

PENGUJIAN EFEKTIVITAS ASAP CAIR (*LIQUID SMOKE*) SEBAGAI ANTI BAKTERI PADA BERBAGAI KONSENTRASI DAN LAMA PENYIMPANAN PADA IKAN MUJAIR

Testing The Effectiveness of Liquid Smoke as Antibacterial in All Various Concentrate and Longer of Storage in Mozambique Tilapia Fish

Noor Harini¹, Moch Wachid²

Jurusan Pertanian, Fakultas Pertanian Peternakan
Universitas Muhammadiyah Malang
Email: noorhumm@yahoo.co.id ,mochammadwachid@yahoo.co.id

ABSTRACT

*Liquid smoke is has been used to preserve meat and give some flavor of the food, so it can be used as a natural preservative alternative. Raw materials liquid smoke can be originate from a waste incineration biological especially vegetable namely coconut shell, bambu, cobs corn and another-other. Content of chemical compound on liquid smoke among others is compounds phenol, carbonyl, acid and another-other, so it can function for extend power save it an ingredient. Pickling can inhibiting the proliferation of microorganism mainly bacterial including the bacteria pathogenic. Purpose this research is: 1) for mengekstraksi the smoke liquid with raw materials coconut shell, bambu and cobs corn, 2) for know the effectiveness of usage liquid smoke on various concentrations, and 3) for reviewing power inhibitory liquid smoke against developments test bacteria from group of bacteria pathogens. The results showed that the liquid smoke contains compounds that are useful as a food preservative, because of its antibacterial properties in it. Food preservatives has been successfully extracted from natural ingredients from 3 different types of liquid smoke coming from bamboo, coconut shells and corn cobs. Liquid smoke 3 types of liquid smoke (coconut shell, bamboo and corn cobs) has potential as a natural preservative food functionally safe and lawful. Liquid smoke has the ability to inhibit pathogenic bacteria (*Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*) at different storage periods tilapia fish (day-1, -2, -3 and -4).*

Keywords: diseases, pre-weaning, mortality rate.

ABSTRAK

Asap cair merupakan bahan pengawet alami alternatif dan diekstraksi dengan cara destilasi. Pemanfaatan bahan hayati dapat berasal dari tempurung kelapa, bambu, tongkol jagung dan lain-lain. Pengawetan bertujuan untuk menghambat perkembangbiakan mikroorganisma terutama bakteri patogen. Bakteri patogen yang dapat mengurangi daya simpan bahan pangan diantaranya adalah *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Tujuan penelitian ini adalah : 1) untuk menguji efektivitas asap cair dari tempurung kelapa, bambu dan tongkol jagung pada berbagai konsentrasi bahan pengawet; 2) untuk mengaplikasikan asap cair dari tempurung kelapa, bambu dan tongkol jagung sebagai bahan pengawetan pangan dengan menguji sifat anti bakteri oleh lama waktu penyimpananannya pada ikan mujair; 3) untuk mengetahui efek daya hambat asap cair terhadap perkembangan 4 spesies bakteri patogen secara in vitro. Hasil penelitian menunjukkan, bahwa asap cair dapat diekstrak dari bahan alami dari 3 jenis asap cair yang berasal dari tempurung kelapa, tongkol jagung dan bambu. Asap cair dari 3 jenis asap cair (tempurung kelapa, tongkol jagung dan bambu) dapat bermanfaat sebagai bahan pengawet yang ditunjukkan oleh kemampuan zona hambat dan nilai absorbansi. Asap cair mempunyai kemampuan dalam menghambat bakteri patogen (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*) pada berbagai periode penyimpanan ikan mujair (hari ke-1, -2, -3 dan -4).

Kata Kunci : penyakit, pedet pra-sapah, tingkat kematian

PENDAHULUAN

Bahan tambahan makanan (BTM) sering digunakan oleh manusia memiliki banyak fungsi, diantaranya adalah untuk menjaga konsistensi produk dan palatibilitas (tingkat penerimaan konsumen), sebagai pengatur keasaman atau pengontrol pH, memperbaiki cita rasa dan sebagai pewarna. Bahan tambahan makanan sangat beragam dan di antara berbagai macam bahan tambahan makanan tersebut, maka bahan pengawet sangat sering digunakan oleh manusia. Hal ini mengingat Indonesia memiliki kekayaan alam yang berlimpah yang merupakan potensi besar untuk dieksploitasi. Eksploitasi dari bahan pengawet alami tersebut diambil dari bahan nabati maupun hewani. Bahan nabati yang diambil dari tanaman biasanya didestilasi menjadi asap cair (*liquid smoking*).

