas maksimum SNI, tanda-tanda kerusakan mie basah matang belum tentu dapat

terdeteksi secara subjektif. Perbandingan total mikroba mie basah matang hasil verifikasi dan *reference* dapat dilihat pada Gambar 3.

Mie basah matang yang dibuat dengan bubuk fuli pala 1 % + garam 4 % juga mencapai batas maksimum SNI pada jam ke-24 dengan jumlah total mikroba sebesar 8.6×10^6 CFU/g (Lampiran 13). Sedangkan mie basah matang dengan bubuk fuli pala 1 % + garam 4 % (*reference*) telah mencapai batas maksimum SNI pada jam ke-36 dengan jumlah total mikroba sebesar 1.6×10^6 CFU/g (Lampiran 14). Tanda-tanda kerusakan berdasarkan pengamatan subjektif yaitu bau asam dan timbul lendir untuk mie basah matang terdeteksi setelah 60 jam.

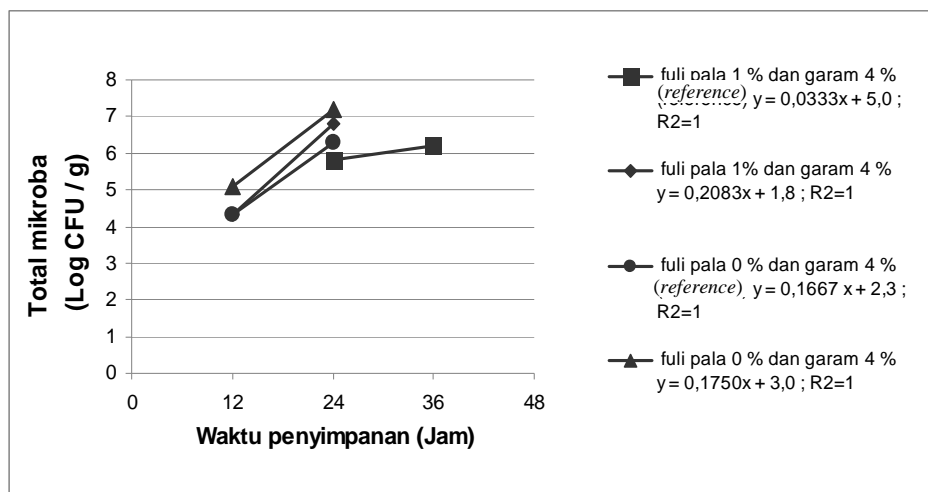


Gambar 3. Pengaruh penambahan bubuk fuli pala dan garam hasil verifikasi dan *reference* terhadap total mikroba mie basah matang

Gambar 3 menunjukkan bahwa perbedaan umur simpan mie basah matang yang terjadi dapat disebabkan oleh jumlah mikroba awal pada mie basah hasil verifikasi (4.2×10^4 CFU/g) yang lebih besar dari mie *reference* (0.5×10^1 CFU/g). Ternyata jumlah mikroba awal sangat menentukan daya awet suatu bahan pangan. Pada kasus ini, semakin besar jumlah mikroba awal dalam mie basah matang, maka semakin singkat umur simpannya. Perbedaan jumlah mikroba awal tersebut dapat disebabkan oleh mikroba yang berasal dari bahan baku berupa tepung terigu dan air, kebersihan selama proses pembuatan, dan adanya kontaminasi.

Waktu yang dibutuhkan mie dengan penambahan bubuk fuli pala 0 % dan garam 4 % hasil verifikasi terhadap mie dengan penambahan bubuk fuli pala 0 % dan garam 4 % (*reference*) untuk mencapai batas SNI (1.0×10^6 CFU/g) berdasarkan persamaan regresi memberikan hasil yang berbeda (Gambar 4). Waktu tersebut berturut-turut yaitu 17.14 jam dan 22.19 jam.

Waktu yang dibutuhkan mie dengan penambahan bubuk fuli pala 1 % dan garam 4 % hasil verifikasi terhadap mie dengan penambahan bubuk fuli pala 1 % dan garam 4 % (*reference*) untuk mencapai batas SNI (1.0×10^6 CFU/g) berdasarkan persamaan regresi memberikan hasil yang berbeda (Gambar 4). Waktu tersebut berturut-turut yaitu 20.16 jam dan 30.03 jam.



Gambar 4. Grafik persamaan garis lurus nilai total mikroba mie basah matang hasil verifikasi maupun *reference*

Kesimpulan analisis total mikroba selama penyimpanan terhadap umur simpan mie basah matang dibandingkan dengan pengamatan secara subjektif baik hasil verifikasi maupun *reference* dapat dilihat pada Tabel 21. Tabel 21 tersebut menunjukkan bahwa umur simpan mie basah matang berdasarkan pengamatan subjektif berbeda dengan umur simpan berdasarkan pengamatan objektif yaitu dilihat dari jumlah total mikroba yang menyebabkan kerusakan. Selain itu, dapat dilihat perpanjangan umur simpan mie basah matang dengan bubuk fuli pala 1 % dan garam 4 % terhadap mie dengan bubuk fuli pala 0 % dan garam 4 % (kontrol) hasil verifikasi yang lebih kecil dari *reference*.

Tabel 21. Perbandingan umur simpan mie basah matang hasil verifikasi dan *reference* terhadap total mikroba berdasarkan pengamatan subjektif dan objektif

Jenis mie	Umur simpan subjektif	Waktu yang dibutuhkan untuk mencapai batas SNI (10^6 CFU/g)	Perpanjangan umur simpan kontrol dan + fuli 1%
Kontrol (verifikasi)	48 jam	17.14 jam	3.02 jam
Mie+fuli 1% (verifikasi)	60 jam	20.16 jam	
Kontrol (<i>reference</i>)	48 jam	22.19 jam	7.84 jam
Mie+fuli 1% (<i>reference</i>)	60 jam	30.03 jam	

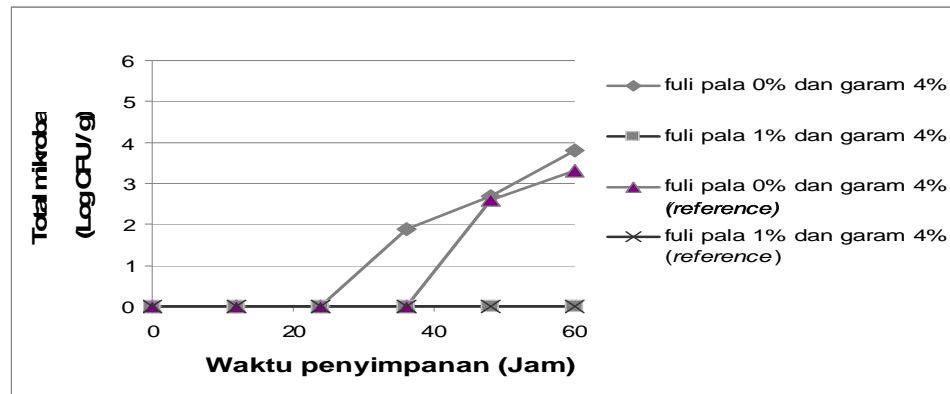
Verifikasi yang telah dilakukan membuktikan bahwa pengaruh mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala terhadap mie basah matang tanpa penambahan bubuk fuli pala hanya dapat memperpanjang umur simpan objektif mie basah matang sebesar 3.02 jam (total mikroba telah mencapai batas standar maksimum SNI). Sehingga dengan penambahan bubuk fuli pala tidak memberikan perpanjangan umur simpan mie basah yang signifikan dalam menghambat total mikroba dibandingkan dengan mie basah matang tanpa penambahan bubuk fuli pala (kontrol). Hasil verifikasi ini berbeda dengan hasil riset yang telah dilakukan sebelumnya yaitu mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala dapat memperpanjang umur simpan sebesar 7.84 jam terhadap kontrol.

2. Total Kapang Mie Basah Matang Selama Penyimpanan

Mie basah matang yang dibuat dengan penambahan bubuk fuli pala 0 % + garam 4 % (kontrol) hasil verifikasi memiliki total kapang yang belum melewati batas standar maksimum SNI (10^4 CFU/g) sampai jam ke-60 yaitu sebesar 6.0×10^3 CFU/g (Lampiran 15). Mie yang dibuat dengan penambahan bubuk fuli pala 0 % + garam 4 % *reference* belum melewati batas standar maksimum SNI (10^4 CFU/g) sampai jam ke-60 dengan total kapang sebesar 1.8×10^3 CFU/g (Lampiran 16).

Pada Gambar 5 dapat dilihat bahwa mie basah matang yang dibuat dengan penambahan bubuk fuli pala 1 % + garam 4 % hasil verifikasi belum melewati batas standar maksimum SNI (10^4 CFU/g) setelah 60 jam (Lampiran 17). Hal ini dapat dilihat dari belum tumbuhnya kapang sampai 60 jam waktu

penyimpanan. Demikian pula pada mie basah matang yang dibuat dengan penambahan bubuk fuli pala 1 % + garam 4 % *reference* belum melewati batas standar maksimum SNI terhadap kapang (10^4 CFU/g) sampai umur simpan 60 jam (Lampiran 18).

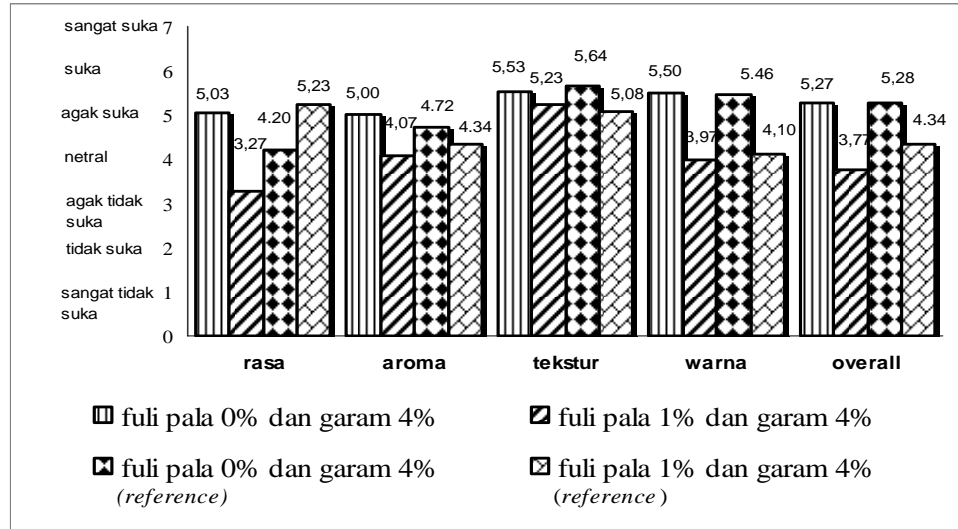


Gambar 5. Pengaruh penambahan bubuk fuli pala dan garam hasil verifikasi dan *reference* terhadap total kapang mie basah matang

Pada saat mie basah kontrol dinyatakan rusak secara subjektif, yaitu setelah 48 jam, jumlah total kapang belum mencapai 10^4 CFU/g atau dapat dikatakan bahwa saat dinyatakan rusak secara subjektif (bau asam) jumlah total kapang mie basah matang kontrol belum melewati batas standar maksimum SNI. Kerusakan tersebut lebih disebabkan oleh bakteri yang pertumbuhannya lebih dominan dibandingkan dengan kapang. Dominasi bakteri terhadap kapang disebabkan tingginya nilai a_w pada mie basah matang, yaitu sekitar 0.917-0.967 dan kapang umumnya hidup pada kisaran a_w 0.80.

3. Uji Organoleptik

Mutu organoleptik mie basah matang dilihat melalui kesukaan konsumen terhadap mie basah matang dengan menggunakan uji hedonik. Uji hedonik termasuk dalam kelompok uji penerimaan. Tujuan uji penerimaan adalah mengetahui suatu bahan pangan atau sifat sensori tertentu dapat diterima atau tidak oleh masyarakat (Soekarto, 1985). Karakteristik mutu yang diuji adalah tingkat kesukaan terhadap rasa, aroma, tekstur, warna, dan *overall* yang hasilnya dapat dilihat pada Gambar 6, sedangkan *output* dari hasil sidik ragam uji hedonik menggunakan program SPSS 11.5 dapat dilihat pada Lampiran 19 sampai Lampiran 23.



Gambar 6. Pengaruh penambahan bubuk fufu pala dan garam hasil verifikasi dan *reference* terhadap rasa, aroma, tekstur, warna, dan *overall* mie basah matang

Nilai rata-rata kesukaan mie basah matang *reference* pada Gambar 5 diperoleh setelah nilai rata-rata kesukaan *reference* skala 1-5 dikonversi menjadi skala 1-7. Nilai rata-rata kesukaan yang sebenarnya dapat dilihat pada Lampiran 24.

Hasil uji organoleptik terhadap rasa mie basah matang dengan penambahan bubuk fufu pala 0 % + garam 4 % hasil verifikasi memiliki nilai rata-rata kesukaan antara agak suka sampai suka, sedangkan nilai rata-rata kesukaan *reference* antara netral sampai agak suka. Hal ini berbeda dengan hasil uji organoleptik *reference* mie dengan penambahan bubuk fufu pala 1 % + garam 4 % yang lebih disukai daripada hasil verifikasi dengan nilai rata-rata kesukaan *reference* antara agak suka sampai suka dan nilai rata-rata kesukaan hasil verifikasi antara agak tidak suka sampai netral. Perbedaan ini dapat disebabkan karena sebagian orang kurang menyukai rasa pala yang terkandung dalam mie basah matang. Selain itu, sebagian panelis merasakan *aftertaste* pahit pada mie basah matang dengan penambahan bubuk fufu pala.

