



**S K R I P S I**

**PRODUKSI KULTUR STATER KERING  
*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* DAN APLIKASINYA PADA  
PENGAWETAN IKAN LEMURU**

Hasil Ciptaan Diktat dan Undang-Undang

3. Dilarang untuk diambil sebagian atau seluruh bagian tanpa izin tertulis dari penulis dan menyebarluaskan

4. Pengolahan tulisan untuk keperluan penelitian dan ilmiah, penulisan karya ilmiah, penyebarluaskan kepada institusi dan lembaga resmi

5. Dilarang mengambil dan menyebarluaskan bagian yang wajar tanpa izin tertulis

6. Dilarang mengambil dan menyebarluaskan hasil penelitian dan karya tulis di dalam jurnal asipuan ilmiah di IPB University

Oleh

**P U R W O N O**

**F 28. 1571**



**1995**

**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN**

**INSTITUT PERTANIAN BOGOR**

**BOGOR**



Purwono. Produksi Kultur Starter Kering *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* dan Aplikasi Pada Pengawetan Ikan Lemuru. Di bawah bimbingan Betty Sri Laksmi Jenie dan Lilis Nuraida.

## RINGKASAN

Salah satu bakteri asam laktat yaitu *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* mempunyai kemampuan menghambat bakteri perusak ikan *Pseudomonas fluorescens* dan *Alcaligenes* pada media ekstrak ikan rucah (Rekapermana, 1995). Senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh *L. lactis* subsp. *cremoris* terhadap *Pseudomonas fluorescens* berupa bakteriosin dan hidrogen peroksida, sedangkan terhadap *Alcaligenes* berupa hidrogen peroksida.

Pada umumnya starter komersial bakteri asam laktat tersedia dalam bentuk cair, beku atau kering beku. Dalam rangka penyediaan kultur starter bakteri asam laktat siap pakai yang praktis mempunyai mutu simpan yang baik, dan harganya tidak terlalu mahal maka dikembangkan suatu penelitian mengenai teknologi proses produksi kultur starter kering dengan menerapkan pengeringan oven vakum. Optimasi proses dilakukan dengan mempelajari jenis media pertumbuhan sebagai pengganti susu skim dan bahan pengisi. Untuk menguji aktivitas kultur starter kering tersebut, diaplikasikan untuk pengawetan ikan lemuru segar.

*L. lactis* subsp. *cremoris* yang ditumbuhkan dalam susu skim 16% mencapai jumlah sel maksimum  $5,3 \times 10^7$  -  $6,6 \times 10^8$  sel per ml dalam waktu inkubasi 12 jam hingga 120 jam dengan. Pertumbuhan *L. lactis* subsp. *cremoris* dalam media ekstrak



sawi juga mampu menghasilkan jumlah sel maksimum  $1,1 \times 10^8$  -  $4,2 \times 10^8$  sel per ml yang sama dengan media susu skim setelah waktu inkubasi 24 jam hingga 96 jam.

Berdasarkan hasil pengeringan oven vakum kultur *L. lactis* subsp. *cremoris* menggunakan bahan pengisi tepung beras dan media ekstrak sawi diperoleh rasio tepung beras dan media kultur ekstrak sawi 1:2 menghasilkan viabilitas tertinggi 58 %.

Kultur starter kering ini mengandung jumlah bakteri asam laktat  $4,3 \times 10^8$  sel per gram kultur kering, berkadar air 2,8 % dengan rendemen 89 %.

Aplikasi *L. lactis* subsp. *cremoris* untuk pengawetan segar ikan lemuru menunjukkan bahwa cara pencelupan ikan dalam larutan hasil rekonstitusi kultur kering dalam air suling dengan rasio kultur kering dan air suling 1:10, mampu menekan populasi bakteri gram negatif sebesar satu satuan log selama penyimpanan 12 jam pada suhu kamar. Aplikasi dengan cara penaburan ikan sebanyak 4 % kultur kering dan pencelupan pada penyimpanan dingin (suhu 6°C) dapat menekan populasi bakteri sebesar satu satuan log hingga penyimpanan 8 hari.

Berdasarkan hasil uji organoleptik dan jumlah bakteri gram negatif dalam ikan diperoleh, penambahan bakteri asam laktat *L. lactis* subsp. *cremoris* dengan cara pencelupan maupun penaburan mampu memperpanjang masa simpan ikan lemuru selama 12 jam pada penyimpanan suhu kamar dan selama 8 hari pada penyimpanan dingin. Sedangkan pada kontrol ikan hanya mampu bertahan masing-masing selama 8 jam pada penyimpanan suhu kamar dan 6 hari pada penyimpanan dingin.







INSTITUT PERTANIAN BOGOR

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN

**PRODUKSI KULTUR STARTER KERING**

*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* DAN APLIKASINYA

**PADA PENGAWETAN IKAN LEMURU**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
**SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN**  
pada Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi  
Fakultas Teknologi Pertanian  
Institut Pertanian Bogor

Oleh

PURWONO

F 28.1571

Dilahirkan pada tanggal 13 Mei 1972

di Cilacap

Tanggal lulus : Januari 1996

Disetujui,



*Bnuwono*

Dr. Ir. Lili Nuraida, MSc  
Pembimbing II

*Whal* - -

Dr. Ir. Betty Sri Laksmi Jenie, MS  
Pembimbing I



## KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan karunia, rahmat dan nikmat-Nya sehingga terselesaikannya penyusunan skripsi ini.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pertanian pada Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor.

Atas tersusunnya skripsi ini penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Betty Sri Laksmi Jenie, MS selaku dosen pembimbing pertama yang telah mengarahkan dan memberikan bimbingan selama penelitian sampai tersusunnya skripsi ini.
2. Dr. Ir. Lilia Nuraida, MSc, selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, koreksi dan saran selama penelitian hingga tersusunnya skripsi ini.
3. Dr. Ir. Slamet Budiyanto, MAg, selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan masukan sampai tersusunnya skripsi ini..
4. Segenap staf pengajar dan karyawan jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fateta IPB yang sangat membantu dalam menyelesaikan studi di IPB.
5. Ayah, Ibu, dan Adik-adik tercinta yang dengan doa dan dorongannya selalu membantu penulis hingga selesaiannya studi.
6. Mbak Ari, Pak Mul, Dandan, Maman, Dhani, Mbak Sri, dan Mbak Antin yang telah bekerja sama dengan penulis selama penelitian.



7. Rekan-rekan di Wisma Sarajevo, juga Arie dan Agus Suge yang telah memberikan doa dan dorongannya.
8. Semua pihak yang tidak dapat disebut satu persatu yang secara langsung maupun tidak langsung telah membantu terselesainya skripsi ini.

Penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukannya.

Bogor, Januari 1996

Penulis



## DAFTAR ISI

|   | Halaman |
|---|---------|
| KATA PENGANTAR .....  | i       |
| DAFTAR ISI .....  | iii     |
| DAFTAR TABEL .....  | iv      |
| DAFTAR GAMBAR .....   | v       |
| DAFTAR LAMPIRAN .....   | vii     |
| BAB I. PENDAHULUAN .....  | 1       |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....  | 3       |
| A. KARAKTERISTIK <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> .....        | 3       |
| B. PERANAN <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> DALAM PANGAN ..... | 4       |
| C. PRODUKSI KULTUR STARTER KERING .....                               | 7       |
| 1. Metode Pengeringan .....   | 7       |
| 2. Penggunaan Bahan Pengisi .....                                     | 8       |
| D. PROSES PENURUNAN MUTU IKAN .....                                   | 10      |
| BAB III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN .....                            | 12      |
| A. BAHAN DAN ALAT .....   | 12      |
| B. METODE PENELITIAN .....  | 13      |
| 1. Pengaruh Jenis Media Terhadap Produksi Kultur Cair .....           | 13      |
| 2. Produksi Kultur Starter Kering .....                               | 16      |
| 3. Evaluasi Kultur Starter Kering .....                               | 18      |
| 4. Analisis .....   | 19      |
| BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....                                    | 22      |
| A. KURVA PERTUMBUHAN <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> .....    | 22      |
| B. PENGERINGAN KULTUR .....   | 28      |
| 1. Viabilitas .....   | 28      |
| 2. Kadar Air dan Rendemen .....                                       | 31      |
| 3. Total Kapang dan Kamir .....                                       | 33      |
| C. APLIKASI KULTUR KERING UNTUK PENGAWETAN IKAN LEMURU SEGAR .....    | 34      |
| 1. Penyimpanan Suhu Kamar .....                                       | 34      |
| 2. Penyimpanan Dingin .....   | 48      |
| BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....                                     | 60      |
| A. KESIMPULAN .....   | 60      |
| B. SARAN .....  | 61      |
| DAFTAR PUSTAKA .....  | 62      |
| LAMPIRAN .....  | 66      |



## DAFTAR TABEL

|  | Halaman |
|--|---------|
| Tabel 1. Komposisi kimia susu skim dan sawi untuk setiap 100 g berat kering    | 26      |
| Tabel 2. Kadar air awal dan akhir pengeringan serta rendemen kultur kering ... | 33      |



|   | Halaman |
|---|---------|
| Gambar 1. Tahap-tahap persiapan kultur kerja .....  | 15      |
| Gambar 2. Diagram alir pembuatan ekstrak sawi .....   | 17      |
| Gambar 3. Kurva pertumbuhan <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> dalam media susu skim 16% dan ekstrak sawi .....                                  | 24      |
| Gambar 4. Perubahan pH selama inkubasi pada media susu skim 16% dan ekstrak sawi .....  | 27      |
| Gambar 5. Perubahan total bakteri asam laktat sebelum dan setelah pengeringan serta viabilitasnya pada media ekstrak sawi .....                       | 29      |
| Gambar 6. Perubahan total bakteri asam laktat sebelum dan setelah pengeringan (dalam berat kering) serta viabilitasnya pada media susu skim 16% ..... | 31      |
| Gambar 7. Perubahan total mikroba selama penyimpanan suhu kamar .....   | 35      |
| Gambar 8. Perubahan total bakteri gram negatif selama penyimpanan suhu kamar .....  | 37      |
| Gambar 9. Perubahan nilai TVN selama penyimpanan suhu kamar .....   | 39      |
| Gambar 10. Perubahan pH selama penyimpanan ikan lemuru pada suhu kamar .....  | 42      |
| Gambar 11. Perubahan skor organoleptik bau ikan lemuru selama penyimpanan suhu kamar .....  | 43      |
| Gambar 12. Perubahan skor organoleptik penampakan ikan lemuru selama penyimpanan suhu kamar .....   | 45      |
| Gambar 13. Perubahan skor organoleptik tekstur ikan lemuru selama penyimpanan suhu kamar .....  | 47      |
| Gambar 14. Perubahan total mikroba ikan lemuru selama penyimpanan dingin .....  | 49      |
| Gambar 15. Perubahan total bakteri gram negatif ikan lemuru selama penyimpanan dingin .....   | 51      |



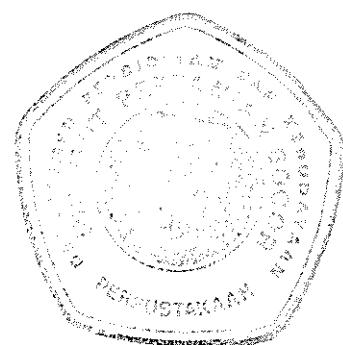
|  |    |
|--|----|
| Gambar 16. Perubahan nilai TVN ikan lemuru selama penyimpanan dingin ..                | 52 |
| Gambar 17. Perubahan pH ikan lemuru pada penyimpanan dingin .....                      | 54 |
| Gambar 18. Perubahan skor organoleptik bau ikan lemuru selama penyimpanan dingin ..... | 55 |
| Gambar 19. Perubahan skor organoleptik penampakan selama penyimpanan dingin .....      | 57 |
| Gambar 20. Perubahan skor organoleptik tekstur selama penyimpanan dingin .....         | 58 |

Hak Cipta dimiliki Universitas Pendidikan  
1. Dilarang menyajikan bagian atau sebagian besar isi buku tersebut untuk tujuan komersial dan memperjualbelikan.  
2. Perdistribusikan hanya dalam bentuk lembaran penulis, penulis buku atau majalah asli bukalah.  
3. Pengolahan buku dengan tujuan berdagang yang tidak tulus.  
2. Dilarang menggunakan buku memperjualbelikan sebagai dasar untuk latihan bahasa atau teknik akademik dan sebagainya.

|   | Halaman |
|---|---------|
| Lampiran 1. Data total bakteri asam laktat pembuatan kurva pertumbuhan <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> pada media susu skim 16% ..... | 67      |
| Lampiran 2. Data total bakteri asam laktat pembuatan kurva pertumbuhan <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> pada media ekstrak sawi .....  | 68      |
| Lampiran 3. Data perubahan pH media susu skim 16% dan ekstrak sawi selama pertumbuhan .....   | 69      |
| Lampiran 4. Data hasil pengeringan kultur starter <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> dan viabilitasnya pada media ekstrak sawi .....     | 70      |
| Lampiran 5. Data hasil pengeringan kultur starter <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> dan viabilitasnya pada media susu skim 16% .....    | 71      |
| Lampiran 6. Data pertumbuhan total bakteri gram negatif dan analisis statistiknya selama penyimpanan ikan lemuru pada suhu kamar .....        | 72      |
| Lampiran 7. Data perubahan nilai TVN dan analisis statistiknya selama penyimpanan ikan lemuru pada suhu kamar .....                           | 73      |
| Lampiran 8. Data hasil perubahan nilai pH ikan lemuru dan analisis statistiknya selama penyimpanan suhu kamar .....                           | 74      |
| Lampiran 9. Data skor organoleptik bau dan analisis statistiknya pada penyimpanan ikan lemuru pada suhu kamar .....                           | 75      |
| Lampiran 10. Data skor organoleptik penampakan dan analisis statistiknya organoleptik pada penyimpanan ikan lemuru pada suhu kamar .....      | 76      |
| Lampiran 11. Data skor organoleptik tekstur dan analisis statistiknya pada penyimpanan ikan lemuru pada suhu kamar .....                      | 77      |
| Lampiran 12. Perubahan total mikroba ikan lemuru selama penyimpanan dingin .....  | 78      |
| Lampiran 13. Data hasil pertumbuhan total bakteri gram negatif ikan lemuru selama penyimpanan dingin .....                                    | 79      |



|   |    |
|---|----|
| Lampiran 14. Data hasil perubahan TVN ikan lemuru dan analisis statistiknya selama penyimpanan dingin .....     | 80 |
| Lampiran 15. Data hasil perubahan pH ikan lemuru dan analisis statistiknya selama penyimpanan dingin .....      | 81 |
| Lampiran 16. Data skor organoleptik bau dan analisis statistik ikan lemuru pada penyimpanan suhu dingin .....   | 82 |
| Lampiran 17. Data skor organoleptik penampakan dan analisis statistik ikan lemuru pada penyimpanan dingin ..... | 83 |
| Lampiran 18. Data skor organoleptik tekstur dan analisis statistik ikan lemuru pada penyimpanan dingin .....    | 84 |



## I. PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat dapat mengubah gula menjadi asam laktat dengan cepat dan dalam jumlah yang banyak, sehingga mampu mengurangi mikroba lain dengan cara berkompetisi dalam waktu tertentu (Frazier dan Westhoff, 1978).

Rekapermana (1995) melakukan seleksi beberapa bakteri asam laktat yang mempunyai aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen dan perusak dari beberapa genus antara lain *Pediococcus acidilactici* DSM 20238, *P. pentosaceus* Balitvet 0018, *Streptococcus thermophilus* (GAMA), *Streptococcus* ta. 85, *L. lactis* subsp. *cremoris* DSM 20069 dan *L. lactis* subsp. *lactis* DSM 20729. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* mempunyai aktivitas penghambatan yang paling efektif terhadap bakteri perusak *Alcaligenes* sp. dan *Pseudomonas fluorescens* pada media ikan rucah.

Kultur starter *L. lactis* subsp. *cremoris* dapat digunakan untuk mengawetkan filet ikan lele pada penyimpanan suhu dingin (Chang dan Hearnberger, 1994). Kultur starter ini juga banyak digunakan dalam fermentasi keju, susu mentega dan beberapa tipe mentega lain (Frazier dan Westhoff, 1978).

Metode pengeringan yang biasa digunakan untuk pengawetan kultur starter adalah pengeringan vakum, pengeringan semprot dan pengeringan beku (Tamime dan Robinson, 1985). Nuraida *et al.* (1994) melaporkan pembuatan kultur starter kering yoghurt dengan pengeringan oven dan pengeringan beku. Yunizal *et al.* (1982) berhasil membuat kultur starter kering *Lactobacillus* menggunakan bahan pengisi

tepung beras dengan menambahkan air kelapa dan rempah-rempah seperti lada dan kayu manis.

Dalam rangka penyediaan kultur starter bakteri asam laktat siap pakai yang praktis mempunyai mutu yang simpan baik, dan harganya tidak terlalu mahal maka dikembangkan suatu penelitian mengenai teknologi proses produksi kultur starter dengan menerapkan proses pengeringan vakum. Optimasi proses dilakukan dengan mempelajari jenis media pertumbuhan dan bahan pengisi. Untuk menguji aktivitas kultur starter tersebut, diaplikasikan untuk pengawetan ikan lemuru segar.





## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. KARAKTERISTIK *L. lactis* subsp. *cremoris*

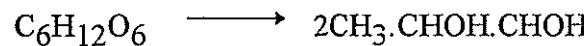
*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* dengan nama lama *Streptococcus cremoris* termasuk genus *Streptococcus*, grup streptokoki laktik dan famili *Streptococcaceae* (Schleifer, 1986).

*Streptococcus* yang mempunyai peranan penting dalam susu dan produk susu adalah *S. cremoris* dan *S. lactis* yang dapat tumbuh pada suhu 10°C, tetapi tidak dapat tumbuh pada suhu 45°C. Walaupun grup streptokoki laktik memiliki kesamaan yang lebih besar, namun grup ini lebih mudah dibedakan atas tiga spesies, sehingga dinyatakan sebagai subspesies, yaitu *S. lactis* subsp. *cremoris*, *S. lactis* subsp. *lactis*, dan *S. lactis* subsp. *diacetylactis* (Sandine, 1986). Selanjutnya Sandine (1986) melaporkan bahwa genus *Streptococcus* ini dinyatakan sebagai *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *L. lactis* subsp. *lactis*, dan *L. lactis* subsp. *diacetylactis*.

*Streptococcus* merupakan bakteri asam laktat homofermentatif, bersifat gram positif, katalase negatif, berbentuk bulat yang hidup secara berpasangan membentuk rantai pendek dan atau panjang yang tergantung pada spesies dan kondisi pertumbuhannya (Frazier dan Westhoff, 1978; Pelczar dan Chan, 1988). *Streptococcus* memiliki diameter kurang dari 2  $\mu\text{m}$ , kebutuhan nutrisinya kompleks, dengan suhu optimum sekitar 37°C (Pelczar dan Chan, 1988).

Menurut Schleifer (1986), *L. lactis* subsp. *cremoris* mempunyai pertumbuhan optimum pada suhu 30°C.

Bakteri asam laktat homofermentatif, mampu memecah 95% glukosa dan heksosa lain menjadi asam laktat dengan proses yang ditunjukkan di bawah ini:



di mana untuk satu mol monosakarida diproduksi dua mol asam laktat dan dua mol ATP.

Karakteristik lain dari *L. lactis* subsp. *cremoris* adalah tidak dapat tumbuh pada kondisi-kondisi antara lain pH 9,2 dan 9,6, konsentrasi NaCl 4 % dan 6,5 %, suhu 39,5°C dan 40°C ; terinaktivasi dengan pemanasan pada suhu 60°C selama 30 menit, tidak memproduksi NH<sub>3</sub> dari arginin, dapat tumbuh pada suhu 10°C, tidak memproduksi asetoin/diasetil pada susu serta termasuk grup N serologisal (Sharpe, 1979).

## B. PERANAN *L. lactis* subsp. *cremoris* DALAM BAHAN PANGAN

Penambahan bakteri asam laktat dapat memperpanjang masa simpan dan menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada daging dan produk ikan tanpa fermentasi. Kultur bakteri asam laktat terseleksi yang ditambahkan pada daging sapi, daging unggas, daging sapi yang dikemas vakum, dan udang dapat memperpanjang masa simpan produk pangan tersebut. Aktivitas antimikroba tersebut kemungkinan besar disebabkan oleh asam, hidrogen peroksida, dan bakteriosin (Lindgren dan Dobrogosz, 1990).

Chang dan Hearnberger (1994) melaporkan penggunaan kultur starter *L. lactis* subsp. *cremoris* pada pengawetan filet ikan lele pada penyimpanan suhu dingin yang dikombinasikan dengan penambahan natrium asetat dan kalium sorbat. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kombinasi 0,25 % natrium asetat, 0,5 % kalium sorbat dan 2,5 % kultur *L. lactis* subsp. *cremoris* dapat memperpanjang masa simpan filet ikan lele selama 12 hari penyimpanan pada suhu 4°C.

Terbentuknya asam laktat oleh bakteri asam laktat dapat menyebabkan penurunan pH, akibatnya mikroba yang tidak tahan terhadap pH rendah, pertumbuhannya terhambat. Bakteri asam laktat memproduksi bakteriosin yang merupakan suatu protein yang dihasilkan oleh bakteri dan mempunyai efek bakterisidal. Marugg (1991), mengklasifikasikan bakteriosin menjadi dua kelas, yaitu bakteriosin yang mempunyai spektrum penghambatan luas, seperti nisin dan pediosin; serta bakteriosin yang mempunyai spektrum penghambatan sempit seperti diplokokin, laktosin 27, laktasi B dan F, serta laktostrepsin.

