

MONOGRAF

ASAP CAIR SEBAGAI BAHAN PENGAWET ALAMI

PADA PRODUK DAGING DAN IKAN

Oleh : Ratna Yulstiani

Edisi Pertama

Cetakan Pertama, 2008

Hak Cipta © 2008 pada penulis,

Hak Cipta dilindungi oleh Undang-undang. Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apapun, secara elektronik maupun mekanis, termasuk memphoto copy, merekam atau dengan teknik perekaman lainnya tanpa izin tertulis dari penulis dan penerbit. Isi buku merupakan tanggung jawab penulis.

Penerbit :

UPN “VETERAN” JAWA TIMUR

Jl. Raya Rungkut Madya Gunung Anyar

Surabaya 60294

Website : www.upnjatim.ac.id

Juni 2008

978-979-3327-57-0

Yulistiani, Ratna

ASAP CAIR SEBAGAI BAHAN PENGAWET ALAMI
PADA PRODUK DAGING DAN IKAN

Ratna Yulistiani

- Edisi Pertama-Suarabaya ;UPN "Veteran" Jatim, 2008

xv + 54 hlm, 1 Jil. : 21 cm

Sanksi Pelanggaran pasal 44 :

Undang-Undang Nomor 7 Tahun 1987 tentang

Perubahan Undang-Undang Nomor 6 Tahun 1982 Tentang Hak
Cipta

1. Barang siapa dengan sengaja dan tanpa hak mengumumkan atau memperbanyak suatu ciptaan atau memberi ijin untuk itu, dipidana dengan pidana penjara paling lama 7 (tujuh) tahun dan/atau denda paling banyak Rp. 100.000.000,- (seratus juta rupiah).
2. Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan atau menjual kepada umum suatu ciptaan

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan buku Monograf dengan judul “**Asap Cair sebagai Bahan Pengawet Alami pada Produk Daging dan Ikan**” .

Bahan yang disajikan di dalam buku ini penulis susun sebagai upaya memperkenalkan **Asap Cair sebagai Bahan Pengawet Alami pada Produk Daging dan Ikan**, yang dapat dipergunakan sebagai acuan bagi para mahasiswa dan peneliti yang mempelajari bidang Asap Cair.

Dalam buku ini dibahas tentang **permasalahan pada pengasapan daging/ikan, Asap Cair, senyawa antimikrobia dalam asap cair, aktivitas antibakteri asap cair terhadap bakteri pada daging, aplikasi asap cair sebagai pengawet pada produk daging dan ikan**.

Selama penyusunan buku ini penulis menyadari masih jauh dari sempurna, oleh karenanya penulis mengharap adanya kritik dan saran demi penyempurnaan buku ini. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jawa Timur yang dengan prakarsanya memacu minat penulis untuk menyusun buku ini.

Ucapan terima kasih penulis tujukan pula kepada semua pihak yang telah membantu mulai dari awal persiapan sampai terlaksananya penerbitan buku ini. Semoga apa yang tertuang dalam buku ini dapat menjadi pegangan bagi mahasiswa atau peneliti yang mempelajari bidang Mikrobiologi Pangan.

Surabaya, September 2008

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR TABEL	v
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	3
BAB 2. ASAP CAIR	4
2.1. Pengasapan Bahan Makanan	4
2.2. Metode Pengasapan	5
2.3. Komposisi Asap dan Faktor-faktor yang Mempengaruhi	6
2.4. Interaksi Komponen Asap Kayu dengan Bahan Makanan	9
2.5. Asap Cair dan Keunggulannya	12
2.5. Pembuatan Asap Cair	13
2.6. Pirolisis Kayu	15
2.7. Metode Penggunaan Asap Cair	20
BAB 3 SENYAWA ANTIMIKROBIA DALAM ASAP CAIR	22
3.1. Pendahuluan	22
3.2. Senyawa Antimikrobia dalam Asap Cair	24
3.3. Analisis Kandungan Senyawa Antimikrobia dalam Asap Cair	27
BAB 4 AKTIVITAS ANTIBAKTERI ASAP CAIR TERHADAP BAKTERI PADA DAGING	31
4.1. Bakteri Patogen dan Perusak pada Daging/Ikan	31
4.2. Pertumbuhan Bakteri pada Daging/Ikan	36
4.3. Pengujian Aktivitas Antibakteri Asap Cair	37
4.4. Pengaruh Senyawa Antimikrobia dalam Asap Cair Tempurung Kelapa terhadap Kultur Bakteri Patogen dan Perusak	41
4.5. Konsentrasi Penghambatan Minimal Asap Cair Tempurung Kelapa	44
4.6. Pengaruh Konsentrasi Asap Cair Tempurung Kelapa terhadap Fase Pertumbuhan Bakteri	45

BAB 5	APLIKASI ASAP CAIR SEBAGAI PENGAWET PADA PRODUK DAGING DAN IKAN	49
BAB 6	KESIMPULAN	53
	DAFTAR PUSTAKA	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Hubungan komponen-komponen dalam asap dan peranannya pada sifat-sifat produk	6
Gambar 2.	Diagram alat pembuatan asap cair dengan metode kondensasi	14
Gambar 3.	Struktur dan pirolisis selulosa	16
Gambar 4.	Struktur hemiselulosa	17
Gambar 5.	Pirolisis pentosan	18
Gambar 6.	Pirolisis lignin	18
Gambar 7.	Mekanisme pirolisis lignin dari kayu lunak	19
Gambar 8.	Mekanisme pirolisis lignin dari kayu keras	20
Gambar 9.	Kromatogram asap cair tempurung kelapa dengan GC-MS	28
Gambar 10.	Kurva pertumbuhan jasad renik	36
Gambar 11.	Hasil pengamatan aktivitas antibakteri asap cair tempurung kelapa dan jati terhadap <i>E. coli</i> pada pengenceran 0 kali, 10 kali dan 100 kali	38
Gambar 12.	Hasil pengamatan aktivitas antibakteri asap cair tempurung kelapa terhadap <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i> pada pengenceran 0 kali, 10 kali dan 100 kali	40

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Hasil pengamatan aktivitas antibakteri beberapa jenis asap cair terhadap beberapa kultur bakteri	38
Tabel 2.	Hasil pengamatan aktivitas antibakteri beberapa jenis asap cair terhadap beberapa kultur bakteri pada pH asap = 6,5	40

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Daging dan ikan selain merupakan salah satu sumber protein hewani, juga merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme terutama bakteri, sehingga penyediaan daging dan ikan yang cukup jumlahnya dan memenuhi syarat kesehatan sangat dipengaruhi oleh penanganan terhadap bakteri pada daging, agar tidak terjadi kerusakan pada daging atau menimbulkan penyakit pada manusia. Menurut Mounthey dan Gould (1988), beberapa bakteri yang umumnya dapat menimbulkan kerusakan pada daging dan ikan, antara lain dari genus *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Bacillus* dan *Micrococcus*. Sedangkan bakteri penyebab keracunan makanan yang sering ditularkan melalui daging antara lain *Clostridium perfringens*, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Siliker et al., 1980).

Pengasapan merupakan salah satu metode pengawetan daging dan ikan yang telah lama diterapkan dan secara luas dapat diterima konsumen. Kyuring dan pengasapan daging/ikan sangat berkaitan satu sama lain, dan sering dilakukan bersama-sama artinya produk kyuring biasanya diasapi dan sebaliknya. Tujuan dari pengasapan selain untuk memperpanjang masa simpan juga untuk mendapatkan warna dan citarasa yang spesifik (Girard, 1992).

Dalam pengasapan daging/ikan, komponen-komponen kimia yang terdapat dalam asap memegang peranan penting karena selain membentuk flavor dan warna yang khas, pengasapan juga dapat mengawetkan dan menghambat kerusakan produk. Barylko-Pikielna (1976), menyebutkan bahwa komponen-komponen kimia dalam asap merupakan agen multifungsional, dimana komponen-komponen tersebut bekerja secara

bersamaan untuk memberikan flavor, efek bakteriostatik dan antioksidan. Menurut Girard (1992), komponen kimia asap dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya jenis kayu dan suhu pirolisis yang digunakan.

Pengasapan secara tradisional sulit dikerjakan terutama oleh masyarakat perkotaan karena sulitnya mendapatkan kayu, dan timbulnya polusi udara yang mengganggu. Gorbатов *et al.* (1971) dan Maga (1987), menyebutkan beberapa kelemahan pengasapan tradisional, antara lain : kesulitan dalam mengatur flavor dan konsentrasi konstituen asap yang diinginkan, waktu dan suhu yang optimal tidak dapat dipertahankan sama sehingga produk yang dihasilkan tidak seragam, kemungkinan terbentuk senyawa hidrokarbon aromatik polisiklik (benzo(a)piren) yang bersifat karsinogenik. Penggunaan asap cair sebagai salah satu metoda pengawetan daging dapat mengurangi kendala dari pengasapan tradisional ini.

Asap cair merupakan larutan hasil kondensasi dari pirolisis kayu. Niels Luepke (1993) dalam Pszczola (1995), mengemukakan bahwa asap cair mempunyai kemampuan mengawetkan dan mempunyai kadar asam, fenol, alkohol seperti asap kayu alami dengan profil flavor yang sama dengan asap kayu alami. Hasil penelitian dari Rusdi *et al.* (1979), menunjukkan bahwa asap cair tempurung kelapa dapat meningkatkan daya awet lidah sapi, baik yang disimpan di lemari es maupun temperatur kamar sampai hari ke-75. Beberapa penelitian yang telah dilakukan di luar negeri mengemukakan bahwa asap cair komersial dari jenis kayu yang ada di luar negeri dapat menghambat pertumbuhan beberapa kultur bakteri patogen dan perusak. Menurut Girard (1992), dua senyawa utama dalam asap cair yang diketahui mempunyai efek bakterisidal/bakteriostatik adalah fenol dan asam-asam organik.

Asap cair mempunyai peluang untuk digunakan secara luas di Indonesia mengingat tersedianya bahan baku yang melimpah, proses pembuatan yang sederhana, mudah diaplikasikan oleh masyarakat dengan citarasa produk yang dapat diterima serta melindungi konsumen dari bahan karsinogenik yang biasanya terbentuk pada pengasapan tradisional.

Perbedaan jenis kayu yang digunakan untuk pembuatan asap cair dapat mempengaruhi komposisi kimia asap cair sehingga berpengaruh terhadap aktivitas antimikrobia yang dihasilkan.

1.2. Perumusan Masalah

- a. Bagaimana metode pembuatan asap cair dan jenis kayu apa saja yang bisa digunakan untuk pembuatan asap cair ?
- b. Apakah jenis asap cair yang diperoleh dari beberapa jenis kayu (seperti tempurung kelapa, kayu kamfer, kruing, bangkirei, jati, lamtoro, mahoni dan glugu) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen dan perusak pada daging/ikan dan asap cair dari jenis kayu apa yang mempunyai aktivitas antibakteri paling tinggi ?
- c. Apa kandungan senyawa antimikrobia dalam asap cair dan bagaimana pengaruh masing-masing senyawa antimikrobia tersebut terhadap kultur bakteri patogen dan perusak pada daging/ikan ?
- d. Berapa konsentrasi penghambatan minimal asap cair terhadap kultur bakteri patogen dan perusak pada daging/ikan dan bagaimana pengaruhnya terhadap fase pertumbuhan keempat kultur bakteri tersebut?
- e. Bagaimana pengaruh asap cair terhadap pertumbuhan bakteri patogen dan perusak pada daging/ikan ?

BAB 2. ASAP CAIR

2.1. Pengasapan Bahan Makanan

Cara pengawetan daging/ikan dengan pengasapan sudah dikenal orang sejak dahulu kala, yang telah lama diterapkan dan secara luas dapat diterima konsumen dari berbagai belahan dunia. Kyuring dan pengasapan daging/ikan sangat berkaitan satu sama lainnya, dan sering dilakukan bersama-sama artinya produk kyuring biasanya diasapi dan sebaliknya. Tujuan semula dari proses pengasapan adalah memperpanjang umur simpan produk . Namun dalam perkembangannya dewasa ini, tujuannya tidak hanya untuk mengawetkan saja, melainkan pengasapan juga ditujukan untuk memperoleh kenampakan tertentu dan citarasa asap yang spesifik pada bahan makanan (Girard, 1992).

Dalam pengasapan daging/ikan, komponen-komponen kimia yang terdapat dalam asap memegang peranan penting karena selain membentuk flavor dan warna yang khas, pengasapan juga dapat mengawetkan dan menghambat kerusakan produk. Barylko-Pikielna (1976), menyebutkan bahwa komponen-komponen kimia dalam asap merupakan agen multifungsional, dimana komponen-komponen kimia tersebut bekerja secara bersamaan memberikan flavor, efek bakterostatik dan antioksidan. Menurut Girard (1992), komposisi kimia yang terkandung dalam asap dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya jenis kayu, kadar air kayu dan suhu pirolisis yang digunakan. Meski tujuan pengasapan semula adalah baik, tetapi ternyata pengasapan juga dapat menghasilkan senyawa-senyawa yang tidak aman bagi kesehatan. Beberapa senyawa bersifat karsinogenik seperti Benzo(a)piren (O'Hara, 1974, Tonogai, 1982) dan Nitrosamin (Gangolli, 1986) terdapat dalam produk asap.

Pengasapan tradisional yang dilakukan dengan cara membakar kayu atau serbuk kayu secara langsung memerlukan waktu yang lama, keseragaman produk untuk menghasilkan warna dan flavor yang diinginkan cenderung sulit dikontrol, menyebabkan pencemaran lingkungan serta memungkinkan bahaya kebakaran. Pengasapan tradisional juga sulit dikerjakan terutama oleh masyarakat perkotaan karena sulitnya mendapatkan kayu, dan timbulnya polusi udara yang mengganggu. Selain itu adanya residu ter dan senyawa hidrokarbon

polisiklik aromatik yang terdeposit dalam makanan, mempunyai dampak yang membahayakan bagi kesehatan. Gorbатов et al. (1971) dan Maga (1987), menyebutkan beberapa kelemahan pengasapan tradisional, antara lain : kesulitan dalam mengatur flavor dan konsentrasi konstituen asap yang diinginkan, waktu dan suhu yang optimal tidak dapat dipertahankan sama sehingga produk yang dihasilkan tidak seragam, kemungkinan terbentuk senyawa hidrokarbon aromatik polisiklik (benzo(a)piren) yang berbeda karsinogenik. Oleh karena itu dalam usaha menggantikan proses pengasapan tradisional ini maka dilakukan maka dilakukan produksi asap cair dari pirolisis material kayu (Girard, 1992).

2.2. Metode Pengasapan

Berdasarkan suhu yang digunakan, dikenal tiga macam pengasapan : yaitu pengasapan panas (*“hot smoking”*), pengasapan sedang (*“semi-hot smoking”*), dan pengasapan dingin (*“cold smoking”*). Pengasapan panas menggunakan suhu sebesar atau melebihi 100°C, sedang suhu pengasapan dingin berkisar pada 40°C.

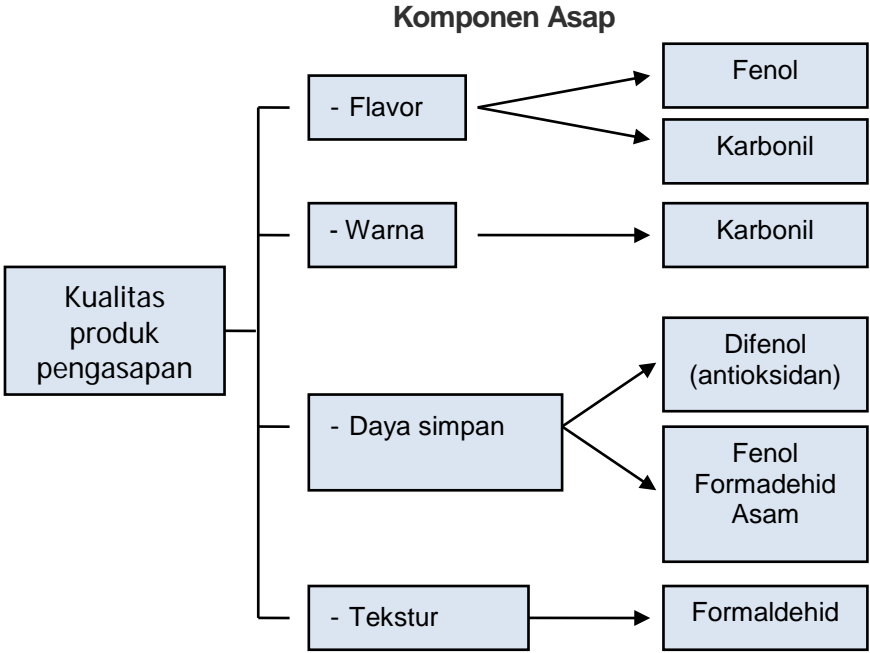
Sebelum pengasapan dimulai, biasanya dilakukan pemanasan terlebih dahulu dengan tujuan guna menurunkan kadar air bahan sehingga sesuai untuk pengasapan. Dari penelitian menggunakan model, mengemukakan bahwa kenampakan berkilau pada produk pengasapan yang dikehendaki akan timbul bila kadar air bahan, dalam hal ini konsentrat protein ikan, tidak melebihi 65 persen. Pada pengasapan panas, ikan dianggap siap untuk diasapi bila kulitnya nampak kering dan bagian daging terpisah dari tulangnya. Biasanya pengeringan sebagian tersebut dilakukan dalam kondisi corong dan lubang abu yang terbuka lebar, disertai hembusan angin yang kuat, sehingga produksi asap tidak terjadi. Pada pengasapan panas, suhu pengeringan yang dipakai dapat berkisar antara 75° dan 80°C. Sedang pada pengasapan dingin, pengeringan dilakukan dengan jalan menghembuskan udara hangat; dengan memanaskan bahan secara langsung di rumah asap melalui pembakaran kayu secara sempurna, ataupun dengan mengering-anginkan bahan di udara terbuka.