Berdasarkan hasil uji sidik ragam pada Gambar 6, atribut aroma mie basah matang dengan penambahan bubuk fufu pala 0 % + garam 4 % hasil verifikasi memiliki nilai kesukaan rata-rata yaitu agak suka, sedangkan untuk *reference* memiliki nilai kesukaan antara netral sampai agak suka. Atribut aroma mie basah matang dengan penambahan bubuk fufu pala 1 % +

garam 4 % hasil verifikasi dan *reference* memiliki nilai kesukaan yang sama yaitu antara netral sampai agak suka. Penambahan bubuk fuli pala 1 % menyebabkan mie basah matang memiliki aroma khas pala. Kesukaan panelis terhadap aroma khas fuli pala disebabkan oleh kandungan senyawa aromatis yang terkandung di dalam fuli pala.

Hasil uji sidik ragam pada Gambar 6 menunjukkan nilai rata-rata kesukaan terhadap tekstur mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala 0 % + garam 4 % hasil verifikasi dan *reference* sama-sama memiliki nilai rata-rata kesukaan antara agak suka sampai suka. Nilai rata-rata kesukaan terhadap tekstur mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala 1 % + garam 4 % hasil verifikasi dan *reference* juga memiliki nilai rata-rata kesukaan antara agak suka sampai suka. Mie basah matang dapat dinyatakan memenuhi syarat apabila memiliki sifat mudah digigit, kenyal dan elastis, tidak terlalu lengket, serta memiliki tekstur yang stabil dalam air panas.

Hasil uji sidik ragam menunjukkan atribut warna pada mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala 0 % + garam 4 % hasil verifikasi dan *reference* memiliki nilai rata-rata kesukaan yang sama yaitu antara agak suka sampai suka. Sedangkan pada mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala 1 % + garam 4 % hasil verifikasi dan *reference* memiliki nilai rata-rata kesukaan yang hampir sama yaitu netral. Penambahan bubuk fuli pala menyebabkan warna mie basah matang menjadi coklat kemerahan sehingga berpengaruh signifikan terhadap tingkat kesukaan warna mie basah matang.

Penilaian keseluruhan sampel mie basah matang adalah penilaian yang mencakup semua atribut terdahulu (rasa, aroma, tekstur, dan warna). Hasil uji sidik ragam pada Gambar 6 menunjukkan bahwa mie yang lebih disukai adalah mie basah matang kontrol dibandingkan dengan mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala baik *reference* maupun hasil verifikasi. Nilai rata-rata kesukaan mie basah matang kontrol yaitu antara netral sampai suka, sedangkan nilai rata-rata kesukaan mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala yaitu antara agak tidak suka sampai suka.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Rempah-rempah yang telah diuji dan mempunyai aktivitas dalam menghambat mikroba perusak dan patogen pangan adalah bawang putih, jahe, kunyit, lengkuas, picung, pala, daun sirih, cabe merah, andaliman, sotul, dan kecombrang. Dari 11 jenis sumber antimikroba alami tersebut terdapat 8 jenis rempah yang dinyatakan layak untuk dijadikan pengawet pangan karena memiliki efektivitas dalam menghambat mikroba uji dan memiliki tingkat ketersediaan yang tinggi antara lain adalah bawang putih, jahe, kunyit, lengkuas, pala, daun sirih, cabe merah, dan kecombrang. Jahe efektif menghambat bakteri, kapang, dan kamir. Bawang putih dapat menghambat kapang dan kamir. Kunyit, lengkuas, daun sirih, dan kecombrang dapat menghambat bakteri dan kapang. Picung, pala, andaliman, sotul, cabe merah dapat menghambat bakteri.

Riset mengenai aplikasi antimikroba alami dalam bahan pangan yang telah dilakukan adalah aplikasi pada mie basah mentah (bawang putih, kecombrang, kunyit, daun salam, dan lengkuas) yang hasilnya tidak efektif mengawetkan mie basah mentah dan aplikasi pada mie basah matang (bawang putih, kayu manis, kecombrang, kunyit, bubuk dan ekstrak fuli pala, temukunci, daun salam, dan lengkuas) yang hasilnya antimikroba alami dari kayu manis, ekstrak dan bubuk fuli pala, serta temukunci efektif untuk memperpanjang umur simpan mie basah matang. Namun, dari segi organoleptik yang masih dapat diterima hanya mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala yang telah diteliti formulasinya oleh Adi Putra.

Verifikasi dilakukan terhadap aplikasi bubuk fuli pala pada mie basah matang dengan konsentrasi bubuk fuli pala 1% + garam 4% dan hasilnya memberikan perpanjangan umur simpan yang lebih singkat terhadap kontrol dibandingkan mie basah matang *reference*. Hasil verifikasi membuktikan bahwa jumlah mikroba awal sangat mempengaruhi umur simpan suatu bahan pangan. Jumlah total mikroba awal yang rendah (0.5×10^1 CFU/g) dapat memperpanjang umur simpan mie basah matang lebih lama (hingga 8 jam).

B. SARAN

1. Sumber antimikroba alami dari rempah-rempah yang dinyatakan tidak efektif dari segi aktivitas antimikrobanya dalam menghambat mikroba uji perlu diteliti kembali dengan mikroba uji dan metode ekstraksi yang berbeda untuk mendapatkan konsentrasi minimum efektifnya sehingga dapat berpotensi menjadi pengawet pangan alami.
2. Sumber antimikroba alami yang tingkat ketersediaannya rendah tetapi memiliki potensi antimikroba yang baik, perlu dibudidayakan untuk mengoptimalkan potensi sumber antimikroba alami tersebut.
3. Sumber antimikroba alami yang dinyatakan layak dari segi efektivitas dan ketersediaannya perlu dilakukan penelitian lanjut mengenai aplikasinya pada bahan pangan lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Agus. 2007. Aplikasi kombinasi ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii* Blume) dan NaCl sebagai pengawet pada mie basah matang. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Agusta, A. 2000. Minyak atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia. ITB. Bandung
- Amami, A. 1997. Sifat antimikroba dari ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap beberapa bakteri patogen makanan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Andriyanto, F. 2001. Kajian aktivitas antimikroba ekstrak buah sotul (*Sandoricum koetjape* (Burmm f. Merr) terhadap bakteri patogen dan perusak makanan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Anggraeni, D. 2007. Aplikasi bunga kecombrang (*Nicolaia sp. Horan*) sebagai pengawet pada mie basah. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Anonim 2008. jintan hitam. www.asiamaya.com [31 Mei 2008].
- Ardiansyah. 2002. Kajian aktivitas antimikroba ekstrak daun beluntas (*Plucea indica* L.). Tesis. Ilmu Pangan. IPB, Bogor.
- _____. 2007. Antimikroba dari Tumbuhan (Bagian Kedua). <http://www.beritaiptek.com>. [8 Oktober 2007].
- Astawan, M. 1999. Membuat Mie dan Bihun. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Badrudin, C. 1994. Modifikasi tepung ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) sebagai bahan pembuat mie kering. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- BAM-FDA. 2001. Bacteriological Analytical Manual. Food and Drug Administration.
- Bogasari. 2005. Manual Produksi Mie. Departemen Research and Development Bogasari. Jakarta.
- Branen, A. L. dan P. M. Davidson. 1993. Antimicrobials in Foods. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Branen. A. L., P. M. Davidson, dan J. N. Sofos. 2005. Antimicrobials in Food 3rd. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Conner, D. E. 1993. Naturally occuring compounds. *Di dalam* : A.L. Branen dan P. M Davidson (eds.). Antimicrobial in Food. Marcel Dekker. New York.

- Departemen Kesehatan. 1988. SK Menkes RI No. 722. Tentang Bahan Tambahan Makanan.
- Dewan Standardisasi Nasional. 1992. SNI-01 2987-1992. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- Dewanti, R. 1984. Pengaruh bubuk cabe merah (*Capsicum annum L.*) terhadap pertumbuhan beberapa bakteri penyebab kerusakan pangan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Dewi, D. 1998. Aktivitas antimikroba ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn.*) terhadap mikroba perusak makanan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Direja, E. H. 2007. Kajian aktivitas antimikroba ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap bakteri pathogen dan perusak pangan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Dorman, H.J.D., S.G. Deans. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88: 308–316.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Fardiaz, S., R. Dewanti, dan Suliantari. 1988. Senyawa Antimikroba. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Bogor.
- Farrell, K. T. 1990. Spices, condiments, and seasoning 2nd ed. Van Nostrand-Reinhold, New York.
- Franklin, T. J. dan G. A. Snow. 1989. Biochemistry of Antimicrobial Action. Chapman and Hall, New York.
- Frazier, W. C. dan D.C. Westhoff. 1988. Food Microbiology 4th ed. Tata Mc Graw Hill Publ. Co., New Delhi.
- Gould, G. W. 1995. Mechanism of Action of Food Preservation Procedures. Elsevier, London.
- Harborne, J. B. 1996. Metode Fitokimia. Padmawinata, K. dan I. Sudiro (Penerjemah). Penerbit ITB. Bandung.
- Harris, R. 1987. Tanaman Minyak Atsiri. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Herbert, R. B. 1995. Biosintesis Metabolit Sekunder. (Terjemahan Srigandono, B.). IKIP Semarang Press. Semarang.

- Houghton, P. J. dan A. Raman. 1998. Laboratory Handbook for The Fractionation of Natural Extract. Chapman and Hall, London.
- Ketaren, S. 1987. Minyak Atsiri Jilid 1. UI Press, Jakarta.
- Kochhar, S.P dan B. Rossell. 1990. Detection estimation and evaluation of antioxidants in food system. *Di dalam* : B.J.F. Hudson, (ed.). Food Antioxidants. Elvisier Applied Science, New York. Hal : 19-64.
- Kristikasari, E. 2000. Mempelajari sifat antimikroba biji picung (*Pangium edule Reinw*) segar dan terfermentasi terhadap bakteri patogen dan perusak makanan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Lienni, K. 1991. Pengaruh sari jahe (*Zingiber officinale Roscoe*) terhadap aktivitas pertumbuhan beberapa bakteri penyebab infeksi makanan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Malthaputri, E. R. 2007. Kajian antimikroba ekstrak kulit kayu mesoyi (*Cryptocaria massoia*) terhadap bakteri patogen dan pembusuk pangan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Moyler, D. A. 1994. Spices Recent Advances. *Di dalam* : Charalambous (Ed.). Spices, Herbs, and Edible Fungi. Elsevier. Amsterdam.
- Muhardi, Suharyono A. S., dan Susilawati. 2007. Aktivitas antibakteri ekstrak daun salam (*Syzygium polyanta*) dan daun pandan (*Pandanus amarylifolius*). Jur. Teknol. dan Industri Pangan, Vol. XVIII (1).
- Naufalin, R. 2007. Kajian sifat antimikroba ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia sp. Horan*) terhadap berbagai mikroba perusak dan patogen pangan. Disertasi. Disertasi. Sekolah Pascasarjana. IPB, Bogor.
- Novelianti, M. 2007. Aplikasi kombinasi fuli pala (*Myristica fragrans Houtt*) dan NaCl sebagai pengawet pada mie basah matang. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Nychas, G. J. E. dan C. C. Tassou. 1999. Traditional Preservatives Oils and Spices. *Di dalam* : R. K. Robinson, C. A. Batt, dan P. D. Patel. 2000. Encyclopedia of Food Microbiology. Academic Press. London.
- Parhusip, A. J. N. 2006. Kajian mekanisme antibakteri ekstrak andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium D. C.*) terhadap bakteri patogen pangan. Disertasi. Sekolah Pascasarjana. IPB, Bogor.
- Pelczar, M. J., E. C. S. Chan, dan N. R. Krieg. 1986. Microbiology 5th ed. Mc Graw Hill Book Co, New York.