*L. lactis* subsp. *cremoris* strain LMG 7951 menghasilkan bakteriosin yaitu nisin (Van den Berg, 1993), yang mempunyai daya antimikroba terhadap berbagai jenis mikroorganisme seperti *Bacillus*, *Clostridium*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, dan *Micrococcus* (Marugg, 1991). Hirsch *et al.* (1951) dalam Hurst (1983) menyatakan bahwa penambahan kultur *L. lactis* penghasil nisin pada keju swiss dapat menghambat kerusakan oleh *C. butyricum* dan *C. tyrobutyricum*. Di Amerika Serikat nisin telah terdaftar dalam GRAS

(generally regarded as safe) untuk penggunaan pada keju oles (cheese spread). Dalam pembuatan keju oles, nisin terbukti dapat mencegah pertumbuhan spora dan memperpanjang umur simpan keju (Marugg, 1993). Menurut Venema *et al.* (1993), *L. lactis* subsp. *cremoris* juga menghasilkan beberapa bakteriosin lain antara lain laktokokin A, B, dan M (strain 9B4) dan telah dapat dikarakterisasi (Van Belkum *et al.*; 1989, 1992), laktokokin A (strain LMG2130) (Holo *et al.*, 1991), laktokokin B (strain SK112) (Sijtsma *et al.*, 1990).

Rekapermana (1995) melaporkan bahwa *L. lactis* subsp. *cremoris* dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas fluorescens* dan *Alcaligenes* masing-masing selama waktu kontak 8 jam dan 24 jam pada media ekstrak ikan rucah sampai satu satuan log. Senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh *L. lactis* subsp. *cremoris* terhadap *P. fluorescens* berupa bakteriosin dan hidrogen peroksida, sedangkan terhadap *Alcaligenes* berupa hidrogen peroksida (Rekapermana, 1995).

Penggunaan bakteri asam laktat untuk melakukan pencegahan pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan tumbuh dalam makanan akan menghemat energi, baik energi untuk pemanasan maupun pendinginan. Sebab dengan penggunaan mikroba tersebut, perlakuan panas atau pendinginan untuk pengawetan makanan dapat dikurangi.



## C. PRODUKSI KULTUR STARTER KERING

### 1. Metode Pengeringan

Menurut Tofte-Jesperen (1974a, b, 1976) dalam Tamime dan Robinson (1985), prioritas pengeringan kultur starter sebelum tahun 1950 adalah dengan pengeringan vakum. Metode pengeringan vakum meliputi penambahan starter cair dengan laktosa dan Ca-karbonat untuk menetralkan kelebihan asam, pemisahan whey, dan pengeringan dalam kondisi vakum.

Nuraida *et al.* (1994) melaporkan bahwa metode pengeringan starter yoghurt dengan oven vakum menghasilkan viabilitas yang lebih tinggi dibandingkan metode pengeringan oven biasa. Pada pengeringan menggunakan oven vakum diperoleh viabilitas 179 % sedangkan oven biasa hanya 25 %. Menurut Wallace (1964) pengeringan vakum dapat digunakan untuk membuat produk yang padat dan *glassy* dengan mengatur suhu dan tekanan, cairan dapat dibuat menjadi mengembang dalam massa selama tahap awal pengeringan, dan kemudian menjadi padat.

Tingkat viabilitas sel yang lebih tinggi dari kultur kering dapat diperoleh dengan metode pengeringan semprot dan metode ini pertama digunakan di Belanda untuk mengawetkan kultur starter keju, akan tetapi metode ini belum dikembangkan secara komersial (Tamime dan Robinson, 1985). Walaupun beberapa penelitian sudah berhasil meningkatkan viabilitas kultur starter yang dikeringkan dengan pengering semprot, metode ini tidak dipakai secara luas.

Metode pengeringan kultur starter yang paling banyak digunakan adalah pengeringan beku. Metode ini menghasilkan viabilitas dan persentase mikroba hidup selama penyimpanan yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode pengeringan lainnya. Kerusakan sel mikroba selama pembekuan dan pengeringan dapat diminimalkan dengan penambahan senyawa-senyawa kriogenik seperti asam L-glutamat, L-arginin, asetil glisin, kasiton, laktosa, ekstrak malt, gliserol, pektin, glukosa, sukrosa dan gula-gula alkohol (Tamime dan Robinson, 1985). Tetapi pengeringan kultur dengan metode pengeringan beku memerlukan biaya yang tinggi dalam produksi.

Tamime dan Robinson (1985) menyatakan bahwa secara tradisional orang-orang Turki, Libanon, Siria, Irak dan Iran mengeringkan yoghurt dengan penjemuran di bawah sinar matahari. Yoghurt dicampur dengan tepung terigu atau semolina atau gandum pratanak, kemudian campuran tadi dibentuk menjadi bola-bola kecil dan dijemur. Produk ini disebut *kishk*.

Yunizal *et al.* (1982) melaporkan pembuatan kultur starter kering *Lactobacillus* menggunakan pengering oven, di mana pengeringan dilakukan pada suhu 42°C hingga 45°C selama 48 jam.

## 2. Penggunaan Bahan Pengisi

Yunizal *et al.* (1982) menambahkan bahwa dalam pembuatan kultur starter kering *Lactobacillus*, di mana sebelumnya dilakukan isolasi *Lactobacillus* dari asinan sawi, dengan penambahan bahan pengisi tepung

beras dan kapang *Amylomyces sp* untuk memecah pati tepung menjadi glukosa serta dikeringkan dengan oven biasa. Selain itu ditambahkan pula lada, kayu manis dan air kelapa. Kultur starter kering yang diperoleh berasal dari komposisi 40 g tepung beras, 40 ml air kelapa, 1 g biakan kapang, 1 ml suspensi *Lactobacillus* dan penambahan bumbu 1,2 g lada dan 1,4 g kayu manis, serta menghasilkan total bakteri asam laktat sebesar  $3,0 \times 10^8$  sel per gram kultur kering.

Menurut Nuraida *et al.* (1994), peningkatan konsentrasi tepung sebagai bahan pengisi dalam pengeringan dengan metode pengeringan oven vakum dan oven biasa mengakibatkan penurunan total bakteri asam laktat pada kultur kering. Pada rasio tepung dan kultur 2:1 dan 1:1, viabilitas tertinggi ditunjukkan oleh kultur starter yang dicampur dengan tepung terigu. Walaupun penggunaan tepung terigu menghasilkan viabilitas tertinggi pada rasio 2:1 dan 1:1, tetapi penyiapan kultur starter lebih sulit karena pencampuran dengan tepung terigu membentuk adonan yang lengket. Nuraida *et al.* (1994) juga menambahkan bahwa pada penggunaan tepung dengan konsentrasi yang lebih rendah mengakibatkan penurunan viabilitas ultur starter. Hal ini diduga disebabkan oleh waktu pengeringan yang lebih lama. Viabilitas total bakteri asam laktat tertinggi diperoleh dengan bahan pengisi tepung beras dengan rasio tepung dan kultur 1:2 sebesar 179 %.

## D. PROSES PENURUNAN MUTU IKAN

Ikan mudah sekali mengalami kebusukan, terutama di daerah tropis, di mana suhu dan kelembaban sangat memungkinkan terjadinya proses pembusukan. Proses penurunan mutu pada ikan disebabkan oleh tiga kegiatan yaitu autolisis, kimiawi, dan bakteriologis (Ilyas, 1983).

Proses penurunan mutu secara autolisis berlangsung sebagai akibat kegiatan enzim yang menguraikan senyawa kimia pada jaringan tubuh ikan. Kemudian Ilyas (1983) menjelaskan bahwa penguraian protein dan lemak dalam proses autolisis akan menyebabkan perubahan rasa, tekstur, dan penampakan ikan.

Proses penurunan mutu ikan secara kimia disebabkan karena proses oksidasi lemak pada ikan yang mengakibatkan bau dan rasa tengik, sehingga proses ini dinamakan ketengikan. Di samping itu rupa ikan dan dagingnya berubah ke arah coklat kusam (Ilyas, 1983).

Oksidasi terutama oleh oksigen merupakan faktor utama di dalam penurunan mutu lemak yang terdapat di dalam bahan pangan. Kerusakan oksidatif ini dapat menurunkan kualitas organoleptik dan nilai gizi, bahkan produk yang teroksidasi dapat beracun.

Menurut Ilyas (1983), pada ikan segar yang baru ditangkap mikroba yang dominan adalah bakteri *Micrococcus* dan *Flavobacterium*, kemudian setelah pembusukan berlangsung dominasi beralih ke jenis-jenis bakteri pembusuk seperti *Pseudomonas* dan *Achromobacter*.

Senyawa yang dihasilkan dalam dekomposisi oleh bakteri dapat digunakan sebagai indikator tingkat kesegaran atau kebusukan ikan. Senyawa-senyawa yang digunakan sebagai parameter tingkat kesegaran ikan antara lain indol, asam sulfat, hipoksantin, histamin, *Volatile Reducing Substance* (VRS), Total *Volatile Base Nitrogen* (TVN), dan trimetilamin (Zaitzev *et al.*, 1969).

Serangan bakteri yang dimulai dari fase rigormortis mengakibatkan penurunan mutu ikan berupa berubahnya lendir menjadi pekat, bergetah dan amis, mata terbenam dan sinarnya pudar, insang dan isi perut berubah warna dengan susunan yang berantakan dan berbau menusuk, akhirnya seluruh ikan busuk (Ilyas, 1983).



### III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

#### A. BAHAN DAN ALAT

Bahan yang digunakan terdiri dari media pertumbuhan mikroba, kultur bakteri asam laktat, ikan lemuru, bahan-bahan pengisi serta bahan-bahan kimia.

Media pertumbuhan mikroba yang digunakan antara lain MRS (de Man Rogosa Sharpe Broth) broth, MRS agar, APDA (Acidified Potato Dextrose Agar), PCA (Plate Count Agar), VRB (Violet Red Blue) agar, susu skim, dan ekstrak sawi. MRS broth digunakan untuk media menumbuhkan bakteri asam laktat. MRS agar digunakan untuk media menghitung jumlah bakteri asam laktat pada penyiapan kultur kerja, penentuan kurva pertumbuhan, serta penentuan viabilitas setelah pengeringan kultur. APDA digunakan untuk menentukan jumlah kontaminan kapang dan kamir pada kultur kering. PCA dan VRB agar berturut-turut digunakan untuk menentukan jumlah total mikroba dan total koliform yang terdapat pada ikan selama pengujian aktivitas antimikroba kultur kering. Susu skim dan sawi diperoleh dari pasar setempat di Bogor.

Ikan lemuru yang digunakan untuk penelitian ini adalah dari jenis *Sardinella longiceps* yang diperoleh dari Tempat Pelelangan Ikan Blanakan Subang. Selama penangkapan oleh nelayan, ikan didinginkan dengan es dan sampai di darat telah berumur 30 jam. Ikan didinginkan dengan es dibawa ke laboratorium (Bogor) membutuhkan waktu 5 jam. Selanjutnya ikan di laboratorium disimpan dalam refrigerator suhu 6°C selama 5 jam sebelum dilakukan perlakuan. Sehingga total umur ikan hingga awal perlakuan adalah 40 jam. Ikan lemuru yang



digunakan pada penelitian ini berukuran panjang antara 15 - 18 cm, tebalnya 1,5 - 2 cm, dan berat per ekor adalah 60 - 65 g.

Bakteri asam laktat yang digunakan adalah *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* DSM 20069. Bakteri ini diperoleh dari lembaga koleksi kultur DSM Jerman.

Bahan-bahan pengisi yang digunakan adalah tepung beras dan tepung onggok. Tepung beras diperoleh dari pasar setempat di Bogor, dan tepung onggok diperoleh dari pabrik tapioka di Ciluar Bogor. Selain itu digunakan bahan-bahan kimia seperti larutan garam fisiologis, NaOH 0,1 N, asam oksalat, tartarat, HCl 0,01 N, asam borat 1 %, asam trikloroasetik, kalium karbonat, fenolftalein, lugol, kristal violet, alkohol, dan safranin.

Alat yang digunakan terdiri dari otoklaf, inkubator, oven vakum, oven, pendingin, pH meter, blender, mikropipet, cawan petri, mikroburet, loyang, cawan conway, dan alat-alat gelas lain-lainnya.

## B. METODE PENELITIAN

### 1. Pengaruh Jenis Media Terhadap Produksi Kultur Starter Cair

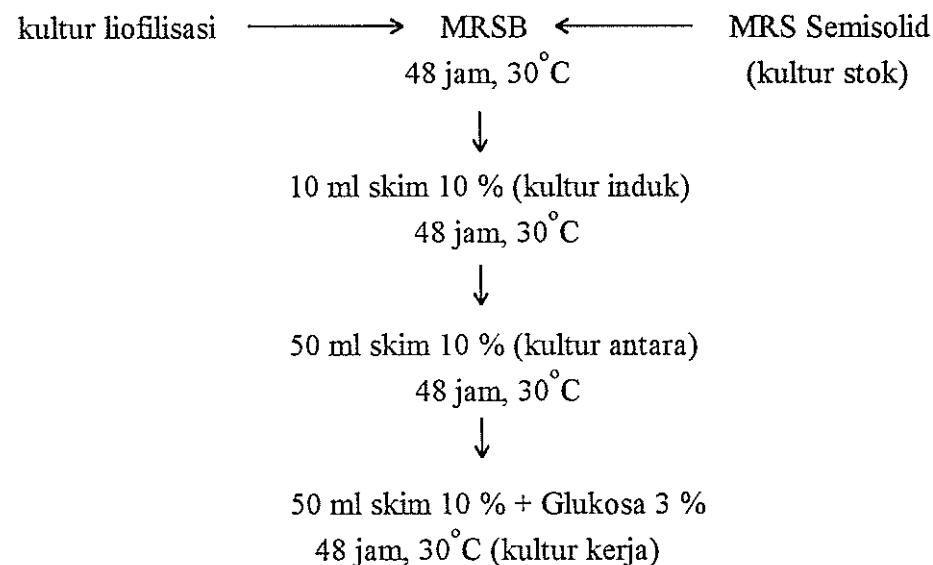
#### a. Persiapan kultur kerja

Kultur *L. lactis* subsp. *cremoris* yang tersedia dalam bentuk liofil dipindahkan seluruhnya dalam tabung reaksi berisi 5-7 ml MRS broth dan diinkubasi pada 30°C selama 2 hari. Kemudian dibuat kultur stok dari kultur di atas dan disimpan dalam MRS semisolid.

Pembuatan MRS semisolid adalah mula-mula MRS broth dimasukan dalam gelas piala secukupnya dan dimasukkan pula sebanyak 0,2 % agar, serta dipanaskan sampai agar tergelatinisasi. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah ditambahkan kapur berlebih. MRS broth yang berisi suspensi di-*vortex* hingga merata sebelum diambil dengan ose. Kemudian dengan metode tusuk, ose ditusukkan ke dalam tabung reaksi berisi MRS semisolid hingga ujung ose menyentuh kapur, dan ose ditarik tegak lurus. Kultur stok mampu bertahan 2 sampai 3 bulan pada penyimpanan suhu dingin. Sebanyak 0,1 % kultur yang telah ditumbuhkan dalam MRS broth dibuat kultur induk dengan cara menginokulasikan ke dalam 10 ml susu skim 10 % yang telah disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit di dalam tabung reaksi. Setelah diinkubasi selama 2 hari pada suhu 30°C, ditentukan jumlah total bakteri asam laktat dan total asam tertitrasi. Kultur induk biasanya mengandung bakteri asam laktat sebanyak  $5,0 \times 10^7$  hingga  $1,0 \times 10^9$  koloni per ml dan total asam tertitrasi kurang dari 2,7 %. Kultur induk ditumbuhkan lagi dalam 50 ml susu skim 10 % steril dalam erlenmeyer 100 ml sebanyak 0,1 %, kemudian diinkubasi selama 2 hari pada 30°C. Kultur yang dihasilkan disebut kultur antara.

Setelah diukur jumlah bakteri asam laktat dan total asamnya, kemudian 0,5 % kultur antara ditumbuhkan kembali dalam 50 ml media campuran susu skim 10 % dan glukosa 3 % dalam erlenmeyer 100 ml.

Inkubasi dilakukan selama 2 hari dan bila jumlahnya setelah inkubasi mencapai  $5,0 \times 10^7$  hingga  $1,0 \times 10^9$  koloni per ml dan total asam tertitrasi kurang dari 2,7 %, maka kultur kerja siap digunakan. Tahap-tahap persiapan kultur kerja dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tahap-tahap persiapan kultur kerja

### b. Pembuatan media pertumbuhan ekstrak sawi

Sawi segar dicuci dengan air bersih, kemudian dikukus selama 15 menit pada suhu 100°C. Setelah itu sawi ditimbang dan dihancurkan dalam blender dengan penambahan air sebanyak 1:1 (b/v). Bubur sawi yang diperoleh, selanjutnya disaring dengan kain saring, kemudian filtrat disentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 3500 rpm. Filtrat disaring kembali dengan kain saring, kemudian pH ekstrak diatur menjadi 6,5.



Selanjutnya ekstrak sawi disterilisasi pada 121°C selama 15 menit, dan siap digunakan sebagai media pertumbuhan mikroba. Diagram alir pembuatan ekstrak sawi dapat dilihat pada Gambar 2.

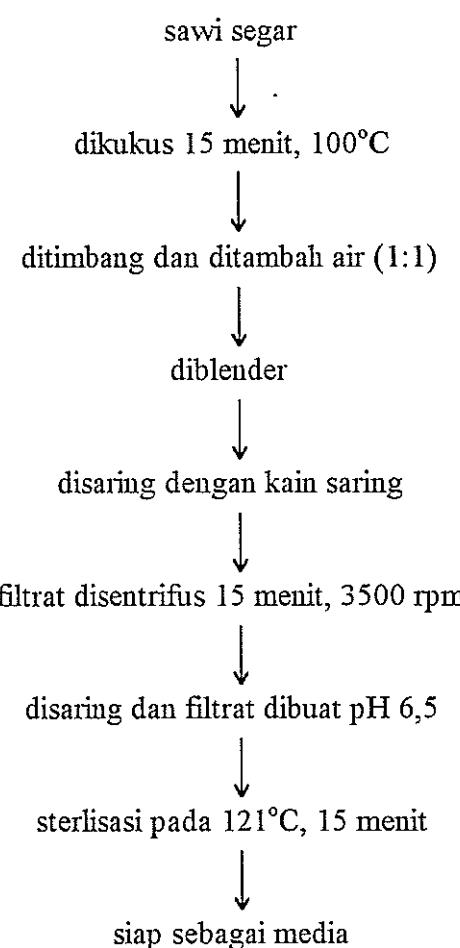
### c. Produksi Kultur

Tujuan penggunaan media susu skim 16 % dan ekstrak sawi adalah untuk sel *L. lactis* subsp. *cremoris*. Kultur kerja sebanyak 0,5 % ditambahkan pada 50 ml media dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 72, 96 dan 120 jam. Jumlah bakteri asam laktat dan pH media dihitung pada setiap waktu inkubasi.

## 2. Produksi Kultur Starter Kering

Sebanyak 0,5 % kultur kerja ditumbuhkan pada 50 ml media susu skim 16 % dan 50 ml media ekstrak sawi serta diinkubasikan pada suhu 30°C selama waktu stasioner yang dicapai pada kurva pertumbuhan pada masing-masing media pertumbuhan mikroba. Kemudian dilakukan pencampuran dengan bahan pengisi steril. Ke dalam 50 ml kultur ekstrak sawi ditambahkan bahan pengisi tepung beras 50 g (1:1), penambahan tepung 25 g (1:2), dan penambahan tepung 100 g (2:1). Demikian juga untuk bahan pengisi tepung onggok. Untuk 50 ml kultur susu skim 16 % dicampur dengan bahan pengisi tepung onggok (rasio tepung dan kultur) adalah penambahan 50 g tepung (1:1), penambahan 25 g tepung (1:2) dan penambahan 100 g tepung (2:1). Dan

untuk bahan pengisi tepung beras, 50 ml kultur susu skim 16 % hanya ditambah dengan 25 g tepung (rasio tepung dan kultur 1:2).



Gambar 2. Diagram alir pembuatan ekstrak sawi

Kemudian dilakukan pengeringan dengan pengering oven vakum pada suhu 45°C hingga 55°C selama 4 jam untuk penggunaan media ekstrak sawi, dan 4,5 jam untuk penggunaan media susu skim, sehingga mencapai kadar air kultur kering kurang dari 6 %. Setelah itu kultur kering dari setiap

perbandingan diblender kering dan dikemas dalam plastik polietilen, serta disimpan pada suhu 4°C. Kultur kering ini siap diaplikasikan untuk pengawetan ikan lemuru.

### 3. Evaluasi Kultur Starter Kering

#### a. Viabilitas

Viabilitas kultur starter kering ditetapkan dengan menghitung jumlah bakteri asam laktat sebelum dan sesudah pengeringan dengan memperhitungkan perubahan kadar air sebelum dan sesudah pengeringan kultur.

#### b. Aplikasi Kultur Kering untuk Pengawetan Segar Ikan Lemuru

Kultur starter kering diaplikasikan pada ikan lemuru dengan cara tabur (kultur kering sebanyak 4 % dari berat ikan) dan celup (larutan hasil rekonstitusi kultur kering 1: 10). Kemudian dilakukan penyimpanan ikan lemuru pada suhu dingin (suhu 6°C) selama 0, 2, 4, 6, dan 8 hari dan suhu kamar selama 0, 4, 8, 12, dan 24 jam. Dan dilakukan analisis total mikroba (kontrol ikan segar), total bakteri gram negatif, pH, TVN (Total Volatile Base Nitrogen), serta organoleptik yang meliputi bau, penampakan, dan tekstur ikan.

#### 4. Analisis

##### a. Total Bakteri Asam Laktat dengan Metode Hitungan Cawan (Fardiaz, 1989)

Contoh diencerkan dengan larutan garam fisiologis 0,85% dan pemupukan dilakukan dengan metode tuang. Medium agar yang digunakan adalah MRS agar. Cawan diinkubasikan pada suhu 30°C selama 2 hari. Koloni yang tumbuh dihitung dengan metode SPC (Standard Plate Count).

##### b. pH (AOAC, 1984)

Nilai pH ditentukan menggunakan pH meter. Sebelum pengukuran, pH meter dikalibrasi dahulu dengan buffer 4,0 dan 7,0.