Penggunaan hasil limbah hayati ini masih lebih aman jika dibandingkan bahan kimia/sintetis, karena efek samping dari penggunaan bahan tersebut sangat berbahaya bagi kesehatan manusia oleh residu dalam jangka panjangnya. Penggunaan senyawa alami dinilai lebih aman, sehat, halal dan tidak menimbulkan efek samping serta fungsinya untuk pencegahan dan juga pengobatan. Pemanfaatan tempurung kelapa dan bahan baku lain untuk pembuatan asap cair seperti jerami padi, bambu, tongkol jagung dan serbuk kayu masih rendah (Harini dan Wachid, 2012). Bahan baku tersebut mengandung cukup kadar hemiselulosa, selulosa dan lignin (Wijaya, 2008).

Bahan pengawet alami relatif tidak memberi dampak bagi kesehatan, walaupun demikian penggunaan yang berlebihan dapat menyebabkan gangguan kesehatan, sehingga perlu diketahui efektivitasnya dalam hal konsentrasi dan lama waktu pengaplikasiannya. Untuk itu eksploitasi bahan pengawet alami dapat dilakukan dengan cara/model ekstraksi yang halal, aman dan sehat. Di samping itu eksploitasi dapat dilakukan dari bahan yang tidak berbahaya

dan bahkan dari limbah yang sudah tidak digunakan untuk tujuan lain, misalnya dari limbah hayati. Bahan pengawet sangat sering ditambahkan ke dalam makanan dengan tujuan untuk menghambat terjadinya pembusukan dan menjamin mutu awal pangan agar tetap terjaga. Jenis mikroba yang perlu diwaspadai tingkat bahayanya adalah bakteri, terutama bakteri patogen.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu kajian penelitian untuk menghasilkan asap cair dari 3 jenis limbah hayati yaitu tempurung kelapa, bambu dan tongkol jagung serta mengaplikasikannya dalam pengawetan pangan berupa uji bakteri. Bakteri yang diujikan antara lain: *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Tujuan dari penelitian ini sebagai berikut :

- Untuk menguji efektivitas asap cair dari 3 sumber bahan hayati (tempurung kelapa, bambu dan tongkol jagung) pada berbagai konsentrasi bahan pengawet;
- Untuk mengaplikasikan asap cair dari 3 sumber bahan hayati (tempurung kelapa, bambu dan tongkol jagung) sebagai bahan pengawetan pangan dengan menguji sifat anti bakteri oleh lama waktu penyimpanannya pada ikan mujair;
- Untuk mengetahui efek daya hambat asap cair terhadap perkembangan 4 spesies bakteri patogen secara in vitro.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pangan, Laboratorium Terpadu Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang. Pelaksanaan penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2013 sampai dengan Juni 2014.

Bahan yang digunakan meliputi asap cair hasil destilasi dari tempurung kelapa, bambu dan tongkol jagung. Bahan untuk analisa dan pembuatan media padat, meliputi: aquades, *nutrient agar (NA)*, *nutrient broth*

(NB), dan bakteri pathogen yang digunakan yaitu *Eschericia coli*, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*. Bahan untuk mengaplikasikan asap cair adalah ikan mujair segar.

Alat yang digunakan untuk penelitian yaitu seperangkat alat untuk memproduksi asap cair, cabinet dryer, blender, oven, inkubator, stirrer, saringan, kain saring, pamarut, pisau, baskom dan seperangkat alat destilasi. Alat yang digunakan untuk analisa adalah timbangan analitik, petridish, pipet ukur, spatula, *beaker glass*, gelas ukur, erlenmeyer, tabung reaksi, *colony counter*, spektrofotometer, perforator.

Tahapan penelitian ini terdiri dari 2 tahap, yaitu:

- Tahap pertama melakukan ekstraksi asap cair dari 3 jenis bahan baku yaitu tempurung kelapa, bambu dan tongkol jagung dan melakukan pengujian antibakteri dari asap cair tersebut pada bakteri patogen yaitu *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan berbagai konsentrasi asap cair yaitu 0%; 5%; 10% dan 15% dengan metode dilusi dan difusi

- Tahap kedua yaitu melakukan melakukan pengujian aplikasi pada ikan mujair segar dengan lama waktu penyimpanan yang berbeda (1; 2; 3 dan 4 hari).