Pada beberapa pabrik, bahan diasapi dengan asap berbentuk cair. Penggunaan asap cair tersebut dinilai menguntungkan karena tidak membutuhkan pemasangan peralatan (*“installation”*), nilai keterulangannya tinggi berhubung komposisinya relatif konstan, dapat dibuat bebas dari fase partikel.

Biasanya pengasapan menggunakan asap cair ini dilakukan dengan jalan penyemprotan bahan sebelum pemasakan. Selain itu penambahan asap cair ke formula atau pencelupan juga dapat diterapkan dalam pengasapan tersebut.

2.3. Komposisi Asap dan Faktor-faktor yang Mempengaruhi

Kamus Webster's mendefinisikan bahwa asap merupakan suspensi dari partikel padat dan cair dalam medium gas. Asap juga merupakan sistem kompleks, yang terdiri dari fase terdispersi cairan (partikel dalam asap mempunyai diameter 0,1 mm) dan medium pendispersi gas (uap air) (Foster dan Simpson, 1961 dalam Girard, 1992).



Gambar 1. Hubungan komponen-komponen dalam asap dan peranannya pada sifat-sifat produk (Girard, 1992)

Girard (1992) mengemukakan bahwa lebih dari 300 senyawa dapat diisolasi dari asap kayu dari keseluruhan yang jumlahnya lebih dari 1000. Senyawa yang berhasil dideteksi dalam asap dapat dikelompokkan menjadi beberapa golongan :

- a. Fenol, terdapat 85 macam yang telah diidentifikasi dalam kondensat dan 20 macam dalam produk asap.
- b. Karbonil, keton dan aldehid, 45 macam yang telah diidentifikasi dalam kondensat.
- c. Asam, 35 macam yang telah diidentifikasi dalam kondensat.
- d. Furan, 11 macam yang telah diidentifikasi dalam kondensat.
- e. Alkohol dan ester, 15 macam yang telah diidentifikasi dalam kondensat.
- f. Lakton, 13 macam yang telah diidentifikasi dalam kondensat.
- g. Hidrokarbon alifatik, 1 macam yang telah diidentifikasi dalam kondensat dan 20 macam dalam produk asap.
- h. Polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH), 47 macam yang telah diidentifikasi dalam kondensat, 20 macam dalam produk asap.

Girard (1992), juga mengemukakan bahwa komponen-komponen kimia dalam asap sangat berperan dalam menentukan kualitas produk pengasapan karena selain membentuk flavor, tekstur dan warna yang khas, pengasapan juga dapat menghambat kerusakan produk. Hubungan komponen-komponen dalam asap dan peranannya pada sifat-sifat produk pengasapan dapat dilihat pada gambar 1. di atas

Menurut Pszczola (1995), lebih dari 400 senyawa kimia telah dapat diidentifikasi dalam asap cair. Senyawa-senyawa tersebut meliputi asam-asam (asetat, propionat, butirat dan valerat) yang dapat mempengaruhi flavor, pH dan daya simpan produk, karbonil yang akan bereaksi dengan protein dan menghasilkan warna produk dan fenol yang merupakan sumber utama dari flavor dan menunjukkan aktivitas bakteriostatik dan antioksidan.

Komposisi asap dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya jenis kayu, kadar air kayu dan suhu pembakaran yang digunakan (Girard, 1992; Maga, 1987). Jenis kayu yang mengalami pirolisis menentukan komposisi asap. Kayu keras pada umumnya mempunyai komposisi yang berbeda dengan kayu lunak. Kayu keras (misalnya kayu *oak* dan *beech*) adalah paling umum digunakan karena pirolisis terhadap kayu keras akan menghasilkan aroma yang lebih unggul, lebih kaya kandungan senyawa aromatik dan senyawa asamnya

dibandingkan kayu lunak (kayu yang mengandung resin) (Fujimaki *et al.*, 1974 dalam Girard, 1992).

Kadar air kayu juga memberikan variasi terhadap komposisi asap. Jumlah kadar air yang meningkat menyebabkan kadar fenol yang rendah dan meningkatkan kadar senyawa karbonil. Flavor dari produk yang diasap pada kondisi ini bersifat lebih asam.

Suhu pembakaran kayu juga memberikan pengaruh terhadap komposisi asap. Menurut Hamm dan Potthast (1976) dalam Girard (1992), kadar maksimum senyawa fenol, karbonil dan asam tercapai pada suhu pirolisis 600°C. Produk yang diberi perlakuan asap yang diproduksi pada suhu 400 °C lebih unggul dalam mutu organoleptiknya terhadap produk yang diberi perlakuan asap pada suhu yang lebih tinggi.

Fretheim *et al.* (1980), mengemukakan bahwa dengan peningkatan temperatur sebesar 150°C (dari 350 – 500°C), secara nyata tidak merubah komposisi kondensat asap tetapi terjadi sedikit peningkatan efek antioksidatif dan tidak berpengaruh pada efek antimikrobianya. Fretheim *et al.* (1980), menyimpulkan bahwa temperatur optimum untuk pembuatan asap berkisar 400°C.

Ada tiga komponen yang mempengaruhi komposisi dari asap cair yaitu selulosa, hemiselulosa dan lignin. Ketiganya jika mengalami pirolisa akan menghasilkan asam, fenol, karbonil dan senyawa-senyawa lain yang terdapat dalam asap cair.

Selulosa merupakan penyusun kayu yang memberi sifat kuat pada tempurung kelapa dan kayu, sedangkan lignin berfungsi untuk membungkus dinding sel tersebut sehingga dinding sel akan menjadi kuat (winarno, 1979). Lignin akan lebih tahan terhadap panas jika dibandingkan dengan selulosa yaitu tahan pada suhu 350 C. Jika lignin dipirolisa akan menghasilkan senyawa-senyawa seperti methyl ester, pirogalol, tar dan lain-lain. Sedangkan pada selulosa jika mengalami pirolisa akan menghasilkan asam asetat, furan dan fenol. Selulosa akan mengalami pirolisa pada suhu 280 C (Zaitsev, 1969). Menurut Girard (1992), besarnya kadar selulosa juga akan menentukan kadar asam asetat, air, furan dan fenol pada asam cair yang dihasilkan.

Hemiselulosa berbeda dari selulosa karena mempunyai rantai molekul yang pendek serta adanya percabangan pada rantai molekul. Kandungan lignin untuk tiap-tiap tumbuhan yang berbeda akan bervariasi (fengel dan Wegener, 1995). Namun secara umum kandungan lignin yang terdapat dalam kayu keras berkisar

antara 20 – 40 %. Besarnya lignin akan menentukan aroma asap dari produk pengasapan, sebab komponen yang dihasilkan dari pirolisis lignin antara lain menghasilkan fenol dan eter fenolik seperti guaiakol dan siringol serta monolog dan turunannya yang berpengaruh terhadap aroma asap (Girard, 1992).

2.4. Interaksi Komponen Asap Kayu dengan Bahan Makanan

Interaksi antara komponen asap dengan bahan makanan dapat berupa penetrasi fisik sampai reaksi kimiawi, tergantung pada keadaan kimiawi komponen asap. Efek yang menguntungkan adalah pembentukan warna dan citarasa spesifik, dan sifat bakterisidal maupun antioksidatif. Pencemaran dengan senyawa beracun dan penurunan nilai gizi dapat pula terjadi. Kondisi produksi asap dan parameter pengolahan tentu berpengaruh terhadap nilai gizi, keamanan dan penerimaan konsumen terhadap produk akhir.

a. Pengaruh Pengasapan terhadap Nilai Gizi

Nilai gizi produk yang diasap akan dipertahankan oleh sifat antioksidatif yang dimiliki senyawa fenol yang terdapat dalam asap. Sifat antioksidatif tersebut datang dari senyawa fenol bertitik didih tinggi, terutama 2,6-dimetoksifenol, 2,6-dimetoksi-4-metilfenol; dan 2,6-dimetoksi-4-etilfenol. Fenol bertitik didih rendah menunjukkan sifat antioksidan yang lemah.

Cara memperoleh asap berpengaruh terhadap aktivitas antioksidatif. Asap yang diperoleh melalui penyalaan yang kecil akan mempunyai sifat antioksidatif yang kuat. Telah diketahui bahwa fase partikel mendatangkan sifat antioksidatif yang lebih baik daripada fase uap.

Kehilangan zat gizi juga dihambat oleh sifat bakterisidal asap. Sebenarnya sifat tersebut tercipta dari kombinasi antara efek pemanasan, pengeringan, dan komponen kimiawi asap. Bila berada di permukaan, komponen asap seperti formaldehid, asam asetat, dan kreosol ternyata mampu mencegah pembentukan spora dan pertumbuhan banyak bakteri dan jamur, dan menghambat kehidupan virus. Tampak bahwa yang berperan dalam hal ini adalah fenol bertitik didih tinggi. Sifat bakterisidal tersebut merupakan efek permukaan. Penetrasi komponen asap

ke bagian dalam makanan berjalan secara lambat. Oleh karena itu, asap tidak akan mempengaruhi mikroorganisme di bagian dalam produk.

Pengasapan selalu dikaitkan dengan perubahan beberapa gugus fungsional protein. Fenol dan polifenol asap cenderung bereaksi dengan gugus sulfhidril protein, sedang gugus karbonil asap bereaksi dengan gugus amino.

Pengaruh pengasapan pada nilai biologis protein daging telah dipelajari. Pengasapan mengakibatkan penurunan ketersediaan (*“availability”*) lisin. Diketahui adanya kehilangan ketersediaan lisin sebesar 44 persen pada daging sapi yang dipanaskan menggunakan asap, tetapi kehilangan tersebut hanya 15 persen bila pemanasan dilakukan dengan menggunakan udara. Pencelupan dalam asap cair, bukannya pengasapan tradisional, kemungkinan dapat mencegah pembentukan agregat protein dan meningkatkan nilai biologis produk.

Terdapat pendapat bahwa pengasapan dapat meningkatkan nilai biologis protein melalui hidrolisis selama penyimpanan. Peningkatan tersebut akan menaikkan pencernaan protein dan ketersediaan asam amino esensial.

Pada umumnya pengasapan dapat menurunkan kadar tiamin sebesar 2,25 persen, tetapi kehilangan niasin dan riboflavin dapat diabaikan. Kehilangan tersebut berkaitan dengan efek pemanasan. Karena sifat antioksidan yang dimiliki asap, kemungkinan vitamin yang larut dalam lemak akan terlindung.

b. Pengaruh Pengasapan terhadap Keamanan Pangan

Dua macam senyawa kimia yang diketahui bersifat karsinogenik ternyata dapat dijumpai dalam makanan yang diasap. Senyawa tersebut adalah hidrokarbon aromatik dan nitrosamin.

Hidrokarbon aromatik polisiklik terdapat pada asap kayu dan mengendap dengan mudah di permukaan makanan atau diserap oleh permukaan tersebut selama pengasapan tradisional. Salah satu contoh yang terkenal adalah benzo(a)piren.

Kadar senyawa hidrokarbon aromatik polisiklik pada makanan berkisar 1 – 58 ppb; kadar benzo(a)piren pada ikan lebih tinggi daripada pada daging. Tinggi rendahnya kadar senyawa tersebut dipengaruhi oleh cara memperoleh asap, bentuk asap yang dipakai (uap atau cair), dan suhu serta waktu pengasapan.

Hidrokarbon aromatik polisiklik terbentuk dari radikal metilen sebagai akibat dari adanya panas. Oleh karena itu, senyawa tersebut dapat ditekan dengan suhu pengasapan, atau menggunakan asap berbentuk cair.

Nitrosamin dijumpai dalam makanan yang diasap, tetapi konsentrasinya jauh di bawah kadar yang diketahui menyebabkan kanker pada hewan percobaan. Diduga peningkatan nitrosamin dan nitrit pada produk yang diasap berkaitan dengan terdapatnya nitrogen monooksida pada asap.

c. Pengaruh Pengasapan terhadap Sifat Sensoris

Warna bahan makanan yang diasap merupakan faktor penting dalam penerimaan konsumen. Pembentukan warna tersebut telah dibahas di bagian lain dari bab ini.

Citarasa spesifik yang dimiliki produk pengasapan datang dari senyawa fenol di fase uap asap, yang diserap oleh permukaan produk. Senyawa fenol yang dikaitkan dengan bau dan citarasa spesifik tersebut adalah guaiakol, 4-metilguaiakol, dan 2,6-dimetoksi fenol. Kesemuanya merupakan penyusun utama fase uap maupun fase partikel pada asap.

Suhu dan kelembaban menentukan perkembangan bau dan citarasa. Kelembaban diperlukan untuk memungkinkan penyerapan senyawa uap secara memadai. Suhu pengasapan harus diatur rendah untuk menghindari pengeringan yang berlebihan. Namun suhu pengasapan yang rendah dapat mengubah bau melalui penurunan penyerapan fenol bertitik didih tinggi. Jadi, metoda pengasapan sangat penting dalam pembentukan keseluruhan bau dan citarasa. Pengasapan menggunakan asap cair, yang memungkinkan penggunaan suhu rendah, mendatangkan perubahan pada bau "smoky" produk. Produk tersebut mengandung fenol lebih sedikit, aromanya lambat dan lebih enak daripada produk hasil pengasapan tradisional yang berbau tajam.

Perubahan tekstur juga terjadi akibat pengasapan karena bereaksinya komponen asap dengan protein permukaan. Pada produk yang diasap dijumpai adanya peningkatan fraksi stroma, dan penurunan fraksi nitrogen protein miofibrilar serta gugus sulfhidril bebas. Hal ini mungkin berkaitan dengan pembentukan ikat-silang protein permukaan yang berhubungan dengan perkembangan warna dan citarasa. Terjadinya ikat-silang menghasilkan kerak luar yang keras dan stabil, yang mungkin siap mengalami degradasi oleh panas, mikroba, gelatinisasi, dan air. Ikat-silang yang berlebihan akan menghambat penetrasi senyawa asap. Akibatnya, daerah di bawah permukaan tetap tidak terasapi, menjadi lunak dan cepat rusak karena degradasi, sementara itu di bagian luar terjadi pengkerasan.

2.5. Asap Cair dan Keunggulannya

Asap cair didefinisikan sebagai cairan kondensat dari asap kayu yang telah mengalami penyimpanan dan penyaringan untuk memisahkan tar dan bahan-bahan tertentu. Akhir-akhir ini penggunaan asap cair telah meluas di banyak negara seperti di Eropa, Afrika, Asia, Australia dan Amerika Latin. Di Amerika Serikat, penggunaan asap cair sangat umum dilakukan dimana diperkirakan 7 dari 10 pengolah daging menggunakan asap cair. Asap cair dapat diaplikasikan untuk memberikan flavor pada daging sapi, daging unggas, ikan salmon, keju oles, kacang dan makanan ringan lainnya; juga dapat digunakan untuk menambahkan flavor asap pada saus, sup, sayuran yang dikalengkan, bumbu dan campuran rempah-rempah, makanan binatang peliharaan, dan eberberapa pakan unggas (Pszczola, 1995).

Metoda pembuatan asap cair mulai dikembangkan pada akhir tahun 1880-an guna mengganti proses proses pengasapan tradisional yang mempunyai banyak kelemahan. Pada awal tahun 1970-an, seiring dengan kemajuan teknologi telah diproduksi asap cair dalam jumlah besar secara efisien yaitu dalam jumlah jutaan galon per tahun yang dijual secara luas (Pszczola, 1995).

Menurut Darmadji (1999), penggunaan asap cair lebih luas aplikasinya untuk menggantikan pengasapan makanan secara tradisional yang dilakukan secara manual yaitu bersama-sama dengan proses pemanasan. Dengan asap cair, pemberian aroma asap pada makanan akan lebih praktis karena dengan hanya dengan mencelupkan produk makanan tersebut dalam asap cair diikuti dengan pengeringan. Dengan demikian, pengasapan dapat berlangsung dengan mudah, cepat dan terkendali.

Penggunaan asap cair pada produk makanan mempunyai beberapa keuntungan dibandingkan pengasapan secara tradisional, diantaranya :

- a. Menghemat biaya yang dibutuhkan untuk kayu dan peralatan pembuatan asap,
- b. Dapat mengatur flavor produk yang diinginkan, dapat mengurangi komponen yang berbahaya (senyawa benzo(a)piren yang bersifat karsinogenik),
- c. Dapat digunakan secara luas pada makanan dimana tidak dapat diatasi dengan metode tradisional

- d. Dapat diterapkan pada masyarakat awam, mengurangi polusi udara dan komposisi asap cair lebih konsisten untuk pemakaian yang berulang-ulang (Draudt, 1963; Maga, 1978; Pszczola, 1995).