##### c. Total Mikroba Metode Hitungan Cawan (Fardiaz, 1987)

Ditimbang 5 g sampel ikan diblender dan dilarutkan ke dalam 45 ml larutan pengencer. Dari larutan ini diencerkan lagi sampai tingkat pengenceran yang dikehendaki. Selanjutnya dipipet 1ml dan dipindahkan masing-masing ke dalam 2 cawan petri steril. Setelah itu dituangkan agar PCA kurang lebih 15 ml. Setelah agar membeku, diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 30-32°C selama 2-3 hari. Jumlah koloni yang tumbuh dihitung.

##### d. Total Bakteri Gram Negatif Metode Hitungan Cawan (Fardiaz, 1987)

Sama dengan metode penghitungan total mikroba. Hanya media yang digunakan adalah VRB agar.

**e. Total Kapang dan Kamir (Fardiaz, 1987)**

Contoh mula-mula diencerkan dengan larutan garam fisiolog 0,85% dan selanjutnya sama dengan perhitungan total bakteri asam laktat. Hanya media yang digunakan yaitu APDA dan diinkubasikan pada suhu 28 - 32°C. Koloni kapang yang tumbuh berupa benang halus, sedangkan koloni kamir berbentuk datar halus dengan warna kekuningan.

**f. Kadar Air Metode Oven (AOAC, 1984)**

Wadah dikeringkan dulu dalam oven, didinginkan dalam desikator lalu ditimbang. Contoh sebanyak 1-2 gr ditimbang dalam wadah kemudian dikeringkan dalam oven 105°C hingga didapat berat yang konstan.

$$\text{Kadar air (bb)} = \frac{a - b}{a} \times 100\%$$

di mana : a : berat contoh awal (g)

b : berat contoh akhir (g)

**g. Total Volatile Base Nitrogen (TVN)**

Contoh yang telah dirajang kecil-kecil dan homogen ditimbang sebanyak 15 gram, dimasukan ke dalam blender dan ditambah 45 ml larutan 7% TCA (asam trikloroasetik), dan diblender selama 1 menit. Larutan disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat. Larutan asam borat 1 ml dimasukkan ke dalam ruang bagian tengah cawan conway. Kemudian dimasukkan 1 ml filtrat di atas ke dalam ruang bagian pinggir (*auto*

*chamber*). Tutup cawan conway di pasang pada posisi hampir menutup, kemudian ditambahkan 1 ml larutan kalium karbonat jenuh ke dalam ruang bagian pinggir yang lain (jangan sampai tercampur antara sampel dan kalium karbonat sebelum cawan conway ditutup rapat). Setelah itu segera cawan conway ditutup rapat. Sementara itu dipersiapkan blanko di mana filtrat contoh diganti dengan larutan 5% TCA dan dikerjakan seperti prosedur di atas. Cawan conway di susun pada rak-rak inkubator dan digoyang secara perlahan-lahan selama satu menit, selanjutnya diinkubasi pada suhu 35°C selama 2 jam atau disimpan pada suhu kamar selama semalam. Setelah selesai inkubasi, larutan asam borat pada ruang bagian tengah cawan conway blanko dititrasi dengan larutan 0,01 N HCl hingga larutan asam borat berubah menjadi merah muda. Selanjutnya berturut-turut dititrasi larutan asam borat pada conway contoh sampai diperoleh warna merah muda yang sama dengan warna merah muda cawan conway blanko. Kadar TVN dihitung sebagai berikut :

$$\text{Kadar TVN} = (\text{ml titrasi contoh} - \text{ml titrasi blanko}) \times 80 \text{ mg N/100 g contoh}$$

#### **h. Uji Organoleptik (Rahayu, 1992)**

Pengujian organoleptik yang dilakukan adalah uji skala hedonik, dengan skor hedonik 1-6. Uji organoleptik, sampel disajikan dalam keadaan mentah. Pengujian meliputi tekstur, bau, dan penampakan umum. Dengan



## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. KURVA PERTUMBUHAN *L. lactis* subsp. *cremoris*

Penumbuhan *L. lactis* subsp. *cremoris* dalam media skim 16 % (Gambar 3), menunjukkan fase lag dicapai (awal waktu inkubasi dengan jumlah bakteri  $2,1 \times 10^5$  koloni per ml media) sampai waktu inkubasi 2 jam (dengan jumlah bakteri  $3,3 \times 10^5$  koloni per ml media). Fase eksponensial diperoleh antara waktu inkubasi 2 jam sampai 12 jam. Waktu inkubasi 12 jam merupakan akhir fase eksponensial dengan jumlah bakteri  $1,8 \times 10^8$  koloni per ml media. Fase stasioner diperoleh antara waktu inkubasi 12 jam sampai 120 jam, dengan jumlah bakteri berkisar antara  $5,3 \times 10^7$  -  $6,6 \times 10^8$  koloni per ml media. Setelah waktu inkubasi 120 jam, bakteri berada pada fase penurunan. Dari hasil di atas, penentuan waktu inkubasi yang diperlukan sebelum pengeringan kultur pada media susu skim 16 % adalah 72 jam. Data total bakteri asam laktat pada kurva pertumbuhan *L. lactis* subsp. *cremoris* dapat dilihat pada Lampiran 1.

Pada pertumbuhan *L. lactis* subsp. *cremoris* pada media ekstrak sawi, terlihat fase lag dicapai pada awalwaktu inkubasi (dengan jumlah bakteri  $2,1 \times 10^5$  koloni per ml media) sampai waktu inkubasi 2 jam dengan jumlah bakteri  $3,3 \times 10^5$  koloni per ml media. Fase eksponensial diperoleh antara waktu inkubasi 2 jam hingga 24 jam. Waktu inkubasi 24 jam merupakan akhir fase eksponensial dengan jumlah bakteri  $3,4 \times 10^8$  koloni per ml media. Fase stasioner diperoleh antara waktu inkubasi 24 jam sampai 96 jam, dengan jumlah bakteri berkisar antara  $1,1 \times 10^8$  -  $4,2 \times 10^8$  koloni per ml media. Setelah waktu inkubasi 96 jam,

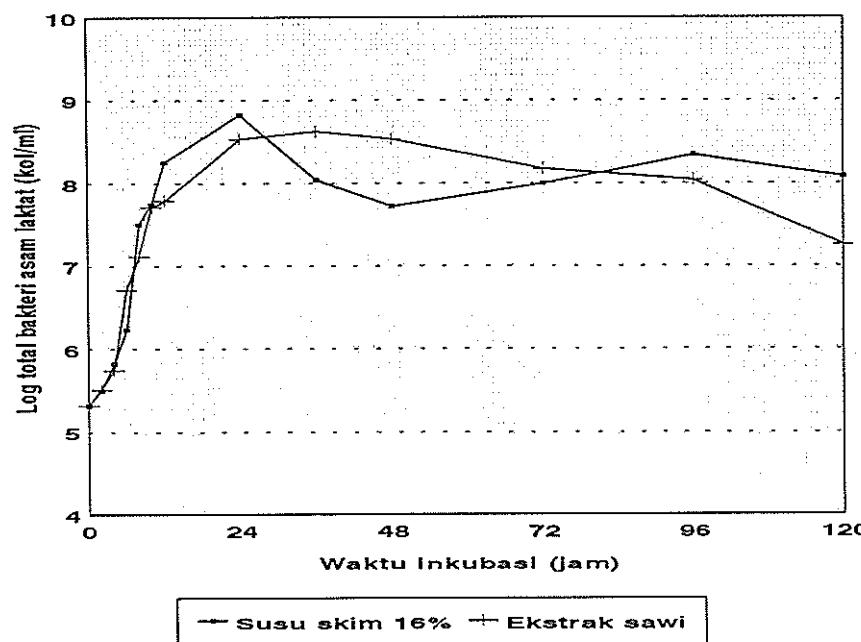


*L. lactis* subsp. *cremoris* berada pada fase penurunan. Dan waktu inkubasi yang diperlukan sebelum pengeringan kultur yaitu kultur berada dalam fase stasioner ditetapkan 48 jam. Data total bakteri asam laktat pada pembuatan kurva pertumbuhan *L. lactis* subsp. *cremoris* pada media ekstrak sawi disajikan pada Lampiran 2. Kurva pertumbuhan *L. lactis* subsp. *cremoris* pada media susu skim 16 % dan ekstrak sawi dapat dilihat pada Gambar 3.

Menurut Pelczar dan Chan (1986), pada fase eksponensial sel membelah dengan laju konstan dengan kecepatan pertumbuhan seimbang. Karena itu fase ini adalah fase terbaik bagi bakteri untuk digunakan dalam proses produksi atau untuk diawetkan. Dipilih akhir fase eksponensial untuk produksi kultur, karena pada akhir fase ini diperoleh jumlah sel bakteri yang tertinggi. Selain itu pada akhir fase eksponensial atau awal fase stasioner, bakteri berada dalam keadaan paling stabil dan memiliki ketahanan yang tinggi terhadap pengaruh perubahan lingkungan.

Secara umum Pelczar dan Chan (1986) membagi fase pertumbuhan bakteri ke dalam empat fase. Fase pertama adalah fase lag, di mana tidak ada penambahan populasi atau ada penambahan sangat sedikit. Fase kedua adalah eksponensial, di mana pada fase ini sel bakteri bertambah dengan cepat. Fase berikutnya adalah fase stasioner, di mana jumlah sel yang mati sama dengan jumlah sel yang membelah sehingga jumlah sel hidup keseluruhan menjadi

konstan. Fase terakhir adalah fase kematian, di mana jumlah sel menurun karena nutrien dalam medium habis atau energi cadangan dalam sel habis.



Gambar 3. Kurva pertumbuhan *L. lactis* subsp. *cremoris* dalam media susu skim 16 % dan ekstrak sawi

Fungsi media pertumbuhan atau fermentasi bagi mikroorganisme adalah sebagai sumber energi, karbon, nitrogen, mineral-mineral, serta oksigen. Selain itu komposisi media pertumbuhan harus sesuai dengan kebutuhan dasar bagi pertumbuhan dan pemeliharaan sel-sel, biosintesa produk-produk metabolisme (Stanbury dan Whitaker, 1984).

Lama fase eksponensial kedua media berbeda, media ekstrak sawi lebih lama dibanding pada media susu skim 16 %. Hal ini menunjukkan bahwa

kemampuan adaptasi dan pemanfaatan energi oleh bakteri ini pada media susu skim 16 % lebih baik dari pada ekstrak sawi. Sedangkan jumlah sel yang dicapai hingga akhir fase eksponensial pada media ekstrak sawi ( $3,4 \times 10^8$  sel per ml media) lebih banyak dibandingkan susu skim 16 % ( $1,8 \times 10^8$  sel per ml media). Hal ini menunjukkan bahwa kandungan nutrisi terutama gula yang terdapat pada ekstrak sawi sudah cukup untuk pertumbuhannya. Kebutuhan nutrisi utama *L. lactis* subsp. *cremoris* untuk pertumbuhan adalah gula. Menurut Mc Cance dan Widdowson's (1991), kandungan karbohidrat sawi terdiri dari 0,3 % gula, 3,3 % serat kasar, dan 0,3 % pati. Sayuran lain yaitu kubis, mengandung gula sebesar 2,9 - 6,4 % terdiri dari 85 % glukosa dan 15 % sukrosa (Frazier dan Westhoff, 1978).

Pada fase stasioner, pertumbuhan bakteri ini lebih lama pada media susu skim 16 % dibanding pada media ekstrak sawi. Hal ini mungkin disebabkan oleh perbedaan kandungan nutrisi pada pada susu skim 16 % lebih baik dan lengkap dibanding ekstrak sawi (Tabel 1). Hal ini juga disebabkan, *L. lactis* subsp. *cremoris* mempunyai habitat pada susu dan produk susu (Sharpe, 1979). Pada akhir fase statis menurut Pelczar dan Chan (1986), bakteri mulai kehabisan nutrisi dan menggunakan energi cadangan selnya. Energi ini dapat berupa hasil metabolisme bakteri yang disimpan di dalam sel dan dipergunakan pada saat diperlukan.



Pada media susu skim 16% terjadi penurunan pH yang lambat selama inkubasi 48 jam (Gambar 4). Selanjutnya pH menurun dengan cepat menjadi 5,2 setelah inkubasi 120 jam. Penurunan pH yang lambat ini disebabkan oleh asam yang terbentuk selama fermentasi atau pertumbuhan mempunyai sifat disosiasi yang rendah diantaranya asam laktat, asetat, fumarat, propionat dan lain-lain (Ryu, 1984).

Tabel 1. Komposisi kimia tepung susu skim dan sawi untuk setiap 100 g berat kering \*)

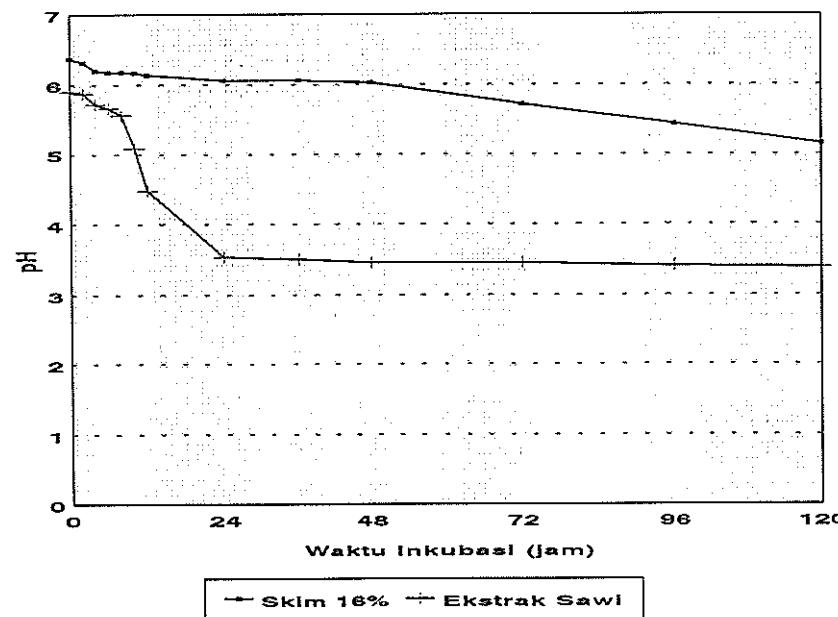
| Komposisi kimia | Kandungan nutrisi   |       |
|-----------------|---------------------|-------|
|                 | tepung<br>susu skim | sawi  |
| Protein (g)     | 36,9                | 33,9  |
| Lemak (g)       | 1,04                | 4,4   |
| Karbohidrat (g) | 53,9                | 59,0  |
| Kalsium (g)     | 1,4                 | 3,2   |
| Fosfor (g)      | 1,1                 | 0,6   |
| Zat besi (mg)   | 0,62                | 42,8  |
| Vitamin A (SI)  | 0,04                | 95195 |
| Vitamin B1 (mg) | 0,36                | 1,4   |
| Vitamin C (mg)  | 7,25                | 1503  |

\*) Direktorat Gizi (1979)

Selain itu hal yang cukup penting peranannya dalam fermentasi adalah kapasitas bufer yang ada pada bahan pangan. Pada susu skim 16 % secara menyeluruh terjadi penurunan pH yang lambat, hal ini diduga karena adanya bufer yang cukup untuk menstabilkan asam yang dihasilkan.

Pada media ekstrak sawi terjadi penurunan pH yang lebih cepat (Gambar 4) dibandingkan pada media susu skim 16 %, yaitu pH 5,9 pada awal

waktu inkubasi menjadi 5,0 setelah inkubasi 10 jam. Selanjutnya, pH menurun dengan sangat cepat menjadi 3,5 setelah inkubasi 24 jam. Setelah itu pH menurun dengan lambat menjadi 3,4 setelah inkubasi 120 jam.



Gambar 4. Grafik penurunan pH selama inkubasi pada media susu skim 16 % dan ekstrak sawi

Hal di atas sesuai dengan kondisi pada sayuran kubis. Menurut Buckle *et al.* (1985), sayuran kubis mempunyai kapasitas bufer yang rendah, sehingga dengan asam yang sedikit saja akan dapat menurunkan pH sebanyak satu satuan. Hal ini terjadi pada awal fermentasi, di mana pH produk masih tinggi dan dengan cepat menurunkan pada hari pertama fermentasi. Kapasitas bufer yang rendah ini penting dalam fermentasi sayuran karena menghasilkan asam yang rendah, tetapi

sudah dapat menurunkan pH sampai pada keadaan di mana bakteri perusak yaitu bakteri proteolitik terhambat. Data penurunan pH pada media susu skim 16 % dan ekstrak sawi disajikan pada Lampiran 3.

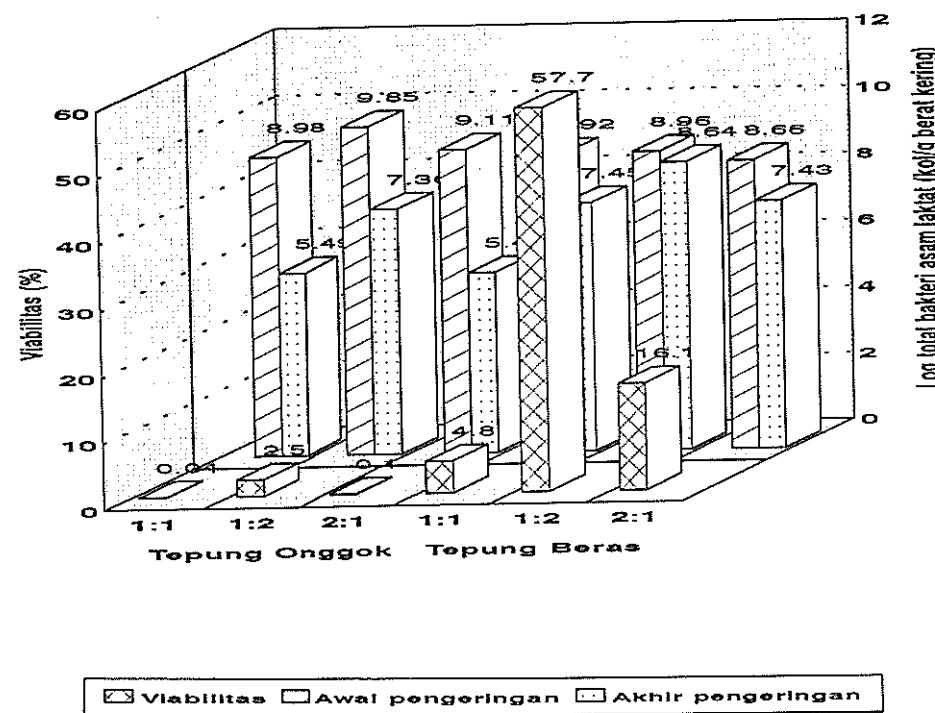
## B. PENGERINGAN KULTUR

### 1. Viabilitas

Total bakteri asam laktat pada media ekstrak sawi dengan penambahan bahan pengisi tepung onggok dan tepung beras sebelum dan setelah pengeringan serta viabilitasnya dapat dilihat pada Gambar 5. Jumlah bakteri asam laktat kultur sebelum dikeringkan berkisar antara  $4,1 \times 10^8$  -  $2,2 \times 10^9$  koloni per ml media. Setelah pengeringan kultur dihasilkan jumlah bakteri asam laktat berkisar antara  $3,0 \times 10^5$  -  $4,3 \times 10^8$  koloni per gram kultur kering. Terlihat bahwa peningkatan konsentrasi tepung sebagai bahan pengisi mengakibatkan penurunan total bakteri asam laktat pada kultur kering. Kultur kering dari rasio tepung dan kultur 1:2 menghasilkan jumlah bakteri asam laktat yang lebih besar dibanding rasio 1:1 dan 2:1.

Penggunaan tepung beras sebagai bahan pengikat menghasilkan jumlah bakteri asam laktat yang lebih tinggi dibanding dengan penggunaan tepung onggok pada semua perbandingan tepung dan kultur media ekstrak sawi. Hasil pengeringan kultur menggunakan bahan pengisi tepung beras diperoleh jumlah bakteri asam laktat berkisar antara  $2,7 \times 10^7$  -  $4,3 \times 10^8$  koloni per gram kultur kering. Kultur kering dengan rasio tepung beras dan kultur 1:2 menghasilkan

jumlah bakteri asam laktat yang tertinggi yaitu  $4,3 \times 10^8$  koloni per gram kultur kering (Gambar 5).



Gambar 5. Total bakteri asam laktat sebelum dan setelah pengeringan serta viabilitasnya pada media ekstrak sawi

Penghitungan viabilitas kultur memperhitungkan jumlah total bakteri asam laktat dan kadar air sebelum dan setelah pengeringan. Rasio tepung/kultur 1:2 menghasilkan viabilitas yang lebih tinggi dibanding rasio 1:1 dan 2:1 untuk kedua jenis bahan pengisi, dan penggunaan tepung beras sebagai bahan pengisi menghasilkan viabilitas yang tertinggi yaitu 58 %. Walaupun viabilitas kultur yang dihasilkan pada umumnya rendah tetapi total

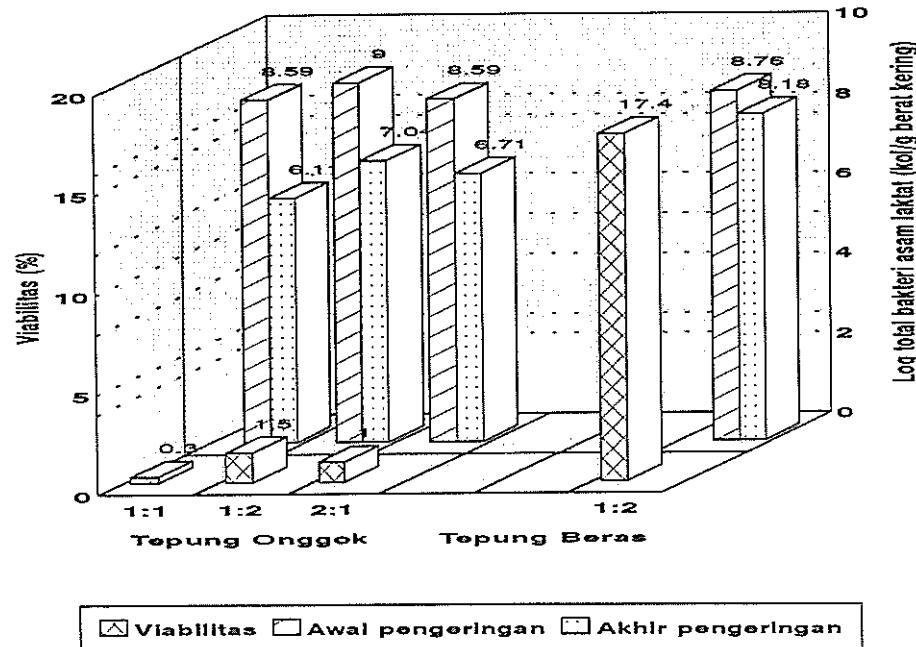
bakteri asam laktat kultur kering cukup tinggi berkisar antara  $2,6 \times 10^5$  -  $4,3 \times 10^8$  koloni per gram kultur kering. Data total bakteri asam laktat dan viabilitas pada media ekstrak sawi sebelum dan setelah pengeringan disajikan pada Lampiran 4.