Parameter penelitian meliputi : 1) diameter daerah hambatan, 2) pengukuran Kadar Hambat Minimum (KHM), 3) nilai Absorbansi. Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan analisis ragam dengan metode Rancangan Acak Kelompok secara faktorial serta uji lanjut menggunakan Beda Nyata Terkecil (selang kepercayaan 5%).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Efek Antimikroba Asap Cair terhadap Bakteri *Pseudomonas sp.*

Zona Hambat pada Hari ke-1, -2, -3 dan -4

Berdasarkan analisis ragam menunjukkan, bahwa asap cair berpengaruh sangat nyata terhadap zona hambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas sp.* pada hari ke-1, -2, -3 dan -4. Rerata zona hambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas sp.* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata Efek Antimikroba Asap Cair terhadap Zona Hambat Bakteri *Pseudomonas sp.* pada Hari ke-1, -2, -3 dan -4

Perlakuan	Zona hambat (mm)			
	1	2	3	4
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 0%	0 a	0 a	0 a	0 a
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 5%	0 a	0 a	0 a	0 a
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 10%	0 a	0 a	0 a	0 a
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 15%	0,33 a	0,33 a	0 a	0 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 0%	0 a	0 a	0 a	0 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 5%	0 a	0 a	0 a	0,33 b
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 10%	0 a	0 a	0 a	0 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 15%	0 a	0 a	0 a	0 a
Asap cair bambu konsentrasi 0%	0 a	0 a	0 a	0 a
Asap cair bambu konsentrasi 5%	1,07 b	1,06 b	0,66 b	0,56 b
Asap cair bambu konsentrasi 10%	0 a	0 a	0 a	0 a
Asap cair bambu konsentrasi 15%	0 a	0 a	0 a	0 a

Keterangan : nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan's $\alpha = 5\%$

Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui, bahwa asap cair dengan konsentrasi 0%, 5%, 10% dan 15% yang berasal dari tempurung kelapa tidak memiliki zona hambat sama sekali (0 mm) pada hari ke-1, -2, -3 dan -4, kecuali pada hari ke-1 dan -2 mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas sp.* Asap cair dari tongkol jagung pada seluruh konsentrasi yang dicobakan tidak memiliki kemampuan menghambat yang ditunjukkan oleh zona hambat atau tidak memiliki sifat antibakteri pada seluruh konsentrasi yang dicobakan pada hari ke-1, -2, -3 dan -4, kecuali pada hari ke-4 dari asap cair tongkol jagung pada konsentrasi 5%. Asap cair dari bambu pada konsentrasi 0%, 10% dan 15% tidak memiliki zona hambat pada seluruh hari penyimpanan, kecuali asap cair dari bambu pada konsentrasi 5% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas sp.* pada seluruh penyimpanan hari ke-1, -2, -3 dan -4.

Hal ini menunjukkan, bahwa penambahan asap cair dengan konsentrasi 5% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas sp.* pada perlakuan asap cair dari bahan baku tempurung kelapa, tongkol jagung dan bambu. Kemampuan asap cair dari bahan baku yang berbeda akan memberikan efek yang berbeda dalam

menghambat pertumbuhan bakteri. Selain itu bakteri patogen pada makanan juga akan mempunyai daya tahan dan tingkat resistensi yang berbeda pula. Kemampuan ini akan memperpanjang daya simpan ikan yang berbeda pula. Menurut Sutin (2008), asap cair memiliki kemampuan fungsional diantaranya antioksidan, antibakteri, dan antijamur karena adanya senyawa asam, fenolat dan karbonil. Asap cair dapat digunakan sebagai pengawet makanan karena mengandung senyawa-senyawa antibakteri dan antioksidan, sehingga berfungsi sebagai preservatif, industri farmasi, bioinsektisida, pestisida, desinfektan, herbisida dan lain sebagainya yang mudah terserang mikroorganisma.

Absorbansi dari Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas sp.* pada Hari ke-1, -2, -3 dan -4

Berdasarkan analisis ragam diketahui bahwa terjadi interaksi antara perlakuan bahan baku dan konsentrasi asap cair terhadap nilai absorbansi. Rerata absorbansi bakteri *Pseudomonas sp.* oleh interaksi antara perlakuan jenis dan konsentrasi asap cair ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata Absorbansi Bakteri *Pseudomonas sp.* Akibat Interaksi antara Perlakuan Bahan Baku dan Konsentrasi Asap Cair

Perlakuan	Absorbansi pada Hari ke-			
	1	2	3	4
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 0%	3,03 b	2,39 c	1,82 c	1,69 c
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 5%	0,05 a	0,15 a	0,14 a	0,15 a
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 10%	0,08 a	0,22 a	0,17 a	0,16 a
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 15%	0,11 a	0,36 a	0,18 a	0,18 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 0%	2,81 b	1,97 bc	1,58 b	1,38 b
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 5%	0,15 a	0,09 a	0,14 a	0,11 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 10%	0,15 a	0,12 a	0,13 a	0,14 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 15%	0,21 a	0,14 a	0,17 a	0,18 a
Asap cair bambu konsentrasi 0%	3,69 c	1,97 bc	2,9 e	2,66 e
Asap cair bambu konsentrasi 5%	0,06 a	1,65 b	2,27 d	2,06 d
Asap cair bambu konsentrasi 10%	0,06 a	1,87 bc	1,96 c	2,21 c
Asap cair bambu konsentrasi 15%	0,06 a	0,15 a	0,15 a	0,31 a