2.6. Pembuatan Asap Cair

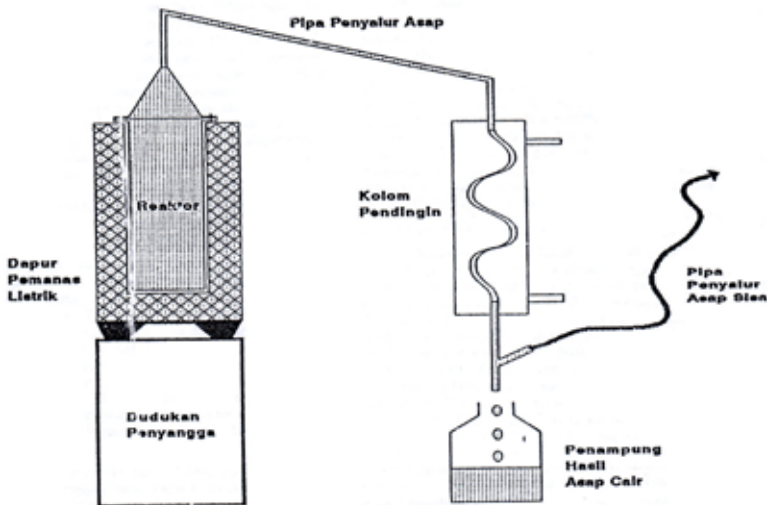
Asap cair diproduksi dengan cara kondensasi dari pirolisis komponen kayu. Tranggono dkk. (1996), mengemukakan bahwa dalam pembuatan asap cair bahan baku (kayu/tempurung kelapa) dimasukkan ke dalam reaktor pirolisis yang dilengkapi dengan rangkaian kondensasi dan kondensor pendingin. Reaktor tersebut berbentuk silinder dengan tinggi 40 cm dan diameter 20 cm serta dilengkapi dengan 2 buah termokopel yang dihubungkan dengan readout meter. Pemanas listrik berbentuk selubung reaktor dengan kapasitas 3 kW. Pipa penyalur asap berdiameter 2,5 cm dan panjang sekitar 150 cm, sedang pipa penyalur asap sisa diameternya 1,5 cm. Kolom pendingin memiliki diameter 20 cm dan tinggi 100 cm termasuk tipe double heat exchanger dengan air dialirkan pada sisi pipa luar. Sebagai penampung asap cair kasar digunakan botol kaca standar ukuran 1000 ml. Setelah bahan baku (kayu/tempurung kelapa) dimasukkan ke dalam reaktor pirolisis kemudian ditutup dan rangkaian kondensor dipasang. Kemudian dapur pemanas dihidupkan sampai suhu 350-400 °C. Asap yang keluar dari reaktor disalurkan ke kolom pendingin melalui pipa penyalur. Ke dalam kolom pendingin ini dialirkan air dingin dengan menggunakan pompa. Embunan berupa asap cair ditampung dalam botol, sedangkan asap yang tidak bisa diembunkan dibuang melalui pipa penyalur asap sisa. Asap cair yang terkumpul masih tercampur dengan tar, bila akan diaplikasikan ke dalam makanan perlu dilakukan pemisahan dengan sentrifugasi 2000 rpm selama 20 menit. Diagram alat pembuatan asap cair dengan metode kondensasi dapat dilihat pada Gambar 2 (Tranggono dkk., 1996)

Menurut Hollenceck (1977), ada tiga cara yang umum digunakan untuk pembuatan asap cair yaitu dengan cara :

- a. Pembakaran serbuk gergaji kayu di bawah kondisi oksidasi terkontrol dan absorpsi asal dalam air,
- b. Pembakaran serbuk gergaji kayu di bawah kondisi oksidasi terkontrol dan kondensasi asap menjadi larutan dalam kondensor
- c. Mengkontakkan serbuk gergaji kayu dengan uap yang sangat panas dan kondensasi dari uap yang didestilasikan.

Redestilasi merupakan salah satu cara pemurnian terhadap asap cair, yaitu merupakan proses pemisahan kembali suatu larutan berdasarkan perbedaan titik didihnya. Redestilasi asap cair dilakukan untuk menghilangkan senyawa-senyawa yang tidak diinginkan dan berbahaya seperti poliaromatik hidrokarbon (PAH) dan tar, dengan cara pengaturan suhu didih sehingga diharapkan didapat asap cair yang jernih, bebas tar dan benzopiren.

Menurut Darmadji (2002), pemurnian asap cair dengan cara redistilasi dilakukan dengan cara sebagai berikut : Asap cair dimasukkan dalam labu distilasi, dipanaskan menggunakan pemanas listrik dengan media pemanas oli. Suhu yang ditera adalah suhu asap cair dalam labu distilasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa optimasi redistilasi adalah pada kondisi suhu redistilasi 122,5 C, waktu redistilasi antara 69 menit dan suhu kondensasi antara 24 °C. Pada kondisi optimum tersebut kadar tar tidak tertera, sedangkan kadar fenol, karbonil dan asam berturut-turut 2,24 %, 5,60 % dan 15,7 % serta rendemennya 42,2 %.



Gambar 2. Diagram alat pembuatan asap cair dengan metode kondensasi (Tranggono dkk., 1996)

Kondensat asap dapat diperoleh dan digunakan dalam berbagai bentuk yaitu dapat dilarutkan dalam air, minyak atau ekstrak asap dalam pelarut organik, juga dapat diserap oleh bahan-bahan padat seperti bumbu, garam, gula, pati atau

protein yang menghasilkan bentuk kering atau bubuk (Gorbatov *et al.*, 1971; Maga, 1987).

Interaksi komponen asap dengan bahan makanan dapat berupa penterasi fisik sampai reaksi kimia, tergantung pada keadaan kimia komposisi asap. Proses fisik yang terjadi selama proses pengasapan tradisional meliputi adhesi, adsorpsi, kondensasi, difusi dan absorpsi (Ruiter, 1979; Girard, 1992).

2.7. Pirolisis Kayu

Tiga komponen utama dari kayu adalah selulosa, hemiselulosa dan lignin. Proporsi dari tiga polimer struktural ini bervariasi tergantung dari jenis kayu. Senyawa-senyawa yang lain seperti resin dan minyak esensial terdapat dalam jumlah kecil (Girard, 1992; Kollman and Cote, 1984).

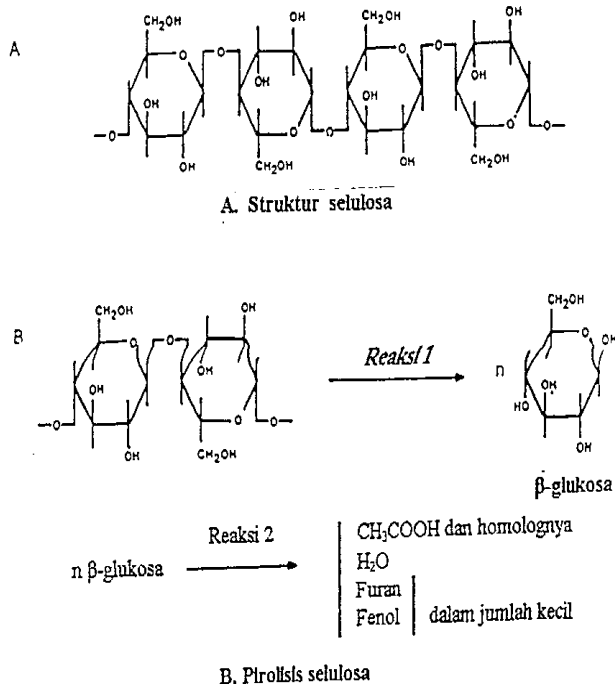
Pembakaran kayu yang sempurna menyebabkan terbentuknya air, gas CO₂ dan residu mineral. Produksi asap merupakan hasil pembakaran yang tidak sempurna, yang melibatkan : dekomposisi, reaksi oksidasi, polimerisasi dan kondensasi (Girard, 1992).

Menurut Maga (1987), sampai dengan temperatur 170°C terjadi kehilangan air dan pengeringan. Dekomposisi hemiselulosa terjadi pada suhu 200 – 260°C dilanjutkan dengan dekomposisi selulosa pada suhu 260 – 310°C dan dekomposisi lignin pada suhu 310 – 500°C. Pada temperatur lebih dari 500°C terjadi reaksi sekunder termasuk oksidasi, polimerisasi, kondensasi dan pirolisis.

a. Pirolisis selulosa

Selulosa merupakan komponen kayu yang terbesar, dalam kayu lunak dan keras jumlahnya mencapai hampir setengahnya. Selulosa merupakan polimer linier dengan berat molekul tinggi yang tersusun atas b-D glukosa (Gambar 2.2. A). Struktur rantai ini mengandung gugus 100 – 1000 (Fengel and Wegener, 1995; Girard, 1992).

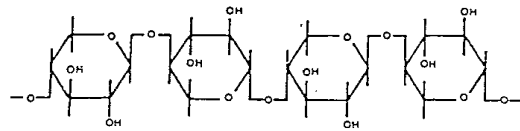
Gilbert and Knowles (1975) dalam Girard (1992), melaporkan bahwa pirolisis selulosa terdiri dari dua tahap : (a) reaksi pertama merupakan hidrolisa asam yang diikuti dengan dehidrasi untuk menghasilkan glukosa, (b) reaksi kedua adalah pembentukan asam asetat dan homolognya, bersama-sama dengan air dan kadang-kadang sejumlah furan dan fenol, walaupun pembentukan ini lebih dering berhubungan dengan pirolisis hemiselulosa dan lignin (Gambar 3.)



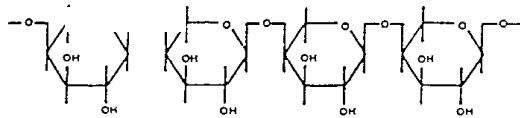
Gambar 3. Struktur dan pirolisis selulosa (Girard, 1992)

b. Pirolisis Hemiselulosa

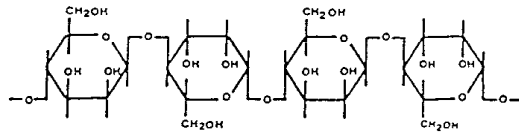
Hemiselulosa merupakan polisakarida dengan berat molekul yang relatif rendah dan terdapat dalam dinding sel tanaman bersama-sama dengan lignin dan selulosa. Rantai molekul hemiselulosa jauh lebih pendek dibandingkan dengan selulosa, dan dalam beberapa senyawa mempunyai rantai cabang. Kandungan hemiselulosa dalam kayu keras lebih besar dalam kayu lunak (Fengel dan Wegener, 1995).



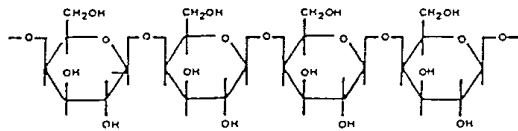
Xilan : β -1,4 *n* D-Xilanosa



Araban : β -1,4 *n* L-Arabinosa



Mannan : β -1,4 *n* D-Manosa

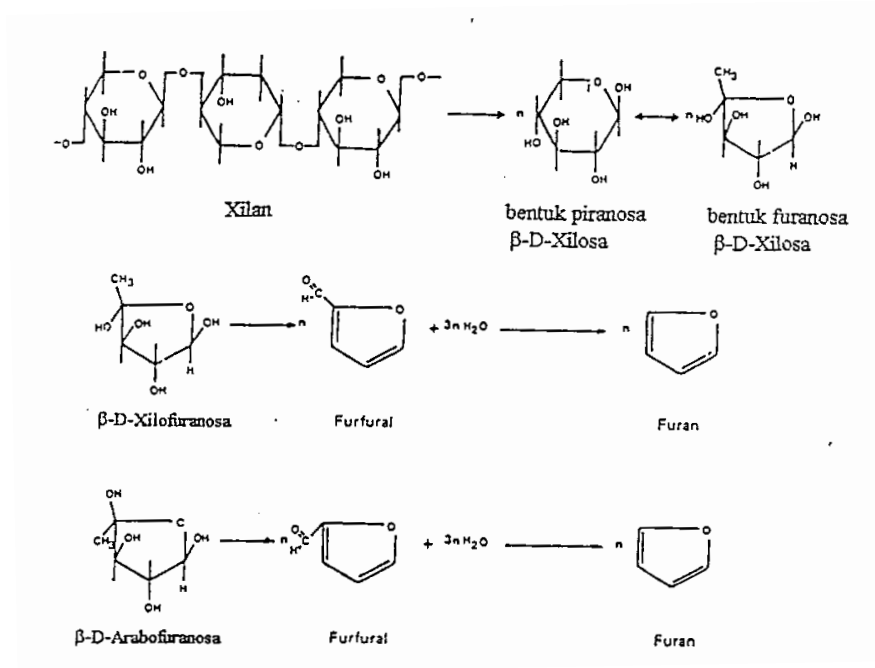


Galaktosan : β -1,4 *n* D-Galaktosa

Gambar 4. Struktur hemiselulosa (Girard, 1992)

Hemiselulosa tersusun dari pentosan ($C_5H_8O_4$) dan heksosan ($C_6H_{10}O_5$), dan rata-rata proporsi ini bervariasi tergantung dari spesies kayu. Pentosan terdiri dari dua kelompok utama yaitu xilan dan araban dimana xilan lebih mendominasi dibandingkan araban. Struktur hemiselulosa dapat dilihat pada Gambar 5. Pirolisis dari pentosan membentuk furfural, furan dan turunannya beserta suatu seri yang panjang dari asam karboksilat (Gambar 5.)

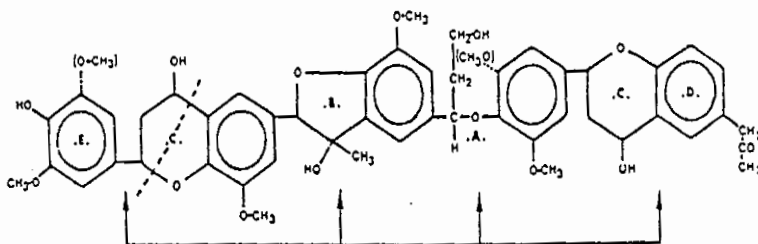
Heksosan juga terdiri dari dua kelompok utama, yaitu mannan dan galaktan, dimana unit dasarnya secara berturut-turut adalah manosa dan galaktosa. Bersamaan dengan selulosa, pirolisis heksosan membentuk asam asetat dan homolognya (Girard, 1992).



Gambar 5. Pirolisis Pentosan (Girard, 1992)

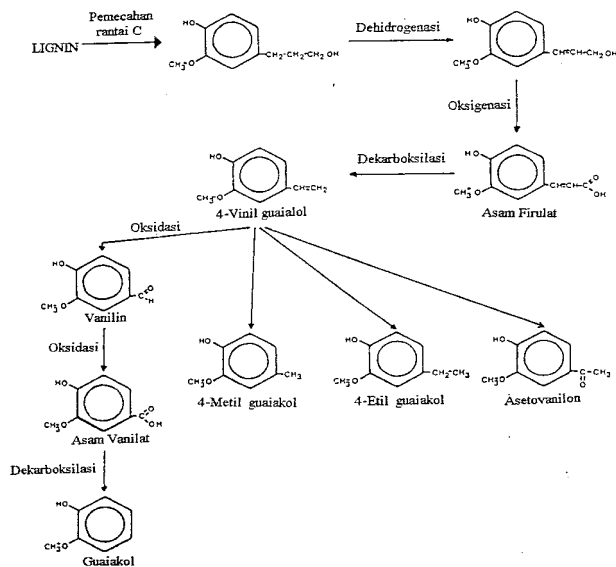
c. Pirolisis Lignin

Lignin merupakan suatu komponen makromolekul kayu yang ketiga. Struktur molekul lignin sangat berbeda bila dibandingkan dengan polisakarida karena terdiri atas sistem aromatik yang tersusun atas unit-unit fenilpropana (Gambar 6).



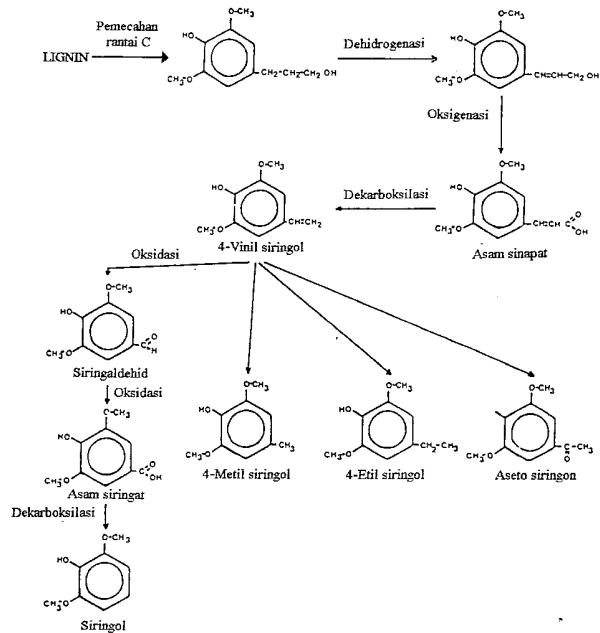
Gambar 6. Struktur Lignin (Girard, 1992)

Senyawa-senyawa yang diperoleh dari hasil fraksinasi komponen ini berperan terhadap aroma asap dari produk-produk hasil pengasapan. Senyawa-senyawa ini adalah fenol dan eter fenolik seperti guaiacol (2-metoksi fenol) dan homolog serta turunannya (Fengel dan Wegener, 1995; Girard, 1992).



Gambar 7. Mekanisme pirolisis lignin dari kayu lunak (Girard, 1992).

Struktur kimia lignin antara kayu keras dan kayu lunak berbeda yaitu pada bentuk senyawa metoksi dalam cincin aromatiknya, sehingga menyebabkan perbedaan pada hasil pirolisisnya. Pembakaran kayu lunak terutama menghasilkan guaiakol, sedangkan kayu keras menghasilkan siringol (Girard, 1992). Adapun mekanisme pirolisis lignin pada kayu lunak dan kayu keras ditunjukkan pada gambar 7 dan 8.



Gambar 8. Mekanisme pirolisis lignin dari kayu keras (Girard, 1992).

2.7. Metode Penggunaan Asap Cair

Pengasapan bahan makanan dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu perlakuan konvensional pada kondisi panas atau dingin dengan cara kontak dengan aerosol asap pada ruang pengasapan, pengasapan elektrostatis dan perlakuan dengan kondensat asap cair (Girard, 1992).

Metode pengasapan asap cair pada produk makanan ada beberapa cara, antara lain :

- a. **Pencampuran** (penambahan langsung ke dalam produk makanan). Untuk produk daging olahan, aroma asap ditambahkan dalam jumlah yang bervariasi ke dalam penggilingan. Metode ini dapat digunakan untuk sosis tipe *franfurter*

dan *salami*, keju oles, emulsi daging, bumbu daging panggang dan lain-lain (Girard, 1992); Hollenbeck, 1977; Pszczola, 1995). Menurut Gorbatov *et al.* (1971), banyaknya asap cair yang ditambahkan pada produk sosis antara 0,1 – 1 % dari berat daging.