Hasil pengeringan kultur dengan media susu skim 16 % dengan bahan pengisi tepung beras dan tepung onggok serta viabilitasnya disajikan pada Gambar 6. Jumlah bakteri sebelum dikeringkan berkisar antara  $2,1 \times 10^8$  -  $4,0 \times 10^8$  koloni per ml media. Rasio tepung dan kultur 1:2 menghasilkan jumlah bakteri asam laktat yang lebih tinggi dibanding rasio yang lain. Rasio tepung beras dan kultur media susu skim 16 % menghasilkan jumlah bakteri asam laktat yang tertinggi yaitu  $1,5 \times 10^8$  koloni per gram kultur kering.

Viabilitas tertinggi diperoleh pada pengeringan dengan rasio tepung beras dan kultur 1:2 adalah sebesar 17,4 %. Viabilitas yang diperoleh pada penggunaan bahan pengikat tepung onggok dan kultur media susu skim 16 % sangat rendah berkisar antara 0,3 - 1,5 %. Tetapi walaupun kultur kering yang dihasilkan pada umumnya relatif rendah, jumlah bakteri asam laktat cukup tinggi berkisar antara  $1,2 \times 10^6$  -  $1,5 \times 10^8$  koloni per gram kultur kering. Data hasil pengeringan kultur dengan media susu skim 16 % dapat dilihat pada Lampiran 5.

Dari hasil pengeringan kultur media susu skim 16 % dan ekstrak sawi di atas diperoleh viabilitas tertinggi adalah penggunaan bahan pengisi tepung

beras dan media ekstrak sawi dengan rasio 1:2 sebesar 58 %, dengan jumlah bakteri asam laktat  $4,3 \times 10^8$  koloni per gram kultur kering.



Gambar 6. Total bakteri asam laktat sebelum dan setelah pengeringan (dalam berat kering) serta viabilitasnya dalam media susu skim 16 %.

## 2. Kadar Air dan Rendemen

Kadar air awal dengan media ekstrak sawi lebih rendah dibanding penggunaan media susu skim 16 %. Kadar air awal dengan media ekstrak sawi berkisar antara 40 - 65,2 %, sedangkan kadar air awal dengan media susu skim berkisar antara 35,3 - 62,0 %. Juga penggunaan bahan pengisi tepung beras mengandung kadar air relatif lebih rendah dibanding penggunaan tepung onggok. Hal ini karena kadar air tepung onggok awal lebih besar dibanding kadar air tepung beras. Penggunaan bahan pengisi tepung beras mengandung

kadar air awal berkisar antara 47,0 - 64,9 % dan penggunaan tepung onggok mengandung kadar air awal berkisar antara 35,3 - 65,2 %.

Pengeringan kultur dengan media ekstrak sawi dilakukan selama 4 jam untuk berat tepung 175 g dalam 150 ml kultur ekstrak sawi, yang terbagi dalam tiga loyang masing-masing untuk rasio tepung dan kultur 1: 1, 1: 2, dan 2: 1. Diperoleh kadar air kultur dengan bahan pengisi tepung onggok kering berkisar antara 1,7 - 2,6 %, sedangkan untuk bahan pengisi tepung beras berkisar antara 0,8 - 2,7 %.

Kadar air kultur kering dengan media ekstrak sawi lebih rendah dibanding dengan media susu skim 16 %. Kadar air kultur kering dengan media ekstrak sawi berkisar antara 0,8 - 2,8 %, sedangkan kadar air kultur kering dengan media susu skim 16 % berkisar autara 4,3 - 5,9 %.

Pengeringan kultur dengan media susu skim 16 % dilakukan selama 4,5 jam untuk berat tepung 200 g dalam 400 ml kultur susu skim 16 %, yang terbagi dalam empat loyang , yaitu untuk rasio tepung dan kultur 1:1, 2:1, dan 2 loyang untuk untuk rasio tepung dan kultur 1:2.

Pengeringan kultur starter *L. lactis* subsp. *cremoris* menghasilkan kadar air berkisar antara 0,8 - 5,9 %. Kultur kering yang diperoleh dari penggunaan ekstrak sawi menghasilkan kadar air yang lebih rendah (0,8 - 2,8 %) dibandingkan penggunaan media susu skim 16% (4,3 - 5,9 %). Rendemen yang dihasilkan dari pengeringan kultur dengan penggunaan media susu skim 16 %

berkisar antara 74,2 - 84,3 %, sedangkan dengan media ekstrak sawi berkisar antara 87,4 - 91,4 %. Kadar air awal dan akhir pengeringan, serta rendemen kultur kering dengan media susu skim 16 % dan ekstrak sawi disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kadar air awal dan akhir pengeringan serta rendemen kultur kering

| Jenis perbandingan             | Perbandingan tepung/kultur | Kadar air (bb) (%) |       | Rendemen (%) |
|--------------------------------|----------------------------|--------------------|-------|--------------|
|                                |                            | awal               | akhir |              |
| tepung onggok<br>ekstrak sawi  | 1:1                        | 52,74              | 1,66  | 84,4         |
|                                | 1:2                        | 65,21              | 2,56  | 91,4         |
|                                | 2:1                        | 39,93              | 2,18  | 84,8         |
| tepung beras<br>ekstrak sawi   | 1:1                        | 53,69              | 1,14  | 88,4         |
|                                | 1:2                        | 64,94              | 2,74  | 89,4         |
|                                | 2:1                        | 47,04              | 0,79  | 87,4         |
| tepung onggok<br>susu skim 16% | 1:1                        | 48,93              | 4,85  | 74,9         |
|                                | 1:2                        | 62,03              | 5,86  | 71,0         |
|                                | 2:1                        | 35,28              | 5,52  | 84,3         |
| tepung beras<br>susu skim 16%  | 1:2                        | 57,74              | 4,34  | 74,2         |

### 3. Total Kapang dan Kamir

Menurut Syarief dan Hariyadi (1993), sifat-sifat bahan pangan, cara pengolahan, kondisi lingkungan, dan sifat-sifat jazad renik mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme serta jenis kerusakan yang terjadi. Kondisi yang disukai kapang dan kamir adalah bahan pangan berasam tinggi ( $\text{pH} < 4,5$ ), dan

kandungan nutrisi yang disukai kapang dan kamir pada umumnya adalah karbohidrat dan gula (Syarief dan Hariyadi, 1993).

Setelah pengeringan kultur kering dengan media ekstrak sawi mengandung total kapang dan kamir kurang dari 20 koloni per gram kultur kering. Sedangkan penggunaan media susu skim 16 % diperoleh kultur kering yang tidak ditemukan kapang dan kamir. Nuraida *et al.* (1994) melaporkan bahwa setelah pengeringan kultur yoghurt, diperoleh kultur kering dengan total kapang dan kamir tertinggi 55 koloni per gram kultur kering.

## C. APLIKASI KULTUR KERING UNTUK PENGAWETAN IKAN LEMURU SEGAR

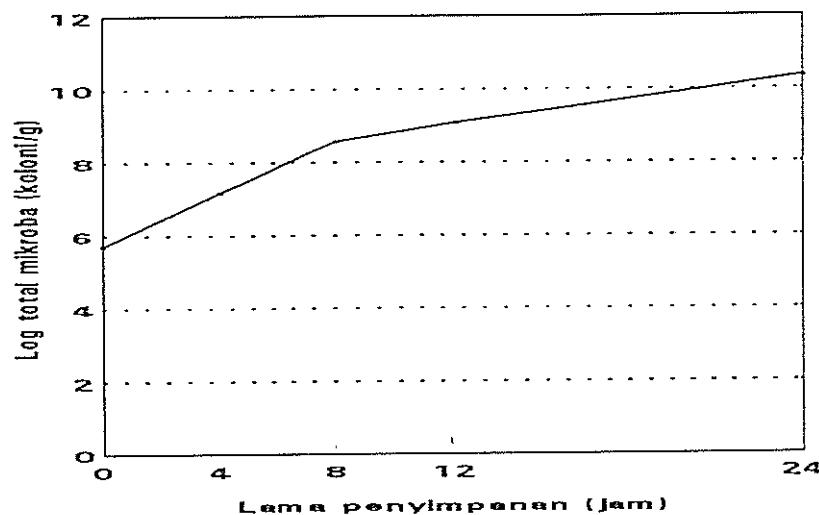
### 1. Penyimpanan Suhu Kamar

#### a. Total mikroba

Penghitungan total mikroba dilakukan untuk ikan lemuru kontrol yang tidak ditambah kultur kering. Penghitungan nilai total mikroba dilakukan selama 0, 4, 8, 12 dan 24 jam penyimpanan ikan lemuru segar. Perubahan total mikroba selama penyimpanan suhu kamar dapat dilihat pada Gambar 7.

Pada awal penyimpanan (0 jam) total mikroba pada ikan segar adalah  $5,0 \times 10^5$  koloni per gram ikan, dan mengalami peningkatan yang sangat cepat setelah penyimpanan 4 jam dengan total mikroba  $1,5 \times 10^7$  koloni per gram ikan, serta setelah penyimpanan 24 jam mencapai  $2,2 \times$

$10^{10}$  koloni per gram ikan. Total mikroba awal yang tinggi diduga berasal dari kontaminasi selama penanganan ikan oleh nelayan. Penanganan seperti ikan direndam dalam air laut yang kotor, tidak menjaga sanitasi wadah dan lingkungan yang menelantarkan ikan, serta tidak tersedianya air bersih untuk mencuci setiap wadah ikan.



Gambar 7. Perubahan total mikroba selama penyimpanan suhu kamar

Peningkatan total mikroba yang sangat cepat ini mungkin disebabkan karena adanya sumber makanan yang tersedia dan lingkungan yang mendukung perkembangan mikroba secara baik. Menurut Fardiaz (1989), faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba yang bersifat heterotrof adalah tersedianya nutrien, air, suhu, pH, oksigen dan potensial oksidasi reduksi, adanya zat penghambat, dan adanya jazad renik lain.

Dari nilai total mikroba dan total bakteri gram negatif (Gambar 7 dan Gambar 8) terlihat berbeda nilainya berkisar antara 2 - 4 satuan log. Perbedaan nilai ini kemungkinan adalah adanya bakteri gram negatif. Jadi kandungan bakteri gram positif yang terkandung dalam ikan berkisar antara 2 - 4 satuan log koloni per gram ikan. Bakteri gram negatif yang bersifat proteolitik lebih berperan dalam pembusukan ikan (Rahayu *et al.*, 1992).

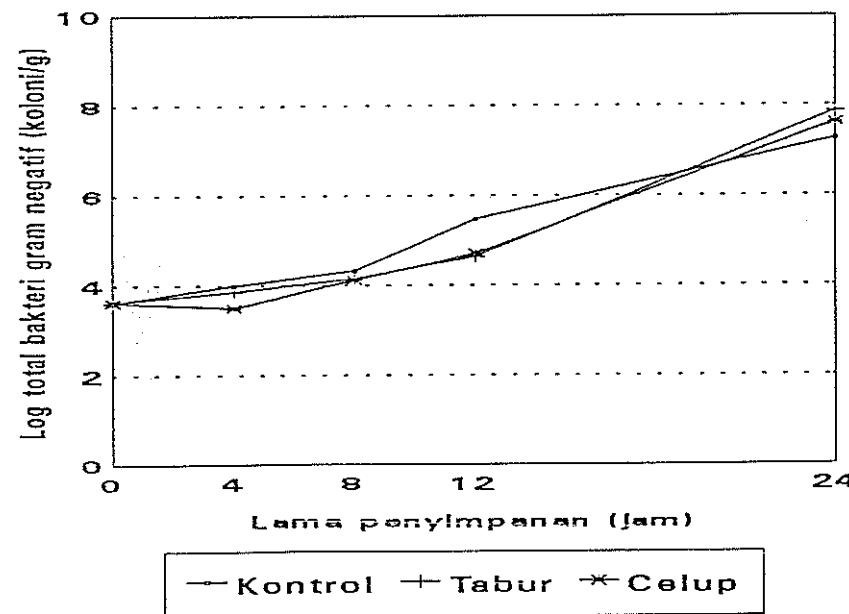
Nilai total mikroba ikan berdasarkan indeks kesegaran ikan adalah sekitar  $5,0 \times 10^5$  sel per gram ikan (Anonymous, 1985). Kontrol yaitu ikan yang tidak diberi perlakuan kultur kering setelah penyimpanan 4 jam berdasarkan nilai total mikrobanya termasuk ke dalam kisaran ikan tidak segar, hingga akhir penyimpanan 24 jam. Tetapi menurut Ruello (1976), nilai total mikroba hanya dapat mengukur tingkat pencemarannya, sehingga kalau hanya dengan nilai total mikroba belum dapat dipastikan apakah ikan tersebut masih segar atau tidak.

Bila dihubungkan dengan skor organoleptik ikan kontrol menunjukkan skor bau dan penampakan, panelis masih menerima ikan hingga penyimpanan 8 jam, dengan skor rata-rata bau dan penampakan masing-masing adalah 3,5 dan 3,3 (batas panelis masih menerima ikan adalah 4). Sedangkan dari skor organoleptik tekstur, panelis masih menerima tekstur ikan kontrol hingga penyimpanan 12 jam (skor rata-rata tekstur 3,5).

b. Total bakteri gram negatif

Menurut Rahayu et al. (1992), bakteri yang berperan dalam kebusukan ikan adalah bakteri gram negatif yang berbentuk batang yang terdiri dari *Pseudomonas*, *Achromonas* dan *Alcaligenes*. Data perubahan total bakteri gram negatif disajikan pada Lampiran 6. Perubahan total bakteri gram negatif dapat dilihat pada Gambar 8.

Berdasarkan analisis statistik (Lampiran 6), total bakteri gram negatif dipengaruhi oleh cara aplikasi dan interaksi antara kontrol dan kedua cara aplikasi dengan lama penyimpanan ikan lemuru yang berbeda nyata pada taraf 5 %.



Gambar 8. Perubahan total bakteri gram negatif pada penyimpanan suhu kamar

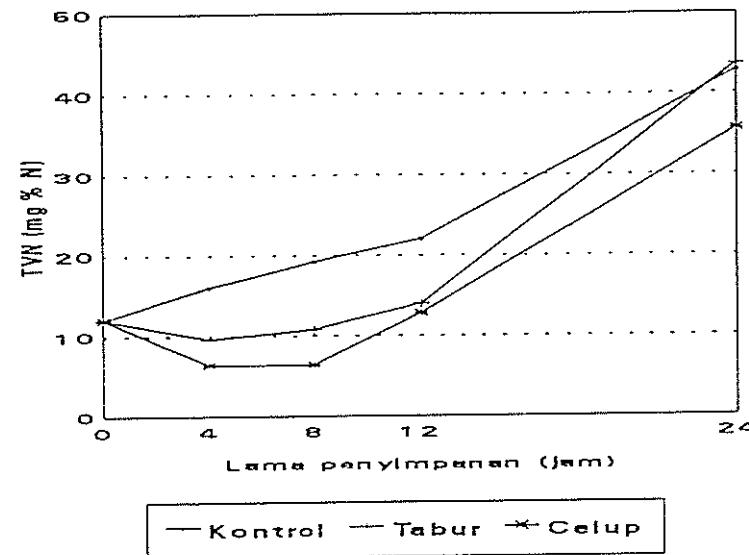
Dari analisis Duncan, terlihat bahwa cara aplikasi tabur dan celup berbeda nyata dengan kontrol. Total bakteri gram negatif pada awal penyimpanan adalah  $4,1 \times 10^5$  koloni per gram ikan. Pada kontrol dan cara aplikasi tabung populasi bakteri gram negatif meningkat pesat hingga penyimpanan 8 jam. Cara aplikasi celup pada penyimpanan 4 jam dapat menekan pertumbuhan bakteri gram negatif. Terlihat pada penyimpanan 12 jam penambahan kultur *L. lactis* subsp. *cremoris*, baik dengan cara aplikasi tabur maupun celup dapat menekan populasi bakteri gram negatif sebesar satu satuan log.

Rekapermana (1995), melaporkan *L. lactis* subsp. *cremoris* dapat menghambat pertumbuhan *Alcalygenes* dan *Pseudomonas fluorescens* sebanyak satu satuan log pada media ekstrak ikan rucak masing-masing sampai waktu kontak 8 jam dan 24 jam. Pada penelitian ini, populasi bakteri gram negatif setelah penyimpanan 24 jam meningkat sampai  $1 \times 10^7$  koloni per gram ikan pada semua contoh.

### c. Total Volatile Base Nitrogen (TVN)

Uji kandungan TVN dapat digunakan sebagai petunjuk kebusukan atau kesegaran ikan yang didasarkan pada amino volatil. Nilai TVN selama penyimpanan 12 jam masih berkisar antara 12,8 - 22,0 % mg N (Lampiran 7), sehingga ikan masih dikatakan segar, karena masih berada pada kisaran nilai TVN standar indeks kesegaran ikan basah. Indeks kesegaran ikan

basah menurut Tomiyasu (1975) adalah 30 % mg N. Perubahan nilai TVN selama penyimpanan ikan lemuru dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Perubahan nilai TVN selama penyimpanan suhu kamar

Nilai TVN ikan lemuru awal adalah 12 % mg N. Pada kedua cara aplikasi nilai TVN selama penyimpanan hingga 8 jam terlihat menurun (10,8 % mg N untuk cara aplikasi tabur dan 6,4 % mg N untuk cara aplikasi celup). Sedangkan pada kontrol ikan lemuru nilai TVN meningkat terus hingga penyimpanan 24 jam. Pada semua sampel nilai TVN masih di bawah indeks standar kesegaran ikan hingga penyimpanan 12 jam (12 % mg N untuk nilai TVN kontrol, 14 % mg N untuk TVN aplikasi tabur dan 12,8 % mg N untuk aplikasi celup). Setelah penyimpanan 24 jam, nilai TVN semua sampel

telah melampaui batas indeks kesegaran ikan (untuk kontrol, cara aplikasi tabur dan celup masing-masing nilai TVN-nya adalah 42,8 % mg N, 43,6% mg N, 35,6 % mg N).

Jika dihubungkan dengan skor organoleptik tekstur, panelis masih menerima sampel ikan hingga penyimpanan 12 jam, hal ini sesuai dengan nilai TVN yaitu masih di bawah indeks kesegaran ikan. Dan setelah penyimpanan 24 jam, panelis hanya masih menerima penampakan ikan cara aplikasi celup, sedangkan sampel lainnya ditolak. Sedangkan pada skor organoleptik bau, kedua cara aplikasi setelah penyimpanan 12 jam masih diterima oleh panelis (skor rata-rata bau = 3,9) dan pada kontrol telah ditolak panelis (skor rata-rata bau = 4,0).

Pola peningkatan dan penurunan nilai TVN berhubungan dengan aktivitas bakteri proteolitik dalam menguraikan protein menjadi senyawa N sederhana dan menguraikan TMAO (trimetil amino oksida) menjadi TMA. Semakin tinggi aktivitas bakteri proteolitik maka nilai TVN-nya juga semakin tinggi. Tingginya nilai total mikroba belum tentu memberikan indikasi tingginya nilai TVN, karena nilai total mikroba merupakan jumlah mikroba yang tumbuh pada ikan, tidak hanya bakteri proteolitik saja. Oleh karena itu, pola fluktuasi nilai total mikroba dan TVN pada kontrol pada penelitian ini tidak selalu sama.

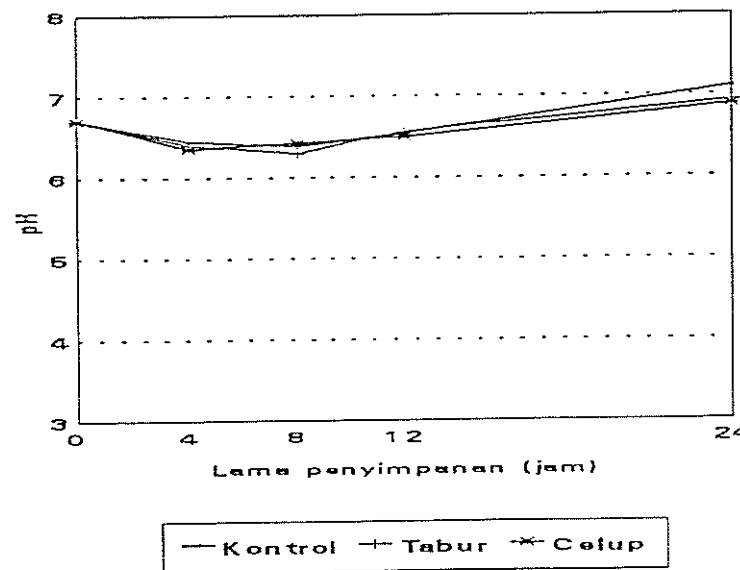


Berdasarkan analisis sidik ragam, pengaruh cara aplikasi berbeda nyata pada taraf 5 % (Lampiran 7). Nilai TVN pada ikan lemuru yang diberi perlakuan dengan cara aplikasi celup memiliki nilai TVN yang lebih kecil dibanding dengan cara aplikasi tabur dan kontrol. Cara aplikasi kultur kering dengan tabur berbeda nyata lebih kecil dengan kontrol, sedangkan cara aplikasi celup berbeda sangat nyata lebih kecil dengan kontrol. Hal ini sesuai dengan total bakteri gram negatif, di mana pada cara aplikasi celup dapat menekan populasi total gram negatif selama penyimpanan ikan lemuru sebesar satu satuan log.