Keterangan : nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan's $\alpha = 5\%$

Berdasarkan Tabel 2 dapat diketahui, bahwa asap cair dari bahan tempurung kelapa, tongkol jagung dan bambu dengan konsentrasi 10% memiliki nilai absorbansi yang relatif rendah yaitu 0,08; 0,15 dan 0,06. Sedangkan asap cair dari bambu dengan konsentrasi 0% memiliki nilai absorbansi yang relatif tinggi yaitu 3,69. Hal ini menunjukkan, bahwa penambahan asap cair dari tiga jenis bahan tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas sp.* Asap cair dari tongkol jagung dan tempurung kelapa dengan konsentrasi 5% memiliki nilai absorbansi yang relatif rendah yaitu 0,14. Sedangkan asap cair dari bambu dengan konsentrasi 0% memiliki nilai absorbansi yang relatif tinggi yaitu 2,9. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan asap cair dari tiga jenis bahan tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas sp.* Asap cair dari tongkol jagung dengan konsentrasi 5% memiliki nilai absorbansi yang relatif rendah yaitu 0,11, sedangkan asap cair dari bahan tempurung kelapa, tongkol jagung dan bambu dengan

konsentrasi 0% memiliki nilai absorbansi yang relatif tinggi yaitu 1,69; 1,38 dan 2,66. Pengukuran nilai absorbansi ini dinyatakan sebagai konsentrasi mikroorganisme yang terkandung dalam larutan asap cair. Makin sedikit jumlah sel dalam suspensi, makin besar intensitas cahaya yang lolos, makin besar nilai transmitans yang tercatat. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan asap cair dari tiga jenis bahan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas sp.*

Efek Antimikroba Asap Cair terhadap Bakteri *Bacillus subtilis*

Zona Hambat pada Hari ke-1, -2, -3 dan -4

Berdasarkan analisis ragam menunjukkan, bahwa asap cair berpengaruh sangat nyata terhadap zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Pada hari ke-1, -2, -3 dan -4. Rerata zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rerata Efek Antimikroba Asap Cair terhadap Bakteri *Bacillus subtilis* pada Hari ke-1, -2, -3 dan -4

Perlakuan	Zona hambat (mm)			
	1	2	3	4
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 0%	0 a	0 a	0 a	0 a
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 5%	0 a	0 a	0 a	0 a
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 10%	0 a	0,13 a	0 a	0 a
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 15%	0 a	0,13 a	0 a	0 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 0%	0 a	0 a	0 a	0 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 5%	0,33 b	0 a	0 a	0 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 10%	0 a	0,6 b	0 a	0 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 15%	0 a	0 a	0,13 a	0,2 a
Asap cair bambu konsentrasi 0%	0 a	0 a	0 a	0 a
Asap cair bambu konsentrasi 5%	0,56 c	0,73 b	0,96 b	1,33 b
Asap cair bambu konsentrasi 10%	0 a	0,73 b	0,7 b	1 b
Asap cair bambu konsentrasi 15%	0 a	1,33 c	0,76 b	1 b

Keterangan : nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan's $\alpha = 5\%$

Berdasarkan Tabel 3 dapat diketahui, bahwa asap cair yang berasal dari tempurung kelapa dari konsentrasi 0% hingga 15% tidak memiliki zona hambat sama sekali yaitu 0

mm, sedangkan pada asap cair yang berasal dari tongkol jagung dan bambu dengan konsentrasi 5% memiliki zona hambat yang relatif besar yaitu 0,33 mm dan 0,56 mm.

Hal ini menunjukkan, bahwa penambahan asap cair dengan konsentrasi 5% dari tongkol jagung dan bambu mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Asap cair yang berasal dari tempurung kelapa dari konsentrasi 10% sudah dapat menghambat perkembangan bakteri *Bacillus subtilis* dengan zona hambat sebesar 0,13 mm. Asap cair yang berasal dari tongkol jagung dengan konsentrasi 10% sudah dapat menghambat perkembangan bakteri dengan zona hambat 0,6 mm, sedangkan pada asap cair yang berasal dari bambu dengan konsentrasi 5% memiliki zona hambat 0,73 mm. Hal ini menunjukkan, bahwa penambahan asap cair dengan konsentrasi 5% dari bambu mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