- Piddock, L. J. 1990. Techniques Used for The Determination of Antimicrobial Resistance and Sensitivity in Bacteria. *Di dalam* : P. M. Davidson dan A. L. Branen (ed.). Antimicrobial in Foods 2nd Ed. Marcell Dekker, Inc., New York.
- Putra, A. 2007. Aplikasi kombinasi bubuk fuli pala (*Myristica fragrans* Houtt) dan NaCl sebagai pengawet alami pada mie basah matang. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Rahayu, W. P. 1999. Kajian aktivitas antimikroba ekstrak dan fraksi rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* L. Swartz) terhadap mikroba perusak dan patogen pangan. Disertasi. Sekolah Pascasarjana. IPB, Bogor.
- Rahayu, W. P. 2000. Aktivitas Antimikroba Bumbu Masakan Tradisional Hasil Olahan Industri terhadap Bakteri Perusak dan patogen. Buletin Teknologi dan Industri Pangan, Vol. XI (2).
- Rani, H. 1989. Jenis dan Mekanisme Kerja Bahan Pengawet Pangan. Fakultas Teknologi Pertanian. Bogor.
- Riandi, A. N. 2007. Pengaruh penambahan ekstrak temukunci (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlect.) dan garam dapur (NaCl) terhadap mutu simpan mie basah. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Rismunandar. 1998. Rempah-rempah. Sinar baru. Bandung.
- Sari, P. P. 2000. Potensi antimikroba ekstrak biji, daun, kulit akar, dan kulit batang kedawung (*Parkia roxburghii* G. Don) terhadap bakteri patogen dan perusak makanan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Sihombing, P. A. 2007. Aplikasi ekstrak kunyit (*Curcuma domestica*) sebagai bahan pengawet mie basah. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Siswardi, I. 2002. Mempelajari aktivitas antimikroba ekstrak buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* D.C.) terhadap mikroba patogen dan perusak makanan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Soekarto, S. T. 1985. Penilaian Organoleptik untuk Industri Pangan Hasil Pertanian. Bhratara Daya Aksara, Jakarta.
- Sugiarto, E. 1986. Pengaruh penambahan bawang putih (*Allium sativum* L.) terhadap aktivitas pertumbuhan beberapa mikroba yang berperan dalam ragi tape. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Sugiarto, E., S. Fardiaz, dan R. Dewanti. 1986. Rempah-rempah dan Pengaruhnya Terhadap Pertumbuhan Mikroba. Media Teknologi Pangan, Vol. 2 (4).

- Sukarminah, E. 1997. Kajian sifat antimikroba ekstrak daun sirih (*Piper betle*, Linn.) terhadap pertumbuhan mikroba perusak dan patogen makanan. Tesis. Ilmu Pangan. IPB, Bogor.
- Sukmawati, M. 2007. Aplikasi ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) dan lengkuas (*Alpinia galangal* (L.) Swartz) sebagai pengawet mie basah. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Susilawati, E. 1987. Pengaruh penambahan bubuk biji pala (*Myristica fragrans* Houtt) terhadap pertumbuhan beberapa bakteri penyebab kerusakan pangan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Sutedjo, M. M. 1990. Pengembangan Kultur Tanaman Berkhasiat Obat. Rineka Cipta. Jakarta.
- Suwanto, A. 1983. Mempelajari aktivitas antibakteri bubuk rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.). Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Triana, A. 1998. Aktivitas antimikroba bumbu segar masakan tradisional indonesia terhadap mikroba perusak dan patogen makanan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Undriyani, K. 1987. Pengaruh bubuk jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) terhadap aktivitas pertumbuhan beberapa bakteri penyebab kerusakan pangan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Widarto, H. 1991. Pengaruh minyak atsiri daun sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.
- Winarno, F. G., dan T. S. Rahayu. 1994. Bahan Tambahan untuk Pangan dan Kontaminan. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta.
- Yohana, E. 2007. Aplikasi ekstrak bawang putih (*Allium sativum* Linn.) sebagai pengawet mie basah. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB, Bogor.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Identifikasi sumber antimikroba alami

No	Judul	Penulis	Tahun	Jurusan
Bawang Putih				
1	Aplikasi Ekstrak Bawang Putih (<i>Allium sativum</i> Linn.) sebagai Pengawet Mie Basah.	Elvina Yohana	2007	ITP
2	Pengaruh Penambahan Bawang Putih (<i>Allium sativum</i>) terhadap Aktivitas Pertumbuhan Beberapa Mikroba yang Berperan dalam Ragi Tape.	Eko Sugiarto	1986	TPG
Jahe				
3	Pengaruh Sari Jahe (<i>Zingiber officinale Roscoe</i>) terhadap Aktivitas Pertumbuhan Beberapa Bakteri Penyebab Infeksi Makanan.	Kusumah Lienni	1991	TPG
4	Pengaruh Bubuk Jahe (<i>Zingiber officinale Roscoe</i>) terhadap Aktivitas Pertumbuhan Beberapa Bakteri Penyebab Kerusakan Pangan.	Kaniya Undriyani	1987	TPG
Kunyit				
5	Aplikasi Ekstrak Kunyit (<i>Curcuma domestica</i>) sebagai Bahan Pengawet Mie Basah.	Pretty Arinigora Sihombing	2007	ITP
6	Mempelajari Aktivitas Antibakteri Bubuk Rimpang Kunyit (<i>Curcuma domestica</i> Val.).	Antonius Suwanto	1983	TPG
Lengkuas				
7	Kajian Aktivitas Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Rimpang Lengkuas (<i>Alpinia galanga</i> L. Swartz) terhadap Mikroba Perusak dan Patogen Pangan.	Winiati Pudji Rahayu	1999	IPN (disertasi)
Temukunci				
8	Pengaruh Penambahan Ekstrak Temukunci (<i>Boesenbergia pandurata</i> (Roxb.) Schlecht.) dan Garam Dapur (NaCl) terhadap Mutu Simpan Mie Basah.	Arie Norman Riandi	2007	ITP
Daun Salam				
9	Aplikasi Ekstrak Daun Salam (<i>Syzygium polyanthum</i> (Wight.) Walp.) dan Lengkuas (<i>Alpinia galangal</i> (L.) Swartz) sebagai Pengawet Mie Basah.	Meilina Sukmawati	2007	ITP
Daun Sirih				
10	Pengaruh Minyak Atsiri Daun Sirih (<i>Piper betle</i> Linn.) terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i> .	Hiwang Widarto	1991	TPG
11	Sifat Antimikroba dari Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> Linn.) terhadap Beberapa Bakteri Patogen Makanan.	Alif Amami	1997	TPG
12	Kajian Sifat Antimikroba Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> Linn.) terhadap Pertumbuhan Mikroba Perusak dan Patogen Makanan.	Een Sukarminah	1997	IPN (tesis)
13	Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i> Linn.) terhadap Mikroba Perusak Makanan.	Dian Dewi	1998	TPG
Daun Beluntas				
14	Kajian Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Beluntas (<i>Plucea indica</i> L.)	Ardiansyah	2002	IPN (tesis)
Jintan Hitam				
15	Kajian Aktivitas Antimikroba Ekstrak Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.) terhadap Bakteri Perusak dan Patogen Pangan.	Eva H. Direja	2007	ITP

Lampiran 1. Identifikasi sumber antimikroba alami (Lanjutan)

No	Judul	Penulis	Tahun	Jurusan
Picung				
16	Mempelajari Aktivitas Antimikroba Biji Picung (<i>Pangium edule Reinw</i>) Segar dan Terfermentasi terhadap Bakteri Perusak dan Patogen Makanan.	Esti Kristikasari	2000	TPG
Andaliman				
17	Mempelajari Aktivitas Antimikroba Ekstrak Buah Andaliman (<i>Zanthoxylum acanthopodium D.C.</i>) terhadap Mikroba Perusak dan Patogen Makanan.	Iwan Siswardi	2002	TPG
18	Kajian Mekanisme Antimikroba Ekstrak Andaliman (<i>Zanthoxylum acanthopodium D.C.</i>) terhadap Bakteri Patogen Pangan.	Adolf J. N. Parhusip	2006	IPN (disertasi)
Cabe Merah				
19	Pengaruh Bubuk Cabe Merah (<i>Capsicum annuum L.</i>) terhadap Pertumbuhan Beberapa Bakteri Penyebab Kerusakan Pangan.	Ratih Dewanti	1984	TPG
Pala				
20	Aplikasi Kombinasi Ekstrak Fuli Pala (<i>Myristica fragrans Houtt</i>) dan NaCl sebagai Pengawet pada Mie Basah Matang.	Maulita Novelianti	2007	ITP
21	Aplikasi Kombinasi Bubuk Fuli Pala (<i>Myristica fragrans Houtt</i>) dan NaCl sebagai Pengawet Alami pada Mie Basah Matang.	Adi Putra	2007	ITP
23	Pengaruh Penambahan Bubuk Biji Pala (<i>Myristica fragrans Houtt</i>) terhadap Pertumbuhan Beberapa Bakteri Penyebab Kerusakan Pangan.	Endang Susilawati	1987	TPG
Sotul				
23	Kajian Aktivitas Antimikroba Ekstrak Buah Sotul (<i>Sandoricum koetjape (Burm f. Merr)</i> terhadap Bakteri Perusak dan Patogen Makanan.	Fajar Andriyanto	2001	TPG
Kecombrang				
24	Aplikasi Bunga Kecombrang (<i>Nicolaia sp. Horan</i>) sebagai Pengawet pada Mie Basah.	Dhenok Anggraeni	2007	ITP
25	Kajian Sifat Antimikroba Ekstrak Bunga Kecombrang (<i>Nicolaia sp. Horan</i>) terhadap Berbagai Mikroba Perusak dan Patogen Pangan.	Rifda Naufalin	2005	IPN (disertasi)
Kayu Manis				
26	Aplikasi Kombinasi Ekstrak Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmanii Blume</i>) dan NaCl sebagai Pengawet pada Mie Basah Matang.	Agus	2007	ITP
Kayu Mesoyi				
27	Kajian Antimikroba Ekstrak Kulit Kayu Mesoyi (<i>Cryptocaria massoia</i>) terhadap Bakteri Patogen dan Pembusuk Pangan.	Elsadora Reapina Malthaputri	2007	ITP
Kedawung				
28	Potensi Antimikroba Ekstrak Biji, Daun, Kulit Akar, dan Kulit Batang Kedawung (<i>Parkia roxburghii G. Don</i>) terhadap Bakteri Perusak dan Patogen Makanan.	Pipi Puspita Sari	2000	TPG

Lampiran 2. Antimikroba alami yang bersumber dari rimpang dan umbi-umbian

Jenis Rempah	Konsentrasi	Mikroba uji	Aktivitas penghambatan	Efektivitas
Bawang putih (pasta)	10mg/ml	<i>S. cerevisiae</i>	LPS menurun menjadi 1.32 (LPS kontrol 1.58)	Efektif
		<i>A. oryzae</i>	LPS=1.20 (LPS kontrol 1.30)	Efektif
	30mg/ml	<i>S. cerevisiae</i>	LPS menjadi 1.12 (LPS kontrol 1.58) (Fungisidal)	Efektif
		<i>E. fibuliger</i>	LPS menjadi 1.75 (LPS kontrol 1.96)	Efektif
	50mg/ml	<i>S. cerevisiae</i>	LPS menjadi 0.75 (LPS kontrol 1.58) (Fungisidal)	Efektif
		<i>C. solani</i>	LPS menurun menjadi 1.09 (LPS kontrol 1.20)	Efektif
		<i>E. fibuliger</i>	LPS menjadi 0.50 (LPS kontrol 1.96) (Fungisidal)	Efektif
		<i>A. oryzae</i>	LPS=1.00 (LPS kontrol 1.30)	Efektif
	100mg/ml	<i>R. oryzae</i>	LPS meningkat menjadi 1.07 (LPS kontrol 1.00)	Tidak efektif
		<i>A. oryzae</i>	LPS menjadi 0.85 (LPS kontrol 1.30)	Efektif
		<i>C. solani</i>	LPS menjadi 0.30 (LPS kontrol 1.20) (Fungisidal)	Efektif
Kunyit (bubuk)	2mg/ml	<i>R. oryzae</i>	LPS menurun menjadi 0.91 (LPS kontrol 1.00)	Efektif
		<i>B. subtilis</i>	LPS=1.92 inkubasi 48 jam (LPS kontrol 2.10) (Bakterisidal)	Efektif
		<i>S. aureus</i>	LPS=2.00 inkubasi 24 jam (LPS kontrol 2.10) Memperpanjang fase lag	Efektif
	4mg/ml	<i>L. acidophilus</i>	LPS=0.80 inkubasi 24 jam (LPS kontrol 2.10) (Bakterisidal)	Efektif
		<i>S. faecalis</i>	LPS= 1.95 inkubasi 24 jam (LPS kontrol 2.12) memperpanjang fase lag	Efektif
		<i>S. aureus</i>	LPS=1.98 (LPS kontrol 1.90) inkubasi 72 jam	Tidak efektif
		<i>Salmonella gallinarum</i>	LPS=1.45 inkubasi 24jam (LPS kontrol 2.15) dan memperpanjang fase lag (fase adaptasi), penambahan waktu inkubasi (48 dan 72jam) menstimulasi pertumbuhan.	Efektif
		<i>E. coli</i>	LPS=2.10 (LPS kontrol 2.10) pada inkubasi 24 jam memperpanjang fase lag, penambahan waktu inkubasi (48 dan 72jam) menstimulasi pertumbuhan.	Tidak efektif
	7mg/ml	<i>E. coli</i>	LPS=1.90 (LPS kontrol 2.10) pada inkubasi 24 jam, penambahan waktu inkubasi (48 dan 72 jam) menstimulasi pertumbuhan.	Efektif
		<i>S. aureus</i>	LPS=1.93 (LPS kontrol 2.11) (pada inkubasi 24 jam), memperpanjang fase lag (fase adaptasi), dan penambahan waktu inkubasi (48 dan 72 jam) menstimulasi pertumbuhan	Efektif
		<i>S. faecalis</i>	LPS=1.85 (LPS kontrol 2.15) pada inkubasi 24 jam, memperpanjang fase lag (fase adaptasi), penambahan waktu inkubasi (48 dan 72 jam) menstimulasi pertumbuhan.	Efektif
		<i>Salmonella gallinarum</i>	LPS=1.39 (LPS kontrol 2.10) (pada inkubasi 24 jam), penambahan waktu inkubasi (48 dan 72 jam) menstimulasi pertumbuhan.	Efektif
Jahe (bubuk dan utuh)	2.5 mg/g	<i>A. niger</i>	LPS=0.90 (LPS kontrol=1.58) waktu kontak 3 hari (Fungisidal)	Efektif
	20 mg/g	<i>Micrococcus varians</i>	LPS=0.55 (LPS kontrol=1.28) waktu kontak 3 hari (Bakterisidal)	Efektif
		<i>B. subtilis</i>	LPS=0.70 (LPS kontrol=2.15) waktu kontak 3 hari (Bakterisidal)	Efektif
		<i>S. cerevisiae</i>	LPS=2.70(LPS kontrol=3.60) waktu kontak 3hari	Efektif
	10-50 mg/g	<i>Shizosacharomyces pombe</i>	LPS(1.60-2.09) < LPS kontrol(3.66) waktu kontak 3 hari. Penambahan waktu kontak (0-3hari) meningkatkan LPS	Efektif