Demikian juga lama waktu penyimpanan, berdasarkan analisis statistik, memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap nilai TVN ikan lemuru.

#### d. pH

Pengukuran pH merupakan suatu cara yang berguna dan sederhana untuk menguji kemunduran mutu suatu produk. Secara umum pH ikan selama perlakuan, mula-mula mengalami penurunan hingga penyimpanan 8 jam kemudian meningkat hingga penyimpanan 24 jam (Gambar 10). Berdasarkan analisis sidik ragam (Lampiran 8), lama penyimpanan berpengaruh sangat nyata terhadap perubahan pH ikan lemuru pada semua sampel. Pada cara aplikasi tabur dan celup setelah penyimpanan 8 jam mengalami peningkatan nilai pH yang lebih kecil dibanding pH kontrol.

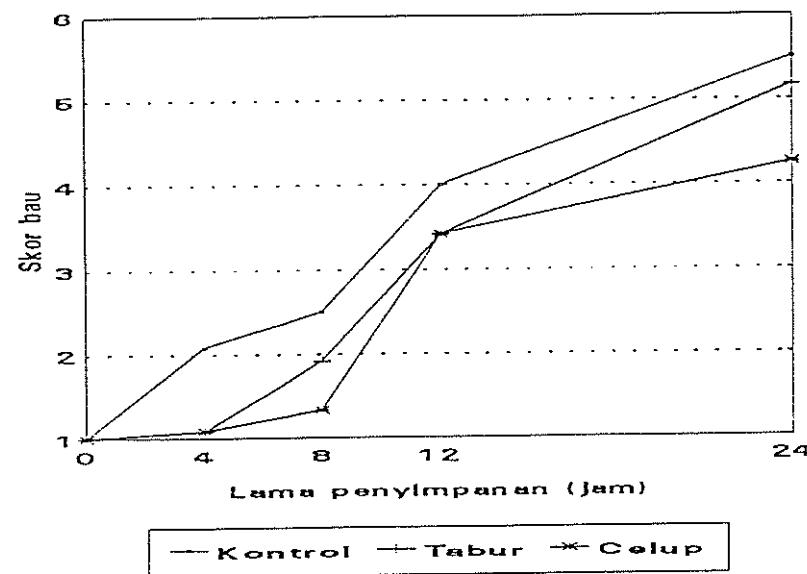


Gambar 10. Perubahan pH selama penyimpanan ikan lemuru pada suhu kamar

Menurut Desrosier (1971), protein diuraikan oleh enzim proteolitik secara autolitik menjadi asam karboksilat, asam sulfida, atau jenis asam lainnya. Jika asam lebih banyak dihasilkan daripada amoniak, maka nilai TVN akan menurun demikian pula nilai pH-nya, karena suasana mengarah ke asam. Jika amonia yang dihasilkan lebih tinggi maka nilai TVN akan meningkat yang diikuti pula oleh peningkatan nilai pH. Tetapi dalam penelitian ini diketahui antara nilai pH dan nilai TVN tidak selalu berkorelasi positif. Hal ini mungkin terjadi karena terbentuknya suasana asam, akibat aktivitas bakteri asam laktat dari penambahan kultur, sehingga mempengaruhi nilai pH lingkungan.

### e. Organoleptik Bau

Perubahan nilai pengamatan bau ikan lemuru selama penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 11. Perubahan skor bau ikan lemuru segar dipengaruhi oleh lama penyimpanan, cara aplikasi serta interaksi kedua faktor tersebut (Lampiran 9 ).

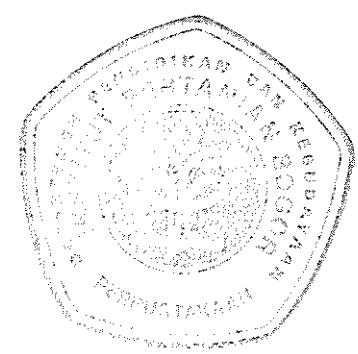


Gambar 11. Perubahan skor organoleptik bau ikan lemuru selama penyimpanan suhu kamar

Pada kontrol dan kedua cara aplikasi, semakin lama penyimpanan akan menaikkan nilai skor baunya. Ditetapkan bahwa skor organoleptik 4 (pada skala hedonik 1-6), ikan lemuru masih dapat diterima oleh panelis. Skor cara aplikasi bakteri asam laktat dengan celup adalah yang terbaik dan

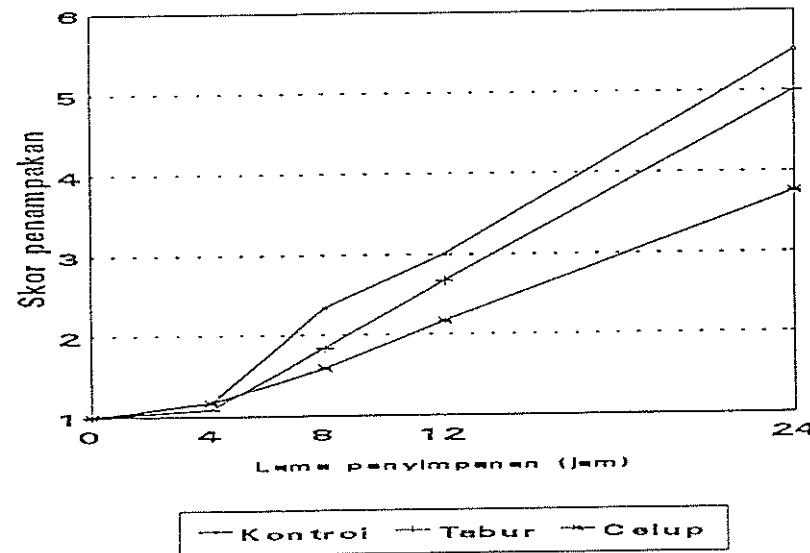
ternyata tidak berbeda nyata dengan cara aplikasi tabur ; tetapi kedua cara aplikasi tersebut berbeda nyata dengan kontrol pada taraf 1 %.

Bau ikan lemuru kontrol masih dapat diterima oleh panelis setelah penyimpanan 8 jam, pada penyimpanan 12 jam, bau ikan lemuru kontrol tidak dapat diterima oleh panelis lagi. Pada cara aplikasi tabur dan celup bau ikan lemuru masih dapat diterima oleh panelis setelah penyimpanan jam ke-12 di mana skor masih di bawah 4 (3,4), serta pada jam ke-24 bau ikan dari kedua cara aplikasi tidak dapat diterima lagi oleh panelis. Hal ini sesuai dengan nilai TVN-nya, di mana pada cara aplikasi tabur dan celup pada penyimpanan jam ke-12 masih berada pada kisaran ikan segar. Bau ikan lemuru cara aplikasi tabur dan celup pada penyimpanan jam ke-4, panelis masih memberikan penilaian segar (1,1). Penerimaan bau ikan lemuru setelah penyimpanan 12 jam pada cara aplikasi tabur dan celup juga berkorelasi dengan total bakteri gram negatif, di mana setelah penyimpanan 12 jam kedua cara aplikasi dapat menekan pertumbuhan bakteri gram negatif sebesar satu satuan log. Menurut Zaitzev *et al.* (1968), aktivitas mikroba dapat menguraikan protein menghasilkan senyawa-senyawa volatil seperti amonia, metilamin sederhana dan sebagainya. Senyawa-senyawa tersebut akan sangat mempengaruhi penilaian bau ikan lemuru oleh panelis.



## f. Organoleptik Penampakan

Perubahan skor penampakan ikan lemuru dipengaruhi oleh lama penyimpanan, cara aplikasi serta interaksi kedua faktor tersebut (Lampiran 10). Berdasarkan analisis Duncan, skor penampakan dengan cara aplikasi tabur tidak berbeda nyata dengan kontrol, sedangkan cara aplikasi celup sangat berbeda nyata dengan kontrol dan cara aplikasi tabur.



Gambar 12. Perubahan skor organoleptik penampakan ikan lemuru selama penyimpanan suhu kamar

Sedangkan untuk cara aplikasi tabur dan kontrol pada penyimpanan ini telah ditolak oleh panelis, skor rata-rata penampakan masing-masing 5,0 dan 5,5 (di atas skor 4,0). Dari hasil analisis Duncan diperoleh cara aplikasi celup setelah penyimpanan 24 jam, ikan lemuru masih diterima panelis (skor

rata-rata penampakan = 3,8). Hal ini terjadi mungkin disebabkan karena pada cara aplikasi tabur, penampakan ikan menjadi kering karena air pada permukaan kulit ikan terhisap oleh kultur kering (cara aplikasi tabur) yang berkadar air 2,4 %, sehingga mempengaruhi penerimaan penulis. Hal ini tidak terjadi pada penyimpanan suhu dingin, karena adanya kondensasi uap air pengaruh suhu dingin sehingga penampakan ikan agak basah.

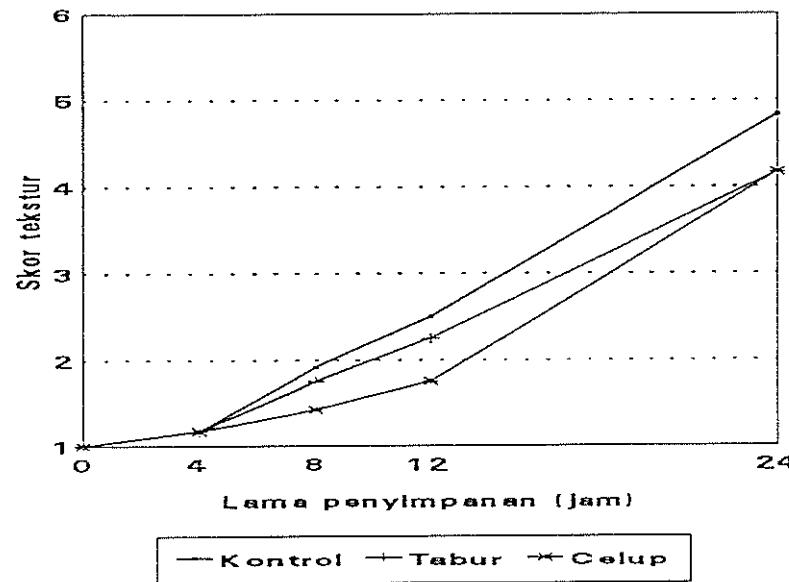
Cara aplikasi celup lebih efektif untuk mengurangi penurunan mutu penampakan ikan hingga penyimpanan 24 jam. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Rekapermana (1995), bahwa *L. lactis* subsp. *cremoris* dapat menekan populasi bakteri perusak ikan *Alcaligenes* hingga waktu kontak 24 jam pada media ekstrak ikan rucak. Dan menurut Rahayu *et al.* (1992), *Alcaligenes* merupakan bakteri gram negatif yang dapat berperan dalam kebusukan ikan yang bersifat proteolitik.

### g. Organoleptik Tekstur

Tekstur daging ikan lemuru mengalami perubahan selama penyimpanan. Perubahan skor tekstur ini dipengaruhi oleh lama penyimpanan dan cara aplikasi, tetapi interaksi kedua faktor tidak berbeda nyata (Lampiran 11 dan Gambar 13).

Seperti halnya pada skor penampakan dan bau, cara aplikasi celup adalah yang terbaik dan sangat berbeda nyata daripada cara aplikasi tabur

ataupun terhadap kontrol, sedangkan cara aplikasi tabur berbeda nyata dengan kontrol pada taraf 5 %.



Gambar 13 Perubahan skor organoleptik tekstur ikan lemuru selama penyimpanan suhu kamar

Cara aplikasi celup setelah penyimpanan 12 jam panelis memberikan penilaian tekstur ikan lemuru agak kurang segar (1,9), yang merupakan penilaian tekstur dibawah skor ikan segar (skor 1). Hal ini kemungkinan disebabkan pengaruh cara aplikasi celup dari kultur, dimana *L. lactis* subsp. *cremoris* mampu menekan penurunan mutu tekstur ikan akibat pertumbuhan mikroba perusak ikan, sehingga penurunan mutu tekstur ikan yang cepat akibat pertumbuhan mikroba perusak ikan dapat diperlambat. Setelah penyimpanan 24 jam, semua sampel ditolak panelis (skor kontrol, aplikasi

tabur dan celup berturut-turut adalah 4,8, 4,2, 4,2), skor telah lebih dari batas penerimaan organoleptik yaitu 4.

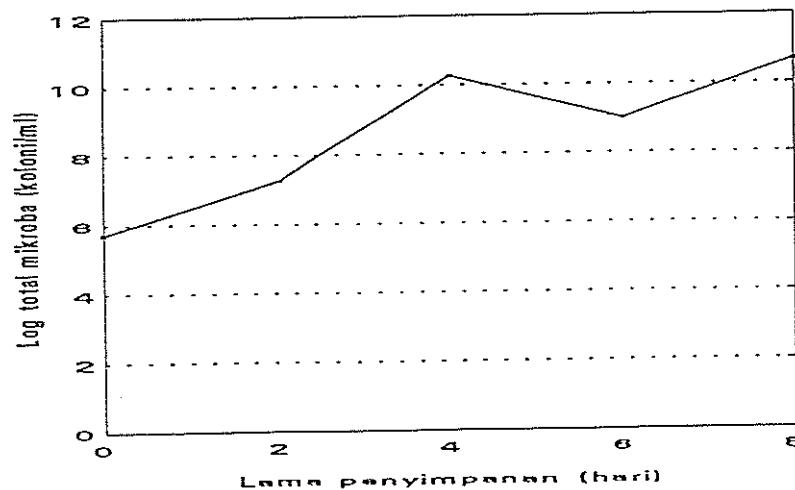
Dari skor bau, penampakan, dan tekstur, kedua cara aplikasi celup dan tabur mampu mempertahankan kesegaran ikan lemuru selama penyimpanan 12 jam. Bahkan kualitas kesegaran penampakan ikan cara aplikasi celup dapat dipertahankan hingga waktu penyimpanan 24 jam. Hal ini tidak terjadi pada cara aplikasi tabur. Bila dilihat dari segi ekonomisnya, cara aplikasi celup lebih baik dibanding cara aplikasi tabur karena lebih irit dalam penggunaan kultur keringnya dan juga dapat diterapkan dengan mudah.

Tekstur daging selama penyimpanan semakin mengalami pelunakan. Pelunakan ini terjadi karena terbentuknya senyawa-senyawa amin hasil degradasi protein yang dapat mengikat air sehingga ikan akan terlihat basah, dan tekstur lunak.

## 2. Penyimpanan Dingin

### 1. Total Mikroba

Perubahan nilai total mikroba selama penyimpanan suhu dingin disajikan pada Gambar 14. Terlihat bahwa jumlah total mikroba selama penyimpanan meningkat pesat walaupun penyimpanan dilakukan pada suhu dingin. Hal ini kemungkinan disebabkan mikroba yang tumbuh dominan bersifat psikrotrofik, sehingga walaupun kondisi suhu lingkungan 4 - 10°C mikroba masih dapat berkembang dengan baik. Peranan suhu dingin hanya



Gambar 14. Perubahan total mikroba ikan lemuru selama penyimpanan dingin

Pada awal penyimpanan, ikan lemuru kontrol mengandung total mikroba sebanyak  $5.0 \times 10^5$  koloni per gram ikan. Total mikroba mengalami peningkatan hingga penyimpanan 2 hari ( $1.8 \times 10^7$  koloni per gram ikan), nilai ini telah melampaui indeks standar total mikroba ikan segar yaitu  $5.0 \times 10^5$  sel per gram ikan. Sehingga setelah penyimpanan dua hari ikan lemuru kontrol telah tidak segar. Menurut Nasran dan Arifudin (1982) melaporkan penyimpanan ikan lemuru pada hancuran es dengan suhu  $0^{\circ}\text{C}$ , total mikroba dapat dipertahankan sekitar  $10^5$  sel per gram ikan hingga penyimpanan ikan lemuru 6 hari, dan setelah penyimpanan 8 hari total mikroba mencapai  $10^7$  sel per gram ikan. Nilai total mikroba awal yang tinggi diduga berasal dari kontaminasi selama penanganan ikan oleh nelayan.

Setelah penyimpanan 4 hari total mikroba mencapai  $1,8 \times 10^{10}$  koloni per gram ikan, dan setelah penyimpanan 6 hari total mikroba menurun satu satuan log, tetapi setelah penyimpanan 8 hari jumlah total mikroba meningkat kembali.

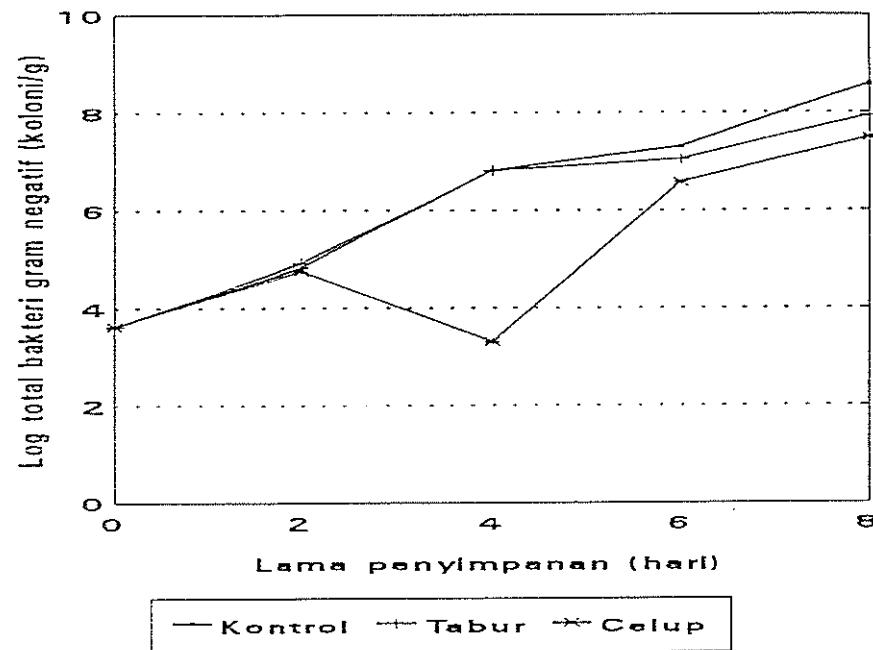
## 2. Total Bakteri Gram Negatif

Menurut Simmonds (1985) bakteri gram negatif yang bersifat psikrofilik pada ikan seperti *Pseudomonas*, *Moraxella* dan *Achromobacter*. Perubahan total bakteri gram negatif selama penyimpanan pada kontrol dan cara aplikasi tabur dan celup dapat dilihat pada Gambar 15.

Total bakteri gram negatif awal penyimpanan adalah sebesar  $4,1 \times 10^3$  koloni per gram ikan, yang selanjutnya meningkat selama penyimpanan. Pada kontrol dan perlakuan pemberian bakteri asam laktat, total bakteri gram negatif meningkat hingga waktu penyimpanan 2 hari ( $5,5 \times 10^4$  koloni per gram ikan). Setelah penyimpanan 4 hari, cara aplikasi celup dapat menekan populasi gram negatif sebesar tiga satuan log, dan pada penyimpanan 8 hari, cara aplikasi celup masih dapat menekan pertumbuhan bakteri gram negatif sebesar satu satuan log.

Sedangkan cara aplikasi tabur dapat menekan pertumbuhan bakteri gram negatif hanya setelah penyimpanan 8 hari sebesar satu satuan log. Hal ini kemungkinan disebabkan adanya aktifitas bakteri asam laktat dari kultur kering yang ditambahkan (cara aplikasi tabur dan celup), sehingga

dapat menekan populasi total bakteri gram negatif dalam ikan selama penyimpanan. Sesuai penelitian yang dilakukan Chang dan Hearsberger (1994), melaporkan bahwa kandungan total bakteri gram negatif pada penyimpanan filet ikan lele pada suhu 4°C dapat ditekan sebesar 2 satuan log hingga penyimpanan 12 hari dengan penggunaan *L. lactis* subsp. *cremoris* yang dikombinasikan dengan kalium sorbat dan natrium asetat. Data perubahan total bakteri gram negatif selama penyimpanan disajikan dalam Lampiran 13.

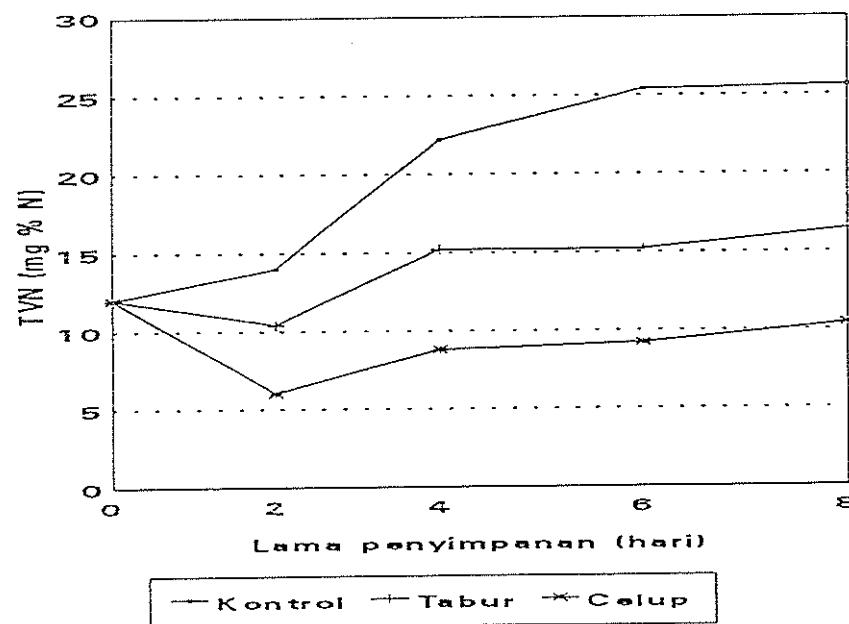


Gambar 15 Perubahan total bakteri gram negatif ikan lemuru selama penyimpanan dingin

### 3. Total Volatile Base Nitrogen (TVN)

Perubahan nilai TVN ikan lemuru selama penyimpanan dingin disajikan pada Gambar 16.