- b. **Pencelupan.** Pada metode ini, produk yang diasap direndam dalam cairan yang mengandung asap dalam waktu yang berkisar 5 – 60 detik. Perlakuan pencelupan dalam asap cair berpengaruh terhadap warna produk pengasapan, tetapi rasa asapnya sangat lemah. Produk yang dipelakukan dengan cara ini menunjukkan muat organoleptiknya yang memuaskan secara keseluruhan. Metode ini terutama dilakukan untuk daging babi, daging bahu, daging perut dan sosis; juga apda industri keju Italia, dimana keju dicelup atau direndam dalam larutan garam asap (Girard, 1992; Hollenbeck, 1997)
- c. **Cara Injeksi** (penyuntikan). Aroma asap ditambahkan ke dalam larutan yang akan disuntikkan dalam jumlah yang bervariasi yaitu 0,25 – 1 %. Metode ini memberikan flavor dan pengulangan yang seragam pada daging ham dan mudah dilakukan pada daging babi bagian perut. (Girard, 1992).
- d. **Atomisasi.** Aroma asap diatomisasikan ke dalam sebuah saluran dimana produk itu bergerak. Cara ini memberikan kenampakan asap dalam produk termasuk daging perut, sosis dan ham. Hasil yang diperoleh dengan cara ini dilaporkan mempunyai kualitas organoleptik yang baik (Girard, 1992; Hollenbeck, 1997; Pszczola, 1995).
- e. **Penyemprotan.** Penyemprotan larutan asap di atas produk merupakan cara utama penggunaan asap cair dalam pengolahan daging secara kontinyu (Hollenbeck, 1977).
- f. **Penguapan.** Menguapkan asap cair dari permukaan yang panas sehingga mengubah kembali bentuk cairan menjadi bentuk uap (asap) dan menggunakannya untuk pengasapan produk (Hollenbeck, 1977).

BAB 3. SENYAWA ANTIMIKROBIA DALAM ASAP CAIR

3.1. Pendahuluan

Daun (1979), mengemukakan bahwa efek bakterisidal yang timbul selama proses pengasapan tradisional merupakan akibat adanya peristiwa pemanasan, pengeringan dan adanya senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam asap. Diantara ketiga hal tersebut, adanya senyawa-senyawa kimia dalam asap merupakan faktor utama. Pada waktu senyawa-senyawa tersebut menempel di bagian permukaan bahan, maka senyawa-senyawa seperti formaldehid, asam asetat dan creosot akan menghambat pembentukan spora dan pertumbuhan beberapa jenis bakteri dan jamur. Efek bakterisidal dari asap merupakan efek permukaan sedangkan penetrasi senyawa-senyawa tersebut ke dalam produk merupakan peristiwa yang berlangsung lambat sehingga proses pengasapan yang singkat tidak dapat menghambat aktivitas mikrobia.

Efek bakteriostatik dari asap terutama oleh senyawa fenol yang bertitik didih tinggi. Senyawa fenol menghambat pertumbuhan bakteri dengan memperpanjang fase lag sehingga bila konsentrasi fenol sangat tinggi kecepatan fase eksponensial tidak berubah (Barylko – Pikielna, 1977; Daun, 1979).

Efek bakterisidal dari asap disebabkan oleh adanya beberapa komponen yang terkandung didalamnya, yaitu formaldehid, asam-asam organik, fenol dan komponen organik lainnya. Sedangkan efek antiseptik yang diberikan oleh proses pengasapan adalah karena proses pemanasan, pengeringan dan kombinasi keduanya (Hadiwiyoto, 1992).

Menurut Girard (1992), disamping sifat bakteriostatik dan bakterisidal dari komponen-komponen asap selama perlakuan, terlihat juga adanya efek residual dari asap selama penyimpanan. Pada saat pengasapan, populasi dari mikroba secara praktis sangat rendah, tetapi sebagai akibat perlakuan

yang diberikan selama penyimpanan (pengepakan, pengirisan, dan lain-lain), jumlah bakteri meningkat secara tajam.

Sejumlah peneliti melaporkan efek antimikrobia yang spesifik dari asap cair. Olsen (1976) dalam Maga (1987), menunjukkan bahwa sediaan asap cair yang digunakan pada konsentrasi 6,5 g/kg dapat memperpanjang fase lag *Staphylococcus aureus* sejumlah 10^5 CFU/ml selama 4 hari pada suhu 30°C. Jika digunakan konsentrasi asap 9,8 g/kg dapat memperpanjang fase lag menjadi 14 hari. Olsen juga mengevaluasi bahwa pada konsentrasi 3,5 g/kg daging dapat memperpanjang fase lag bakteri secara nyata pada daging babi giling.

Messina *et al.* (1988), melaporkan bahwa semua produk asap cair yang diuji efektif dalam menghambat pertumbuhan kultur murni *Listeria monocytogenes*. Metoda pencelupan dan penyemprotan membuktikan keefektifan produk CharSol-10 dalam mengontrol pertumbuhan *L. monocytogenes* pada *frankfurter* yang terkontaminasi setelah pengisian. Lindner (1991), juga telah meneliti bahwa asap cair dapat menghambat pertumbuhan *Listeria monocytogenes* yang diinokulasikan pada produk daging.

Kombinasi asap cair dengan sodium chloride (NaCl) telah diteliti dan ternyata efektif pada pencegahan pertumbuhan dan produksi toksin yang berhubungan dengan spora *Clostridium botulinum* tipe A dan E pada beberapa strain ikan yang disimpan pada suhu 25°C selama 7 dan 14 hari. Dengan penggunaan asap cair, secara efektif dapat menurunkan konsentrasi garam yang digunakan dari 4,6% menjadi 2,8% dan masih memberi perlindungan selama 7 hari. Nampaknya fraksi asap menjadi efektif bila digunakan bersama-sama dengan bahan pengawet kimia seperti garam, dan menyebabkan semakin rendahnya jumlah garam yang dibutuhkan untuk pengawetan. Hal ini merupakan keuntungan khusus dalam pengawetan produk makanan khususnya yang menggunakan sejumlah garam, dimana dapat memenuhi anjuran pengurangan intake garam pada diet kita (Eklind 1982).

Hasil penelitian Donnelly *et al.* (1982) menunjukkan bahwa asap cair dapat digunakan pada pengolahan sosis fermentasi karena tidak mengganggu kualitas produk akhir sosis meskipun pertumbuhan eksponensial dari starter bakteri asam laktat diperlambat sehingga disarankan penggunaan asap cair untuk tingkat industri. Stolic (1975), juga

menunjukkan bahwa penggunaan asap cair pada dosis 0,03 – 0,6 ml/100 ml tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan lactobacilli yang bermanfaat pada fermentasi daging.

3.2. Senyawa Antimikrobia dalam Asap Cair

Pszczola (1995), mengemukakan bahwa dua senyawa utama dalam asap cair yang diketahui mempunyai efek bakterisidal / bakteriostatik adalah fenol dan asam-asam organik. Dalam bentuk kombinasinya, kedua senyawa tersebut bekerja sama secara efektif untuk mengontrol pertumbuhan mikrobia. Menurut Girard (1992), senyawa-senyawa dalam asap seperti fenol, formaldehid dan asam organik bersifat bakteriostatik sehingga berpengaruh terhadap masa simpan produk pengasapan.

Fenol

Sekitar 20 jenis fenol dari asap kayu telah dapat diisolasi dan diidentifikasi, diantaranya cyclofenol, guaiakol, 4-metilguaiakol, maltol, m-cresol, p-cresol, 4-etilguaiakol, eugenol, 4-vinilguaiakol, cis-isoeugenol, siringol, trans-isoeugenol, 2,6-dimetoksi-4-metilfenol, 2,6-dimetoksi-4-etilfenol, 2,6-dimetoksi-4-aliilfenol, vanilin, 2,6-dimetoksi-4-vinilfenol, 2,6-dimetoksi-4-cis-propenilfenol, asetovanilon, 2,6-dimetoksi-4-transpropenilfenol, siringaldehid, acetosiringon, propiosiringon, coniferaldehid, sinapaldehid (Lustre and Issenberg, 1970).

Fenol dan derivat non halogenya telah digunakan lebih dari 100 tahun sebagai antiseptik untuk mengontrol pertumbuhan mikroorganisme dan kegunaan dalam mengontrol pertumbuhan mikrobia dalam makanan baru diketahui akhir-akhir ini. Penggunaan senyawa fenol sebagai antimikrobia pada makanan dibatasi karena efek toksiknya. Konsentrasi penambahan fenol yang disarankan berkisar 0,02 – 0,1% tergantung dari produknya (Davidson and Branen, 1981; Volk and Weeler, 1973).

Fenol merupakan antiseptik dan desinfektan yang efektif terhadap bentuk vegetatif bakteri gram positif dan gram negatif, mycobakteria, beberapa fungi dan virus, tetapi kurang efektif terhadap bentuk spora. Dalam bentuk larutan sampai konsentrasi 1% fenol berfungsi sebagai bakteriostatik, sedangkan pada konsentrasi yang lebih tinggi berperan

sebagai bakterisidal. Fenol pada konsentrasi 0,5 – 1% bisa digunakan sebagai anastesi lokal dan dapat diinjeksikan sampai 10 ml pada jaringan sebagai analgesik (Reynolds, 1993).

Senyawa fenol berbentuk kristal halus, tidak berwarna atau merah muda pucat atau kuning pucat dan berwarna gelap dengan penyimpanan, berbau spesifik. Sangat larut dalam alkohol, kloroform, eter dan gliserol. Larut dalam 1 : 15 bagian air dan 1 : 70 bagian parafin cair. Fenol lebih aktif dalam larutan asam. Penyimpanan sebaiknya pada suhu dibawah 15°C, dalam tabung yang tertutup rapat dan terlindungi dari cahaya (Reynold, 1993).

Menurut Davidson dan Branen (1981), mekanisme aktivitas senyawa antimikrobia fenol meliputi antara lain : a) reaksi dengan membran sel yang menyebabkan meningkatnya permeabilitas membran sel dengan akibat hilangnya isi sel, b) inaktivasi enzim-enzim esensial, c) perusakan atau inaktivasi fungsional material genetik.

Kemampuan pemulihan kembali dari sel akibat mekanisme-mekanisme tersebut menunjukkan efek bakteriostatik atau kematian. Bagian reaktif dari senyawa-senyawa antimikrobia fenol adalah gugus hidroksil bebasnya. Substitusi gugus samping dapat memodifikasi reaktifitas senyawa tersebut dengan akibat meningkat atau menurunnya aktivitas antimikrobia (Davidson and Branen, 1981).

Para peneliti melaporkan bahwa makin tinggi konsentrasi fenol akan mengendapkan semua protein sel, sedangkan makin rendah konsentrasinya akan menghambat enzim esensial secara efektif. Fogg and Lodge (1945) dalam Davidson dan Branen (1981), menemukan bahwa tahap yang membatasi kecepatan penghambatan senyawa fenol adalah penetrasi senyawa tersebut ke dalam sel yang berkaitan dengan kelarutannya dalam lemak.

Asam Organik

Porter *et al.* (1965), mengemukakan bahwa asam organik dengan 1 sampai 10 atom karbon merupakan penyusun asap secara keseluruhan. Hanya asam beratom karbon satu sampai empat saja yang banyak dijumpai pada fase uap dalam asap, sedang yang berantai 5 sampai 10 berada di fase partikel asap. Jadi asam-asam format, asetat, propionat, butirat dan isobutirat tdkapat pada fase uap asap; sedang asam-asam valerat, isovalerat,

kaproat, heptilat, nonilat dan kaprat berada di fase partikel asap. Menurut Tilgner *et al* (1962) dalam Girard (1992), jumlah asam merupakan 40% dari destilat kondensat asap.

Asam asetat merupakan cairan jernih tidak berwarna, dengan bau menyengat dan rasa asam yang tajam. Dalam larutan, asam asetat terionisasi lemah Karena $= 1,8 \times 10^{-5}$, $pK = 4,75$. pH larutan 1,0 M = 2,4; 0,1 M = 2,9; 0,01 M = 3,4. Asam asetat merupakan pelarut yang baik untuk senyawa organik, dapat bercampur dengan air, alkohol, glyserol dan lemak. Tidak bereaksi dengan karbonat dan fosfat, titik didih 39°C , titik cair $-8,5^{\circ}\text{C}$ (Ray and Sandine, 1993; Reynold, 1993).

Larutan asam asetat dapat disterilkan dengan autoklaf, penyimpanan harus dalam botol yang tertutup rapat. Asam asetat mempunyai aktivitas antibakteri dan pada konsentrasi 5% mempunyai efek bakterisidal. Asam asetat bersifat mampu menembus dinding sel dan secara efisien mampu menetralkan gradien pH transmembran. Dilaporkan bahwa senyawa ini efektif terhadap bakteri dari genus *Haemophylus*, *Pseudomonas*, *Candida* dan *Trichomonas* (Ray and Sandine, 1993; Reynold, 1993).

Efek antimikrobia asam organik lemah dihasilkan dari efek kombinasi dari molekul yang tidak terdisosiasi dan molekul yang terdisosiasi. Efek antimikrobia yang diakibatkan oleh molekul yang tidak terdisosiasi secara langsung dapat mengasamkan sitoplasma, merusak tegangan permukaan membran dan hilangnya transport aktif makanan melalui membran sehingga menyebabkan destabilisasi bermacam-macam fungsi dan struktur komponen sel (Ray and Sandine, 1993; Ray, 1996).

Efek antimikrobia asam organik lemah yang diakibatkan oleh molekul yang terdisosiasi (menghasilkan H^+ dan anion) menyebabkan penurunan pH lingkungan hidupnya dan dapat kontak dengan dinding sel bakteri, membran sel, ruang periplasmik dan permukaan luar sitoplasma atau membran sebelah dalam sel sehingga menyebabkan efek perusakan dari sel bakteri. Pada pH lingkungan hidup yang sangat rendah, asam asetat dapat menyebabkan denaturasi enzim dan ketidakstabilan permeabilitas membran sel bakteri sehingga menghambat pertumbuhan dan menurunkan daya hidup sel bakteri (Ray and Sandine, 1993).

Efek antimikrobia dari asam lemah tergantung pada jenis asam, konsentrasi dan pK asam, pH lingkungan, waktu dan temperatur kontak serta spesies / strain bakteri. Adapun efek yang dihasilkan tidak hanya

dengan menurunkan pH internal dan menetralkan tegangan proton tetapi juga menyebabkan lika-luka sublethal dan efek berbahaya lain yang tidak teridentifikasi (Ray and Sandine, 1993).

Formaldehid

Larutan formaldehid merupakan larutan desinfektan yang aktif terhadap bakteri, fungi dan berbagai virus tetapi keefektifannya lambat terhadap spora bakteri, efek sporisidalnya meningkat dengan adanya peningkatan temperatur (Reynold, 1993).

Menurut Reynold, (1983), larutan formaldehid merupakan larutan jernih, tidak berwarna / hampir tidak berwarna dan berbau menusuk dengan uap yang merangsang selaput lendir hidung dan tenggorokan, jika disimpan di tempat dingin dapat menjadi keruh. Formaldehid dapat bercampur dengan air dan etanol 95% tetapi tidak dapat bercampur dengan kloroform dan eter. Penyimpanan formaldehid dalam wadah tertutup, terlindung dari cahaya dan sebaiknya pada suhu lebih dari 20°C.

Penggunaan formaldehid pada makanan tidak diijinkan karena efek toksiknya, kecuali sebagai konstituen dalam asap kayu (Frazier and Westhoff, 1981), sedangkan menurut Ruitter (1979) kadar formaldehid yang terdapat dalam asap cair sebesar 710 ppm. Di Inggris batas maksimum terkena formaldehid adalah 2 ppm, sedangkan di USA batas yang diijinkan adalah 1 sampai 2 ppm (Reynold, 1993).

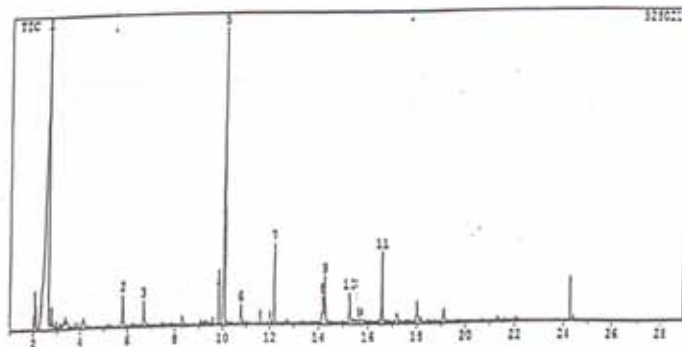
Formaldehid dapat bergabung dengan gugus amino bebas dari protein protoplasma sel bakteri, dapat merusak inti dan dapat menyebabkan koagulasi protein sel bakteri (Frazier and Westhoff, 1981).

3.3. Kandungan Senyawa Antimikrobia dalam Asap Cair

a. Penentuan jenis senyawa antimikrobia dalam asap cair dengan GC-MS

Asap cair dilarutkan dalam eter (5 ml asap cair ditambahkan 5 ml eter), kemudian diambil sebanyak 0,08 µl dan diinjeksikan ke GC-MS. Campuran senyawa yang dilewatkan GC akan terpisah menjadi komponen-komponen individual. Beberapa komponen yang dominan dianalisis lebih lanjut dengan spektrometri massa, sehingga dapat ditentukan jenis senyawanya.

Kondisi operasi alat adalah sebagai berikut : suhu diprogram 50-250 C, dengan kenaikan 10 C/menit. Jenis kolom : CBP-5 (Fased Silica non polar, panjang kapiler 30 meter), jenis pengion :EI (Elektron Impact) 70 eV, suhu injektor 280 C, suhu detektor 280 C. Aliran gas He dengan kecepatan 0,2 ml/menit dengan tekanan 20 kg/cm².