Lampiran 2. Antimikroba alami yang bersumber dari rimpang dan umbi-umbian
(lanjutan)

Jenis Rempah	Konsentrasi	Mikroba uji	Aktivitas penghambatan	Efektivitas
	60 mg/g	<i>S. cerevisiae</i>	Perpanjangan fase lag, pada konsentrasi lebih tinggi (3, 4, 5) tidak mengalami pertumbuhan nyata (LPS sekitar 0.80-1.09 dan LPS kontrol=3.60) (Fungistatik)	Efektif
		<i>Leuconostoc sp.</i>	LPS=0.60 (LPS kontrol=2.30) waktu kontak 3 hari (Bakterisidal)	Efektif
		<i>Pseudomonas sp.</i>	LPS=2.10 (LPS kontrol=2.32) waktu kontak 3 hari	Efektif
	80 mg/g	<i>E. aerogenes</i>	LPS=1.48 (LPS kontrol=1.52) waktu kontak 3 hari	Efektif
		<i>Pseudomonas sp.</i>	LPS=2.02 (LPS kontrol=2.32) waktu kontak 3 hari	Efektif
		<i>E. aerogenes</i>	LPS=1.41 (LPS kontrol=1.52) waktu kontak 3 hari	Efektif
	120 mg/g	<i>Fusarium sp.</i>	LPS=1.18 (LPS kontrol=1.13) waktu kontak 2 hari	Tidak efektif
		<i>Fusarium sp.</i>	LPS=0.65 (LPS kontrol=1.22) waktu kontak 3 hari	Efektif
		<i>V. cholerae</i>	LPS 1.07 inkubasi 72 jam(LPS kontrol 1.51)	Efektif
	800 ml ekstrak /l	<i>E. coli</i>	LPS 1.42 inkubasi 72jam (LPS kontrol 1.77)	Efektif
		<i>Salmonella thompson</i>	LPS 0.73 (LPS kontrol 1.89) waktu inkubasi 24jam (Bakterisidal)	Efektif
Lengkuas (bubuk)	Minyak atsiri 500 ml/l	<i>R. oligosporus</i>	Diameter pertumbuhan koloni=31.57 mm (inkubasi 24jam)	Efektif
		<i>A. flavus</i>	Diameter pertumbuhan koloni=12 mm (inkubasi 48 jam)	Tidak efektif
		<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan=7.5 mm	Tidak efektif
		<i>V. cholerae</i>	Diameter penghambatan=5.17 mm	Tidak efektif
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan=3.35 mm	Tidak efektif
		<i>L. monocytogenes</i>	Diameter penghambatan=4.77 mm	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan=2.53 mm	Tidak efektif
	Ekstrak heksana 330mg/ml (non polar)	<i>R. oligosporus</i>	Diameter pertumbuhan koloni=41.00 mm (inkubasi 24 jam)	Efektif
		<i>A. flavus</i>	Diameter pertumbuhan koloni=16.25 mm (inkubasi 48 jam)	Efektif
		<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan=10.83 mm	Tidak efektif
		<i>V. cholerae</i>	Diameter penghambatan=10.35 mm	Tidak efektif
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan=11.37 mm	Tidak efektif
		<i>L. monocytogenes</i>	Diameter penghambatan=11.72 mm	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan=22.00 mm	Efektif (++)
	Ekstrak metanol 200 mg/ml (polar)	<i>R. oligosporus</i>	Diameter pertumbuhan koloni=62.32 mm (inkubasi 24 jam)	Efektif
		<i>A. flavus</i>	Diameter pertumbuhan koloni=23.76 mm (inkubasi 48jam)	Efektif
		<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan=15.13 mm	Efektif (++)
		<i>V. cholerae</i>	Diameter penghambatan=13.97 mm	Tidak efektif
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan=8.74 mm	Tidak efektif
		<i>L. monocytogenes</i>	Diameter penghambatan=20.37 mm	Efektif (++)
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan=9.4 mm	Tidak efektif

Lampiran 2. Antimikroba alami yang bersumber dari rimpang dan umbi-umbian (lanjutan)

Jenis Rempah	Konsentrasi	Mikroba uji	Aktivitas penghambatan	Efektivitas
	Ekstrak kloroform (0.1%) (500mg/ml) 0-20mg ekstrak/ml medium	<i>R. oligosporus</i>	Diameter pertumbuhan koloni=50.00 mm (inkubasi 24 jam), <i>MIC</i> sebesar 2.0 mg/ml	Efektif
		<i>A. flavus</i>	Diameter pertumbuhan koloni =23.13 mm (inkubasi 48 jam), <i>MIC</i> sebesar 3.5 mg/ml	Efektif
		<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan=15.31 mm <i>MIC</i> sebesar 1.0 mg/ml	Efektif (+)
		<i>V. cholerae</i>	Diameter penghambatan=7.17 mm <i>MIC</i> sebesar 3.0 mg/ml	Tidak efektif
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan=5.12 mm. <i>MIC</i> sebesar 7.5 mg/ml (bakteri paling kuat)	Tidak efektif
		<i>L. monocytogenes</i>	Diameter penghambatan=8.65 mm <i>MIC</i> sebesar 5.0mg/ml	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan=17.97mm <i>MIC</i> sebesar 2.5 mg/ml	Efektif (+)
	Ekstrak metanol-air (10 ³ mg/ml)	<i>R. oligosporus</i>	Diameter pertumbuhan koloni=55.00 mm (inkubasi 24 jam)	Efektif
		<i>A. flavus</i>	Diameter pertumbuhan koloni = 25.88 mm (inkubasi 48 jam)	Efektif
		<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan=10.19 mm	Tidak efektif
		<i>V. cholerae</i>	Diameter penghambatan=5.04 mm	Tidak efektif
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan=4.82 mm	Tidak efektif
		<i>L. monocytogenes</i>	Diameter penghambatan=6.19 mm	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan=9.44 mm	Tidak efektif

Ket : (+) = efektivitas rendah ; (++) = efektivitas sedang ; (+++) = efektivitas tinggi

Lampiran 3. Antimikroba alami yang bersumber dari biji-bijian

Jenis Rempah	Konsentrasi	Mikroba uji	Aktivitas penghambatan	Efektivitas
Pala (bubuk)	16 mg/ml (b.k./v)	<i>B. cereus</i>	LPS=0.33. Penurunan jml sel mjd 2 log pertumbuhan dari kontrol (7 log pertumbuhan)	Efektif
		<i>L. fermentum</i>	LPS=0.40. Penurunan jumlah sel sebesar 1.2 siklus log	Efektif
	25 mg/ml	<i>B. cereus</i>	Bakterisidal (LPS=0)	Efektif
		<i>L. fermentum</i>	Bakterisidal (LPS=0)	Efektif
		<i>B. pumilius</i>	LP=0.40. Penurunan jumlah sel sebesar 4.6 siklus log	Efektif
		<i>Pseudomonas sp.</i>	LPS=0.39. Penurunan jumlah sel sebesar 4.0 siklus log	Efektif
		<i>Leuconostoc sp.</i>	LPS=0.56. Penurunan jumlah sel sebesar 3.8 siklus log	Efektif
		<i>Micrococcus varians</i>	LPS=0.26. Penurunan jumlah sel sebesar 6.3 siklus log	Efektif
	33 mg/ml	<i>B. pumilius</i>	Bakterisidal (LPS=0)	Efektif
		<i>Leuconostoc sp.</i>	Bakterisidal (LPS=0)	Efektif
		<i>M. varians</i>	Bakterisidal (LPS=0)	Efektif
		<i>Pseudomonas sp.</i>	Bakterisidal (LPS=0)	Efektif
	98 mg/ml	<i>Salmonella sp.</i>	Bakterisidal (LPS=0)	Efektif
Jintan hitam (bubuk)	Ekstrak air 280mg/g	<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan=1.65 mm	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan=3.37 mm	Tidak efektif
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan=2.93 mm	Tidak efektif
	Ekstrak etanol 280mg/g	<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan=5.32 mm	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan=9.34 mm	Tidak efektif
		<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan=1.67 mm	Tidak efektif

Lampiran 3. Antimikroba alami yang bersumber dari biji-bijian (lanjutan)

Jenis Rempah	Konsentrasi	Mikroba uji	Aktivitas penghambatan	Efektivitas
		<i>S. typhimurium</i>	Diameter penghambatan=5.20 mm <i>MIC</i> 0.8 mg/g	Tidak efektif
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan=7.05 mm	Tidak efektif
	Minyak atsiri	<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan=6.07 mm <i>MIC</i> 17.2 mg/g	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan=7.36 mm	Tidak efektif
		<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan=3.25 mm	Tidak efektif
		<i>S. typhimurium</i>	Diameter penghambatan=4.23 mm	Tidak efektif
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan=2.29 mm	Tidak efektif
	Ekstrak etil asetat 280mg/g	<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan=3.17 mm <i>MIC</i> 18.8 mg/g	Tidak efektif
		<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan=3.04 mm	Tidak efektif
		<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan=2.15 mm	Tidak efektif
		<i>S. typhimurium</i>	Diameter penghambatan=5.07 mm	Tidak efektif
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan=4.19 mm	Tidak efektif
	Ekstrak heksana 280mg/g	<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan=4.02 mm	Tidak efektif
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan=3.72 mm	Tidak efektif
		<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan=4.19 mm	Tidak efektif
	Ekstrak metanol 280mg/g	<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan=5.56 mm <i>MIC</i> 18.8 mg/g	Tidak efektif
		<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan=4.33 mm	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan=4.18 mm	Tidak efektif
		<i>S. typhimurium</i>	Diameter penghambatan=3.08 mm	Tidak efektif
Picung (bubuk)	Ekstrak air biji picung segar 160 mg (b.k.)/ml air	<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan=7.00 mm	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan=9.00 mm	Tidak efektif
		<i>S. thypimurium</i>	Diameter penghambatan=5.30 mm	Tidak efektif
		<i>P. fluorescens</i>	Diameter penghambatan=7.50 mm	Tidak efektif
		<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan=3.00 mm	Tidak efektif
	Ekstrak etanol biji picung segar 800mg (b.k.)/ml air	<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan=6.00 mm <i>MIC</i> 55.6 mg/ml	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan=19.30 mm <i>MIC</i> 34.6 mg/ml	Efektif (+)
		<i>S. thypimurium</i>	Diameter penghambatan=6.00 mm <i>MIC</i> 57.1 mg/ml	Tidak efektif
		<i>P. fluorescens</i>	Diameter penghambatan=8.50 mm <i>MIC</i> 54.2 mg/ml	Tidak efektif
		<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan=5.50 mm <i>MIC</i> 62.5 mg/ml	Tidak efektif

Ket : (+) = efektivitas rendah ; (++) = efektivitas sedang ; (+++) = efektivitas tinggi

Lampiran 4. Antimikroba alami yang bersumber dari daun

Jenis Rempah	Konsentrasi	Mikroba uji	Aktivitas penghambatan	Efektivitas
Beluntas (bubuk)	Ekstrak polar (etanol) non defatted 200mg/ml	<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan= 7.75 mm	Tidak efektif
		<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan= 7.90 mm	Tidak efektif
		<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan= 8.65 mm	Tidak efektif
		<i>P. fluorescens</i>	Diameter penghambatan= 7.35 mm	Tidak efektif
		<i>B. subtilis</i>	Diameter penghambatan= 8.45 mm	Tidak efektif
		<i>S. typhimurium</i>	Diameter penghambatan= 7.35 mm	Tidak efektif
		<i>M. rouxii</i>	Diameter penghambatan= 7.00 mm	Tidak efektif
		<i>Penicillium sp.</i>	Diameter penghambatan= 2.28 mm	Tidak efektif

Lampiran 4. Antimikroba alami yang bersumber dari daun (lanjutan)