Berdasarkan analisis statistik (Lampiran 14), pemberian kultur *L. lactis* subsp. *cremoris* sangat berpengaruh nyata terhadap nilai TVN. Seperti pada penyimpanan suhu kamar, cara aplikasi celup adalah yang terbaik dan berbeda nyata dengan aplikasi tabur dan kontrol, serta cara aplikasi tabur berbeda nyata dengan kontrol.



Gambar 16. Perubahan nilai TVN ikan lemuru selama penyimpanan dingin

Selama pengamatan kandungan TVN ikan lemuru kontrol terlihat meningkat tetapi hingga penyimpanan 8 hari masih di bawah 30 % mg N.

Sedangkan untuk cara aplikasi tabur dan celup terlihat menurun dan untuk selanjutnya cenderung meningkat kembali.

Nilai TVN cara aplikasi celup selama penyimpanan dingin berkisar antara 6,0 - 12,0 % mg N, dan nilai TVN cara aplikasi tabur selama penyimpanan berkisar antara 10,4 - 16,4 % mg N, sehingga ikan dari kedua cara aplikasi masih dikatakan segar berdasarkan kisaran nilai TVN standar indeks kesegaran ikan basah. Sedangkan pada kontrol ikan lemuru pada penyimpanan 8 hari diperoleh nilai TVN yang lebih tinggi dari kedua cara aplikasi sebesar 25,6 % mg N yang mendekati batas indeks kesegaran ikan basah.

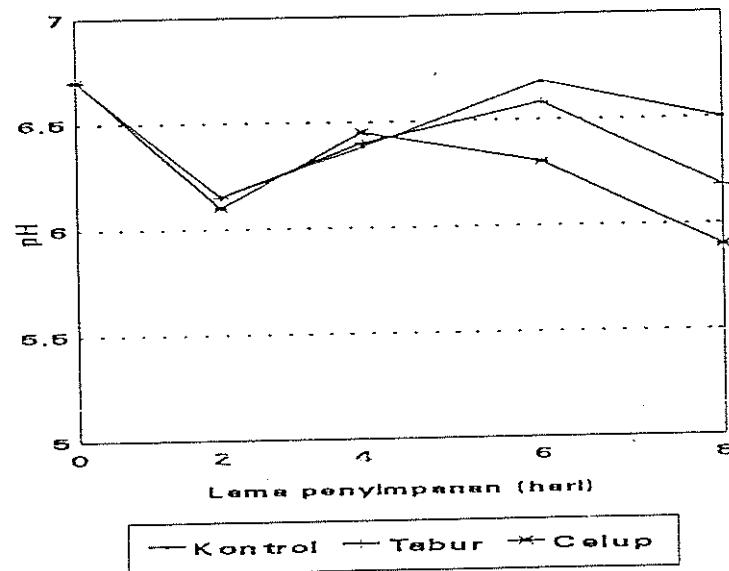
Menurut Nasran dan Arifudin (1982), penanganan ikan berukuran kecil dengan suhu dingin menyebabkan peningkatan kadar air ikan dalam jaringan daging, dan kemungkinan peningkatan kadar air ini mengakibatkan menurunnya nilai TVN yang kecil selama penyimpanan.

d. pH

Perubahan nilai pH ikan lemuru selama penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 17. Berdasarkan analisis keragaman, lama penyimpanan, cara aplikasi dan interaksi keduanya berpengaruh sangat nyata terhadap nilai pH ikan lemuru (Lampiran 15). Hasil analisis Duncan menunjukkan bahwa cara aplikasi celup menurunkan pH ikan lebih besar dan berbeda nyata dengan cara aplikasi tabur dan kontrol.

Setelah penyimpanan 4 hari, pH cara aplikasi celup menurun terus hingga penyimpanan 8 hari, sekitar setengah satuan. Penurunan pH cara aplikasi celup yang nyata ini kemungkinan disebabkan oleh adanya aktivitas bakteri asam laktat dari penambahan kultur *L. lactis* subsp. *cremoris*, sehingga mempengaruhi pH lingkungan.

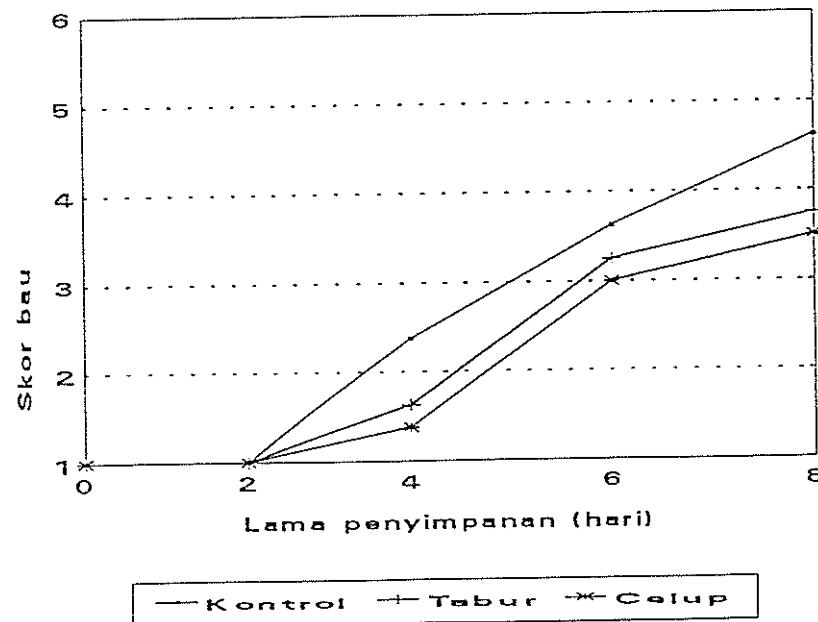
Penurunan pH kontrol dan kedua cara aplikasi kemungkinan akibat aktivitas enzim proteolitik yang terkandung dalam ikan menguraikan protein menjadi asam karboksilat, asam sulfida, amonia, dan jenis-jenis asam lainnya (Desrosier, 1971). Di mana akibat aktivitas ini lebih banyak dihasilkan asam daripada amonia sehingga dihasilkan nilai TVN yang menurun demikian pula nilai pH-nya.



Gambar 17. Perubahan pH ikan lemuru pada penyimpanan dingin

### e. Organoleptik Bau

Perubahan skor organoleptik bau ikan lemuru selama penyimpanan disajikan pada Gambar 18. Perubahan skor organoleptik bau ikan lemuru dipengaruhi oleh lama penyimpanan, cara aplikasi, serta interaksi kedua faktor tersebut (Lampiran 16). Hasil analisis Duncan menunjukkan bahwa penambahan kultur bakteri asam laktat dengan kedua cara aplikasi mampu mempertahankan skor bau lebih kecil dari pada kontrol.



Gambar 18. Perubahan skor organoleptik bau selama penyimpanan dingin

Dari analisis Duncan juga terlihat bahwa pada penyimpanan 4 hari cara aplikasi tabur dan celup skor baunya tidak berbeda nyata dengan penyimpanan 2 hari dan awal penyimpanan. Hal ini sesuai dengan total

bakteri gram negatif yang rendah pada penyimpanan 4 hari, pada aplikasi celup berbeda dua satuan log dengan kontrol (Gambar 18).

Panelis masih menerima bau ikan lemuru dari cara aplikasi celup dan tabur hingga penyimpanan 8 hari (skor rata-rat bau masing-masing 3,3 dan 3,8). Hal ini berhubungan dengan dengan total bakteri gram negatifnya pada kedua cara aplikasi berbeda satuan satuan log dengan kontrol pada penyimpanan 8 hari.

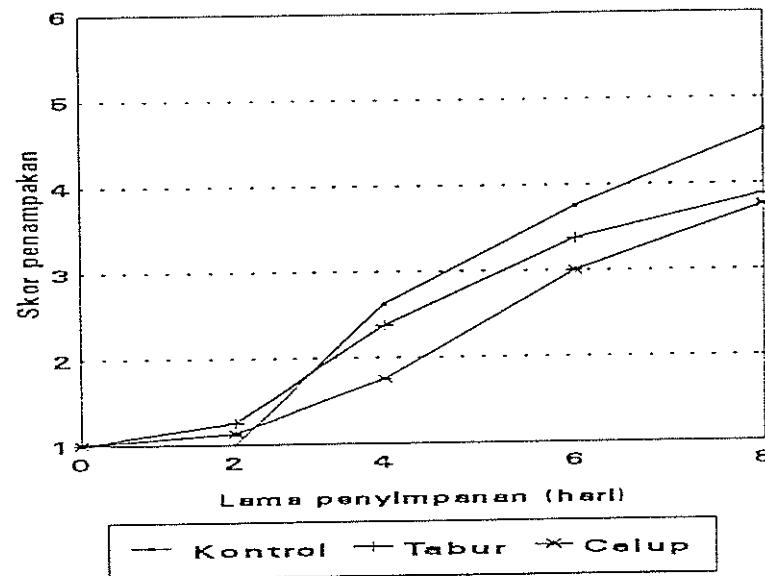
Ikan lemuru merupakan ikan yang mengandung kadar lemak yang tinggi (5 - 10 %), akibat kebusukan mikrobiologis yang sejalan dengan autolisis akan menyebabkan bau tengik dan busuk yang mempengaruhi penilaian organoleptik bau.

#### f. Organoleptik Penampakan

Perubahan skor rata-rata organoleptik penampakan ikan lemuru dapat dilihat pada Gambar 19. Skor organoleptik penampakan ikan lemuru dipengaruhi oleh lama penyimpanan, cara aplikasi serta interaksi kedua faktor tersebut (Lampiran 17).

Dari analisis Duncan, mulai penyimpanan 2 hari skor organoleptik penampakan telah berbeda nyata hingga penyimpanan 8 hari. Skor organoleptik cara aplikasi celup adalah yang terbaik dan berbeda nyata dengan skor cara aplikasi tabur dan kontrol.

Setelah penyimpanan 8 hari, cara aplikasi celup (skor rata-rata = 3,4) dan cara aplikasi tabur (skor rata-rata = 3,9) masih dapat diterima oleh panelis, sedangkan kontrol ditolak oleh panelis (skor rata-rata penampakan 4,6).

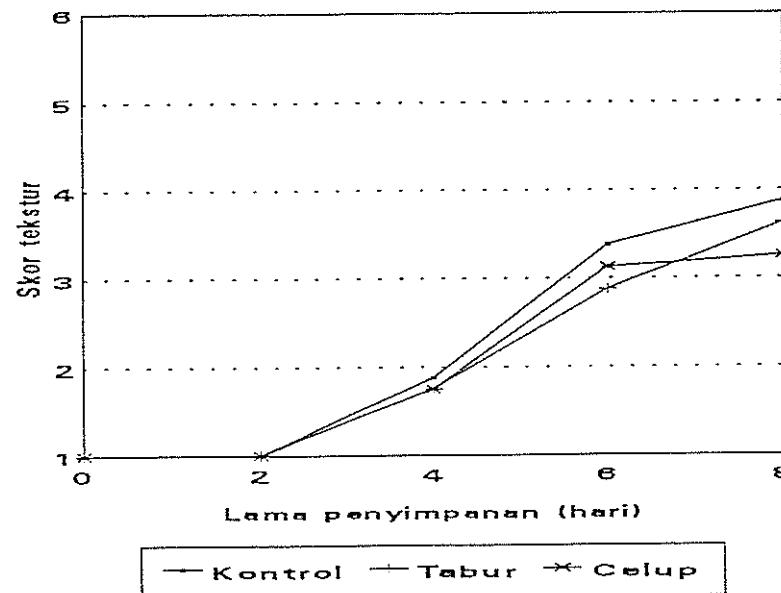


Gambar 19. Perubahan skor organoleptik penampakan selama penyimpanan dingin

#### g. Organoleptik Tekstur

Perubahan skor organoleptik tekstur ikan lemuru dilihat pada Gambar 20. Dari analisis keragaman, perubahan skor organoleptik tekstur ikan lemuru dipengaruhi oleh lama penyimpanan (Lampiran 18). Setelah penyimpanan 2 hari, skor organoleptik tekstur berbeda nyata hingga penyimpanan 8 hari. Cara penanganan ikan dengan suhu dingin

menyebabkan meningkatnya kadar air ikan (Nasran dan Arifudin, 1982), sehingga mempengaruhi tekstur ikan selama penyimpanan.



Gambar 20. Perubahan skor organoleptik tekstur selama penyimpanan dingin

Akibat kerusakan mikrobiologis dan autolisis pada ikan mungkin akan menyebabkan hancurnya daging ikan setelah penyimpanan waktu tertentu. Hal ini terlihat pada kontrol setelah penyimpanan 8 hari, tekstur ikan telah hancur sehingga ditolak oleh panelis.

Dari skor organoleptik bau, penampakan, dan tekstur, cara aplikasi tabur dan celup dapat mempertahankan mutu kesegaran ikan lemuru hingga penyimpanan 8 hari, di mana panelis masih menerima ikan lemuru (skor organoleptik masih di bawah 4). Sedangkan pada kontrol ikan, panelis masih

menerima ikan lemuru hingga penyimpanan 6 hari, kecuali untuk tekstur kontrol ikan masih diterima oleh panelis hingga penyimpanan 8 hari (skor rata-rata tekstur 3,9).

Secara umum, lama penyimpanan berangsur-angsur menurunkan kualitas kesegaran ikan, pengaruh pemberian kedua cara aplikasi pada ikan lemuru dapat memperpanjang masa simpan 2 hari pada penyimpanan dingin.



## A. KESIMPULAN

Ekstrak sawi dapat digunakan menjadi media pertumbuhan *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* yang baik, selain media susu skim. Pada media ekstrak sawi *L. lactis* subsp. *cremoris* mampu tumbuh mencapai  $10^9$  sel per ml media, sehingga ekstrak sawi potensial untuk dikembangkan sebagai media produksi sel bakteri asam laktat.

Pengeringan oven vakum kultur starter *L. lactis* subsp. *cremoris* dengan media ekstrak sawi dengan perbandingan tepung beras dan kultur 1 : 2 menghasilkan viabilitas sel tertinggi sebesar 58 % (total bakteri asam laktat  $4,3 \times 10^8$  sel per gram kultur kering) dengan kadar air kultur kering 2,8 % serta diperoleh rendemen 89,4 %. Sedangkan menggunakan bahan pengisi tepung onggok diperoleh viabilitas tertinggi sebesar 2,5 % (total bakteri asam laktat  $2,3 \times 10^7$  sel per gram kultur kering), kadar air 2,6 % dan rendemen 91,4 %, yang diperoleh perbandingan tepung dan media ekstrak sawi 1 : 2

Aplikasi kultur kering *L. lactis* subsp. *cremoris* dengan cara pencelupan ikan ke dalam kultur hasil rekonstitusi (kultur kering dengan air suling dengan perbandingan 1:10) digunakan untuk pengawetan ikan lemuru dapat menekan pertumbuhan total bakteri gram negatif sebanyak satu satuan log selama penyimpanan 12 jam pada suhu kamar. Cara aplikasi celup dan tabur pada

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

penyimpanan ikan lemuru suhu dingin dapat menekan pertumbuhan bakteri gram negatif sebesar satu satuan log hingga penyimpanan selama 8 hari.

Penambahan bakteri asam laktat baik pada suhu kamar/dingin, mampu memperpanjang masa simpan ikan sampai dengan 12 jam pada suhu kamar dan 8 hari pada suhu dingin. Sedangkan kontrol ikan hanya tahan masing-masing selama penyimpanan 8 jam pada suhu kamar dan 6 hari pada penyimpanan dingin. Penetapan masa simpan ini terutama berdasarkan uji organoleptik dan jumlah bakteri gram negatif dalam ikan.

Dari kedua cara aplikasi baik penyimpanan suhu kamar maupun dingin diperoleh bahwa cara aplikasi celup adalah yang terbaik, ditinjau dari kandungan total bakteri gram negatif, TVN serta uji organoleptik terutama terhadap bau dan penampakan.

Kandungan nilai TVN pada penelitian ini dapat digunakan sebagai pertimbangan dalam menentukan indeks kesegaran ikan lemuru selama penyimpanan suhu kamar. Sedangkan pada penyimpanan dingin perlu pertimbangan parameter lain.

## B. SARAN

Perlu dipelajari penggunaan kultur starter kering bakteri asam laktat untuk pengawetan bahan makanan yang lain yang mudah mengalami kerusakan selama penyimpanan, misalnya daging dan produk daging.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 1985. Kumpulan Standar Mutu Hasil Perikanan. Balai Bimbingan dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan Direktorat Jendral Perikanan, Jakarta.
- AOAC. 1984. Official Methods Of Analysis Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C.
- Buckle, K.A., R.A. Edwards, G.H. Fleet, dan M. Woodon. 1985. Ilmu Pangan. Terjemahan. UI-Press, Jakarta.
- Chang, R.K. dan Heamsberger, J.O. 1994. Gram negative bacteria inhibition by lactic acid culture and food preservation on catfish fillets during refrigerator storage. *J. of Food Science* 59(3): 513-516
- Desroisier, N.M. 1971. The Technology of Food Preservation. AVI Publishing Company, Inc. Westport.
- Fardiaz, S. 1987. Penuntun Praktek Mikrobiologi Pangan. Lembaga Sumberdaya Informasi, IPB. Bogor.
- Fardiaz, S. 1989. Mikrobiologi Pangan. PAU Pangan dan Gizi - IPB, Bogor.
- Frazier, W.C. dan Westhoff, D.C. 1978. Food Microbiology. Mc-Graw Hill Book Company, New York.
- Holo, H., O. Nilssen dan I.F. Nes. 1991. Lactococcin A, a new bacteriocin from *L. lactis* spp. *cremoris*; isolation and characterization of the protein and its gene. *J. Bacteriol.* 173:3879-3887
- Hurst, A. 1983. Nisin and other inhibitory substances from lactic acid bacteria. *Dalam : Antimicrobial in Food* (A.L. Branen dan D.M. Davidson (eds)). Marcel Dekker Inc., New York.
- Ilyas, S. 1983. Biokimia dan Kemunduran Mutu Ikan. Himpunan Kuliah-Kuliah pada Latihan Nasional Teknologi Pengawasan Mutu Hasil-Hasil Perikanan. LTP Pasar Minggu, Jakarta.
- Lindgren, S.E. dan W.J. Dobrogosz. 1990. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in feed fermentations. *FEMS Microbiology Review*. 87: 149-164

- Marugg, J.D. 1991. Bacteriocins, their role in development natural products. *Food Biotechnol.* 5(3), p. 305-312.
- Mc Cance dan Widdowson's. 1991. *The Composition of Food*. The Royal Society of Chemistry and Ministry of Agricultural, Fisheries and Food, United Kingdom.
- Nagawa, M., A. Nakabayashi dan S. Fujino. 1988. Preparation of Bifidus milk powder. *J. Dairy Res.* 54, 559-574.
- Nuraida, L, Soekarto, S.T., Adawiyah, D.R. dan Subarna. 1994. Pembuatan dan Pengawetan Laru untuk Pembuatan Yoghurt. Laporan Penelitian DP3M - Fakultas Teknologi Pertanian - IPB, Bogor.
- Pelzcar, M.J. dan E.C.S. Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Dasar 2*. Terjemahan. UI Press, Jakarta.
- Porubcan, R.S. dan Sellars, R.L. 1979. Lactic starter concentrates. *Dalam : Microbial Technology* (Peppler, H.J., ed.). Academic Press Inc.
- Rachman, A. 1989. Pengantar Teknologi Fermentasi. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, IPB. Bogor.
- Rekapermana , W. S. 1995. Aktivitas Antimikroba *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan *Lactococcus* terhadap Bakteri Patogen dan Perusak Ikan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian - IPB, Bogor.
- Ruello, J.H. 1974. Penyimpanan Udang dalam Air Laut yang Didinginkan. Terjemahan. Fakultas Perikanan - IPB, Bogor.
- Ryu, J.Y. 1984. Changes in organic acids and volatiles flavour compound in Kimchi fermented with different ingredients. *Food Science and Tech. Abstract.* 17(4) : 144-147.
- Sandine, S.E. dan W.J. Dobrogosz. 1986. The streptococci milk products. *Dalam : Bacterial Starter Cultures for Foods* (S.E. Gilliland, ed). CRC Press Inc., BocaRaton.
- Schleifer, K.H., Kilpper Bälz R., Kraus, J., Gehring, F. 1986. Relatedness and clasification of streptococcus mutans and "mutanslike" streptococci. *J. Dent. Res.* 63:1047-1050

- Sharpe, M.E. 1979. Identification of the lactic acid bacteria. *Dalam : Identification Methods for Microbiologists* ed. 2 (Skinner, F.A. dan Lovelock, D.W.,ed). Academic Press, London.
- Sijtsma, L., J.T.M. Wouters, dan K.J. Hellingwerf. 1990. Isolation and characterization of lipoteichoic acid, a cell envelope component involved in preventing phage adsorption, from *L. lactis* spp. *cremoris* SK110. *J. Bacteriol.* 172:7126-7130
- Simmonds, D.K. dan E.E. Lamprecht. 1988. Microbiology of frozen fish and related products. *Di dalam Microbiology of Frozen Foods* (R.K. Robinson, ed). Elsevier Applied Science, London.
- Tamime, A.Y. dan R.K. Robinson. 1980. *Yogurt: Science and Technology*. Pergamon Press. Oxford.
- Tomiyasu, Y., dan Zenioni, B. 1975. Spoilage of fish and chemical preservation. *Dalam : Advanced in Food Research* (Stewart, G.F., Mrask, E.M. (eds)). Academic Press Publishing Inc., New York.
- Van Belkum, M.J., B.J. Heyema, A. Geis, J. Kok, dan G. Venema. 1989. Cloning of two bacteriocin genes from a lactococcal bacteriocin plasmid. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 1187-1191
- Van Belkum, M.J., J. Kok, dan G. Venema. 1992. Cloning, sequencing, and expression in *E. coli* of *lcnB*, a third bacteriocin determinant from the lactococcal bacteriocin plasmid p9B4-6. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:572-577
- Van den Berg, D. J. C., Smits, A., P. Bruno, Ledebour, A.M., Kersters, K., Verbakel, J.M.A., dan Verrips, C.T. 1993. Isolation, screening and identification of lactic acid bacteria from traditional food fermentation processes and culture collections. *Food Biotechnology*, 7(3) : 189-205.
- Venema, K., T. Abbe, Haandrikman, A.J., Leenhouts, K.J., J. Kok., Koning, W.N., dan Venema, G. 1993. Mode of action of lactococcin B, a thiol-activated bacteriocin from *Lactococcus lactis*. *Appl. and Environ. Microbiol.* 59(4): 1041-1048
- Wallace, B. S. 1964. *Food Dehydration*. The AVI Publishing Company Inc. Westport. Connecticut.