Gambar 9. Kromatogram asap cair tempurung kelapa dengan GC-MS

b. Penentuan konsentrasi senyawa antimikrobia dalam asap cair dengan GC

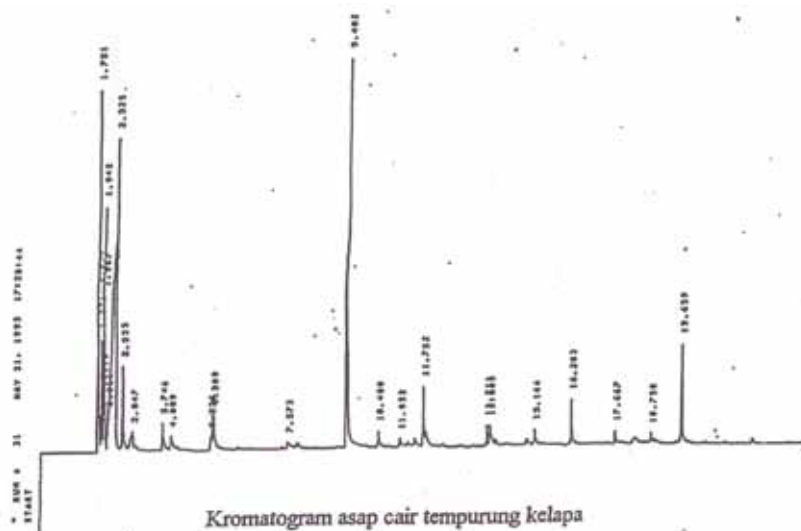
Standard yang digunakan adalah fenol konsentrasi 50 % dan asam asetat glasial konsentrasi 98 %. Jumlah asam asetat glasial yang diinjeksikan 0,04 µl dan fenol 0,1 µl. Konsentrasi senyawa fenol dan asam asetat dihitung berdasarkan luas area yang diperoleh dibandingkan dengan luas area standar yang telah diketahui konsentrasinya.

Kondisi operasi alat adalah sebagai berikut : suhu diprogram 50-200 °C, dengan kenaikan 10 °C/menit. Jenis kolom : HP-5 (crosslinked 5% phenyl methyl silikon, panjang kapiler 30 meter), jenis detektor FID, suhu injektor 260 °C, , suhu detektor 270 °C. Gas pembawa N₂ dengan kecepatan alir 50 ml/menit, split = 50 Kpa. Adapun jumlah asap cair yang diinjeksikan 0,1 µl.

c. Kandungan senyawa antimikrobia dalam asap cair tempurung kelapa

Analisis asap cair tempurung kelapa dengan menggunakan GC-MS, menunjukkan bahwa dua senyawa utama dalam asap cair tempurung

kelapa adalah fenol dan asam asetat masing-masing dengan konsentrasi 1,28 % dan 9,60 % dimana keduanya merupakan senyawa antimikrobia. Hasil penelitian ini sesuai dengan pendapat Pszczola (1995), yang menyatakan bahwa dua senyawa utama dalam asap cair yang diketahui mempunyai efek bakterisidal / bakteriostatik adalah fenol dan asam-asam organik.



komersial di luar negeri yaitu asap cair Hickory Specialities Code 10, Griffith Laboratories Royal Smoke 16 yang rata-rata mempunyai kadar asam sebesar 10-11 % dan kadar fenol sebesar 0,9-1,6 % (Eklund *et.al.*, 1982).

Hasil analisa proksimat dari tempurung kelapa, menunjukkan bahwa kadar air kayu sebesar 13,12 %, kadar selulosa sebesar 29,66 %, kadar hemiselulosa sebesar 18,35 % dan kadar lignin sebesar 41,72 %. Menurut Girard (1992), terdapatnya senyawa fenol dalam asap cair merupakan salah satu hasil pirolisis dari selulosa dan lignin, sedangkan terdapatnya asam asetat dalam asap cair merupakan salah satu hasil pirolisis dari selulosa dan hemiselulosa.

Pirolisis selulosa terjadi dalam 2 tahap yaitu reaksi hidrolisis selulosa menjadi b-glukosa yang dilanjutkan dengan perubahan b-glukosa menjadi asam asetat dan homolognya air, furan dan fenol. Pirolisis pentosan (hemiselulosa) membentuk furfural, furan dan fenol. Pirolisis heksosan (hemiselulosa), bersama-sama selulosa membentuk asam asetat dan homolognya. Pirolisis lignin dari kayu lunak menghasilkan guaiakol, 4-metil guaiakol, 4-etil guaiakol dan asetovanilon, sedangkan pirolisis lignin dari kayu keras menghasilkan siringol, 4-metil siringol, 4-etil siringol dan asetosiringon (Girard, 1992).

BAB 4. AKTIVITAS ANTIBAKTERI ASAP CAIR TERHADAP BAKTERI PADA DAGING

4.1. Bakteri Patogen dan Perusak pada Daging

Soeparno (1992), mengemukakan bahwa daging sangat memenuhi syarat bagi pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme, karena daging mempunyai kadar air yang cukup tinggi (68-75) %, kaya akan zat yang mengandung nitrogen dengan kompleksitasnya yang berbeda, mengandung sejumlah karbohidrat yang dapat difermentasi, kaya mineral dan kelengkapan faktor untuk pertumbuhan mikroorganisme dan mempunyai pH yang menguntungkan bagi pertumbuhan mikroorganisme.

Mikroorganisme-mikroorganisme yang berasal dari daging dapat berasal dari infeksi pada ternak hidup atau kontaminasi daging *postmortem*. Kontaminasi permukaan daging atau karkas dapat terjadi saat penyembelihan ternak hingga daging dikonsumsi. Di rumah potong hewan (RPH), sumber kontaminasi atau infeksi dapat berasal dari tanah disekitarnya, kulit (kotoran pada kulit), isi saluran cerna, air, alat-alat yang dipergunakan selama proses mempersiapkan karkas (misalnya pisau, gergaji dan lain-lain), kotoran, udara dan para pekerja. Di RPH yang dikelola secara tradisional memungkinkan terjadinya kontaminasi yang lebih besar. Mikroorganisme yang berasal dari para pekerja diantaranya *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium welchii* dan *Streptococcus* dari tinja. *Clostridium botulinum* yang berasal dari tanah juga dapat mengkontaminasi daging atau karkas (Soeparno, 1992).

Awal kontaminasi pada daging berasal dari mikroorganisme yang memasuki peredaran darah pada saat penyembelihan jika alat-alat yang dipergunakan untuk pengeluaran darah tidak steril dan darah masih bersirkulasi beberapa saat setelah penyembelihan. Kontaminasi selanjutnya dapat terjadi melalui permukaan daging selama daging diproses sampai

dikonsumsi. Besarnya kontaminasi mikrobial pada daging akan menentukan kualitas dan masa simpan daging dan daging proses (Soeparno, 1992).

Menurut Mountney dan Gould (1988), beberapa bakteri yang umumnya menimbulkan kerusakan pada daging diantaranya dari genus : *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Bacillus* dan *Micrococcus*. Sedangkan bakteri penyebab keracunan makanan yang sering ditularkan melalui daging antara lain *Clostridium perfringens*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Siliker et al., 1980)

Escherichia coli

Bakteri ini merupakan bagian terbesar dari flora usus manusia dan hewan. Didalam usus berkembang biak dan dapat mengalami proses mutasi dari *E. coli* tidak patogen menjadi *E. coli* patogen atau sebaliknya sehingga manusia atau hewan dapat sebagai pembawa strain ganas. Dirumah potong hewan dimana terdapat aktifitas pengeluaran saluran pencernaan akan memungkinkan *E.coli* tersebar dilingkungan RPH sehingga dapat mengkontaminasi daging.

Beberapa strain *E. coli* yang bersifat patogen diantaranya strain *enteropatogenic E.coli* (EPEC), *enteroinvasive E. coli* (EIEC), *enterotoksigenic E. coli* (ETEC), *enterohemorragic E. coli* (EHEC) (Orskov, 1984 ; Doyle and Cliver, 1990).

E. coli termasuk family Enterobacteriaceae, bersifat gram negatif, berbentuk batang lurus, dengan ukuran 1,1 – 1,5 µm x 2,0 - 6,0 µm, berdiri sendiri atau berderet seperti rantai. Kapsul/mikrokapsul terdapat pada beberapa strain, bersifat motil dengan flagella peritrichous tetapi ada juga yang bersifat fakultatif anaerob, metabolisme respirasi dan fermentatif. Temperatur optimum untuk pertumbuhan adalah 37°C. Beberapa strain dapat tumbuh pada 2,5°C (Orskov, 1984).

Koloni *E. coli* pada nutrien agar halus tampak agak cembung dan lembab, bersifat kemoorganotropik dan oksidase negatif. Asetat pada umumnya dapat digunakan oleh *E. coli* sebagai sumber karbon tunggal tetapi tidak dapat menggunakan sitrat. Glukosa dan karbohidrat lain dapat difermentasi dengan menghasilkan piruvat dan selanjutnya dirubah menjadi asam laktat, asetat dan format. Sebagian asam format dirubah dengan

suatu sistem yang kompleks hidrogen liase ke dalam jumlah yang sama dari CO₂ dan H₂O (Orskov, 1984).

Beberapa strain *E. coli* terutama yang diisolasi dari luar usus mempunyai kapsul polisakarida atau mikrokapsul. Disamping flagella, beberapa strain mempunyai fimbrae (pili) atau protein fibrilar dalam jumlah besar pada permukaan bakteri yang berfungsi sebagai organ perlekatan terutama pada strain ETEC sering mempunyai MR fimbrae (Orskov, 1984).

Beberapa strain *E. coli* dapat memproduksi enterotoksin. Ada dua jenis enterotoksin yang dihasilkan, yaitu : enterotoksin tak tahan panas atau toksin thermolabil (LT) yang mirip dengan koleratoksin dan toksinthermo stabil (ST). Keduanya didapatkan sendiri-sendiri atau bersamaan dalam strain ETEC (Orskov, 1984 ; Doyle and Cliver, 1990)

Gejala penyakit yang disebabkan bakteri ini bervariasi dari diare ringan sampai nyeri perut yang berat dengan diare berair atau diare berdarah secara terus menerus dengan atau tanpa disertai sedikit panas dalam waktu yang pendek. Diare berdarah dapat diikuti hemolysis dan kegagalan ginjal. Waktu inkubasi penyakit ini 1-12 hari. Infeksi oleh *E. coli* penghasil enterotoksin, waktu inkubasinya lebih cepat. Umumnya penyakit berlangsung kurang dari 7 hari tetapi dapat terjadi pendarahan berat, kegagalan ginjal kronis sampai kematian (Doyle and Cliver, 1990 ; Gracey, 1992).

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus banyak didapatkan pada kulit dan saluran pernafasan bagian atas manusia dan hewan, dengan mudah dapat mengkontaminasi daging dalam segala bentuk. Infeksi *Staphylococcus* pada manusia dapat menyebabkan gangguan kesehatan yang dihubungkan dengan kemampuannya membentuk toksin (enterotoksin) yang akan mengakibatkan kelainan berupa keracunan makanan tipe toksis (Kloos and Schleifer, 1986 ; Bergdoll, 1990).

Staphylococcus aureus termasuk family Micrococcaccae, mempunyai bentuk bulat dengan diameter 0,5 – 1,0 µm, bersifat gram positif, non motil. Fakultatif anaerob, tumbuh paling baik pada kondisi aerob, tidak membentuk spora. Kemoorganotopik, metabolisme respirasi dan fermentatif. Umumnya tumbuh pada suhu antara 10 - 45⁰C (suhu optimum 30 – 37°C) dan pada pH antara 4,2 – 9,3 (pH optimum : 7,0 – 7,5). Bakteri ini akan tumbuh pada

nilai $A_w = 0,83$, dengan A_w optimum $> 0,99$. masih dapat tumbuh baik pada larutan NaCl sampai konsentrasi 10% dan relatif kurang pada konsentrasi 15% (Kloss and Schleifer, 1986).

Dinding sel *S. aureus* berisi asam teikoat dengan komposisi ribitol dan β glikosidik bergabung dengan residu N-asetil glukosamin. Membran sel berisi glikolipid, mono dan diglukosidigliserid dan fosfolipid, lysilfosfatidilgliserol, fosfatsidilgliserol dan kardiolipin. Organisme ini mudah dibunuh pada suhu pasteurisasi, toksinnya bersifat tahan panas dan tidak dapat diinaktivasi dengan perebusan atau pendinginan dalam waktu yang lama. Range pH untuk memproduksi enterotoksin : 5,2 – 9,0, sensitif terhadap asam organik (Kloss and Schleifer, 1986)

Organisme ini memproduksi enterotoksin dalam makanan sebelum dimakan dan menimbulkan gejala-gejala yang cepat nampak yaitu 2-3 jam setelah korban mengkonsumsi makanan yang mengandung enterotoksin. Gejala keracunan makanan karena *Staphylococcus* diantaranya pusing, mual, muntah, kejang perut, dan diare. Pada keracunan berat terdapat darah dan lendir pada tinja dan muntahan, demam dan penurunan tekanan darah. Pada keracunan ringan hanya didapat gejala mual dan muntah tanpa diare. Keracunan makanan karena bakteri ini pada umumnya tidak berakibat fatal, tetapi kalau terjadi pada anak kecil atau orang usia lanjut, spontan dan cepat yaitu antara 1 sampai 3 hari (Gracey et al, 1992 ; Bergdoll, 1990).

Pseudomonas fluorescens

Bakteri ini banyak didapatkan di tanah dan air dan dengan mudah mengkontaminasi daging dan menimbulkan kerusakan. Aktifitas metabolisme organisme ini menimbulkan terbentuknya lendir, bau, flavor dan perubahan warna yang tidak diinginkan pada permukaan daging sehingga dapat mempengaruhi derajat penerimaan konsumen (Gracey et al., 1992 ; Palleroni, 1984).

Bakteri ini bersifat psikrofilik, dapat tumbuh pada temperatur 4°C sehingga mampu berkembang biak dengan cepat pada daging yang disimpan pada suhu dingin dan menimbulkan kerusakan. Tumbuh baik pada makanan yang mengandung protein dengan menghasilkan lendir, pigmen dan bau (Palleroni, 1984).

Pseudomonas fluorescens termasuk famili Pseudomonadaceae, berbentuk batang lurus atau agak lengkung, dengan diameter 0,5-1,0 μm , dengan panjang 1,5-5,0 μm . Bersifat gram negatif, aerob, tidak membentuk spora, bergerak dengan lebih dari satu flagela polar. Tidak mempunyai fimbriae, oksidase positif atau negatif, chemoorganotropik. Terdapat pigmen-pigmen yang berfluorescensi yaitu pyoverdin. Pyoverdin mengandung asam amino N⁵-hydroxyornithine. Cenderung terdapat pada Aw tinggi, temperatur optimum pertumbuhan adalah 25-30°C, mati dengan pemanasan, sedikit tumbuh pada suhu sekitar 43°C (Frazier and Westhoff, 1981; Gracey et al., 1992 ; Palleroni, 1984).

Bacillus subtilis

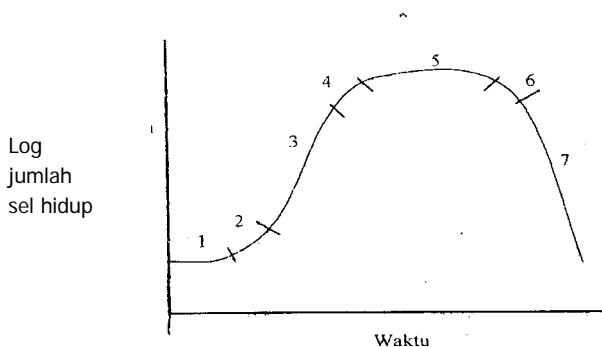
Bacillus subtilis tersebar luas di alam, banyak mengkontaminasi daging dan menimbulkan kerusakan seperti timbulnya lendir pada permukaan daging. Bentuk spora dan bentuk vegetatif dari bakteri ini dapat ditemukan pada makanan, air dan tanah. Bentuk spora (endospora) sangat resisten terhadap panas, kekeringan dan banyak desinfektan sehingga memungkinkan bakteri bertahan dan berkembangbiak pada makanan. Resistensi pada bakteriofage. Faktor yang melisiskan bakteri ini diantaranya : bakteriosin, antibiotik yang diproduksi oleh organisme lain, iradiasi, temperatur yang sangat tinggi dan germisidal. Sangat aktif memecah karbohidrat, protein dan lemak (Mountney and Gould, 1988 ; Vanderzant and Splittstoesser, 1992).

Bakteri ini termasuk famili Bacillaceae, berbentuk batang, dengan ukuran 0,7-0,8 μm x 2,0-3,0 μm . Bersifat gram positif, motil dengan flagela peritrichous. Membentuk spora dengan bentuk elip sampai silindris dengan letak sentral sampai parasentral. Temperatur pertumbuhan maksimal 45-55°C, minimal 5-20°C, tumbuh baik pada pH : 5,5-8,5 (Claus and Berkeley, 1986).

Bakteri ini bersifat katalase positif, Voges-Proskauer positif, tumbuh dalam larutan NaCl 7%; membentuk asam dari glukosa, arabinosa, xylosa dan manitol. Menghidrolisa pati, menggunakan sitrat sebagai sumber karbon, mereduksi nitrat menjadi nitrit, menghancurkan kasein dan mencerna alkaline dari susu, tidak tumbuh pada kondisi anaerob (Gordon et al., 1973 ; Claus and Berkeley, 1986).