Jenis Rempah	Konsentrasi	Mikroba uji	Aktivitas penghambatan	Efektivitas
	Ekstrak polar (etanol) <i>defatted</i> 200mg/ml	<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan= 6.95 mm	Tidak efektif
		<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan= 6.35 mm	Tidak efektif
		<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan= 8.50 mm	Tidak efektif
		<i>P. fluorescens</i>	Diameter penghambatan= 5.30 mm	Tidak efektif
		<i>B. subtilis</i>	Diameter penghambatan= 4.02 mm	Tidak efektif
		<i>S. typhimurium</i>	Diameter penghambatan= 6.45 mm	Tidak efektif
Sirih (utuh)	Ekstrak dingin tanpa sterilisasi	<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan= 0.20 mm	Tidak efektif
		<i>S. typhimurium</i>	Diameter penghambatan= 0.55 mm	Tidak efektif
	Ekstrak dingin dgn sterilisasi	<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan= 0.50 mm	Tidak efektif
		<i>S. typhimurium</i>	Diameter penghambatan= 1.60 mm	Tidak efektif
	Ekstrak panas (100°C) tanpa sterilisasi	<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan= 2.00 mm	Tidak efektif
		<i>S. typhimurium</i>	Diameter penghambatan= 2.00 mm	Tidak efektif
	Ekstrak panas dgn sterilisasi	<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan= 1.90 mm	Tidak efektif
		<i>S. typhimurium</i>	Diameter penghambatan= 1.95 mm	Tidak efektif
	Ekstrak panas (dgn perebusan) (1:2 b/v)	<i>P. fluorescens</i>	Diameter penghambatan= 2.00 mm	Tidak efektif
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan= 3.00 mm	Tidak efektif
		<i>B. stearothermophilus</i>	Diameter penghambatan= 3.80 mm	Tidak efektif
		<i>A. niger</i>	Diameter penghambatan= 1.00 mm	Tidak efektif
		<i>C. utilis</i>	Diameter penghambatan= 1.00 mm	Tidak efektif
	Ekstrak panas (1:4 b/v)	<i>P. fluorescens</i>	Diameter penghambatan= 1.00 mm	Tidak efektif
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan= 1.80 mm	Tidak efektif
		<i>B. stearothermophilus</i>	Diameter penghambatan= 2.80 mm	Tidak efektif
		<i>A. niger</i>	Diameter penghambatan= 1.00 mm	Tidak efektif
	Ekstrak panas (1:6 b/v)	<i>P. fluorescens</i>	Diameter penghambatan= 1.00 mm	Tidak efektif
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan= 1.00 mm	Tidak efektif
		<i>B. stearothermophilus</i>	Diameter penghambatan= 1.50 mm	Tidak efektif
	Minyak atsiri 0.6 ml/l	<i>E. coli</i>	LPS=0.91 inkubasi 24 jam (LPS kontrol=1.07)	Efektif
		<i>S. aureus</i>	LPS=0.89 inkubasi 24 jam (LPS kontrol=1.17)	Efektif
	Minyak atsiri 0.7 ml/l	<i>E. coli</i>	LPS=0.84 inkubasi 24 jam (LPS kontrol=1.07)	Efektif
		<i>S. aureus</i>	LPS=0.76 inkubasi 24 jam (LPS kontrol=1.17)	Efektif
	Minyak atsiri 0.8 ml/l	<i>E. coli</i>	LPS=0.61 inkubasi 24 jam (LPS kontrol=1.07)	Efektif
		<i>S. aureus</i>	LPS=0.73 inkubasi 24 jam (LPS kontrol=1.17)	Efektif
	Ekstrak utuh (volatil dan non volatil) 0.25 ml/l	<i>P. aeruginosa</i>	LPS=0.66 inkubasi 48 jam (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>S. aureus</i>	LPS=0.72 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>S. typhimurium</i>	LPS=0.72 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>E. coli</i>	LPS=0.97 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>L. monocytogenes</i>	LPS=0.97 (LPS kontrol=1.00)	Efektif

Lampiran 4. Antimikroba alami yang bersumber dari daun (lanjutan)

Jenis Rempah	Konsentrasi	Mikroba uji	Aktivitas penghambatan	Efektivitas
	Ekstrak utuh (volatil dan non volatil) 0.50 ml/l	<i>P. aeruginosa</i>	LPS=0.58 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>S. aureus</i>	LPS=0.41 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>S. thypimurium</i>	LPS=0.61 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>E. coli</i>	LPS=0.79 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>L. monocytogenes</i>	LPS=0.81 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
	Ekstrak utuh (volatil dan non volatil) 0.75 ml/l	<i>P. aeruginosa</i>	LPS=0.00 (Bakterisidal) (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>S. aureus</i>	LPS=0 (Bakterisidal) (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>S. thypimurium</i>	LPS=0.37 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>E. coli</i>	LPS=0.45 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>L. monocytogenes</i>	LPS=0.60 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
	Ekstrak utuh (volatil dan non volatil) 1.00 ml/l	<i>P. aeruginosa</i>	LPS=0 (Bakterisidal) (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>S. aureus</i>	LPS=0 (Bakterisidal) (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>S. thypimurium</i>	LPS=0 (Bakterisidal) (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>E. coli</i>	LPS=0.40 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>L. monocytogenes</i>	LPS=0.51 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
	Ekstrak non volatil 0.25 ml/l	<i>P. aeruginosa</i>	LPS=0.95 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>S. aureus</i>	LPS=0.88 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>S. thypimurium</i>	LPS=0.94 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>E. coli</i>	LPS=0.98 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>L. monocytogenes</i>	LPS=0.98 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
	Ekstrak non volatil 0.50 ml/l	<i>P. aeruginosa</i>	LPS=0.89 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>S. aureus</i>	LPS=0.72 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>S. thypimurium</i>	LPS=0.85 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>E. coli</i>	LPS=0.91 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>L. monocytogenes</i>	LPS=0.94 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
	Ekstrak non volatil 0.75 ml/l	<i>P. aeruginosa</i>	LPS=0.72 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>S. aureus</i>	LPS=0.64 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>S. thypimurium</i>	LPS=0.78 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>E. coli</i>	LPS=0.81 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>L. monocytogenes</i>	LPS=0.82 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
	Ekstrak non volatil 1.00 ml/l	<i>P. aeruginosa</i>	LPS=0.58 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>S. aureus</i>	LPS=0.52 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>S. thypimurium</i>	LPS=0.72 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>E. coli</i>	LPS=0.70 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>L. monocytogenes</i>	LPS=0.73 (LPS kontrol=1.00)	Efektif

Lampiran 5. Antimikroba alami yang bersumber dari buah

Jenis Rempah	Konsentrasi	Mikroba uji	Aktivitas penghambatan	Efektivitas
Andaliman (bubuk)	Metode difusi agar (soxhlet dg pelarut etil asetat: etanol= 10:1 (v/v))	<i>B. steartophilus</i>	Diameter penghambatan = 13.50 mm	Tidak efektif
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan = 13.05 mm	Tidak efektif
		<i>V. cholerae</i>	Diameter penghambatan = 13.60 mm	Tidak efektif
		<i>S. thypimurium</i>	Diameter penghambatan = 12.17 mm	Tidak efektif

Lampiran 5. Antimikroba alami yang bersumber dari buah (lanjutan)

Jenis Rempah	Konsentrasi	Mikroba uji	Aktivitas penghambatan	Efektivitas
	Metode difusi agar (Maserasi dg pelarut etil asetat : etanol = 10:1 (v/v))	<i>B. stearo-thermophilus</i>	Diameter penghambatan = 16.50 mm	Efektif (+)
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan = 14.00 mm	Tidak efektif
		<i>V. cholerae</i>	Diameter penghambatan = 13.95 mm	Tidak efektif
		<i>S. thypimurium</i>	Diameter penghambatan = 11.90 mm	Tidak efektif
	Metode kontak (maserasi dg pelarut etil asetat:etanol= 10:1 (v/v))	<i>P. aeruginosa</i>	LPS= 0.4837 (LPS kontrol= 1.23) (Bakterisidal)	Efektif
		<i>B. stearo-thermophilus</i>	LPS= 0.4947 (LPS kontrol= 1.32) (Bakterisidal)	Efektif
		<i>V. cholerae</i>	LPS= 0.6505 (LPS kontrol= 1.27) (Bakterisidal)	Efektif
		<i>S. thypimurium</i>	LPS= 0.5973 (LPS kontrol= 1.27) (Bakterisidal)	Efektif
	Metode kontak (soxhlet dg pelarut etil asetat: etanol= 10:1 (v/v))	<i>P. aeruginosa</i>	LPS= 0.6482 (LPS kontrol= 1.23) (Bakterisidal)	Efektif
		<i>B. stearo-thermophilus</i>	LPS= 0.5530 (LPS kontrol= 1.32) (Bakterisidal)	Efektif
		<i>V. cholerae</i>	LPS= 0.7038 (LPS kontrol= 1.27) (Bakterisidal)	Efektif
		<i>S. thypimurium</i>	LPS= 0.7002 (LPS kontrol= 1.27) (Bakterisidal)	Efektif
	Ekstrak semipolar-etil asetat 500mg/g	<i>B. cereus</i>	Nilai MIC dan MBC 2 mg/g dan 12 mg/g (paling peka). Aktivitas lebih peka pada fase eksponensial. Diameter penghambatan= 19.22 mm	Efektif (+)
		<i>S. aureus</i>	Nilai MIC 12 mg/g dan MBC 28 mg/g (paling tahan). Aktivitas lebih peka pada fase eksponensial. Diameter penghambatan=24.15 mm	Efektif (++)
		<i>Salmonella thypimurium</i>	Nilai MIC 8 mg/g dan MBC 28 mg/g Aktivitas lebih peka pada fase adaptasi. Diameter penghambatan = 27.75 mm	Efektif (++)
	Ekstrak polar-metanol 500mg/g	<i>B. cereus</i>	Nilai MIC dan MBC 8 mg/g dan 16 mg/g. Aktivitas lebih peka pada fase eadaptasi dengan diameter penghambatan = 14.15 mm	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	Nilai MIC 16 mg/g dan MBC 50 mg/g Aktivitas lebih peka pada fase eksponensial dengan diameter penghambatan=16.20 mm	Efektif (+)
		<i>Salmonella thypimurium</i>	Nilai MIC 12 mg/g dan MBC 32 mg/g Aktivitas lebih peka pada fase stationer. Diameter penghambatan = 17.75 mm	Efektif (+)
Cabe merah (bubuk)	Biji cabe merah 1mg/ml	<i>L. fermentum</i>	LPS=1.14 (LPS kontrol=1.00)	Tidak efektif
		<i>B. subtilis</i>	LPS=1.03 (LPS kontrol=1.00)	Tidak efektif
		<i>E. coli</i>	LPS=1.11 (LPS kontrol=1.00)	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	LPS=1.00 (LPS kontrol=0.99)	Tidak efektif
	Biji cabe merah 3 mg/ml	<i>L. fermentum</i>	LPS=1.16 (LPS kontrol=1.00)	Tidak efektif
		<i>B. subtilis</i>	LPS=1.05 (LPS kontrol=1.00)	Tidak efektif
		<i>E. coli</i>	LPS=1.15 (LPS kontrol=1.00)	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	LPS=1.03 (LPS kontrol=0.99)	Tidak efektif

Lampiran 5. Antimikroba alami yang bersumber dari buah (lanjutan)

Jenis Rempah	Konsentrasi	Mikroba uji	Aktivitas penghambatan	Efektivitas
	Biji cabe merah 5 mg/ml	<i>L. fermentum</i>	LPS=1.18 (LPS kontrol=1.00)	Tidak efektif
		<i>B. subtilis</i>	LPS=1.07 (LPS kontrol=1.00)	Tidak efektif
		<i>E. coli</i>	LPS=1.17 (LPS kontrol=1.00)	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	LPS=1.05 (LPS kontrol=0.99)	Tidak efektif
	Cabe merah tanpa biji 1 mg/ml	<i>L. fermentum</i>	LPS=0.99 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>B. subtilis</i>	LPS=1.00 (LPS kontrol=1.00)	Tidak efektif
		<i>E. coli</i>	LPS=1.12 (LPS kontrol=1.00)	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	LPS=1.10 (LPS kontrol=0.93)	Tidak efektif
	Cabe merah tanpa biji 3 mg/ml	<i>L. fermentum</i>	LPS=0.99 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>B. subtilis</i>	LPS=0.89 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>E. coli</i>	LPS=1.09 (LPS kontrol=1.00)	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	LPS=1.07 (LPS kontrol=0.93)	Tidak efektif
	Cabe merah tanpa biji 5 mg/ml	<i>L. fermentum</i>	LPS=0.93 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>B. subtilis</i>	LPS=0.82 (LPS kontrol=1.00)	Efektif
		<i>E. coli</i>	LPS=1.04 (LPS kontrol=1.00)	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	LPS=0.99 (LPS kontrol=0.93)	Tidak efektif
Sotul (bubuk)	Ekstrak polar (pelarut etanol) 3.33 ml/l	<i>Bacillus cereus</i>	Diameter penghambatan = 15.26 mm	Efektif (+)
		<i>Pseudomonas sp.</i>	Diameter penghambatan = 26.14 mm	Efektif (++)
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan = 23.84 mm	Efektif (++)
		<i>Salmonella typhimurium</i>	Diameter penghambatan = 15.47 mm	Efektif (+)
		<i>V. cholerae</i>	Diameter penghambatan = 12.14 mm	Tidak efektif
	Ekstrak semi polar (pelarut etil asetat) 3.33 ml/l	<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan = 11.67 mm	Tidak efektif
		<i>Pseudomonas sp.</i>	Diameter penghambatan = 17.13 mm	Efektif (+)
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan = 10.53 mm	Tidak efektif
		<i>S. typhimurium</i>	Diameter penghambatan = 7.87 mm	Tidak efektif
		<i>V. cholerae</i>	Diameter penghambatan = 14.13 mm	Tidak efektif