Yunizal, Nasran, S., Mulyanah, I., dan Rosmawaty P. 1982. Studi tentang proses pembuatan ragi *Lactobacillus*. Laporan Penelitian Teknologi Perikanan 18: 31-36.

Zaitzev, V., I. Kizevetter, L. Lagunav, T. Marakova, L. Munder, dan V. Pod Sevollow. 1969. Fish curing and Processing. MR Publisher, Moscow.

## LAMPIRAN





Lampiran 1. Data total bakteri asam laktat pembuatan kurva pertumbuhan *L. lactis* subsp. *cremoris* pada media susu skim 16 %

| Waktu inkubasi<br>(jam) | Jumlah bakteri asam laktat (koloni / ml) |                   |                   |
|-------------------------|--|-------------------|-------------------|
|                         | Ulangan 1                                | Ulangan 2         | Rata-Rata         |
| 0                       | $2,9 \times 10^4$                        | $3,9 \times 10^5$ | $2,1 \times 10^5$ |
| 2                       | $5,7 \times 10^4$                        | $5,9 \times 10^5$ | $3,2 \times 10^5$ |
| 4                       | $4,1 \times 10^4$                        | $1,3 \times 10^6$ | $6,7 \times 10^5$ |
| 6                       | $3,3 \times 10^5$                        | $3,4 \times 10^7$ | $1,7 \times 10^6$ |
| 8                       | $1,1 \times 10^6$                        | $6,3 \times 10^7$ | $3,2 \times 10^7$ |
| 10                      | $2,1 \times 10^6$                        | $1,1 \times 10^8$ | $5,6 \times 10^7$ |
| 12                      | $2,3 \times 10^6$                        | $3,6 \times 10^7$ | $1,8 \times 10^8$ |
| 24                      | $1,7 \times 10^7$                        | $1,3 \times 10^8$ | $6,6 \times 10^8$ |
| 36                      | $5,6 \times 10^7$                        | $1,7 \times 10^8$ | $1,1 \times 10^8$ |
| 48                      | $1,1 \times 10^7$                        | $9,5 \times 10^7$ | $5,3 \times 10^7$ |
| 72                      | $1,8 \times 10^7$                        | $1,9 \times 10^8$ | $1,0 \times 10^8$ |
| 96                      | $1,9 \times 10^8$                        | $2,4 \times 10^8$ | $2,2 \times 10^8$ |
| 120                     | $3,0 \times 10^6$                        | $2,3 \times 10^8$ | $1,2 \times 10^8$ |

Hak Cipta dimiliki oleh Universitas Pendidikan

1. Dilarang menyalin, memperbanyak, atau mempublikasikan bagian atau seluruh isi dalam dokumen ini tanpa izin.

2. Penggunaan hanya untuk keperluan penelitian, pendidikan, penulisan buku dan tesis, penyelesaian tugas akhir, dan tugas akademik.

3. Penggunaan tidak diizinkan bagi tujuan komersial.

Lampiran 2. Data total bakteri asam laktat pembuatan kurva pertumbuhan *L. lactis* subsp. *cremoris* pada media ekstrak sawi

| Waktu inkubasi<br>(jam) | Jumlah bakteri asam laktat (koloni /ml) |                   |                   |
|-------------------------|---|-------------------|-------------------|
|                         | Ulangan 1                               | Ulangan 2         | Rata-Rata         |
| 0                       | $4,7 \times 10^4$                       | $3,8 \times 10^5$ | $2,1 \times 10^5$ |
| 2                       | $7,4 \times 10^4$                       | $5,8 \times 10^5$ | $3,3 \times 10^5$ |
| 4                       | $1,3 \times 10^5$                       | $9,8 \times 10^5$ | $5,6 \times 10^6$ |
| 6                       | $4,4 \times 10^5$                       | $1,0 \times 10^7$ | $5,2 \times 10^6$ |
| 8                       | $2,2 \times 10^6$                       | $2,4 \times 10^7$ | $1,3 \times 10^7$ |
| 10                      | $3,2 \times 10^6$                       | $1,0 \times 10^8$ | $5,2 \times 10^7$ |
| 12                      | $3,3 \times 10^6$                       | $1,2 \times 10^8$ | $6,2 \times 10^7$ |
| 24                      | $3,6 \times 10^7$                       | $6,5 \times 10^8$ | $3,4 \times 10^8$ |
| 36                      | $1,4 \times 10^8$                       | $7,0 \times 10^8$ | $4,2 \times 10^8$ |
| 48                      | $2,6 \times 10^8$                       | $4,2 \times 10^8$ | $3,4 \times 10^8$ |
| 72                      | $2,0 \times 10^8$                       | $9,2 \times 10^7$ | $1,5 \times 10^8$ |
| 96                      | $1,6 \times 10^7$                       | $6,4 \times 10^7$ | $1,1 \times 10^8$ |
| 120                     | $1,4 \times 10^6$                       | $3,5 \times 10^7$ | $1,8 \times 10^8$ |



Lampiran 3. Data perubahan pH media susu skim 16 % dan ekstrak sawi selama pertumbuhan

a. *Hal cipta milik IPB University*

| Waktu Inkubasi (jam) | pH media       |              |
|----------------------|----------------|--------------|
|                      | Susu skim 16 % | Ekstrak sawi |
| 0                    | 6,37           | 5,90         |
| 2                    | 6,32           | 5,87         |
| 4                    | 6,20           | 5,72         |
| 6                    | 6,18           | 5,66         |
| 8                    | 6,18           | 5,56         |
| 10                   | 6,17           | 5,09         |
| 12                   | 6,14           | 4,48         |
| 24                   | 6,06           | 3,54         |
| 36                   | 6,06           | 3,51         |
| 48                   | 6,03           | 3,46         |
| 72                   | 5,71           | 3,46         |
| 96                   | 5,43           | 3,41         |
| 120                  | 5,15           | 3,39         |

b. *Hal cipta milik IPB University*

1. Dilarang menyalin, memperdagangkan dan memperdistribusikan

a. Penyalahgunaan hal ini untuk keuntungan sendiri dan/atau kerugian orang lain, penyalahgunaan hal ini secara teknis dan/atau teknologi

b. Penggunaan hal ini untuk keuntungan yang tidak wajar

c. Dilarang menggunakan hal ini untuk keuntungan sendiri dan/atau kerugian orang lain



Lampiran 4. Data hasil pengeringan kultur starter *L. lactis* subsp. *cremoris* dan viabilitasnya pada media ekstrak sawi

Jumlah bakteri asam laktat pada awal dan akhir pengeringan (per ml media atau gram kultur kering berat basah)

| Jenis<br>Tepung/<br>Kultur | Rasio<br>Tepung/<br>Kultur | Awal pengeringan                             |                   |                   | Akhir pengeringan   |                   |                   |
|----------------------------|----------------------------|--|-------------------|-------------------|---|-------------------|-------------------|
|                            |                            | Jumlah bakteri asam laktat (koloni/ml media) |                   | Rata              | Jumlah bakteri asam laktat (koloni/g berat basah kultur kering) |                   | Rata              |
|                            |                            | UI 1   | UI 2              |                   | UI 1  | UI 2              |                   |
| Onggok/<br>Ekstrak<br>sawi | 1 : 1                      | $5,1 \times 10^8$                            | $3,1 \times 10^8$ | $4,1 \times 10^8$ | $1,4 \times 10^5$   | $4,6 \times 10^5$ | $3,0 \times 10^5$ |
|                            | 1 : 2                      | $4,1 \times 10^9$                            | $3,2 \times 10^8$ | $2,2 \times 10^9$ | $1,0 \times 10^6$   | $4,4 \times 10^7$ | $2,3 \times 10^7$ |
|                            | 2 : 1                      | $9,5 \times 10^8$                            | $2,9 \times 10^8$ | $6,2 \times 10^8$ | $3,0 \times 10^4$   | $4,8 \times 10^5$ | $2,6 \times 10^5$ |
| Beras/<br>Ekstrak<br>sawi  | 1 : 1                      | $2,8 \times 10^8$                            | $5,2 \times 10^8$ | $4,0 \times 10^8$ | $5,3 \times 10^7$   | $2,1 \times 10^6$ | $2,8 \times 10^7$ |
|                            | 1 : 2                      | $1,5 \times 10^8$                            | $5,1 \times 10^8$ | $3,3 \times 10^8$ | $3,1 \times 10^8$   | $5,4 \times 10^8$ | $4,3 \times 10^7$ |
|                            | 2 : 1                      | $1,0 \times 10^8$                            | $4,6 \times 10^8$ | $2,2 \times 10^8$ | $5,1 \times 10^7$   | $2,5 \times 10^6$ | $2,7 \times 10^7$ |

Jumlah bakteri asam laktat pada awal dan akhir pengeringan per gram berat kering

| Jenis<br>Tepung/<br>Kultur | Rasio<br>Tepung/<br>Kultur | Jumlah bakteri asam laktat (koloni/ g berat kering) |                   |                   |                   |                   |                   | Viabilitas (%) |       |      |
|----------------------------|----------------------------|---|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------------|-------|------|
|                            |                            | Awal pengeringan                                    |                   |                   | Akhir pengeringan |                   |                   |                |       |      |
|                            |                            | UI 1  | UI 2              | Rata              | UI 1              | UI 2              | Rata              | UI 1           | UI 2  | Rata |
| Onggok/<br>Ekstrak<br>sawi | 1 : 1                      | $1,2 \times 10^9$                                   | $6,9 \times 10^8$ | $9,5 \times 10^8$ | $1,4 \times 10^5$ | $4,7 \times 10^5$ | $3,1 \times 10^5$ | 0,014          | 0,069 | 0,04 |
|                            | 1 : 2                      | $1,3 \times 10^{10}$                                | $9,3 \times 10^8$ | $7,0 \times 10^9$ | $1,0 \times 10^6$ | $4,5 \times 10^7$ | $2,3 \times 10^7$ | 0,009          | 4,89  | 2,5  |
|                            | 2 : 1                      | $2,1 \times 10^9$                                   | $4,9 \times 10^8$ | $1,3 \times 10^9$ | $3,1 \times 10^4$ | $4,9 \times 10^5$ | $2,6 \times 10^5$ | 0,002          | 0,10  | 0,05 |
| Beras/<br>Ekstrak<br>sawi  | 1 : 1                      | $5,7 \times 10^8$                                   | $1,1 \times 10^9$ | $8,4 \times 10^8$ | $5,4 \times 10^7$ | $2,1 \times 10^6$ | $2,8 \times 10^7$ | 9,50           | 0,20  | 4,9  |
|                            | 1 : 2                      | $4,3 \times 10^8$                                   | $1,4 \times 10^9$ | $9,2 \times 10^8$ | $3,2 \times 10^8$ | $5,6 \times 10^8$ | $4,4 \times 10^8$ | 74,4           | 40,9  | 57,7 |
|                            | 2 : 1                      | $1,6 \times 10^8$                                   | $7,5 \times 10^8$ | $4,6 \times 10^8$ | $5,1 \times 10^7$ | $2,5 \times 10^6$ | $2,2 \times 10^7$ | 31,9           | 0,34  | 16,1 |

Keterangan : UI 1 = ulangan ke-1

UI 2 = ulangan ke-2

Rata = rata-rata



### Lampiran 5. Data hasil pengeringan kultur starter *L. lactis* subsp. *cremoris* dan viabilitasnya pada media susu skim 16%

Jumlah bakteri asam laktat pada awal dan akhir pengeringan (per ml media atau g kultur kering berat basah)

| Jenis<br>Tepung/<br>Kultur   | Rasio<br>Tepung/<br>Kultur | Awal pengeringan                             |                   |                   | Akhir pengeringan |   |                   |
|------------------------------|----------------------------|--|-------------------|-------------------|-------------------|---|-------------------|
|                              |                            | Jumlah bakteri asam laktat (koloni/ml media) | UI 1              | UI 2              | Rata              | Jumlah bakteri asam laktat (koloni/g berat basah kultur kering) | UI 1              |
| Onggok/<br>Susu<br>skim 16 % | 1 : 1                      | $1,1 \times 10^8$                            | $3,0 \times 10^8$ | $2,1 \times 10^8$ | $3,0 \times 10^8$ | $2,1 \times 10^5$   | $1,2 \times 10^6$ |
|                              | 1 : 2                      | $1,2 \times 10^8$                            | $6,7 \times 10^8$ | $4,0 \times 10^8$ | $6,5 \times 10^8$ | $1,4 \times 10^7$   | $1,0 \times 10^7$ |
|                              | 2 : 1                      | $1,2 \times 10^8$                            | $3,9 \times 10^8$ | $2,6 \times 10^8$ | $2,5 \times 10^8$ | $9,5 \times 10^6$   | $4,9 \times 10^6$ |
| Beras/Susu<br>skim 16 %      | 1 : 2                      | $1,0 \times 10^8$                            | $3,8 \times 10^8$ | $2,4 \times 10^8$ | $3,0 \times 10^6$ | $2,9 \times 10^8$   | $1,5 \times 10^8$ |

Jumlah bakteri asam laktat pada awal dan akhir pengeringan per gram berat kering

| Jenis<br>Tepung/<br>Kultur   | Rasio<br>Tepung/<br>Kultur | Jumlah bakteri asam laktat (koloni/g berat kering kultur) |                   |                   |                   |                   |                   | Viabilitas (%) |      |      |
|------------------------------|----------------------------|---|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------------|------|------|
|                              |                            | Awal pengeringan  |                   |                   | Akhir pengeringan |                   |                   | Viabilitas (%) |      |      |
|                              |                            | UI 1  | UI 2              | Rata              | UI 1              | UI 2              | Rata              | UI 1           | UI 2 | Rata |
| Onggok/<br>Susu<br>skim 16 % | 1 : 1                      | $2,0 \times 10^8$   | $5,7 \times 10^8$ | $3,9 \times 10^8$ | $3,1 \times 10^3$ | $2,2 \times 10^6$ | $1,3 \times 10^6$ | 0,14           | 0,40 | 0,30 |
|                              | 1 : 2                      | $3,3 \times 10^8$   | $1,7 \times 10^9$ | $1,0 \times 10^8$ | $6,9 \times 10^6$ | $1,5 \times 10^7$ | $1,1 \times 10^7$ | 2,08           | 0,89 | 1,5  |
|                              | 2 : 1                      | $2,0 \times 10^8$   | $5,7 \times 10^8$ | $3,9 \times 10^8$ | $2,6 \times 10^5$ | $1,0 \times 10^7$ | $5,1 \times 10^6$ | 0,25           | 1,77 | 2,0  |
| Beras/Susu<br>skim 16 %      | 1 : 2                      | $2,4 \times 10^8$   | $9,1 \times 10^8$ | $5,8 \times 10^8$ | $3,1 \times 10^6$ | $3,0 \times 10^8$ | $1,5 \times 10^8$ | 1,34           | 33,5 | 17,4 |

Keterangan ; UI 1 = ulangan ke-1

UI 2 = ulangan ke-2

Rata = rata-rata



Lampiran 6. Data pertumbuhan total bakteri gram negatif dan analisis statistiknya selama penyimpanan ikan lemuru pada suhu kamar.

| Waktu Penyimpanan (jam) | Total bakteri gram negatif (koloni/gram) |                   |                   |                   |                   |                   |                  |                   |                   |
|-------------------------|--|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|
|                         | Kontrol                                  |                   |                   | Tabur             |                   |                   | Celup            |                   |                   |
|                         | Uji 1                                    | Uji 2             | Rata              | Uji 1             | Uji 2             | Rata              | Uji 1            | Uji 2             | Rata              |
| 0                       | $4,1 \times 10^3$                        | $4,1 \times 10^3$ | $4,1 \times 10^3$ | $4,1 \times 10^3$ | $4,1 \times 10^3$ | $4,1 \times 10^3$ | $4,1 \times 103$ | $4,1 \times 10^3$ | $4,1 \times 10^3$ |
| 4                       | $4,4 \times 10^3$                        | $1,5 \times 10^4$ | $9,7 \times 10^3$ | $5,0 \times 10^3$ | $9,2 \times 10^3$ | $7,1 \times 10^3$ | $3,7 \times 102$ | $5,9 \times 10^3$ | $3,1 \times 10^3$ |
| 8                       | $1,9 \times 10^4$                        | $2,2 \times 10^4$ | $2,1 \times 10^4$ | $9,8 \times 10^3$ | $1,9 \times 10^4$ | $1,4 \times 10^4$ | $8,4 \times 103$ | $1,8 \times 10^4$ | $1,3 \times 10^4$ |
| 12                      | $2,6 \times 10^5$                        | $3,1 \times 10^5$ | $2,9 \times 10^5$ | $3,5 \times 10^4$ | $4,8 \times 10^4$ | $4,2 \times 10^4$ | $1,2 \times 104$ | $9,0 \times 10^4$ | $5,1 \times 10^4$ |
| 24                      | $1,1 \times 10^7$                        | $2,4 \times 10^7$ | $1,8 \times 10^7$ | $7,4 \times 10^7$ | $7,1 \times 10^7$ | $7,3 \times 10^7$ | $1,7 \times 107$ | $6,4 \times 10^7$ | $4,1 \times 10^7$ |

### Analisis keragaman total bakteri gram negatif

| Sumber    | df | SS                   | MS                   | F hit    | F0,05 | F0,01 |
|-----------|----|----------------------|----------------------|----------|-------|-------|
| Perlakuan | 14 | $1,2 \times 10^{16}$ | $8,7 \times 10^{14}$ | 10,879   | 2,40  | 3,52  |
| A         | 4  | $9,1 \times 10^{15}$ | $2,3 \times 10^{15}$ | 28,488** | 3,06  | 4,89  |
| B         | 2  | $6,1 \times 10^{14}$ | $3,0 \times 10^{14}$ | 3,803*   | 3,68  | 6,36  |
| AB        | 8  | $2,4 \times 10^{15}$ | $3,1 \times 10^{14}$ | 3,844*   | 2,64  | 4,00  |
| Error     | 15 | $1,2 \times 10^{15}$ | $8,0 \times 10^{13}$ |          |       |       |
| Total     | 29 | $1,3 \times 10^{16}$ | $4,5 \times 10^{14}$ |          |       |       |

\*) berbeda nyata

\*\*) berbeda sangat nyata

Ket : df = derajat bebas

SS = jumlah kuadrat

MS = rata-rata jumlah kuadrat

Lampiran 7. Data perubahan nilai TVN dan analisis statistiknya selama penyimpanan ikan lemuru suhu pada kamar.

| Waktu Penyimpanan (jam) | TVN (% mg-N) |      |      |       |      |      |       |      |      |
|-------------------------|--------------|------|------|-------|------|------|-------|------|------|
|                         | Kontrol      |      |      | Tabur |      |      | Celup |      |      |
|                         | UI 1         | UI 2 | Rata | UI 1  | UI 2 | Rata | UI 1  | UI 2 | Rata |
| 0                       | 12,0         | 12,0 | 12,0 | 12,0  | 12,0 | 12,0 | 12,0  | 12,0 | 12,0 |
| 4                       | 16,8         | 15,2 | 16,0 | 15,2  | 4,0  | 9,6  | 8,8   | 4,0  | 6,4  |
| 8                       | 16,8         | 21,6 | 19,2 | 8,8   | 12,8 | 10,8 | 8,0   | 4,8  | 6,4  |
| 12                      | 24,8         | 19,2 | 22,0 | 13,6  | 18,4 | 14,0 | 12,0  | 13,6 | 12,8 |
| 24                      | 41,6         | 44,8 | 42,8 | 54,4  | 32,8 | 43,6 | 39,2  | 32,0 | 35,6 |

## Analisis keragaman nilai TVN pada penyimpanan ikan lemuru sulu kaimai

| Sumber    | df | SS       | MS      | F         | F 0,05 | F 0,01 |
|-----------|----|----------|---------|-----------|--------|--------|
| Perlakuan | 14 | 4296,616 | 306,901 | 11,715    | 2,40   | 3,52   |
| A         | 4  | 3863,336 | 965,834 | 36,868 ** | 3,06   | 4,89   |
| B         | 2  | 307,498  | 153,749 | 5,869 *   | 3,68   | 6,36   |
| AB        | 8  | 125,782  | 15,723  | 0,6       | 2,64   | 4,00   |
| Error     | 15 | 392,961  | 26,197  |           |        |        |
| Total     | 29 | 4689,577 | 161,71  |           |        |        |

\* ) berbeda nyata

\*\*) berbeda sangat nyata

## Analisis Duncan perbedaan cara aplikasi ikan lemur pada suhu kamari

| Cara Aplikasi | Rata-rata | Ranking pada $p=0,01$ |
|---------------|-----------|-----------------------|
| Kontrol       | 22,48     | A                     |
| Tabur         | 18,4      | AB                    |
| Celup         | 14,64     | B                     |



Lampiran 8. Data hasil perubahan nilai pH selama penyimpanan ikan lemuru pada suhu kamar.