4.2. Pertumbuhan Bakteri pada Daging/Ikan

Jika suatu bakteri mempunyai waktu generasi 20 menit, berarti satu sel bakteri tersebut akan memperbanyak diri menjadi dua sel dalam waktu 20 menit. Jika sel tersebut diinkubasikan dalam suatu medium pada kondisi yang optimum untuk pertumbuhannya, maka dalam waktu 48 jam, sel tersebut akan mengalami pembelahan sebanyak 48 (60)/20 kali atau 144 generasi. Jumlah sel setelah 48 jam secara teoritis akan mencapai 2^{144} sel. Jika setiap sel mempunyai berat 10^{12} g, maka secara teoritis berat seluruh sel setelah 48 jam akan mencapai $2^{144} \times 10^{12}$ g atau 2.2×10^{31} g, atau sama dengan 4000 kali berat bumi. Tetapi pada kenyataannya perkembangan jasad renik tidak terjadi demikian, karena tidak semua sel yang terbentuk akan terus hidup. Pertumbuhan jasad renik di dalam kultur statis digambarkan sebagai kurva seperti terlihat pada Gambar 7.1



Gambar 11. Kurva pertumbuhan jasad renik

Keterangan :

1. Fase adaptasi (*Initial stationary phase*)
2. Fase pertumbuhan awal (*Lag phase / phase of positive growth acceleration*)
3. Fase pertumbuhan cepat (*Log phase / Logarithmic growth phase*)
4. Fase pertumbuhan lambat / fase pengurangan pertumbuhan (*Phase of negative growth acceleration*)
5. Fase stationer / fase konstan (*Maximum stationary phase*)
6. Fase kematian (*Phase of acceleration death*)
7. Fase kematian dipercepat (*Logarithmic death phase*)

4.3. Pengujian Aktivitas Antibakteri Asap Cair

Yulistiani (1997), telah melakukan pengujian aktivitas antibakteri 8 jenis asap cair (tempurung kelapa, jati, bangkirai, kruing, lamtoro, mahoni, kamfer dan glugu) terhadap kultur bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis*. Aktifitas antibakterial diuji dengan menggunakan tehnik difusi agar. Metode pengujian aktivitas antibakteri asap cair adalah sebagai berikut (Insenberg, 1992) :

Delapan jenis asap cair yang akan digunakan dalam penelitian terlebih dahulu disentrifus dengan kecepatan 5000 rpm selama 20 menit dan disaring dengan kertas saring steril, kemudian pH masing-masing asap cair diukur dengan pH meter. Selanjutnya dilakukan pengenceran 10 kali, 100 kali pada semua asap cair dengan menambahkan aquades steril. Dua puluh mililiter media Mueller Hinton agar steril suhu 50°C masing-masing diinokulasi dengan 1% kultur bakteri dari media TSB yang berumur 24 jam sejumlah $\pm 10^8$ CFU/ml., kemudian dituangkan ke petridish steril dan dibiarkan memadat.

Tabel 1. Hasil pengamatan aktivitas antibakteri beberapa jenis asap cair terhadap beberapa kultur bakteri

No	Jenis asap cair	Pengenceran	pH	Zona Penghambatan (mm) ^D			
				<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>B. subtilis</i>
1.	Tempurung kelapa	0 kali	2,05	34,10**	36,30**	36,92**	36,86**
		10 kali		18,82	17,93	20,52	21,24
		100 kali		14,07	14,78	16,68	14,11
2.	Jati	0 kali	2,28	32,96*	35,57*	35,30*	36,64*
		10 kali		19,00	18,75	19,67	23,00
		100 kali		14,00	14,27	15,41	15,40
3.	Bangkirai	0 kali	2,44	25,90	33,08	31,00	31,63
		10 kali		14,38	18,05	17,48	18,10
		100 kali		13,00	14,48	13,00	13,88
4.	Kruing	0 kali	2,55	26,45	30,70	28,97	31,64
		10 kali		15,92	17,18	11,98	18,38
		100 kali		13,00	14,07	13,87	13,90
5.	Lamtoro	0 kali	2,86	25,06	28,32	29,07	31,55
		10 kali		14,70	14,20	14,92	17,76
		100 kali		13,00	13,00	13,00	13,40
6.	Mahoni	0 kali	2,50	24,78	29,90	28,71	31,09
		10 kali		15,35	14,36	16,64	17,63
		100 kali		13,68	13,57	13,85	14,44
7.	Kamfer	0 kali	2,64	20,64	27,40	22,04	28,06
		10 kali		14,62	15,22	15,54	17,13
		100 kali		14,12	13,53	13,85	14,58
8.	Gluhu	0 kali	2,93	22,08	20,33	27,08	26,21
		10 kali		14,08	14,16	14,45	14,90
		100 kali		13,00	13,00	13,00	13,00

Keterangan :

^D Zona penghambatan (mm) = diameter paper-disk + zona jernih yang terbentuk.

Paper disk diameter 13,0 mm yang sudah disterilkan (menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit), masing-masing ditetesi dengan 100 µl asap cair dengan pengenceran 0 kali, 10 kali, dan 100 kali.

Ketiga paper-disk yang telah ditetesi asap cair (pengenceran 0 kali, 10 kali, dan 100 kali), diletakkan diatas media Mueller Hinton Agar yang telah memadat dan letak ketiganya diatur sedemikian rupa. Masing-masing petridish dibiarkan selama satu jam pada suhu kamar untuk menunggu berdifusinya asap cair kedalam agar, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Aktifitas antimikroba masing-masing asap cair ditunjukkan dengan terbentuknya zona jernih disekeliling paper-disk. Zona penghambatan masing-masing asap cair terhadap keempat kultur bakteri diukur berdasarkan diameter zona jernih yang terbentuk (termasuk paper-disk) dengan menggunakan jangka sorong. Pekerjaan yang sama dilakukan pada semua asap cair yang diatur pH nya = 6,5 dengan penambahan NaOH 30%

Bahan baku yang digunakan untuk pembuatan asap cair adalah jenis kayu keras seperti tempurung kelapa, kayu jati, bangkirai, kruing, lamtoro, mahoni, kamfer dan glugu. Hasil pengujian aktifitas antibakteri dari 8 jenis asap cair terhadap kultur bakteri *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis* menggunakan teknik difusi agar, menunjukkan bahwa perbedaan jenis kayu untuk pembuatan asap cair akan menghasilkan aktifitas antibakteri yang berbeda (Tabel 1).

Asap cair tempurung kelapa mempunyai aktifitas antibakteri terbesar terhadap keempat kultur bakteri dibandingkan ketujuh jenis asap cair lainnya, yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona jernih terbesar pada perlakuan dengan asap cair tempurung kelapa; sedangkan asap cair dari kayu jati mempunyai aktifitas antibakteri terbesar nomor 2 setelah asap cair tempurung kelapa. Penghambatan terbesar dengan pemberian asap cair tempurung kelapa diperoleh pada kultur *P.fluorescens* (36,92 mm) sedang penghambatan terkecil pada kultur *E. coli* (34,10 mm). Dengan pengenceran 10 kali, kedelapan jenis asap cair masih mempunyai aktivitas antibakteri yang cukup besar terhadap keempat kultur bakteri, tetapi dengan pengenceran 100 kali aktifitas antibakteri yang dihasilkan sangat kecil sampai tidak ada.

Talon dan Girard (1980), mengemukakan bahwa jenis kayu, metode pembuatan dan peralatan yang digunakan untuk pembuatan asap cair selain berpengaruh terhadap efek antioksidan dan efek bakteriostatik/bakterisidal dari konstituen asap juga berpengaruh terhadap flavor, tekstur, warna dan daya simpan produk pengasapan. Menurut Girard (1992), perbedaan jenis kayu akan berpengaruh terhadap komposisi senyawa kimia dalam asap, hal

ini termasuk perbedaan kandungan senyawa antimikrobia dalam asap cair, sehingga asap cair dari jenis kayu yang berbeda memungkinkan mempunyai aktifitas antimikrobia yang berbeda.

Tabel 2. Hasil pengamatan aktivitas antibakteri beberapa jenis asap cair terhadap beberapa kultur bakteri pada pH asap = 6,5

No	Jenis asap cair	Pengenceran	pH	Zona Penghambatan (mm)			
				<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>B. subtilis</i>
1.	Tempurung kelapa	0 kali	6,50	16,74	21,58	21,88	18,00
		10 kali		13,00	13,00	13,62	13,86
		100 kali		13,00	13,00	13,00	13,00
2.	Jati	0 kali	6,50	19,50	27,53	22,38	21,59
		10 kali		13,66	13,88	14,67	14,68
		100 kali		13,00	13,00	13,00	13,00
3.	Bangkirai	0 kali	6,50	19,10	22,90	21,14	21,90
		10 kali		13,37	13,94	14,07	14,32
		100 kali		13,00	13,00	13,00	13,00
4.	Kruing	0 kali	6,50	19,42	23,02	22,70	19,94
		10 kali		13,00	13,76	14,16	14,40
		100 kali		13,00	13,00	13,00	13,00
5.	Lamtoro	0 kali	6,50	15,64	20,28	20,40	18,70
		10 kali		13,00	13,86	14,24	14,10
		100 kali		13,00	13,00	13,00	13,00
5.	Mahoni	0 kali	6,50	17,41	22,85	20,72	17,37
		10 kali		13,00	13,88	13,92	13,52
		100 kali		13,00	13,00	13,00	13,00
7.	Kamfer	0 kali	6,50	16,59	17,74	18,40	17,10
		10 kali		13,00	13,00	13,50	13,65
		100 kali		13,00	13,00	13,00	13,00
8.	Glugu	0 kali	6,50	13,72	13,00	18,63	16,46
		10 kali		13,08	13,00	13,93	13,12
		100 kali		13,00	13,00	13,00	13,00

Tingginya aktifitas antimikrobia asap cair tempurung kelapa kemungkinan disebabkan kandungan senyawa antimikrobia dalam asap cair tempurung kelapa lebih tinggi dibandingkan ketujuh jenis asap cair lainnya. Hasil pengamatan pH dari kedelapan jenis asap cair menunjukkan bahwa asap cair tempurung kelapa mempunyai pH paling rendah dibandingkan asap cair lainnya yaitu 2,05 (Tabel 1). Rendahnya pH dari asap cair tempurung kelapa kemungkinan karena kandungan asam organik yang lebih tinggi dibanding ketujuh jenis asap cair lainnya dan asam organik berpengaruh besar terhadap daya antimikrobia asap cair tersebut.

Pada pH asap cair yang dinetralkan menjadi 6,5 dengan penambahan NaOH 30 %, dari 8 jenis asap cair yang diuji masih menunjukkan adanya aktifitas terhadap keempat kultur bakteri meskipun terjadi penurunan. Pada pengenceran 10 kali, aktivitas antibakteri 8 jenis asap cair sangat kecil sampai tidak ada dan pada pengenceran 100 kali tidak didapatkan aktivitas antibakteri (Tabel 2), hal ini menunjukkan bahwa potensi antibakteri dari asap cair bukan disebabkan oleh komponen asam organik saja tetapi juga oleh adanya senyawa antimikrobia lain yang terdapat dalam asap cair.

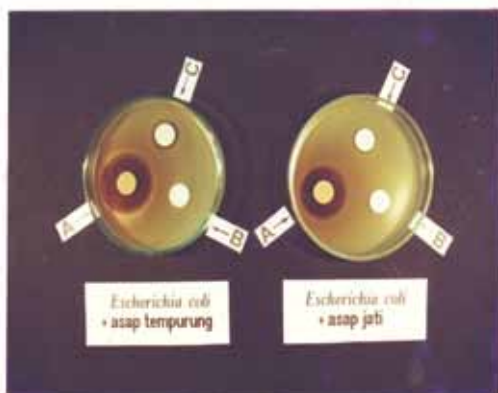
4.4. Pengaruh senyawa antimikrobia dalam asap cair tempurung kelapa terhadap kultur bakteri patogen dan perusak

Yulistiani (1977), telah melakukan pengujian pengaruh dari masing-masing senyawa antimikrobia dalam asap cair tempurung kelapa terhadap kultur bakteri patogen dan perusak diuji dengan teknik difusi agar menggunakan senyawa murni fenol konsentrasi 1,28 %, asam asetat konsentrasi 9,6 % dan kombinasi fenol konsentrasi 1,28 % dan asam asetat glasial 9,6 %.

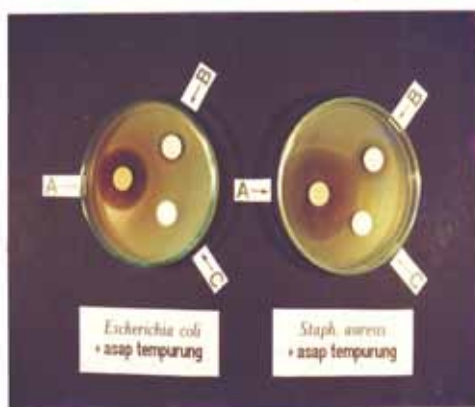
Pengujian dengan menggunakan senyawa murni fenol 1,28 % menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* tetapi tidak menunjukkan adanya aktivitas *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis*, yang ditunjukkan dengan tidak terdapatnya zona hambatan terhadap ketiga kultur bakteri tersebut (Tabel 4).

Foog dan Lodge (1945) dalam Davidson dan Branen (1981), mengemukakan bahwa yang menentukan kecepatan penetrasi senyawa fenol ke dalam sel adalah kelarutan senyawa fenol dalam lemak. Menurut Branen dan Davidson (1980), bakteri gram positif umumnya lebih peka

terhadap fenol dibandingkan bakteri gram negatif, hal ini karena lapisan lipopolisakarida yang secara khusus mengelilingi dinding sel bakteri gram negatif bisa menghalangi masuknya asam lemak sehingga dapat mencegah penumpukan lemak pada membran sel, oleh sebab itu bakteri gram negatif lebih tahan terhadap senyawa fenol.



Gambar 12. Hasil pengamatan aktivitas antibakteri asap cair tempurung kelapa dan jati terhadap *E. coli* pada pengenceran 0 kali, 10 kali dan 100 kali (Yulistiani, 1977)



Gambar 13. Hasil pengamatan aktivitas antibakteri asap cair tempurung kelapa terhadap *E.coli* dan *S. aureus* pada pengenceran 0 kali, 10 kali dan 100 kali (Yulistiani, 1977)

Menurut Reynold (1993), fenol merupakan senyawa antiseptik dan desinfektan yang efektif terhadap bentuk vegetatif bakteri gram positif dan negatif, beberapa fungi dan virus tetapi kurang efektif terhadap bentuk spora. Tidak adanya aktifitas antibakteri dari senyawa fenol 1,28 % terhadap *B. subtilis* disebabkan karena bakteri ini mempunyai kemampuan membentuk spora. Mountney dan Gould (1988), mengemukakan bahwa *Bacillus subtilis* bersifat gram positif dan dapat membentuk spora yang resisten terhadap panas, kekeringan dan banyak desinfektan.

Mekanisme aktifitas antimikrobia dari senyawa fenol dapat melalui beberapa cara diantaranya bereaksi dengan membran sel yang menyebabkan meningkatnya permeabilitas membran sel dengan akibat hilangnya isi sel ; dengan inaktivasi enzim-enzim esensial atau dengan perusakan/inaktivasi fungsional material genetik. Reynold (1993), menyatakan bahwa fenol pada konsentrasi 1% bersifat bakteristatik, sedangkan pada konsentrasi yang lebih tinggi bersifat bakterisidal.

Pengujian dengan menggunakan asam asetat 9,6 % menunjukkan adanya aktifitas yang besar terhadap keempat kultur bakteri, ditunjukkan dengan terdapatnya zona hambatan yang cukup besar (Tabel 4). Efek antimikrobia asam organik lemah dihasilkan dari efek kombinasi molekul yang tidak berdisosiasi secara langsung dapat mengasamkan sitoplasma, merusak tegangan permukaan membran dan hilangnya transpor aktif makanan melalui membran sehingga menyebabkan destabilisasi bermacam-macam fungsi dan struktur komponen sel. Sedangkan efek antimikrobia yang diakibatkan oleh molekul yang berdisosiasi (menghasilkan H⁺ dan anion) akan menurunkan pH lingkungan hidupnya dan kontak dengan dinding sel bakteri, membran sel, ruang periplasmik dan permukaan luar sitoplasma atau membran sel sebelah dalam sehingga menyebabkan efek perusakan dari sel bakteri. Pada pH lingkungan yang sangat rendah, dapat menyebabkan denaturasi enzim dan ketidakstabilan permeabilitas membran sel bakteri sehingga menghambat pertumbuhan dan menurunkan daya hidup sel bakteri.

Sedangkan perlakuan dengan kombinasi fenol 1,28 % dan asam asetat 9,6 % memberikan aktifitas antibakteri yang lebih besar dibandingkan perlakuan dengan asam asetat saja atau fenol saja, yang ditunjukkan dengan terdapatnya zona hambatan yang lebih besar pada perlakuan kombinasi fenol 1,28 % dan asam asetat 9,6 % (Tabel 4). Hasil penelitian ini sesuai dengan pendapat Pszczola (1995), yang menyatakan bahwa dalam bentuk kombinasinya, fenol dan asam organik yang terdapat dalam asap

cair akan bekerja sama secara efektif untuk mengontrol pertumbuhan mikrobia. Menurut Reynold (1993), fenol yang merupakan senyawa antiseptik dan desinfektan terhadap berbagai mikroorganisma akan lebih aktif bila terdapat dalam larutan asam. Jadi terdapatnya fenol bersama-sama asam asetat di dalam asap cair akan menguntungkan, terbukti dari hasil pengamatan aktivitas antibakteri yang lebih besar pada kombinasi kedua senyawa ini.

Hasil pengukuran pH, menunjukkan bahwa pH senyawa murni asam asetat 9,6 % sebesar 2,02 ; fenol 1,28 % sebesar 4,98 ; sedangkan pH kombinasi asam asetat dan phenol sebesar 2,04 , yang mana nilai ini mirip dengan pH dari asap cair tempurung kelapa yaitu 2,05.

4.5. Konsentrasi penghambatan minimal asap cair tempurung kelapa

Pengujian dari beberapa konsentrasi asap cair tempurung kelapa terhadap keempat jenis kultur bakteri, diketahui bahwa asap cair tempurung kelapa dapat bertindak sebagai agen baktriostatik sampai bakterisidal tergantung besar kecilnya konsentrasi asap cair yang digunakan.