Berdasarkan uji Duncan's ($\alpha = 5\%$) menunjukkan, bahwa asap cair yang berasal dari tempurung kelapa dari konsentrasi 0%, 5%, 10% dan 15% tidak dapat menghambat perkembangan bakteri *Bacillus subtilis* dengan zona hambat 0 mm. Pada asap cair yang berasal dari tongkol jagung dengan konsentrasi 0%, 5% dan 10% juga tidak dapat menghambat perkembangan bakteri dengan zona hambat 0 mm. Asap cair yang berasal dari tongkol jagung dengan konsentrasi 15% sudah dapat menghambat perkembangan bakteri dengan zona hambat 0,13 mm. Sedangkan asap cair dari bambu dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15% baru dapat menghambat perkembangan bakteri dengan zona hambat masing-masingnya 0,96 mm, 0,7 mm dan 0,76 mm. Hal ini menunjukkan, bahwa penambahan asap cair dengan konsentrasi 5% dari bambu mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus*

subtilis. Sedangkan pada penambahan asap cair dengan konsentrasi 15% dari tongkol jagung baru mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Asap cair dari tempurung kelapa dengan konsentrasi 0%, 5%, 10% dan 15% tidak dapat menghambat perkembangan bakteri *Bacillus subtilis* dengan zona hambat 0 mm. Asap cair yang berasal dari tongkol jagung dengan konsentrasi 0%, 5%, 10% dan asap cair dari bambu dengan konsentrasi 0% tidak dapat menghambat perkembangan bakteri dengan lebar zona hambat 0 mm. Asap cair yang berasal dari tongkol jagung dengan konsentrasi 15% sudah dapat menghambat perkembangan bakteri dengan lebar zona hambat 0,2 mm. Sedangkan asap cair dari bambu dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15% baru dapat menghambat perkembangan bakteri dengan zona hambat masing-masing sebesar 1,33 mm, 1 mm dan 1 mm. Hal ini menunjukkan, bahwa penambahan asap cair dengan konsentrasi 5% dari bambu mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan asap cair dengan konsentrasi 15% dari tongkol jagung baru mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

Absorbansi pada Hari ke-1, -2, -3 dan -4

Berdasarkan analisis ragam diketahui, bahwa terjadi interaksi antara perlakuan bahan baku dan konsentrasi asap cair terhadap nilai absorbansi. Rerata absorbansi bakteri *Bacillus subtilis* oleh interaksi antara perlakuan jenis dan konsentrasi asap cair terlihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rerata Absorbansi Bakteri *Bacillus subtilis* Akibat Interaksi antara Bahan Baku dan Konsentrasi Asap Cair

Perlakuan	Absorbansi			
	1	2	3	4
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 0%	3,60 c	0 a	2,08 bc	2,66 c
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 5%	0,03 a	0 a	0,12 a	0,11 a
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 10%	0,04 a	0,13 a	0,2 a	0,19 a

Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 15%	0,06 a	0,13 a	0,23 a	0,22 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 0%	2,70 b	0 a	1,67 b	1,79 b
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 5%	0,18 a	0 a	0,10 a	0,12 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 10%	0,20 a	0,60 b	0,13 a	0,15 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 15%	0,20 a	0 a	0,17 a	0,21 a
Asap cair bambu konsentrasi 0%	3,74 c	0 a	2,40 c	2,51 c
Asap cair bambu konsentrasi 5%	0,07 a	0,73 b	2,39 c	2,62 c
Asap cair bambu konsentrasi 10%	0,07 a	0,73 b	0,18 a	0,19 a
Asap cair bambu konsentrasi 15%	0,08 a	1,33 c	0,16 a	0,19 a

Keterangan : nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan's $\alpha = 5\%$

Berdasarkan Tabel 4 dapat diketahui, bahwa kemampuan asap cair untuk menghambat perkembangan bakteri *Bacillus subtilis* berbeda-beda. Pada asap cair dari tempurung kelapa dengan konsentrasi 5% sudah dapat menghambat perkembangan bakteri dengan nilai absorbansi sebesar 0,03. Asap cair dari tongkol jagung dengan konsentrasi 5% sudah dapat menghambat perkembangan bakteri dengan nilai absorbansi 0,18 dan asap cair bambu dengan konsentrasi 5% sudah dapat menghambat perkembangan bakteri *Bacillus subtilis* dengan nilai absorbansi 0,07. Sedangkan nilai absorbansi yang paling tinggi ditunjukkan pada asap cair bambu dengan konsentrasi 0% yang memiliki nilai absorbansi 3,74. Pengukuran nilai absorbansi ini dinyatakan sebagai konsentrasi mikroorganisme yang terkandung dalam larutan asap cair. Makin sedikit jumlah sel dalam suspensi, makin besar intensitas cahaya yang lolos, makin besar nilai transmitans yang tercatat. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan asap cair dari tiga jenis bahan tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Kemampuan asap cair untuk menghambat perkembangan bakteri *Bacillus subtilis* berbeda-beda. Asap cair dari tempurung kelapa pada konsentrasi 5% sudah dapat menghambat perkembangan bakteri dengan nilai absorbansi sebesar 0,03. Asap cair dari tongkol jagung dengan konsentrasi 5% sudah dapat menghambat perkembangan bakteri dengan nilai absorbansi 0,18 dan asap cair bambu dengan konsentrasi 5% juga sudah