Ket : (+) = efektivitas rendah ; (++) = efektivitas sedang ; (+++) = efektivitas tinggi

Lampiran 6. Antimikroba alami yang bersumber dari bunga

Jenis Rempah	Konsentrasi	Mikroba uji	Aktivitas penghambatan	Efektivitas
Kecombrang (bubuk)	Minyak atsiri	<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan=35.10 mm	Efektif (+++)
		<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan=36.30 mm	Efektif (+++)
		<i>S. typhimurium</i>	Diameter penghambatan=39.30 mm	Efektif (+++)
		<i>A. hydrophila</i>	Diameter penghambatan=40.10 mm	Efektif (+++)
		<i>L. monocytogenes</i>	Diameter penghambatan=31.30 mm	Efektif (+++)
		<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan=31.30 mm	Efektif (+++)
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan=46.90 mm	Efektif (+++)
	Ekstrak etil asetat 15 mg/ml	<i>A. flavus</i>	Diameter pertumbuhan koloni = 0.00 mm (inkubasi 1 hari) MIC=10 mg/ml	Efektif
		<i>Penicillium funiculosum</i>	Diameter pertumbuhan koloni = 0.00 mm (inkubasi 1 hari) MIC=10 mg/ml	Efektif
	Ekstrak etil asetat 30mg/ml	<i>R. oligosporus</i>	Diameter pertumbuhan koloni = 0.00 mm (inkubasi 1 hari) MIC=20 mg/ml	Efektif
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan=13.30 mm MIC=10 mg/ml	Tidak efektif

Lampiran 6. Antimikroba alami yang bersumber dari bunga (lanjutan)

Jenis Rempah	Konsentrasi	Mikroba uji	Aktivitas penghambatan	Efektivitas
		<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan=19.40 mm <i>MIC</i> =4 mg/ml	Efektif (+)
		<i>S. typhimurium</i>	Diameter penghambatan=27.30 mm <i>MIC</i> =4 mg/ml	Efektif (++)
		<i>Aeromonas hydrophila</i>	Diameter penghambatan=16.70 mm <i>MIC</i> =4 mg/ml	Efektif (+)
		<i>L. monocytogenes</i>	Diameter penghambatan=17.20 mm <i>MIC</i> =5 mg/ml	Efektif (+)
		<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan=18.00 mm <i>MIC</i> =6 mg/ml	Efektif (+)
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan=22.20 mm <i>MIC</i> =3 mg/ml	Efektif (++)
	Ekstrak etanol 15 mg/ml	<i>A. flavus</i>	Diameter pertumbuhan koloni = 0.00 mm (inkubasi 1 hari) <i>MIC</i> =10 mg/ml	Efektif
		<i>Penicillium funiculosum</i>	Diameter pertumbuhan koloni = 0.00 mm (inkubasi 1 hari) <i>MIC</i> =10 mg/ml	Efektif
	Ekstrak etanol 30 mg/ml	<i>R. oligosporus</i>	Diameter koloni = 0.00 mm (inkubasi 1 hari) <i>MIC</i> =20 mg/ml	Efektif
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan=11.00 mm <i>MIC</i> =13.0 mg/ml	Tidak efektif
		<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan=12.50 mm <i>MIC</i> =4 mg/ml	Tidak efektif
		<i>S. typhimurium</i>	Diameter penghambatan=15.40 mm <i>MIC</i> =4 mg/ml	Efektif (+)
		<i>A. hydrophila</i>	Diameter penghambatan=14.30 mm <i>MIC</i> =3 mg/ml	Tidak efektif
		<i>L. monocytogenes</i>	Diameter penghambatan=13.00 mm <i>MIC</i> =4 mg/ml	Tidak efektif
		<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan=11.10 mm <i>MIC</i> =6 mg/ml	Tidak efektif
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan=15.00 mm <i>MIC</i> =3 mg/ml	Tidak efektif

Ket : (+) = efektivitas rendah ; (++) = efektivitas sedang ; (+++) = efektivitas tinggi

Lampiran 7. Antimikroba alami yang bersumber dari kulit

Jenis Rempah	Konsentrasi	Mikroba uji	Aktivitas penghambatan	Efektivitas
Kayu Mesoyi (bubuk)	Ekstrak heksana 280mg/g	<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan= 3.65 mm	Tidak efektif
		<i>S. typhimurium</i>	Diameter penghambatan= 8.37 mm	Tidak efektif
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan= 4.55 mm	Tidak efektif
		<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan= 6.85 mm	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan= 5.37 mm	Tidak efektif
	Ekstrak etil asetat 280mg/g	<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan= 4.72 mm	Tidak efektif
		<i>S. typhimurium</i>	Diameter penghambatan= 9.75 mm	Tidak efektif
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan= 9.75 mm	Tidak efektif
		<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan= 9.95 mm	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan= 8.45 mm	Tidak efektif
	Ekstrak metanol 280mg/g	<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan= 0.00 mm	Tidak efektif
		<i>S. typhimurium</i>	Diameter penghambatan= 6.40 mm	Tidak efektif
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan= 6.48 mm	Tidak efektif
		<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan= 6.48 mm	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan= 6.35 mm	Tidak efektif

Lampiran 7. Antimikroba alami yang bersumber dari kulit (lanjutan)

Jenis Rempah	Konsentrasi	Mikroba uji	Aktivitas penghambatan	Efektivitas
	Ekstrak etanol 280mg/g	<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan= 4.06 mm Nilai MIC 0.557% w/w	Tidak efektif
		<i>S. typhimurium</i>	Diameter penghambatan= 5.53 mm	Tidak efektif
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan= 3.43 mm	Tidak efektif
		<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan= 7.62 mm	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan= 6.63 mm	Tidak efektif
	Minyak atsiri	<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan= 4.35 mm Nilai MIC 0.005% w/w	Tidak efektif
		<i>S. typhimurium</i>	Diameter penghambatan= 14.60 mm	Tidak efektif
		<i>P. aeruginosa</i>	Diameter penghambatan= 4.67 mm	Tidak efektif
		<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan= 8.15 mm	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan= 6.73 mm	Tidak efektif
Kedawung (utuh)	Ekstrak air 3.33 mg (berat kering)/ml	<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan= 6.49 mm	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan= 5.95 mm	Tidak efektif
		<i>V. cholerae</i>	Diameter penghambatan= 5.35 mm	Tidak efektif
		<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan= 7.75 mm	Tidak efektif
	Ekstrak air 5 mg (berat kering)/ml	<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan= 7.80 mm	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan= 7.50 mm	Tidak efektif
		<i>V. cholerae</i>	Diameter penghambatan= 7.69 mm	Tidak efektif
		<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan= 8.60 mm	Tidak efektif
	Ekstrak air 10 mg (berat kering)/ml	<i>B. cereus</i>	Diameter penghambatan= 5.81 mm	Tidak efektif
		<i>S. aureus</i>	Diameter penghambatan= 5.68 mm	Tidak efektif
		<i>V. cholerae</i>	Diameter penghambatan= 5.50 mm	Tidak efektif
		<i>E. coli</i>	Diameter penghambatan= 4.75 mm	Tidak efektif

Lampiran 8. Antimikroba alami yang diaplikasikan sebagai pengawet mie basah mentah

Jenis Rempah	Konsentrasi	Mikroba uji yang dihambat	Aktivitas penghambatan	Efektivitas
Bawang Putih	kontrol	Kapang	Umur simpan objektif pada jam ke-36 (1.7×10^5 CFU/g).	-
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 44 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-36.36 total mikroba mencapai 5.6×10^6 CFU/g	-
	1000 mg /ml ekstrak segar (1:1 b/v) dari jml air adonan	Kapang	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g (5.0×10^3 CFU/g).	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 54 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-31.61 total mikroba mencapai 1.2×10^8 CFU/g	Tidak efektif
	1000 mg /ml ekstrak segar (2:1 b/v) dari jml air adonan	Kapang	Sampai jam ke-60 belum ditumbuhi oleh kapang	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 57 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-34.14 total mikroba mencapai 9.2×10^7 CFU/g	Tidak efektif
Kecombrang	Kontrol	Kapang	Umur simpan objektif pada jam ke-64 total mikroba mencapai 5.6×10^6 CFU/g	-
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 42 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-37 total mikroba mencapai 5.6×10^6 CFU/g	-
	Ekstrak rebus 1:3 b/v (500mg/g dari jml air adonan)	Kapang	Umur simpan objektif pada jam ke-60 (1.1×10^6 CFU/g).	Tidak efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 54 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-48 total mikroba mencapai 1.7×10^6 CFU/g	Tidak efektif
	Ekstrak segar 1:3 b/v (500mg/g dari jml air adonan)	Kapang	Umur simpan objektif pada jam ke-60 (7.1×10^6 CFU/g).	Tidak efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 54 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-36 total mikroba mencapai 2.4×10^6 CFU/g	Tidak efektif
Kunyit	Kontrol	Kapang	Umur simpan objektif pada jam ke-60 (1.7×10^5 CFU/g).	-
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 44 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-35.5 total mikroba mencapai 1.0×10^7 CFU/g	-
	Ekstrak segar (1:1 b/v) 200mg /g dr jml air adonan	Kapang	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g (5.2×10^3 CFU/g).	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 56 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-39.3 total mikroba mencapai 3.3×10^7 CFU/g	Tidak efektif
	Ekstrak rebus (1:3 b/v, 15menit) 333.3 mg/g dr jml air adonan	Kapang	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g (5.0×10^3 CFU/g).	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 57 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-39.7 total mikroba mencapai 4.0×10^7 CFU/g	Tidak efektif
Daun Salam	Kontrol	Kapang	Umur simpan objektif pada jam ke-48 (8.9×10^4 CFU/g).	-
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 42 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-36.15 total mikroba mencapai 3.5×10^6 CFU/g	-

Lampiran 8. Antimikroba alami yang diaplikasikan sebagai pengawet mie basah mentah (lanjutan)

Jenis Rempah	Konsentrasi	Mikroba uji yang dihambat	Aktivitas penghambatan	Efektivitas
Lengkuas	Ekstrak rebus 5 menit (salam: air=1:6 b/v) 500mg/g dari berat air adonan	Kapang	Umur simpan objektif pada jam ke-60 (1.5×10^4 CFU/g).	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 54 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-36.11 total mikroba mencapai 5.5×10^7 CFU/g	Tidak efektif
	Kontrol	Kapang	Umur simpan objektif pada jam ke-48 (8.9×10^4 CFU/g).	-
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 42 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-36.15 total mikroba mencapai 3.5×10^6 CFU/g	-
	Ekstrak segar (lengkuas:air=1:2 b/v) 100mg/g dari berat air adonan	Kapang	Umur simpan objektif pada jam ke-60 (2.4×10^4 CFU/g).	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 56 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-39.72 total mikroba mencapai 1.7×10^7 CFU/g	Tidak efektif
	Ekstrak rebus 5 menit (lengkuas:air=1:2 b/v) 500mg/g dari berat air adonan	Kapang	Umur simpan objektif pada jam ke-60 (1.2×10^4 CFU/g).	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 55 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-39.39 total mikroba mencapai 2.5×10^7 CFU/g	Tidak efektif

Lampiran 9. Antimikroba alami yang diaplikasikan sebagai pengawet mie basah matang

Jenis Rempah	Konsentrasi	Mikroba uji yang dihambat	Aktivitas penghambatan	Efektivitas
Bawang Putih	kontrol	Kapang	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g (2.5×10^3 CFU/g).	-
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 44 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-32.79 total mikroba mencapai 1.8×10^7 CFU/g	-
	1000 mg /ml ekstrak segar (1:1 b/v) dari jml air adonan	Kapang	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g (1.3×10^3 CFU/g).	Tidak efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 42 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-21.03 total mikroba mencapai 1.8×10^7 CFU/g	Tidak efektif
	1000 mg /ml ekstrak segar (2:1 b/v) dari jml air adonan	Kapang	Umur simpan objektif pada jam ke-60 (2.1×10^4 CFU/g).	Tidak efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 42 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-28.66 total mikroba mencapai 2.6×10^7 CFU/g	Tidak efektif
Kayu Manis	Garam 10mg/g dari berat terigu (kontrol)	Kapang	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g (6.4×10^3 CFU/g).	-
		Total mikroba	Umur simpan objektif pada jam ke-24 total mikroba mencapai (1.6×10^6 CFU/g)	-
	Garam 40mg/g dari berat terigu	Kapang	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g (9.1×10^2 CFU/g).	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan objektif pada jam ke-24 total mikroba mencapai (2.1×10^6 CFU/g)	Tidak efektif

Lampiran 9. Antimikroba alami yang diaplikasikan sebagai pengawet mie basah matang (lanjutan)