| Waktu<br>Penyimpanan<br>(jam) | pH      |      |      |       |      |      |       |      |      |
|-------------------------------|---------|------|------|-------|------|------|-------|------|------|
|                               | Kontrol |      |      | Tabur |      |      | Celup |      |      |
|                               | UI 1    | UI 2 | Rata | UI 1  | UI 2 | Rata | UI 1  | UI 2 | Rata |
| 0                             | 6,70    | 6,70 | 6,70 | 6,70  | 6,70 | 6,70 | 6,70  | 6,70 | 6,70 |
| 4                             | 6,50    | 6,40 | 6,45 | 6,40  | 6,40 | 6,40 | 6,40  | 6,30 | 6,35 |
| 8                             | 6,45    | 6,30 | 6,38 | 6,35  | 6,25 | 6,30 | 6,40  | 6,45 | 6,43 |
| 12                            | 6,45    | 6,63 | 6,54 | 6,57  | 6,55 | 6,56 | 6,55  | 6,43 | 6,49 |
| 24                            | 6,95    | 7,25 | 7,10 | 6,90  | 6,95 | 6,93 | 6,85  | 6,90 | 6,88 |

Hasil analisis keragaman pH pada penyimpanan ikan lemuru pada suhu kamar

| Snubber   | df | SS    | MS    | F        | F 0,05 | F 0,01 |
|-----------|----|-------|-------|----------|--------|--------|
| Perlakuan | 14 | 1,548 | 0,111 | 16,814   | 2,40   | 3,52   |
| A         | 4  | 1,461 | 0,365 | 55,545** | 3,06   | 4,89   |
| B         | 2  | 0,025 | 0,012 | 1,875    | 3,68   | 6,36   |
| AB        | 8  | 0,062 | 0,008 | 1,183    | 2,64   | 4,00   |
| Error     | 15 | 0,099 | 0,007 |          |        |        |
| Total     | 29 | 1,646 | 0,057 |          |        |        |

\*) berbeda sangat nyata



Lampiran 9. Data skor organoleptik bau dan analisis statistiknya pada penyimpanan ikan lemuru pada suhu kamar

| Waktu penyimpanan (jam) | Skor rata-rata |       |       |
|-------------------------|----------------|-------|-------|
|                         | Kontrol        | Tabur | Celup |
| 0                       | 1,0            | 1,0   | 1,0   |
| 4                       | 2,1            | 1,1   | 1,1   |
| 8                       | 2,5            | 1,9   | 1,3   |
| 12                      | 4,0            | 3,4   | 3,4   |
| 24                      | 5,5            | 5,2   | 4,3   |

Analisis keragaman organoleptik bau

| Sumber    | df | SS      | MS     | F         | F 0,05 | F 0,01 |
|-----------|----|---------|--------|-----------|--------|--------|
| Perlakuan | 14 | 427,667 | 30,548 | 59,945    | 1,75   | 2,19   |
| A         | 4  | 398,722 | 99,681 | 195,607** | 2,45   | 3,48   |
| B         | 2  | 19,6    | 9,8    | 19,231**  | 3,07   | 4,79   |
| AB        | 8  | 9,344   | 1,168  | 2,292 *   | 2,02   | 2,66   |
| Error     | 15 | 84,083  | 0,51   |           |        |        |
| Total     | 29 | 511,75  | 2,859  |           |        |        |

\*\*) berbeda sangat nyata

\*) berbeda nyata

Analisis Duncan perbedaan cara aplikasi

| Interaksi A dan B | Rata-rata | ranking pada p=0,01 |
|-------------------|-----------|---------------------|
| A5B1              | 5,5       | A                   |
| A5B2              | 5,1667    | A                   |
| A5B3              | 4,25      | B                   |
| A4B1              | 4         | BC                  |
| A4B3              | 3,4167    | C                   |
| A4B2              | 3,4167    | D                   |
| A3B1              | 2,5       | DE                  |
| A2B1              | 2,0833    | DE                  |
| A3B2              | 1,9167    | EF                  |
| A3B3              | 1,3333    | F                   |
| A2B3              | 1,0833    | F                   |
| A2B2              | 1,0833    | F                   |
| A1B3              | 1         | F                   |
| A1B2              | 1         | F                   |
| A1B1              | 1         | F                   |

Lampiran 10. Data skor organoleptik penampakan dan analisis statistiknya pada penyimpanan ikan lemuru pada suhu kamar

| Waktu penyimpanan<br>(jam) | Skor rata-rat |       |       |
|----------------------------|---------------|-------|-------|
|                            | Kontrol       | Tabur | Celup |
| 0                          | 1             | 1     | 1     |
| 4                          | 1,2           | 1,2   | 1,2   |
| 8                          | 2,3           | 2,7   | 1,6   |
| 12                         | 3             | 2,7   | 2,2   |
| 24                         | 5             | 5     | 3,75  |

Analisis keragaman skor organoleptik penampakan

| Sumber    | df | SS      | MS     | F          | F 0,05 | F 0,01 |
|-----------|----|---------|--------|------------|--------|--------|
| Perlakuan | 14 | 361,467 | 25,819 | 58,292     | 1,75   | 2,19   |
| A         | 4  | 334,189 | 83,547 | 188,624 ** | 2,45   | 3,48   |
| B         | 2  | 13,433  | 6,717  | 15,164 **  | 3,07   | 4,79   |
| AB        | 8  | 13,844  | 1,731  | 3,907 *    | 2,02   | 2,66   |
| Error     | 15 | 73,083  | 0,443  |            |        |        |
| Total     | 29 | 434,55  | 2,428  |            |        |        |

\*) berbeda sangat nyata

\*) berbeda nyata

Analisis Duncan perbedaan cara aplikasi

| Interaksi A dan B | Rata-rata | ranking pada p=0,01 |
|-------------------|-----------|---------------------|
| A5B1              | 5,5       | A                   |
| A5B2              | 5         | A                   |
| A5B3              | 3,75      | B                   |
| A4B1              | 3         | C                   |
| A4B3              | 2,6667    | CD                  |
| A4B2              | 2,3333    | CDE                 |
| A3B1              | 2,1667    | DE                  |
| A2B1              | 1,8333    | EF                  |
| A3B2              | 1,5833    | EFG                 |
| A3B3              | 1,1667    | FG                  |
| A2B3              | 1,1667    | FG                  |
| A2B2              | 1,0833    | FG                  |
| A1B3              | 1         | G                   |
| A1B2              | 1         | G                   |
| A1B1              | 1         | G                   |

Lampiran 11. Data skor organoleptik tekstur dan analisis statistiknya pada penyimpanan ikan lemuru pada suhu kamar

| Waktu penyimpanan (jam) | Skor rata-rata |       |       |
|-------------------------|----------------|-------|-------|
|                         | Kontrol        | Tabur | Celup |
| 0                       | 1              | 1     | 1     |
| 4                       | 1,2            | 1,2   | 1,2   |
| 8                       | 1,9            | 1,8   | 1,4   |
| 12                      | 2,5            | 2,3   | 1,8   |
| 24                      | 4,8            | 4,2   | 4,2   |

## Analisis keragaman skor organoleptik tekstur

| Sumber    | df | SS      | MS     | F          | F 0.05 | F 0.01 |
|-----------|----|---------|--------|------------|--------|--------|
| Perlakuan | 14 | 278,167 | 19,869 | 31,05      | 1,75   | 2,19   |
| A         | 4  | 269,556 | 67,389 | 105,312 ** | 2,45   | 3,48   |
| B         | 2  | 4,433   | 2,217  | 3,464 *    | 3,07   | 4,79   |
| AB        | 8  | 4,178   | 0,522  | 0,816      | 2,02   | 2,66   |
| Error     | 15 | 105,583 | 0,64   |            |        |        |
| Total     | 29 | 383,75  | 2,144  |            |        |        |

\* \*) berbeda sangat nyata

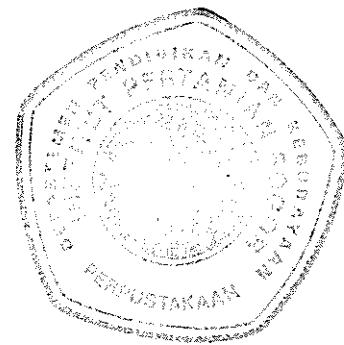
\*) berbeda nyata

### Analisis Duncan perbedaan cara aplikasi

| Cara Aplikasi | Rata-rata | Ranking pada $p=0,05$ |
|---------------|-----------|-----------------------|
| Kontrol       | 2,2833    | A                     |
| Tabur         | 2,0667    | AB                    |
| Celup         | 1,9       | B                     |

Lampiran 12. Perubahan total mikroba selama penyimpanan dingin

| Waktu penyimpanan (hari) | Total mikroba (koloni/g) |                      |                      |
|--------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
|                          | Ulangan 1                | Ulangan 2            | Rata-rata            |
| 0                        | $5,0 \times 10^5$        | $5,0 \times 10^5$    | $5,0 \times 10^5$    |
| 2                        | $6,2 \times 10^6$        | $2,9 \times 10^7$    | $1,7 \times 10^7$    |
| 4                        | $2,9 \times 10^{10}$     | $6,3 \times 10^9$    | $1,8 \times 10^{10}$ |
| 6                        | $1,7 \times 10^9$        | $3,4 \times 10^8$    | $1,0 \times 10^9$    |
| 8                        | $4,7 \times 10^{10}$     | $4,8 \times 10^{10}$ | $4,8 \times 10^{10}$ |





### Lampiran 13. Data hasil pertumbuhan bakteri gram negatif selama penyimpanan dingin

| Waktu penyimpanan (hari) | Total bakteri gram negatif (koloni/g) |                   |                   |                   |                   |                   |                   |                   |                   |
|--------------------------|---------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                          | Kontrol                               |                   |                   | Tabur             |                   |                   | Celup             |                   |                   |
|                          | UI 1                                  | UI 2              | Rata              | UI 1              | UI 2              | Rata              | UI 1              | UI 2              | Rata              |
| 0                        | $4,1 \times 10^3$                     | $4,1 \times 10^3$ | $4,1 \times 10^3$ | $4,1 \times 10^3$ | $4,1 \times 10^3$ | $4,1 \times 10^3$ | $4,1 \times 10^3$ | $4,1 \times 10^3$ | $4,1 \times 10^3$ |
| 2                        | $9,2 \times 10^4$                     | $3,7 \times 10^4$ | $6,5 \times 10^4$ | $1,1 \times 10^5$ | $5,3 \times 10^4$ | $8,2 \times 10^4$ | $2,1 \times 10^4$ | $8,9 \times 10^4$ | $5,5 \times 10^4$ |
| 4                        | $6,9 \times 10^6$                     | $6,2 \times 10^6$ | $6,6 \times 10^6$ | $8,7 \times 10^6$ | $4,1 \times 10^6$ | $6,4 \times 10^6$ | $1,0 \times 10^3$ | $3,0 \times 10^3$ | $2,0 \times 10^3$ |
| 6                        | $2,7 \times 10^7$                     | $1,2 \times 10^7$ | $2,0 \times 10^7$ | $8,2 \times 10^7$ | $1,4 \times 10^7$ | $1,1 \times 10^7$ | $5,2 \times 10^6$ | $2,1 \times 10^6$ | $3,7 \times 10^6$ |
| 8                        | $1,6 \times 10^8$                     | $6,0 \times 10^8$ | $3,8 \times 10^8$ | $3,8 \times 10^7$ | $1,3 \times 10^8$ | $8,4 \times 10^7$ | $9,9 \times 10^6$ | $5,0 \times 10^7$ | $3,0 \times 10^7$ |



Lampiran 14. Data hasil perubahan TVN ikan lemuru selama penyimpanan dingin.

| Waktu penyimpanan (hari) | TVN (% mg N) |      |      |       |      |      |       |      |      |
|--------------------------|--------------|------|------|-------|------|------|-------|------|------|
|                          | Kontrol      |      |      | Tabur |      |      | Celup |      |      |
|                          | UI 1         | UI 2 | Rata | UI 1  | UI 2 | Rata | UI 1  | UI 2 | Rata |
| 0                        | 12,0         | 12,0 | 12,0 | 12,0  | 12,0 | 12,0 | 12,0  | 12,0 | 12,0 |
| 2                        | 12,8         | 15,2 | 14,0 | 11,2  | 9,6  | 10,4 | 8,4   | 3,6  | 6,0  |
| 4                        | 10,0         | 34,4 | 22,2 | 13,6  | 16,8 | 15,2 | 4,4   | 13,2 | 8,8  |
| 6                        | 28,4         | 22,4 | 25,4 | 13,6  | 16,8 | 15,2 | 10,4  | 8,0  | 9,2  |
| 8                        | 24,0         | 27,2 | 25,6 | 13,6  | 19,2 | 16,4 | 3,2   | 17,6 | 10,4 |

Hasil analisis keragaman nilai TVN ikan lemuru pada penyimpanan dingin

| Sumber    | df | SS       | MS      | F       | F 0,05 | F 0,01 |
|-----------|----|----------|---------|---------|--------|--------|
| Perlakuan | 14 | 981,727  | 70,123  | 2,07    | 2,4    | 3,52   |
| A         | 4  | 235,06   | 58,765  | 1,736   | 3,06   | 4,89   |
| B         | 2  | 561,023  | 280,511 | 8,288 * | 3,68   | 6,36   |
| AB        | 8  | 185,644  | 23,205  | 0,686   | 2,64   | 4,0    |
| Error     | 15 | 507,680  | 33,205  |         |        |        |
| Total     | 29 | 1489,406 | 51,359  |         |        |        |

\*) berbeda nyata

Analisis Duncan perbedaan cara aplikasi ikan lemuru pada penyimpanan dingin

| Cara Aplikasi | Rata-rata | Ranking pada $p=0,01$ |
|---------------|-----------|-----------------------|
| Kontrol       | 19,84     | A                     |
| Tabur         | 13,84     | AB                    |
| Celup         | 9,28      | B                     |

Lampiran 15. Data perubahan pH ikan lemuru dan analisis statistiknya pada penyimpanan dingin

| Waktu penyimpanan (hari) | pH      |      |      |       |      |      |       |      |      |
|--------------------------|---------|------|------|-------|------|------|-------|------|------|
|                          | Kontrol |      |      | Tabur |      |      | Celup |      |      |
|                          | UI 1    | UI 2 | Rata | UI 1  | UI 2 | Rata | UI 1  | UI 2 | Rata |
| 0                        | 6,70    | 6,70 | 6,70 | 6,70  | 6,70 | 6,70 | 6,70  | 6,70 | 6,70 |
| 2                        | 6,15    | 6,15 | 6,15 | 6,15  | 6,15 | 6,15 | 6,15  | 6,05 | 6,10 |
| 4                        | 6,35    | 6,40 | 6,38 | 6,35  | 6,45 | 6,40 | 6,45  | 6,45 | 6,45 |
| 6                        | 6,55    | 6,80 | 6,68 | 6,55  | 6,60 | 6,58 | 6,30  | 6,30 | 6,30 |
| 8                        | 6,55    | 6,45 | 6,50 | 6,30  | 6,05 | 6,18 | 6,05  | 5,75 | 5,90 |

Analisis keragaman pH ikan lemuru

| Sumber    | df | SS    | MS    | F        | F 0,05 | F 0,01 |
|-----------|----|-------|-------|----------|--------|--------|
| Perlakuan | 14 | 1,691 | 0,121 | 20,642   | 2,4    | 3,52   |
| A         | 4  | 1,248 | 0,312 | 53,340** | 3,06   | 4,89   |
| B         | 2  | 0,153 | 0,076 | 13,060** | 3,68   | 6,36   |
| AB        | 8  | 0,290 | 0,036 | 6,188**  | 2,64   | 4,0    |
| Error     | 15 | 0,088 | 0,006 |          |        |        |
| Total     | 29 | 1,779 | 0,061 |          |        |        |

\*) berbeda sangat nyata

Analisis Duncan perbedaan cara aplikasi

| Cara Aplikasi | Rata-rata | Ranking pada $p=0,01$ |
|---------------|-----------|-----------------------|
| Kontrol       | 6,48      | A                     |
| Tabur         | 6,395     | AB                    |
| Celup         | 6,305     | B                     |

Lampiran 16. Data skor organoleptik bau dan analisis statistik ikan lemuru pada penyimpanan dingin

| Waktu penyimpanan (hari) | Skor rata-rata |       |       |
|--------------------------|----------------|-------|-------|
|                          | Kontrol        | Tabur | Celup |
| 0                        | 1,0            | 1,0   | 1,0   |
| 2                        | 1,0            | 1,0   | 1,0   |
| 4                        | 2,4            | 1,6   | 1,4   |
| 6                        | 3,6            | 3,3   | 3     |
| 8                        | 4,6            | 3,8   | 3,5   |

Analisis keragaman skor organoleptik bau

| Sumber    | df | SS      | MS     | F         | F 0,05 | F 0,01 |
|-----------|----|---------|--------|-----------|--------|--------|
| Perlakuan | 14 | 187,417 | 13,387 | 53,294    | 1,75   | 2,19   |
| A         | 4  | 175,917 | 43,979 | 175,083** | 2,45   | 3,48   |
| B         | 2  | 6,467   | 3,233  | 12,872**  | 3,07   | 4,79   |
| AB        | 8  | 5,033   | 0,629  | 2,505*    | 2,02   | 2,66   |
| Error     | 15 | 26,375  | 0,251  |           |        |        |
| Total     | 29 | 213,792 | 1,797  |           |        |        |

\*\*) berbeda sangat nyata

\*) berbeda nyata

Analisis Duncan perbedaan cara aplikasi pada organoleptik bau ikan lemuru pada penyimpanan dingin

| Interaksi A dan B | Rata-rata | ranking pada p=0,01 |
|-------------------|-----------|---------------------|
| A5B1              | 4,625     | A                   |
| A5B2              | 3,75      | B                   |
| A5B3              | 3,625     | BC                  |
| A4B1              | 3,5       | BC                  |
| A4B3              | 3,25      | BC                  |
| A4B2              | 3         | CD                  |
| A3B1              | 2,375     | D                   |
| A2B1              | 1,625     | E                   |
| A3B2              | 1,375     | E                   |
| A3B3              | 1         | E                   |
| A2B3              | 1         | E                   |
| A2B2              | 1         | E                   |
| A1B3              | 1         | E                   |
| A1B2              | 1         | E                   |
| A1B1              | 1         | E                   |

Lampiran 17. Tabel analisis keragaman organoleptik penampakan ikan lemuru pada penyimpanan dingin

| Waktu penyimpanan (hari) | Skor rata-rata |       |       |
|--------------------------|----------------|-------|-------|
|                          | Kontrol        | Tabur | Celup |
| 0                        | 1              | 1     | 1     |
| 2                        | 1,2            | 1,2   | 1,1   |
| 4                        | 2,6            | 2,4   | 1,8   |
| 6                        | 3,8            | 3,3   | 3,0   |
| 8                        | 4,6            | 3,9   | 3,4   |

## Analisis keragaman skor organoleptik penampakan

| Sumber    | df | SS      | MS     | F         | F 0.05 | F 0.01 |
|-----------|----|---------|--------|-----------|--------|--------|
| Perlakuan | 14 | 179,367 | 12,812 | 40,007    | 1,75   | 2,19   |
| A         | 4  | 167,283 | 41,821 | 130,593** | 2,45   | 3,48   |
| B         | 2  | 6,117   | 3,058  | 9,550**   | 3,07   | 4,79   |
| AB        | 8  | 5,967   | 0,746  | 2,329*    | 2,02   | 2,66   |
| Error     | 15 | 33,625  | 0,320  |           |        |        |
| Total     | 29 | 212,992 | 1,790  |           |        |        |

\* \*) berbeda sangat nyata

\*) berbeda nyata

Analisis Duncan perbedaan cara aplikasi pada organoleptik penampakan ikan lemur pada penyimpanan pada suhu dingin

| Interaksi A dan B | Rata-rata | ranking pada $p=0,01$ |
|-------------------|-----------|-----------------------|
| A5B1              | 4,625     | A                     |
| A5B2              | 3,875     | B                     |
| A5B3              | 3,75      | BC                    |
| A4B1              | 3,375     | BCD                   |
| A4B3              | 3,375     | BCD                   |
| A4B2              | 3         | CDE                   |
| A3B1              | 2,625     | DE                    |
| A2B1              | 2,375     | EF                    |
| A3B2              | 1,75      | FG                    |
| A3B3              | 1,25      | G                     |
| A2B3              | 1,125     | G                     |
| A2B2              | 1         | G                     |
| A1B3              | 1         | G                     |
| A1B2              | 1         | G                     |
| A1B1              | 1         | G                     |

Lampiran 18. Tabel analisis keragaman organoleptik tekstur ikan lemuru pada penyimpanan dingin

| Waktu penyimpanan (jam) | Skor rata-rata |       |       |
|-------------------------|----------------|-------|-------|
|                         | Kontrol        | Tabur | Celup |
| 0                       | 1,0            | 1,0   | 1,0   |
| 2                       | 1,0            | 1,0   | 1,0   |
| 4                       | 1,9            | 1,8   | 1,8   |
| 6                       | 3,4            | 2,9   | 3,1   |
| 8                       | 3,9            | 3,6   | 3,3   |

Analisis keragaman skor organoleptik tekstur

| Sumber    | df | SS      | MS     | F          | F 0,05 | F 0,01 |
|-----------|----|---------|--------|------------|--------|--------|
| Perlakuan | 14 | 138,867 | 9,919  | 41,453     | 1,75   | 2,19   |
| A         | 4  | 135,450 | 33,863 | 141,515 ** | 2,45   | 3,48   |
| B         | 2  | 1,117   | 0,558  | 2,333      | 3,07   | 4,79   |
| AB        | 8  | 2,300   | 0,287  | 1,201      | 2,02   | 2,66   |
| Error     | 15 | 25,125  | 0,239  |            |        |        |
| Total     | 29 | 163,992 | 1,378  |            |        |        |

\*\*) berbeda sangat nyata

Analisis Duncan perbedaan cara aplikasi

| Cara Aplikasi | Rata-rata | Ranking pada $p=0,05$ |
|---------------|-----------|-----------------------|
| Kontrol       | 1,2833    | A                     |
| Tabur         | 1,0667    | AB                    |
| Celup         | 0,9       | B                     |