dapat menghambat perkembangan bakteri *Bacillus subtilis* dengan nilai absorbansi 0,07. Sedangkan nilai absorbansi yang paling tinggi ditunjukkan pada asap cair bambu dengan konsentrasi 0% yang memiliki nilai absorbansi 3,74. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan asap cair dari tiga jenis bahan tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Kemampuan asap cair untuk menghambat perkembangan bakteri *Bacillus subtilis* berbeda-beda. Asap cair dari tempurung kelapa, tongkol jagung dan bambu dengan konsentrasi 0% sudah dapat menghambat perkembangan bakteri dengan nilai absorbansi yang relatif tinggi yaitu 2,08; 1,67 dan 2,40. Asap cair dari tempurung kelapa, tongkol jagung dan bambu dengan konsentrasi 5% sudah dapat menghambat perkembangan bakteri dengan nilai absorbansi 0,12; 0,1 dan 2,39. Sedangkan nilai absorbansi yang paling tinggi ditunjukkan pada asap cair dari bambu dengan konsentrasi 0% yang memiliki nilai absorbansi 3,40. Kemampuan asap cair untuk menghambat perkembangan bakteri *Bacillus subtilis* berbeda-beda. Asap cair dari tempurung kelapa, tongkol jagung dan bambu dengan konsentrasi 0% sudah dapat menghambat perkembangan bakteri dengan nilai absorbansi yang relatif tinggi yaitu 2,08; 1,67 dan 2,40. Asap cair dari tempurung kelapa, tongkol jagung dan bambu dengan konsentrasi 5% sudah dapat menghambat perkembangan bakteri dengan nilai absorbansi 0,12; 0,1 dan 2,39.

Sedangkan nilai absorbansi yang paling tinggi ditunjukkan pada asap cair bambu dengan konsentrasi 0% yang memiliki nilai absorbansi 3,40. Pengukuran nilai absorbansi ini dinyatakan sebagai konsentrasi mikroorganisme yang terkandung dalam larutan asap cair. Makin sedikit jumlah sel dalam suspensi, makin besar intensitas cahaya yang lolos, makin besar nilai transmitansi yang tercatat. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan asap cair dari tiga jenis bahan tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

Efek Antimikroba Asap Cair terhadap Bakteri *E.coli*

Zona Hambat pada Hari ke-1, -2, -3 dan -4

Berdasarkan analisis ragam menunjukkan, bahwa asap cair berpengaruh sangat nyata terhadap zona hambat pertumbuhan bakteri *E.coli* pada hari ke-1, -2, -3 dan -4. Rerata zona hambat pertumbuhan bakteri *E.coli* oleh efek dari asap cair berbagai bahan baku dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Rerata Efek Antimikroba Asap Cair terhadap Zona Hambat Bakteri *E. coli* pada Hari ke-1, -2, -3 dan -4

Perlakuan	Zona hambat (mm)			
	1	2	3	4
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 0%	0 a	0 a	0 a	0 a
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 5%	0 a	0 a	0 a	0 a
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 10%	0,07 a	0,23 ab	0,37 a	0,5 ab
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 15%	1,97 ab	0,33 a	0,9 b	0 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 0%	0 a	0 a	0 a	0 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 5%	0 a	1,67 c	2 c	2,17 d
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 10%	1,77 ab	1,7 c	1,8 c	1,93 d
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 15%	0,8 a	1,33 bc	1,67 c	1,33 c
Asap cair bambu konsentrasi 0%	0 a	0 a	0 a	0 a
Asap cair bambu konsentrasi 5%	0,23 a	0,2 a	0,27 a	0,3 a
Asap cair bambu konsentrasi 10%	1 a	0,9 b	0,4 a	0,23 a
Asap cair bambu konsentrasi 15%	2,2 b	1,17 bc	1,3 b	0,6 b

Keterangan : nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan's $\alpha = 5\%$

Berdasarkan Tabel 5 dapat diketahui, bahwa asap cair dengan konsentrasi 0% yang berasal dari tempurung kelapa, tongkol jagung dan bambu tidak memiliki zona hambat (0 mm) pada hari ke-1, -2, -3 dan -4. Asap cair dari tempurung kelapa pada hari ke-1, -2, -3 dan -4. Asap cair dari tempurung kelapa, tongkol jagung dan bambu pada konsentrasi 5%, 10% dan 15% memiliki kemampuan menghambat yang ditunjukkan oleh zona hambat pada hari ke-1, -2, -3 dan -4, kecuali pada hari ke-4 dari asap cair tempurung kelapa pada konsentrasi 15% tidak mampu menghambat aktivitas bakteri.