Jenis Rempah	Konsentrasi	Mikroba uji yang dihambat	Aktivitas penghambatan	Efektivitas
	5ml/l kayu manis dari berat air; Garam 10mg/g dari berat terigu	Kapang	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g ($<1.0 \times 10^1$ CFU/g).	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan objektif pada jam ke-36 total mikroba mencapai (2.3×10^6) CFU/g	Efektif
	5ml/l kayu manis dari berat air; Garam 40mg/g dari berat terigu	Kapang	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g ($<1.0 \times 10^1$ CFU/g).	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan objektif pada jam ke-36 total mikroba mencapai (1.1×10^6) CFU/g	Efektif
Kecombrang	Kontrol	Kapang	Umur simpan subjektif hingga 54 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-48 total mikroba mencapai 5.6×10^6 CFU/g	-
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 54 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-33 total mikroba mencapai 5.6×10^6 CFU/g	-
	Ekstrak rebus 1:3 b/v (500mg/g dari jml air adonan)	Kapang	Umur simpan objektif pada jam ke-60 (1.3×10^6 CFU/g).	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 54 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-36 total mikroba mencapai 3.5×10^6 CFU/g	Tidak efektif
	Ekstrak segar 1:3 b/v (500mg/g dari jml air adonan)	Kapang	Umur simpan objektif pada jam ke-60 (1.1×10^5 CFU/g).	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 54 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-36 total mikroba mencapai 1.8×10^6 CFU/g	Tidak efektif
Kunyit	Kontrol	Kapang	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g (2.6×10^3 CFU/g).	-
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 44 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-32.7 total mikroba mencapai 1.8×10^7 CFU/g	-
	Ekstrak segar (1:1 b/v) 200mg/g dr jml air adonan	Kapang	Sampai jam ke-60 belum menunjukkan pertumbuhan	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 51 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-39.9 total mikroba mencapai 1.3×10^7 CFU/g	Tidak efektif
	Ekstrak rebus (1:3 b/v, 15menit) 500mg/g dr jml air adonan	Kapang	Sampai jam ke-60 belum menunjukkan pertumbuhan	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 52 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-39.6 total mikroba mencapai 1.6×10^7 CFU/g	Tidak efektif
Fuli Pala	0% v/v dari berat air; Garam 10mg/g dari berat terigu (kontrol)	Kapang	Umur simpan objektif pada jam ke-60 (1.1×10^4 CFU/g).	-
		Total Mikroba	Umur simpan subjektif 42 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-24 total mikroba mencapai (2.2×10^6) CFU/g	-
	Garam 40mg/g dari berat terigu	Kapang	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g (1.8×10^3 CFU/g).	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif 42 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-24 total mikroba mencapai (2.1×10^6) CFU/g	Tidak efektif

Lampiran 9. Antimikroba alami yang diaplikasikan sebagai pengawet mie basah matang (lanjutan)

Jenis Rempah	Konsentrasi	Mikroba uji yang dihambat	Aktivitas penghambatan	Efektivitas
	30ml/l ekstrak fuli pala dari berat air; garam 10mg/g dari berat terigu	Kapang	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g ($<1.5 \times 10^1$ CFU/g)	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif 54 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-36 total mikroba mencapai (1.2×10^7 CFU/g)	Efektif
	30ml/l ekstrak fuli pala dari berat air; Garam 40mg/g dari berat terigu	Kapang	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g ($<1.5 \times 10^1$ CFU/g)	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif 54 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-36 total mikroba mencapai (1.3×10^7 CFU/g)	Efektif
Fuli Pala	0% b/b dari berat terigu; garam 10mg/g dari berat terigu (kontrol)	Kapang	Umur simpan objektif pada jam ke-60 (1.1×10^4 CFU/g).	-
		Total mikroba	Umur simpan subektif 42 jam dan umur simpan objektif jam ke-24 (2.2×10^6 CFU/g)	-
	Garam 40mg/g dari berat terigu	Kapang	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g (1.8×10^3 CFU/g)	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan subektif 48 jam Umur simpan objektif pada jam ke-24 (2.1×10^6 CFU/g)	Tidak efektif
	10mg/g bubuk fuli pala dari berat terigu; garam 40mg/g dari berat terigu	Kapang	Sampai jam ke-60 belum ditumbuhi oleh kapang	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan subektif 42 jam Umur simpan objektif 36 jam = 1.8×10^6 CFU/g	Efektif
	10mg/g bubuk fuli pala dari berat terigu; Garam 10mg/g	Kapang	Sampai jam ke-60 belum ditumbuhi oleh kapang	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan subektif 48 jam Umur simpan objektif pada jam ke-36 (5.1×10^6 CFU/g).	Efektif
Temu kunci	0% v/v dari berat air (Kontrol)	Kapang	Umur simpan objektif pada jam ke-60 (1.1×10^4 CFU/g).	-
		Total mikroba	Umur simpan subjektif jam ke-42. Umur simpan objektif pada jam ke-24 (2.20×10^6 CFU/g).	-
	Garam 40mg/g dari berat terigu	Kapang	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g (1.8×10^3 CFU/g).	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif jam ke-54. Umur simpan objektif pada jam ke-24 (2.10×10^6 CFU/g).	Tidak efektif
	10mg/ml ekstrak temu kunci dari berat air	Kapang	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g ($<10^2$ CFU/g).	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif jam ke-54. Umur simpan objektif pada jam ke-36 (1.05×10^6 CFU/g).	Efektif
	10mg /ml ekstrak temu kunci dari berat air; Garam 40mg/g dari berat terigu	Kapang	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g ($<10^2$ CFU/g).	Efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif jam ke-54. Umur simpan objektif pada jam ke-36 (2.09×10^6 CFU/g).	Efektif
Daun Salam	Kontrol	Kapang	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g (2.6×10^3 CFU/g).	-
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 42 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-32.45 total mikroba mencapai 1.1×10^7 CFU/g	-

Lampiran 9.Antimikroba alami yang diaplikasikan sebagai pengawet mie basah matang (lanjutan)

Jenis Rempah	Konsentrasi	Mikroba uji yang dihambat	Aktivitas penghambatan	Efektivitas
	Ekstrak rebus 5 menit (salam:air=1:6 b/v) 500mg/g dari berat air adonan	Kapang	Umur simpan objektif pada jam ke-60 (1.3×10^4 CFU/g).	Tidak efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 50 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-34.62 total mikroba mencapai 3.1×10^7 CFU/g	Tidak efektif
Leng-kuas	Kontrol	Kapang	Sampai jam ke-60 belum mencapai 10^4 CFU/g (2.6×10^3 CFU/g).	-
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 42 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-32.45 total mikroba mencapai 1.1×10^7 CFU/g	-
	Ekstrak segar (lengkuas: air=1:2 b/v) 100mg/g dari berat air adonan	Kapang	Umur simpan objektif pada jam ke-60 (9.0×10^4 CFU/g).	Tidak efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 32 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-30.85 total mikroba mencapai 1.4×10^6 CFU/g	Tidak efektif
	Ekstrak rebus 5 menit (lengkuas: air=1:2 b/v) 500mg/g dari berat air adonan	Kapang	Umur simpan objektif pada jam ke-60 (1.5×10^4 CFU/g).	Tidak efektif
		Total mikroba	Umur simpan subjektif hingga 46 jam. Umur simpan objektif pada jam ke-38.6 total mikroba mencapai 6.7×10^6 CFU/g	Tidak efektif

Lampiran 10. Metode Pembuatan dan Analisis Mie Basah Matang *Reference*

A. BAHAN DAN ALAT

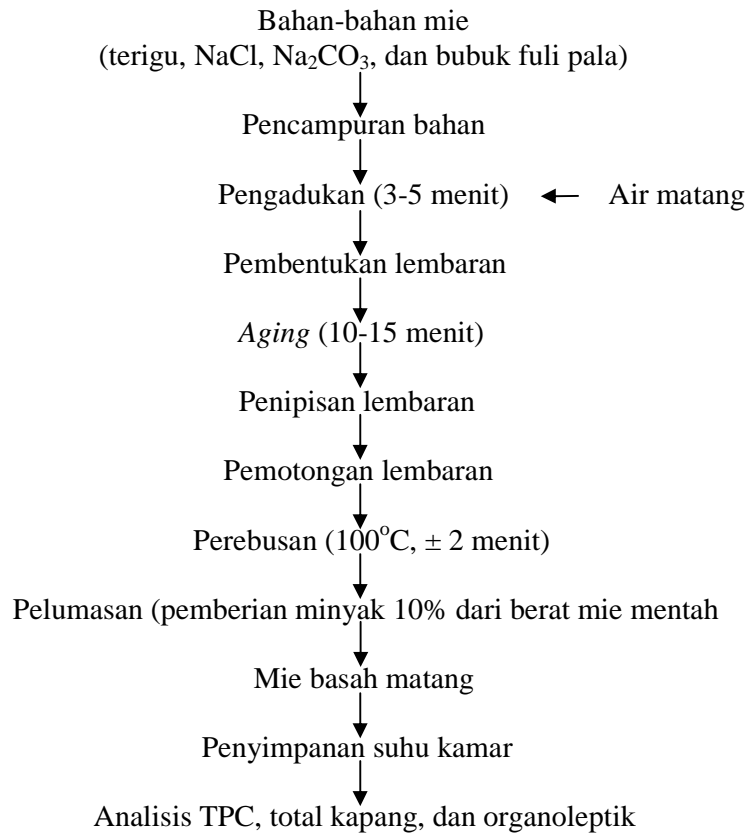
Bahan-bahan yang digunakan dalam memproduksi mie basah adalah tepung terigu (cakra kembar), NaCl, soda abu (Na_2CO_3), air, minyak sawit, dan fuli pala dalam bentuk bubuk. Bahan yang digunakan untuk analisis adalah media PCA (*Plate Count Agar*), APDA (*Acidified Potato Dextrose Agar*), larutan pengencer, plastik HDPE, alkohol 70%, dan spiritus.

Alat-alat yang digunakan dalam memproduksi mie basah adalah *noodle machine*, *mixer*, *blender*, kompor gas, panci, baskom, saringan, sendok, pisau, timbangan, gelas ukur, dan gelas piala. Peralatan untuk analisis mikrobiologi dan fisik adalah cawan petri, *stomacher*, inkubator, bunsen, Erlenmeyer, tabung reaksi, mikro pipet, otoklaf, oven, *hot plate*, neraca analitik, *chromameter minolta*, dan *texture analyzer*.

B. METODE

1. Pengujian daya simpan mie basah matang

Proses pembuatan mie basah matang secara umum meliputi formulasi bahan, pencampuran bahan, pembentukan lembaran, pemotongan, pembentukan mie, perebusan, dan pelumasan (pemberian minyak). Bahan utama yang digunakan adalah NaCl (4%), natrium karbonat (0.6%), bubuk fuli pala (1%) dan air (35%) berdasarkan berat terigu yang digunakan (kontrol menggunakan NaCl 1% dan tanpa penambahan bubuk fuli pala). Proses pembuatan mie dapat dilihat pada Gambar 2. Mie basah matang dimasukkan ke dalam plastik HPDE, dibiarkan pada suhu ruang kemudian dilakukan analisis lebih lanjut setiap 12 jam. Analisis yang dilakukan meliputi TPC, total kapang, warna, tekstur, dan organoleptik (analisis organoleptik hanya dilakukan pada saat mie basah matang selesai dibuat (jam ke-0). Analisis secara subjektif juga dilakukan yaitu sampai terlihat adanya tanda-tanda kerusakan pada mie basah matang berupa bau asam, mie menjadi lunak, dan pembentukan lendir.



Gambar 2. Diagram alir pembuatan dan pengujian daya simpan mie basah matang

2. Prosedur analisis

a. Mutu mikrobiologi

1). Analisis total mikroba (SNI-01-2987-1992)

Sebanyak 10 gram sampel mie basah dimasukkan dalam plastik tahan panas steril yang berisi 90 ml larutan pengencer NaCl steril. Sampel mie basah tersebut kemudian dihancurkan dengan alat *stomacher* selama 60 detik sehingga dihasilkan sampel mie basah dengan pengenceran 1:10. Setelah itu campuran dikocok, diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml larutan pengencer steril sehingga diperoleh tingkat pengenceran 10^{-2} . Pengenceran selanjutnya yaitu 10^{-3} dan 10^{-4} dilakukan dengan cara yang sama.

Masing-masing pengenceran tersebut diambil 1 ml suspensi sampel mie basah secara aseptis dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril secara triplo dan kemudian dituangkan 12-15 ml media PCA (*Plate Count Agar*) steril yang bersuhu 45°C dalam waktu 15

menit dari pengenceran pertama. Setelah media membeku, cawan diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 37°C selama 2 hari. Perhitungan total mikroba dilakukan berdasarkan BAM (*Bacteriological Analytical Manual*)-FDA (BAM-FDA, 2001) sebagai berikut :

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0.1 \times n_2)] \times d}$$

Keterangan:

N = jumlah koloni per ml/g produk

$\sum C$ = jumlah koloni dari tiap-tiap petri
(kisaran hitung 25-250 koloni)

n_1 = jumlah koloni dari pengenceran pertama yang dihitung

n_2 = jumlah koloni dari pengenceran kedua yang dihitung

d = pengenceran terkecil

2). Analisis total kapang (SNI-01-2987-1992)

Analisis total kapang sama seperti analisis total mikroba tetapi media yang digunakan adalah APDA (*Acidified Potato Dextrose Agar*) dan diinkubasi pada suhu 25°C atau suhu kamar selama 5 hari. Media APDA dibuat dengan menambahkan larutan asam tartarat ke dalam larutan agar PDA hingga mencapai pH 4.5. Perhitungan total kapang pada cawan adalah cawan dengan jumlah koloni 10-150 koloni.

b. Mutu organoleptik (Soekarto, 1985)

Uji organoleptik dilakukan untuk mengetahui tingkat penerimaan panelis terhadap sampel mie basah matang dngan empat parameter penilaian, yaitu warna, aroma, tekstur, rasa, dan penilaian keseluruhan (*overall*).