Pada pengujian asap cair tempurung kelapa dengan konsentrasi 0 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 dan 1 % terhadap keempat kultur bakteri pada media TSB dengan jumlah populasi awal 10^6 CFU/ml, setelah inkubasi 24 jam menunjukkan bahwa pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas fluorescens* mulai terhambat pada konsentrasi 0,6 % (Gambar 4.2 dan 4.3) ; sedangkan *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* mulai terhambat pada konsentrasi 0,8 %

Penambahan asap cair konsentrasi 0,6 % menyebabkan penurunan pH TSB menjadi 6,36. pH TSB sebesar 6,36 masih dalam batas pH pertumbuhan normal keempat kultur bakteri dimana pH minimal pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, *P. Fluorescens* dan *B. subtilis* berturut-turut 4,4 ; 4,0 ; 5,6 dan 4,9 (Ray, 1996). Penambahan asap cair konsentrasi 0,6 % sudah menyebabkan terhambatnya pertumbuhan *S. aureus* dan *P. fluorescens*, hal ini menunjukkan bahwa terhambatnya pertumbuhan kedua bakteri ini bukan disebabkan oleh penurunan pH lingkungan hidupnya tetapi oleh adanya aktivitas senyawa antimikrobia dalam asap cair tempurung kelapa. Demikian halnya dengan terhambatnya pertumbuhan *E. coli* dan *B. Subtilis* pada penambahan konsentrasi asap 0.8 %.

Penambahan asap cair tempurung kelapa konsentrasi 1,0 % menyebabkan penurunan pH TSB menjadi 5,55. pH TSB sebesar 5,55 sudah menyebabkan kematian dari *S. aureus* dan *P. fluorescens*. Kematian *P. fluorescens* selain disebabkan oleh pekanya bakteri ini terhadap senyawa antimikrobia dalam asap cair tempurung kelapa juga disebabkan oleh rendahnya rendahnya pH lingkungan hidupnya dimana pH lingkungan hidup lebih kecil daripada pH minimal pertumbuhannya. Sedangkan kematian *S. aureus* hanya disebabkan oleh aktivitas senyawa antimikrobia dalam asap cair tempurung kelapa dimana *S. aureus* merupakan bakteri yang peka terhadap asam organik (Kloos dan Scheifer, 1986), sedangkan asam asetat merupakan komponen utama dari asap cair tempurung kelapa. Penurunan jumlah *E. coli* dan *B. subtilis* pada penambahan konsentrasi asap 1 % juga disebabkan oleh aktivitas senyawa antimikrobia dalam asap cair.

4.6. Pengaruh konsentrasi asap cair tempurung kelapa terhadap fase pertumbuhan bakteri

Pengasapan bahan makanan dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu perlakuan konvensional pada kondisi panas atau dingin dengan cara kontak dengan aerosol asap pada ruang pengasapan, pengasapan elektrostatis dan perlakuan dengan kondensat asap cair (Girard, 1992).

Metode pengasapan asap cair pada produk makanan ada beberapa cara, antara lain :

- g. **Pencampuran** (penambahan langsung ke dalam produk makanan). Untuk produk daging olahan, aroma asap ditambahkan dalam jumlah yang bervariasi ke dalam penggilingan. Metode ini dapat digunakan untuk sosis tipe *franfurter* dan *salami*, keju oles, emulsi daging, bumbu daging panggang dan lain-lain (Girard, 1992); Hollenbeck, 1977; Pszczola, 1995). Menurut Gorbatov *et al.* (1971), banyaknya asap cair yang ditambahkan pada produk sosis antara 0,1 – 1 % dari berat daging.
- h. **Pencelupan**. Pada metode ini, produk yang diasap direndam dalam cairan yang mengandung asap dalam waktu yang berkisar 5 – 60 detik. Perlakuan pencelupan dalam asap cair berpengaruh terhadap warna produk pengasapan, tetapi rasa asapnya sangat lemah. Produk yang dipelakukan

dengan cara ini menunjukkan muat organoleptiknya yang memuaskan secara keseluruhan. Metode ini terutama dilakukan untuk daging babi, daging bahu, daging perut dan sosis; juga apda industri keju Italia, dimana keju dicelup atau direndam dalam larutan garam asap (Girard, 1992; Hollenbeck, 1997)

- i. **Cara Injeksi** (penyuntikan). Aroma asap ditambahkan ke dalam larutan yang akan disuntikkan dalam jumlah yang bervariasi yaitu 0,25 – 1 %. Metode ini memberikan flavor dan pengulangan yang seragam pada daging ham dan mudah dilakukan pada daging babi bagian perut. (Girard, 1992).
- j. **Atomisasi**. Aroma asap diatomisasikan ke dalam sebuah saluran dimana produk itu bergerak. Cara ini memberikan kenampakan asap dalam produk termasuk daging perut, sosis dan ham. Hasil yang diperoleh dengan cara ini dilaporkan mempunyai kualitas organoleptik yang baik (Girard, 1992; Hollenbeck, 1997; Pszczola, 1995).
- k. **Penyemprotan**. Penyemprotan larutan asap di atas produk merupakan cara utama penggunaan asap cair dalam pengolahan daging secara kontinyu (Hollenbeck, 1977).
- l. **Penguapan**. Menguapkan asap cair dari permukaan yang panas sehingga mengubah kembali bentuk cairan menjadi bentuk uap (asap) dan menggunakannya untuk pengasapan produk (Hollenbeck, 1977).

Hasil pengujian konsentrasi asap cair tempurung kelapa, diperoleh bahwa konsentrasi penghambatan untuk *S. aureus* dan *P. fluorescens* adalah 0,6 %, untuk *E. coli* dan *B. subtilis* adalah 0,8 %, sehingga dipilih tiga jenis konsentrasi untuk mengamati pengaruhnya terhadap kurva pertumbuhan keempat jenis bakteri tersebut, yaitu 0 % sebagai kontrol pertumbuhan normal bakteri, 0,6 % diharapkan sebagai konsentrasi penghambatan minimal dan 1,0 % sebagai konsentrasi maksimal yang disarankan pada penggunaan asap cair dengan metode pencampuran (Girard, 1992).

Penggunaan asap cair tempurung kelapa konsentrasi 0,6 % pada suhu inkubasi 37°C memperlambat kecepatan pertumbuhan *Escherichia coli* dan pertumbuhannya tidak mencapai maksimal bila dibandingkan kontrol, hal ini menunjukkan bahwa asap cair konsentrasi 0,6 % masih berpengaruh terhadap pertumbuhan *E. coli*. Sedangkan penggunaan konsentrasi 1 % bersifat bakteriostatik terhadap *Escherechia coli*, yang ditunjukkan dengan tidak terdapatnya peningkatan jumlah *Escherechia coli* secara nyata sampai jam ke 96..

Penggunaan asap cair tempurung kelapa konsentrasi 0.6 %, dapat memperpanjang fase lag *Staphylococcus aureus* selama 12 jam pada suhu inkubasi 37°C, dengan populasi awal $\pm 10^6$ CFU/ml. Dengan konsentrasi asap 1 %, mulai jam kedua dapat terjadi penurunan jumlah bakteri ini dan mulai jam ke 20 sudah tidak didapatkan bakteri *S. aureus* yang tumbuh pada media perbenihan, hal ini menunjukkan bahwa asap cair konsentrasi 0,6 % bersifat bakteristatik dan konsentrasi 1 % bersifat bakterisidal terhadap *Staphylococcus aureus*.

Penggunaan asap cair tempurung kelapa konsentrasi 0.6 % pada suhu inkubasi 30°C, menyebabkan penurunan jumlah *Pseudomonas fluorescens* mulai jam keempat. Penurunan ini terus berlanjut sampai jam ke 48, yang selanjutnya akan terjadi peningkatan lagi. Terjadinya peningkatan jumlah bakteri ini kemungkinan karena terjadinya adaptasi atau kesembuhan dari sel-sel bakteri yang mengalami kerusakan / injuri akibat pengaruh dari asam asetat yang terkandung dalam asap cair tempurung kelapa. Penggunaan asap konsentrasi 1 %, mulai jam kedua menyebabkan terjadinya penurunan jumlah bakteri ini dan mulai jam ke 12 sudah tidak didapatkan bakteri *P. fluorescens* yang tumbuh pada media perbenihan. Hasil penelitian diatas menunjukkan bahwa asap cair tempurung kelapa konsentrasi 0,6 % bersifat bakteristatik dan konsentrasi 1 % bersifat bakterisidal terhadap *Pseudomonas fluorescens*.

Penggunaan asap cair tempurung kelapa konsentrasi 0.6 % pada suhu inkubasi 37°C memperlambat kecepatan pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan pertumbuhannya tidak mencapai maksimal bila dibandingkan kontrol. Sedangkan penggunaan konsentrasi 1 % bersifat bakterisidal terhadap *B. subtilis*, yang ditunjukkan dengan terjadinya penurunan jumlah bakteri ini mulai jam kedua dan tidak terjadi peningkatan lagi sampai jam ke 96. hasil penelitian ini menunjukkan bahwa asap cair tempurung kelapa konsentrasi 0.6 % masih berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri ini.

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan kepekaan dari masing-masing bakteri terhadap asap cair tempurung kelapa. Pada penambahan asap cair tempurung kelapa konsentrasi 0,6 % dan 1 %, terlihat bahwa *Pseudomonas fluorescens* merupakan bakteri yang paling peka, sedangkan *Escherichia coli* merupakan bakteri yang paling tahan meskipun masih terjadi hambatan pertumbuhan pada bakteri ini pada penambahan konsentrasi asap 1 %.

Daya tahan yang lebih tinggi dari *Escherichia coli* dibandingkan ketiga jenis bakteri lainnya terhadap asap cair tempurung kelapa disebabkan

bakteri ini dapat menggunakan asam asetat sebagai sumber karbon tunggal untuk hidupnya, sehingga kemungkinan jumlah asam asetat sebagai salah satu senyawa antimikrobia dalam asap cair akan berkurang karena digunakan oleh bakteri ini, akibatnya aktivitas antibakteri dari asap cair ini akan berkurang (Krieg dan Hort, 1984). Menurut Ray dan Daeschel (1992), *E. coli* mempunyai kemampuan mengatur secara kuat pH internal sitoplasma dengan adanya perubahan pH lingkungan hidupnya, sehingga perubahan pH lingkungan hidup tidak berpengaruh besar terhadap kehidupan bakteri ini. Hasil penelitian ini sesuai dengan yang dilaporkan Frethein *et al.* (1980), yang mengemukakan bahwa *E. coli* kurang sensitif terhadap kondensat asap dibandingkan *S. aureus* dimana konsentrasi penghambatan untuk *S. aureus* adalah 1000 ppm dan untuk *E. coli* adalah 2500 ppm. Anderson dan Marshall (1989) juga telah meneliti bahwa perlakuan pencelupan daging sapi ke dalam larutan asam asetat 3 % hanya sedikit berpengaruh terhadap jumlah *E. coli* tetapi memberikan pengaruh yang sangat besar terhadap total bakteri keseluruhan dan jumlah *Enterobacteriaceae* pada daging.

Bacillus subtilis juga relatif tahan terhadap asap cair tempurung kelapa meskipun tidak sekuat *E. coli*, hal ini dapat diketahui dari jumlah bakteri yang masih hidup pada pemberian konsentrasi asap 1 %. Daya tahan yang cukup tinggi dari bakteri ini disebabkan karena bakteri ini dapat membentuk spora yang mampu melindungi dirinya dari keadaan yang tidak menguntungkan. Pemberian asap cair mengakibatkan penurunan atau terjadinya hambatan pertumbuhan *B. subtilis* sesuai dengan konsentrasi asap cair yang ditambahkan. Ray (1996), mengemukakan bahwa asam lemah seperti asam asetat dapat mengganggu kestabilan spora, sehingga jika pemberian asap cair dikombinasikan dengan teknik pengawetan lain mungkin dapat memudahkan terjadinya kematian bakteri ini.

Kematian yang lebih cepat dari *P. fluorescens* pada penambahan asap 1 % menunjukkan bahwa *P. fluorescens* merupakan bakteri yang paling peka dibandingkan yang lainnya. Menurut Ray (1996) pH minimal pertumbuhan *P. fluorescens* adalah 5.60 sedangkan pH TSB pada pemberian asap 1 % adalah 5,55 sehingga kematian bakteri ini selain disebabkan oleh adanya aktivitas senyawa antimikrobia dalam asap cair tempurung kelapa juga oleh pH lingkungan yang lebih rendah dari pH minimal pertumbuhannya.

BAB 5. APLIKASI ASAP CAIR SEBAGAI PENGAWET PADA PRODUK DAGING DAN IKAN

Pengasapan bahan makanan dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu perlakuan konvensional pada kondisi panas atau dingin dengan cara kontak dengan aerosol asap pada ruang pengasapan, pengasapan elektrostatis dan perlakuan dengan kondensat asap cair (Girard, 1992).

Metode pengasapan asap cair pada produk makanan ada beberapa cara, antara lain :

- a. **Pencampuran** (penambahan langsung ke dalam produk makanan). Untuk produk daging olahan, aroma asap ditambahkan dalam jumlah yang bervariasi ke dalam penggilingan. Metode ini dapat digunakan untuk sosis tipe *franfurter* dan *salami*, keju oles, emulsi daging, bumbu daging panggang dan lain-lain (Girard, 1992); Hollenbeck, 1977; Pszczola, 1995). Menurut Gorbатов *et al.* (1971), banyaknya asap cair yang ditambahkan pada produk sosis antara 0,1 – 1 % dari berat daging.
- b. **Pencelupan**. Pada metode ini, produk yang diasap direndam dalam cairan yang mengandung asap dalam waktu yang berkisar 5 – 60 detik. Perlakuan pencelupan dalam asap cair berpengaruh terhadap warna produk pengasapan, tetapi rasa asapnya sangat lemah. Produk yang dipelakukan dengan cara ini menunjukkan muat organoleptiknya yang memuaskan secara keseluruhan. Metode ini terutama dilakukan untuk daging babi, daging bahu, daging perut dan sosis; juga pada industri keju Italia, dimana keju dicelup atau direndam dalam larutan garam asap (Girard, 1992; Hollenbeck, 1997)
- c. **Cara Injeksi** (penyuntikan). Aroma asap ditambahkan ke dalam larutan yang akan disuntikkan dalam jumlah yang bervariasi yaitu 0,25 – 1 %. Metode ini memberikan flavor dan pengulangan yang seragam pada daging ham dan mudah dilakukan pada daging babi bagian perut. (Girard, 1992).

- d. **Atomisasi.** Aroma asap diatomisasikan ke dalam sebuah saluran dimana produk itu bergerak. Cara ini memberikan kenampakan asap dalam produk termasuk daging perut, sosis dan ham. Hasil yang diperoleh dengan cara ini dilaporkan mempunyai kualitas organoleptik yang baik (Girard, 1992; Hollenbeck, 1997; Pszczola, 1995).
- e. **Penyemprotan.** Penyemprotan larutan asap di atas produk merupakan cara utama penggunaan asap cair dalam pengolahan daging secara kontinyu (Hollenbeck, 1977).
- f. **Penguapan.** Menguapkan asap cair dari permukaan yang panas sehingga mengubah kembali bentuk cairan menjadi bentuk uap (asap) dan menggunakannya untuk pengasapan produk (Hollenbeck, 1977).

Pengaruh Asap Cair Tempurung Kelapa terhadap Pertumbuhan Bakteri pada Lidah Sapi

Lidah sapi yang digunakan sebagai sampel penelitian mempunyai kondisi awal sebagai berikut : pH=5,58 ; kadar air = 63,34 % ; kadar protein = 11,86 % dan kadar lemak = 19,32 % . Setelah proses proses pengeringan selama 8 jam pada suhu 75 °C, kadar air menjadi 18,25 % . Hasil pemeriksaan jumlah awal bakteri pada lidah segar adalah sebagai berikut : Total bakteri secara keseluruhan sebesar $3,98.10^6$ CFU/g ; jumlah coliform sebesar $5,01.10^5$ CFU/g ; staphylococci sebesar $7,94.10^5$ CFU/g dan pseudomonad sebesar $6,76.10^4$ CFU/g.

Proses pencelupan selama 1 menit kedalam berbagai perlakuan yang terdiri dari : (a) Larutan NaCl 10% (b/v) sebagai kontrol, (b) Larutan asap pengenceran 1:4 (v/v) + NaCl 10% (b/v), (c) Larutan asap pengenceran 1:9 (v/v) + NaCl 10% (b/v), (d) Larutan asap pengenceran 1:14 (v/v) + NaCl 10 % (b/v), menunjukkan bahwa pada perlakuan (b), (c) dan (d) terjadi penurunan total bakteri, jumlah coliform, staphylococci dan pseudomonad rata-rata sebesar 1,62-3,06 siklus log, yang lebih besar dibandingkan penurunan pada kontrol (NaCl 10 %) dengan rata-rata 0,045 siklus log (Tabel 5; 6; 7; 8 dan Gambar 4.11; 4.12; 4.13; 4.14).

Besar kecilnya pengenceran asap cair yang digunakan sangat berpengaruh terhadap besarnya penurunan jumlah bakteri. Pencelupan selama 1 menit dalam kombinasi asap cair pengenceran 1:4 (v/v) dan NaCl

10 % (b/v) sudah menyebabkan penurunan jumlah bakteri yang besar sehingga jumlah pseudomonad kurang dari 10^2 CFU/g (Tabel 8 dan Gambar 4.13), hasil ini sesuai dengan penelitian tahap ketiga yang menunjukkan bahwa tahap ketiga yang menunjukkan bahwa *Pseudomonas fluorescens* merupakan bakteri yang peka terhadap asap cair tempurung kelapa.