Hal ini menunjukkan, bahwa penambahan asap cair dengan konsentrasi rendah (0% dan 5%) belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* pada perlakuan asap cair dari berbagai bahan baku tempurung kelapa, tongkol jagung dan bambu. Dengan semakin meningkatnya konsentrasi yang ditambahkan, maka kemampuan asap cair dari bahan baku yang berbeda akan memberikan efek yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*. Selain itu bakteri patogen pada makanan juga akan mempunyai daya tahan dan tingkat resistensi yang berbeda pula. Kemampuan ini akan memungkinkan memperpanjang daya

simpan atau daya awet pada ikan yang berbeda pula. Hal ini sesuai dengan pendapat Sutin (2008) yang menyatakan bahwa asap cair memiliki kemampuan fungsional diantaranya antioksidan, antibakteri, dan antijamur karena adanya senyawa asam, fenolat dan karbonil. Asap cair dapat digunakan sebagai pengawet makanan karena mengandung senyawa-senyawa antibakteri dan antioksidan, dengan demikian asap cair banyak digunakan pada industri makanan sebagai preservatif, industri farmasi, bioinsektisida, pestisida,

desinfektan, herbisida dan lain sebagainya yang mudah terserang mikroorganisma.

Absorbansi dari Pertumbuhan Bakteri *E.coli* pada Hari ke-1, -2, -3 dan -4

Berdasarkan analisis ragam diketahui, bahwa terjadi interaksi antara perlakuan bahan baku dan konsentrasi asap cair terhadap nilai absorbansi. Rerata absorbansi bakteri *E.coli* oleh interaksi antara perlakuan jenis dan konsentrasi asap cair terlihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Rerata Absorbansi Bakteri *E. coli* akibat Interaksi antara Perlakuan Bahan Baku dan Konsentrasi Asap Cair

Perlakuan	Absorbansi pada Hari ke-			
	1	2	3	4
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 0%	1,70 c	2,49 c	1,82 c	2,68 d
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 5%	0,05 a	0,121 a	0,13 a	0,09 a
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 10%	0,07 a	0,14 a	0,16 a	0,14 a
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 15%	0,18 b	0,17 a	0,18 a	0,2 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 0%	2,35 e	1,44 b	1,36 b	1,69 b
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 5%	0,17 b	0,11 a	0,12 a	0,13 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 10%	0,13 ab	0,12 a	0,14 a	0,15 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 15%	0,20 b	0,17 a	0,17 a	0,2 a
Asap cair bambu konsentrasi 0%	1,67 d	1,99 bc	0,2 a	2,68 d
Asap cair bambu konsentrasi 5%	0,06 a	1,67 b	2,74 d	2,28 c
Asap cair bambu konsentrasi 10%	0,06 a	0,14 a	0,17 a	0,2 a
Asap cair bambu konsentrasi 15%	0,07 a	0,15 a	0,17 a	0,19 a

Keterangan : nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan's $\alpha = 5\%$

Berdasarkan Tabel 6 dapat diketahui, bahwa asap cair dari bahan tempurung kelapa, tongkol jagung dan bambu dengan konsentrasi 0% memiliki nilai absorbansi paling tinggi yang menunjukkan bahwa kondisi tabung paling keruh atau jumlah bakteri paling banyak. Sebaliknya pada konsentrasi paling tinggi, maka nilai Absorbansi relatif rendah. Sedangkan asap cair tempurung kelapa dan tongkol jagung dengan konsentrasi 0% memiliki nilai absorbansi yang relatif tinggi yaitu 2,68; 2,43 dan 2,35. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan asap cair dari tiga jenis bahan tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*.

Asap cair dari bahan tongkol jagung dan tempurung kelapa dengan konsentrasi 5% memiliki nilai absorbansi yang relatif rendah yaitu 0,14. Sedangkan asap cair dari bahan bambu dengan konsentrasi 0% memiliki nilai absorbansi yang relatif tinggi. Hal ini menunjukkan, bahwa penambahan asap cair dari tiga jenis bahan tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*. Asap cair dari bahan tongkol jagung dengan konsentrasi 5% memiliki nilai absorbansi yang relatif rendah yaitu 0,11, sedangkan asap cair dari bahan tempurung kelapa, tongkol jagung dan bambu dengan konsentrasi 0% memiliki nilai absorbansi yang relatif tinggi.