Uji yang dilakukan adalah uji hedonik dengan lima peringkat kesukaan yang menggunakan 30 orang panelis. Skala yang digunakan pada uji hedonik yaitu : (1) sangat tidak suka, (2) tidak suka, (3) netral, (4) suka, dan (5) sangat suka. Data hedonik yang diperoleh, dianalisis dengan SPSS 11.5 dan dianalisa dengan uji ANOVA dan uji lanjut yang dilakukan adalah uji lanjut Duncan.

Lampiran 11. Jumlah total mikroba mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala 0% dan garam 4% (kontrol) hasil verifikasi

Jam ke-	Ulangan	Jumlah kapang							CFU/g	Rata-rata	Log CFU/g
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷			
0	1	90	16	0					6.3 x 10 ²	8.7 x 10 ³	3.9
		35	1	0							
	2	TBUD	140	16					1.1 x 10 ⁴		
		TBUD	87	12							
12	1		TBUD	123	86				1.5 x 10 ⁵	1.2 x 10 ⁵	5.1
			TBUD	87	36						
	2		TBUD	82	34				8.5 x 10 ⁴		
			TBUD	62	8						
24	1			TBUD	TBUD	215			2.1 x 10 ⁷	1.5 x 10 ⁷	7.2
				TBUD	TBUD	200					
	2			TBUD	TBUD	116			9.9 x 10 ⁶		
				TBUD	TBUD	83					
36	1				TBUD	TBUD	213		2.2 x 10 ⁸	1.8 x 10 ⁸	8.3
					TBUD	TBUD	220				
	2				TBUD	TBUD	135		1.3 x 10 ⁸		
					TBUD	TBUD	122				
48	1					TBUD	TBUD	160	1.6 x 10 ⁹	1.3 x 10 ⁹	9.1
						TBUD	TBUD	150			
	2					TBUD	TBUD	127	1.0 x 10 ⁹		
						TBUD	TBUD	80			

Lampiran 12. Jumlah total mikroba mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala 0% dan garam 4% (kontrol) *reference*

Jam ke-	Ulangan	Jumlah kapang							CFU/g	Rata-rata	Log CFU/g
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷			
0	1	5	2	2					6.5 x 10 ¹	7.5 x 10 ¹	1.9
		8	1	0							
	2	8	2	0					8.5 x 10 ¹		
		9	5	0							
12	1		105	44	10				2.6 x 10 ⁴	1.9 x 10 ⁴	4.3
			102	30	11						
	2		99	32	4				1.1 x 10 ⁴		
			87	29	2						
24	1			TBUD	165	36			2.1 x 10 ⁶	2.1 x 10 ⁶	6.3
				TBUD	204	67					
	2			TBUD	161	66			2.1 x 10 ⁶		
				TBUD	175	68					
36	1				136	44	8		1.7 x 10 ⁶	7.4 x 10 ⁶	6.9
					142	48	7				
	2				TBUD	11	25		1.3 x 10 ⁷		
					TBUD	128	17				
48	1					TBUD	107	11	2.4 x 10 ⁷	5.9 x 10 ⁷	7.8
						TBUD	83	3			
	2					TBUD	141	26	9.3 x 10 ⁷		
						TBUD	123	19			

Lampiran 13. Jumlah total mikroba mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala 1% dan garam 4% hasil verifikasi

Jam ke-	Ulangan	Jumlah kapang							CFU/g	Rata-rata	Log CFU/g
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷			
0	1	24	3	0					1.9 x 10 ²	4.2 x 10 ⁴	4.6
		14	2	0							
	2	TBUD	TBUD	98					8.4 x 10 ⁴		
		TBUD	TBUD	70							
12	1		210	105	57				3.2 x 10 ⁴	1.9 x 10 ⁴	4.3
			200	104	45						
	2		100	9	1				6.9 x 10 ³		
			39	4	0						
24	1			TBUD	TBUD	155			1.5 x 10 ⁷	8.6 x 10 ⁶	6.9
				TBUD	TBUD	152					
	2			216	45	14			2.3 x 10 ⁵		
				195	43	3					
36	1				TBUD	TBUD	150		1.5 x 10 ⁸	8.9 x 10 ⁷	7.9
					TBUD	TBUD	154				
	2				TBUD	TBUD	128		2.9 x 10 ⁷		
					TBUD	150	70				
48	1					TBUD	TBUD	145	1.4 x 10 ⁹	1.3 x 10 ⁹	9.1
						TBUD	TBUD	138			
	2					TBUD	TBUD	112	1.1 x 10 ⁹		
						TBUD	TBUD	99			

Lampiran 14. Jumlah total mikroba mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala 1% dan garam 4% *reference*

Jam ke-	Ulangan	Jumlah kapang							CFU/g	Rata-rata	Log CFU/g
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷			
0	1	0	0	0					0.5 x 10 ¹	0.5 x 10 ¹	0.7
		1	0	0							
	2	0	0	0					0.5 x 10 ¹		
		1	0	0							
12	1		0	0	0				1.0 x 10 ²	3.3 x 10 ²	2.5
			2	0	0						
	2		6	0	1				5.5 x 10 ²		
			5	0	0						
24	1			TBUD	102	27			9.8 x 10 ⁵	5.7 x 10 ⁵	5.8
				TBUD	76	14					
	2			122	52	1			1.5 x 10 ⁵		
				119	31	0					
36	1				112	13	1		1.1 x 10 ⁶	1.8 x 10 ⁶	6.2
					101	11	0				
	2				223	14	2		2.4 x 10 ⁶		
					174	37	4				
48	1					52	10	3	7.0 x 10 ⁶	1.4 x 10 ⁷	7.1
						76	8	6			
	2					138	17	3	2.1 x 10 ⁷		
						152	25	0			

Lampiran 15. Jumlah total kapang mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala 0% dan garam 4% (kontrol) hasil verifikasi

Jam ke-	Ulangan	Jumlah kapang			CFU/g	Rata-rata	Log CFU/g
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³			
0	1	0	0	0	0	0	0
		0	0	0			
	2	1	1	1	0		
		1	0	1			
12	1	1	3	1	0	0	0
		1	0	0			
	2	1	1	0	0		
		0	0	0			
24	1	1	0	0	0	0	0
		4	1	0			
	2	0	1	0	0		
		0	0	0			
36	1	1	0	0	0	9.0 x 10 ¹	1.9
		2	3	1			
	2	18	4	1	1.6 x 10 ²		
		13	5	0			
48	1	48	4	0	4.4 x 10 ²	4.8 x 10 ²	2.7
		39	2	0			
	2	53	8	0	5.2 x 10 ²		
		51	5	0			
60	1	85	12	0	1.0 x 10 ³	6.0 x 10 ³	3.8
		112	21	1			
	2	TBUD	90	8	1.1 x 10 ⁴		
		TBUD	113	22			

Lampiran 16. Jumlah total kapang mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala 0% dan garam 4% (kontrol) *reference*

Jam ke-	Ulangan	Jumlah kapang			CFU/g	Rata-rata	Log CFU/g
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³			
0	1	0	0	0	0	0	0
		0	0	0			
	2	0	0	0	0		
		0	0	0			
12	1	0	0	0	0	0	0
		0	0	0			
	2	0	0	0	0		
		0	0	0			
24	1	0	0	0	0	0	0
		0	0	1			
	2	0	0	0	0		
		0	0	0			
36	1	0	0	0	0	0	0
		0	0	0			
	2	1	0	0	0		
		0	0	0			
48	1	44	0	0	4.1 x 10 ²	4.3 x 10 ²	2.6
		37	0	0			
	2	71	2	0	4.6 x 10 ²		
		20	0	0			
60	1	67	10	1	7.1 x 10 ²	1.8 x 10 ³	3.3
		72	5	0			
	2	112	17	1	1.1 x 10 ³		
		97	11	0			

Lampiran 17. Jumlah total kapang mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala 1% dan garam 4% hasil verifikasi

Jam ke-	Ulangan	Jumlah kapang			CFU/g	Rata-rata	Log CFU/g
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³			
0	1	1	1	1	0	0	0
		0	0	0			
	2	2	0	0	0		
		0	0	0			
12	1	3	2	1	0	0	0
		0	1	0			
	2	1	1	0	0		
		0	1	0			
24	1	0	0	0	0	0	0
		1	0	0			
	2	0	2	0	0		
		0	1	0			
36	1	0	2	5	0	0	0
		0	0	1			
	2	1	0	1	0		
		1	0	0			
48	1	0	0	0	0	0	0
		0	0	0			
	2	0	2	0	0		
		0	0	0			
60	1	0	4	0	0	0	0
		0	1	0			
	2	0	2	0	0		
		1	0	0			

Lampiran 18. Jumlah total kapang mie basah matang dengan penambahan bubuk fuli pala 1% dan garam 4% *reference*

Jam ke-	Ulangan	Jumlah kapang			CFU/g	Rata-rata	Log CFU/g
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³			
0	1	0	0	0	0	0	0
		0	0	0			
	2	0	0	0	0		
		0	0	0			
12	1	0	0	0	0	0	0
		0	0	0			
	2	0	0	0	0		
		0	0	0			
24	1	0	0	1	0	0	0
		0	0	1			
	2	0	0	3	0		
		0	0	0			
36	1	1	0	0	0	0	0
		0	0	0			
	2	0	0	0	0		
		0	0	0			
48	1	0	0	0	0	0	0
		4	0	0			
	2	0	0	0	0		
		0	0	0			
60	1	0	1	0	0	0	0
		0	0	0			
	2	0	0	1	0		
		0	0	0			

Lampiran 19. Hasil analisis sidik ragam uji hedonik rasa mie basah matang

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	PALA	3,27	30	1,617	,295
	KONTROL	5,03	30	1,497	,273

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 PALA & KONTROL	30	,210	,266

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	PALA - KONTROL	-1,77	1,960	,358	-2,50	-1,03	-4,938	29	,000

Nilai kritis sebaran t dengan $df = 29$ dan $\alpha = 0.05$ diperoleh $t_{\text{tabel}} = 1.699$

Lampiran 20. Hasil analisis sidik ragam uji hedonik aroma mie basah matang

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	PALA	4,07	30	1,574	,287
	KONTROL	5,00	30	1,287	,235

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	PALA & KONTROL	30	,034	,858

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	PALA - KONTROL	-,93	1,999	,365	-1,68	-,19	-2,558	29	,016

Nilai kritis sebaran t dengan $df = 29$ dan $\alpha = 0.05$ diperoleh $t_{\text{tabel}} = 1.699$

Lampiran 21. Hasil analisis sidik ragam uji hedonik tekstur mie basah matang

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	PALA	5,23	30	1,135	,207
	KONTROL	5,53	30	,937	,171

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 PALA & KONTROL	30	,462	,010

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	PALA - KONTROL	-,30	1,088	,199	-,71	,11	-1,511	29	,142

Nilai kritis sebaran t dengan $df = 29$ dan $\alpha = 0.05$ diperoleh $t_{\text{tabel}} = 1.699$

Lampiran 22. Hasil analisis sidik ragam uji hedonik warna mie basah matang

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	PALA	3,97	30	1,564	,286
	KONTROL	5,50	30	1,009	,184

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 PALA & KONTROL	30	-,317	,088

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	PALA - KONTROL	-1,53	2,113	,386	-2,32	-,74	-3,975	29	,000

Nilai kritis sebaran t dengan $df = 29$ dan $\alpha = 0.05$ diperoleh $t_{\text{tabel}} = 1.699$

Lampiran 23. Hasil analisis sidik ragam uji hedonik *overall* mie basah matang

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	PALA	3,77	30	1,357	,248
	KONTROL	5,27	30	1,285	,235

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 PALA & KONTROL	30	,096	,613

Paired Samples Test

		Paired Differences							
				Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Mean	Std. Deviation						t	df	Sig. (2-tailed)
Pair 1	PALA - KONTROL	-1,50	1,776	,324	-2,16	-,84	-4,625	29	,000

Nilai kritis sebaran t dengan $df = 29$ dan $\alpha = 0.05$ diperoleh $t_{\text{tabel}} = 1.699$

Lampiran 24. Nilai rata-rata kesukaan mie basah matang *reference*

No.	Atribut	Nilai rata-rata kesukaan mie basah matang dengan fuli pala 0% + garam 4%	Nilai rata-rata kesukaan mie basah matang dengan fuli pala 1% + garam 4%
1.	Rasa	3.00	3.77
2.	Aroma	3.37	3.10
3.	Tekstur	4.03	3.63
4.	Warna	3.90	2.93
5.	<i>Overall</i>	3.77	3.10