Proses kyuring setelah pencelupan menyebabkan terjadinya penurunan jumlah bakteri yang diuji, hal ini karena proses kyuring dilakukan pada suhu refrigerator ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) yang secara umum menghambat pertumbuhan bakterikecuali pseudomonad yang bersifat psikotrop. Waktu kontak yang lama pada proses kyuring memungkinkan lebih efektifnya aktivitas antibakteri dari bahan kyuring. Pada Tabel 8 dan Gambar 4.14 menunjukkan bahwa pseudomonad yang secara normal mampu berkembang biak pada suhu refrigerator tetapi dengan adanya bahan kyuring (NaCl atau asap cair) terjadi penurunan jumlah bakteri.

Pada kontrol terjadinya penurunan jumlah bakteri yang lebih kecil pada proses pencelupan sampai kyuring disebabkan karena NaCl 10 % hanya mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri saja, tetapi tidak membunuh bakteri (Goutefonges, 1992). Pada perlakuan kombinasi asap dan NaCl 10 % terjadi penurunan jumlah bakteri yang lebih besar, hal ini menunjukkan bahwa aktivitas senyawa antimikrobiadalam asap cair dengan NaCl 10 % bersifat sinergis. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Eklund (1982), yang menunjukkan bahwa asap cair dalam kombinasi dengan NaCl efektif pada pencegahan pertumbuhan dan produksi toksin dari spora *C. botulinum* tipe A dan E.

Proses pengeringan pada suhu $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 8 jam, bakteri yang belum mati pada proses sebelumnya akan terjadi penurunan yang cukup besar sehingga jumlah seluruh bakteri yang diuji kurang dari 10^2 CFU/g, hal ini sangat berbeda dengan kontrol (NaCl 10%) dimana dengan proses pengeringan masih didapatkan jumlah bakteri yang cukup tinggi (Tabel 5;6;7;8 dan Gambar 4.11;4.12;4.13;4.14). pemberian kombinasi asap dan NaCl menyebabkan penurunan daya hidup bakteri sehingga bakteri mudah terbunuh dengan pengeringan dibandingkan perlakuan NaCl saja (kontrol). Menurut Ray dan Sandine (1992), pengaruh asam asetat sebagai asam organik lemah yang terdapat dalam asap cair tempurung kelapa menyebabkan kehilangan kemampuan hidup dan sublethal injuri pada sebagian bakteri.

Pada proses pengeringan terjadinya kematian pseudomand pada perlakuan NaCl 10% (kontrol) disebabkan karena bakteri bersifat psiklophilik. Menurut Palleroni (1984), bakteri pseudomand bersifat psiklophilik, tidak tahan dengan perlakuan pemanasan dan pengeringan, sedikit atau tidak tumbuh pada suhu sekitar 43°C.

Pada penyimpanan lidah asap selama 10 hari pada temperature kamar, tidak didapatkan adanya peningkatan jumlah bakteri yang diuji, sedangkan pada kontrol (NaCl 10%) terjadi peningkatan bakteri yang cukup tinggi (Gambar 4.11 ; 4.12 ; 4.13 dan 4.14). tidak terjadinya peningkatan jumlah bakteri pada lidah asap menunjukkan adanya efek residu asap cair yang masih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada lidah sapi. Girard (1992), mengemukakan bahwa komponen asap cair selain berperan selama perlakuan juga bersifat residual selama penyimpanan. Hasil penelitian Rusdi (1979) juga menunjukkan bahwa asap cair tempurung kelapa dapat meningkatkan daya awet lidah sapi baik yang disimpan di lemari es maupun di suhu amar sampai hari ke 75. tidak terjadinya peningkatan jumlah bakteriyang diuji pada penyimpanan lidah asap selama 10 hari, kemungkinan juga disebabkan sudah tidak terdapat bakteri pada lidah sapi atau adanya bakteri pada lidah sapi tidak/belum mampu berkembang biak lagi dalam waktu penyimpanan 10 hari. Dari 3 perlakuan di atas yaitu dengan menggunakan kombinasi asap cair pengenceran 1:4, 1:9, 1:14 (v/v) dengan NaCl 10 % menunjukkan tidak terdapatnya perbedaan jumlah bakteri pada penyimpanan lidah asap selama 10 hari.

Hasil penelitian tahap aplikasi pada lidah asap sapi menunjukkan bahwa pseudomonad merupakan bakteri yang paling peka dan coliform merupakan bakteri yang paling tahan terhadap asap cair tempurung kelapa. Hasil ini konsisten dengan hasil penelitian yang diperoleh pada tahap-tahap penelitian sebelumnya, dimana asap cair tempurung kelapa memberikan zona penghambatan terbesar pada *P. fluorescens* (36,92 mm) dan zona penghambatan terkecil pada *E. coli* (34,10 mm). Dari pengujian konsentrasi asap 0,6 % dan 1 % juga menunjukkan bahwa *P. fluorescens* merupakan bakteri yang paling peka dan *E. coli* merupakan bakteri yang paling tahan dibandingkan bakteri lain yang diuji.

BAB 6. KESIMPULAN

1. Asap cair dapat diproduksi dengan cara kondensasi dari pirolisis komponen kayu. Dalam pembuatan asap cair dapat digunakan jenis kayu keras ataupun kayu lunak sebagai bahan baku. Bahan baku dimasukkan ke dalam reaktor kemudian ditutup dan rangkaian kondensor dipasang. Kemudian dapur pemanas dihidupkan sampai suhu 350-400 °C. Asap yang keluar dari reaktor disalurkan ke kolom pendingin melalui pipa penyalur. Ke dalam kolom pendingin ini dialirkan air dingin dengan menggunakan pompa. Embunan berupa asap cair ditampung dalam botol, sedangkan asap yang tidak bisa diembunkan dibuang melalui pipa penyalur asap sisa. Asap cair yang terkumpul masih tercampur dengan tar, bila akan diaplikasikan ke dalam makanan perlu dilakukan pemisahan dengan sentrifugasi 2000 rpm selama 20 menit.
2. Dari delapan jenis kayu yang telah diteliti (tempurung kelapa, kayu kamfer, kruing, bangkirei, jati, lamtoro, mahoni dan glugu), menunjukkan bahwa asap cair tempurung kelapa mempunyai aktivitas antibakteri terbesar terhadap bakteri patogen dan perusak pada daging dan ikan yaitu *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens*. *E. coli* merupakan bakteri yang paling peka terhadap asap cair tempurung kelapa dibandingkan bakteri lain yang diuji.
- 3, Fenol dan asam asetat merupakan senyawa antimikrobia dalam asap cair tempurung kelapa yang masing-masing mempunyai konsentrasi 1,28 % dan 9,60 %. Pengujian dengan fenol 1,28 % menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* tetapi tidak menunjukkan adanya aktivitas *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis*

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, M.E and R.T Marshall. 1989. Interaction of Concentration and Temperatur of Acetic Acetic Acid Solution an Reduction of Various Species of Microorganisms on Beef Surfaces. J. of Food Protec.52 : 312 – 315.
- AOAC, 1990. Association of Official Analysis Chemists : Official Methods of Analysis. 18th Ed. Washington D.C.
- Barylko, N. and Pikielna.1976. Contribution of Smoke Compound to Sensory, Bacteriostatic and Antioxidative Effects in Smoked Food, *dalam* A. Rutkowski (eds): Andvances in Smoking of Foods. Agricultural University of Marsaw. Pergamon Press. Oxford. : 1667-1671.
- Bergdoll,M.S.1990. Staphylococcal Food Poisoning,*dalam* D.O. Cliver (eds) : Food Borne Diseases. Academic Press, Inc, San Diego pp. : 86-94.
- Branen, A.L., P.M. Davidson and B.Katz. 1980. Antimicrobial Properties of phenolic Antioxidants and Lipids. Food Tech. 34 : 42-53.
- Bratzler, L.J., M.E. Spooner, J.B. Weatherspoon and J.A Maxey. 1969. Smoke Flavor as Related to Phenol, Carbonyl and Acid Content of Bologna. J. of Food sci. 34 : 146-148.
- Bridson, E.Y. 1990. The Oxoid Manual. 6th Ed. Unipath Ltd. Wade Road, Basingstoke RG 24 OPN.England.
- Claus, D. and R.C.W. Berkeley. 1986. Genus Bacillus, *dalam* P.H.A. Sneath,, N.S. Mair, J.G. Hold (eds) : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.. Vol.2. pp. : 1105-1130.
- Daun, H. 1979. Interction of Wood Smoke Component and Foods. Food Tech. 33 (59) : 66-71,83.
- Datta. R.1981.Acidogenic Fermentation of Lignocellulose-Acid Yield and Conversion of Components.Biotechnol. Bioeng. 23 : 2167-2170.
- Davidson, P.M. and A.L. Branen. 1981. Antimicrobial Activity of Non-Halogenated Phenolic Compound. J.of Food Prot.44 (8) : 623-632.

- Donnelly, L.S., G.R. Ziegler and J.C. Acton. 1982. Effect of Liquid Smoke on the Growth of Lactacid Acid Starter Cultures Used to Manufacture Fermented Sausage. *J. of Food Sci.* 47 : 2074-2075.
- Doyle, M.P. and D.O. Cliver. 1990. *Escherichia coli*. dalam D.O Cliver (eds) : Food Borne Diseases. Academic Press, Inc., San Diego. pp. : 210-214.
- Draudt, H.N. 1963. The Meat Smoking Process : A Review. *Food Tech.* 17 (12) : 85-90.
- Enklund, M.W., G.A. Pelroy, R. Paranjpye, M.E. Peterson and F.M. Teeny. 1982. Inhibition of *Clostridium botulinum* types A and E Toxin Production by Liquid Smoke and NaCl in Hot-Process Smoke-Flavored Fish. *J. of Food Prot.* 45 (10) : 935-941.
- Fengel, D. and G. Wengener. 1995. Kayu, Kimia, Ultrastruktur, Reaksi-reaksi. Diterjemahkan oleh Hadjono Sastrohamidjojo. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Fraizer, W.C. and Westhoff. 1981. *Food Microbiologi*. 3th Ed. Tata McGraw-Hill Publishing Company Ltd. New Delhi.
- Fretheim, K., P.E. Granum and E. Vold. 1980. Influence of Generation Temperature on the Chemical Composition, Antioxidative, and Antimicrobial Effects of Wood Smoke. *J. of Food Sci.* 45 : 999-1007.
- Girard, J.P. . 1992. Smoking, dalam J.P. Girard : *Technology of Meat and Meat Products*. Ellis Horwood. New York. pp. : 165-201
- Gorbatov, V.M., N.N. Krylova, V.P. Volovinskaya, Yu. N. Lyaskovskaya, K.L. Bazorava, R.I. Khlamova, and G. Ya. Yakovleva. 1971. Liquid Smoke for Use in Cured Meats. *Food Tech.* 25 (1) : 71-77.
- Gordon, R.E., W.C. Haynes and C.H.N. Pang. 1973. The Genus *Bacillus*. Agricultural Research Service. United States Dep. Of Agriculture. Pp. : 36-41.
- Goutefongea, R. 1992. Salting and Curing, dalam J.P. Girard. *Technology of Meat and Meat Products*. Ellis Horwood. New York : 115-116.
- Gracey, J.F. and D.S. Collins, 1992. *Meat Hygiene*. 9th Ed. Bailliere Tindal. London. pp. : 222-246.

- Hadiwijoto, S. 1992. Kimia dan Teknologi Daging Unggas. PAU Pangan dan Gizi, UGM Yogyakarta. pp. : 487 - 523.
- Hollenbeck, C.M. 1997. Novel Concepts in Technology and Design of Machinery for Production and Application of Smoke in the Food Industry dalam Rutkowski, A. 1976. Agricultural University of Marsaw. Pergamon Press. Oxford. : 1667 – 1671.
- Isenberg, H.D. 1992. Clinical Microbiology Procedures Handbook. Vol. 1. American Society for Microbiology. Washington, D.C.
- Kloos, W.E. and K.H. Schleifer. 1986. Genus *Staphylococcus*, dalam P.H.A. Sneath, N.S. Mair, J.G. Hold (eds) : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol.2.pp. : 1013-1019.
- Koollman, F.F. and W.A. Cote. 1984. Principles of Wood Science and Technology. Vol 1 : Solid Wood. Reprint Springer-Verlag, Berlin.
- Larmond, E.L. 1977. Laboratory Methods for Sensory Evaluation of Food. Research Branch. Canada Departemen of Agriculture Publication 1637.
- Lindner, R.L. 1991. Meat Processing with *Listeria monocytogenes* Reinoculation Control Stage. Abstr. United States Patent. English.
- Lustre, A.O. and P. Issenberg. 1970. Phenolic Components of Smoked Meat Product. J. Agr. Food Chem. 18 (6) : 1056-1060.
- Maga, J.A. 1987. Smoke in Food Processing. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. 154 p.
- Messina, M.C., H.A. Ahmad, J.A Marchello, C.P. Gerba and M.W. Paquette. 1988. The Effect of Liquid Smoke on *Listeria monocytogenes*. J. of Food Prot. 51 (8) : 629-631.
- Mountney, G.J. and W.A. Gould. 1998. Practical Food Microbiology and Technology. 3rd Ed. Van Nostrand Reinhold Company. New York. pp. : 157-167.
- Orskov, F. 1984. Genus *Eschericia*, dalam N.R. Krieg and J.G. Hort (eds) : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol.1.pp ; 420-423.
- Palleroni, N.J. 1984. Genus *Pseudomonas*, dalam N.R. Krieg and J.G. Hort (eds) : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol.1.pp : 141 - 165.

- Porter, R.W., L.J. Bratzler and A.M. Pearson. 1965. Fractination and Studi of Compound in Wood Smoke. J. of Food Sci.30 (4) : 625-619.
- Pszczola, D.E.1995. Tour Highlights Production and Uses of Smoke-Based Flavors. Food Tech. 49 (1) : 70-74.
- Ray,B. and W.E. Sandine. 1993. Acetic, Propionic, and Lactic Acid of Starter Culture Bacteria as Biopreservatives *dalam* B. Ray and M. Daeschel (eds) : FOOD Biopreservatives of Microbial Origin. CRC Press. Boca Raton. Pp : 103-132.
- Ray, B.1996. Fundamental Food Microbiology. CRC Press Boca Raton. Pp : 409 – 416.
- Reed, R.W. and G.B. Reed.1948 “Drop Plate” Method of Counting Viable Bacteria Canadian J. of Research. 2nd Ed. Vol. 26 : 317-326.
- Neblet, T.R.1976. Use of Droplet Plating Method and Cystine-Lactose Electrolyte Degicient Medium in Routine Quantitative Urine Culturing Prosedure. J.of Clinical Microb. 4 (3) : 296 -304
- Reynold, J.E.F.1993. Martindale. The Extra Pharmacopedia. 30th Ed. The Pharmaceutical Press. London.
- Ruiter, A.9179. Color of Smoked Food. Food Tech. 33 (5) : 54-63.
- Rusdi, U.D.1979. Respon Lidh Sapi terhadap Asap Cair Tempurung ditinjau dari Segi Daya Awet. Direktorat Pembinaan dan Pengabdian pada Masyarakat. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan :18-19.
- Suiliker, J.H., R.P. Elliott, A.C. Baird-Parker, F.L. Bryan, J.H.B. Christian, D.S. Clark, J.C. Olson, Jr. and T.A. Robert. 1980. Microbial Ecology of Foods. Food Commodities. Volume II. Academic Press. New York.
- Soeparno,1992. Ilmu dan Teknologi Daging. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada. Gadjah Mada University Press. pp : 199-257.
- Stolic, D.D. 1975. Quantitative Relationship Between Micrococci and Lactobacili during Ripening of Fermented and Factor Influencing this Relationship. Abstr. Acta Veterinaria. Yugoslavia. 25 (2) : 91-104
- Talon,R.and J.P Girard. 1980. Smoking of Meat Products. Abstr. Viandes et Produits Carnes. 1(4) :16-22 ; (5) : 18-20.

Vanderzant,C. and D.F. Splittstoesser.1992. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food. 3rd Ed. American Public Health Association.

Volk, W.A. and M.F. Neeler, M.A.1973. Basic Microbiology. 3rd Ed. J.B. Lippincott Company. Philadelphia. Toronto.

TENTANG PENULIS



Drh Ratna Yulistiani, MP, lahir di Jakarta pada tanggal 19 Juli 1962. Lulus sebagai Dokter Hewan pada tahun 1986 dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Pada tahun 1997, meraih gelar Megister Pertanian (MP) dalam bidang Mikrobiologi Pangan dari Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Memulai bekerja, sebagai staf pengajar universitas Pembangunan Nasional "Veteran" 87 sampai tahun 1993. Mulai tahun 1993 staf pengajar di Jurusan Teknologi Pangan universitas Pembangunan Nasional "Veteran"

Jabatan yang pernah dipegang sampai sekarang antara lain sebagai Ketua Jurusan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Industri Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jawa Timur (2002 – 2006), Kepala Laboratorium Mikrobiologi (1988 – 1990), Kepala Laboratorium Kimia Organik (1992 – 1994), Kepala Laboratorium Teknologi Pengolahan Pangan (1997 – 2002). Kepala Laboratorium Teknologi Karbohidrat, Teknologi Protein dan Lemak (1997 – 2002), Kepala Laboratorium Teknologi Pengolahan Pangan, Pengetahuan Bahan dan Uji Inderawi (2007 – sekarang) pada Jurusan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Industri Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jawa Timur.

Penulis adalah anggota Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI) sejak tahun 1997 – sekarang dan juga pernah tergabung sebagai anggota Pokja Ahli Dewan Ketahanan Pangan Propinsi Jawa Timur (2005 – 2007). Selain menulis buku, penulis juga telah banyak melakukan penelitian dan membuat karya ilmiah yang telah dipublikasikan baik di Jurnal Ilmiah maupun di Seminar Nasional, khususnya di bidang Mikrobiologi Pangan dan bidang Teknologi Pangan lainnya. Selain itu, penulis juga aktif melakukan kegiatan pengabdian masyarakat khususnya di bidang Teknologi Pangan, yang dilakukan di berbagai daerah di Indonesia.