Pengukuran nilai absorbansi ini dinyatakan sebagai konsentrasi mikroorganisme yang terkandung dalam larutan asap cair. Makin sedikit jumlah sel dalam suspensi, makin besar intensitas cahaya yang lolos, makin besar nilai transmitansi yang tercatat. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan asap cair dari tiga jenis bahan tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*.

Efek Antimikroba Asap Cair terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Zona Hambat pada Hari ke-1, -2, -3 dan -4

Berdasarkan analisis ragam menunjukkan, bahwa asap cair berpengaruh sangat nyata terhadap zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada hari ke-1, -2, -3 dan -4. Rerata zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Rerata Efek Antimikroba Asap Cair terhadap Zona Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Hari ke-1, -2, -3 dan -4

Perlakuan	Zona hambat (mm)			
	1	2	3	4
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 0%	0 a	0 a	0 a	0 a
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 5%	1,83 ab	0,37 a	1,0 a	1,0 a
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 10%	3,13 b	0 a	0 a	0 a
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 15%	5,23 c	0 a	0 a	0 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 0%	0 a	0 a	0 a	0 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 5%	1,2 ab	7,17 b	7,1 b	7,33 b
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 10%	1,77 ab	0,67 a	0,77 a	1,33 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 15%	0,07 a	0 a	0 a	0 a
Asap cair bambu konsentrasi 0%	0,13 a	0 a	0 a	0 a
Asap cair bambu konsentrasi 5%	1,07 b	0 a	0 a	0 a
Asap cair bambu konsentrasi 10%	0,93 a	0,47 a	0 a	0 a
Asap cair bambu konsentrasi 15%	0,83 a	1,5 a	1,17 a	0,9 a

Keterangan : nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan's $\alpha = 5\%$

Berdasarkan Tabel 7 dapat diketahui, bahwa asap cair dengan konsentrasi 0% pada hari ke-1 berasal dari tempurung kelapa, tongkol jagung dan bambu tidak memiliki zona hambat sama sekali yaitu 0 mm, kecuali pada penggunaan asap cair dari bambu. Penggunaan asap cair pada konsentrasi 10% dan 15% pada hari ke-2, -3 dan -4 juga tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, demikian juga pada penggunaan asap cair dari bambu pada hari ke-2, -3 dan -4 belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Demikian juga asap cair dari tongkol jagung pada konsentrasi 15% yang dicobakan tidak memiliki kemampuan menghambat yang

ditunjukkan oleh zona hambat atau tidak memiliki sifat antibakteri pada hari ke-2, -3, dan -4. Penggunaan asap cair dari tempurung kelapa, tongkol jagung dan bambu pada konsentrasi 5% dan 10% memiliki zona hambat pada seluruh hari penyimpanan, kecuali asap cair dari tempurung kelapa pada konsentrasi 5% dan bambu pada hari ke-1, -2 dan -3 mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan bambu pada penyimpanan hari ke -3 dan -4.

Hal ini menunjukkan, bahwa penambahan asap cair dengan konsentrasi 5% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada perlakuan asap cair dari bahan baku tempurung kelapa, tongkol jagung dan bambu. Kemampuan

asap cair dari bahan baku yang berbeda akan memberikan efek yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri terutama pada awal periode penyimpanan. Selain itu bakteri patogen pada makanan juga akan mempunyai daya tahan dan tingkat resistensi yang berbeda pula. Kemampuan ini akan memungkinkan memperpanjang daya simpan atau daya awet pada ikan yang berbeda pula. Sutin (2008) menyatakan, bahwa asap cair memiliki kemampuan fungsional sebagai antioksidan, antibakteri, dan antijamur karena adanya senyawa asam, fenolat dan karbonil. Asap cair dapat digunakan sebagai pengawet makanan karena mengandung senyawa-senyawa antibakteri dan antioksidan, dengan demikian asap cair banyak digunakan

pada industri makanan sebagai preservatif, industri farmasi, bioinsektisida, pestisida, desinfektan, herbisida yang mudah terserang mikroorganisma

Absorbansi dari Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Hari ke-1, -2, -3, -4

Berdasarkan analisis ragam diketahui, bahwa terjadi interaksi antara perlakuan bahan baku dan konsentrasi asap cair terhadap nilai absorbansi. Rerata absorbansi *Staphylococcus aureus* oleh interaksi antara perlakuan jenis dan konsentrasi asap cair terlihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Rerata Absorbansi Bakteri *Staphylococcus aureus* Akibat Interaksi antara Perlakuan Bahan Baku dan Konsentrasi Asap Cair

Perlakuan	Absorbansi pada Hari ke-			
	1	2	3	4
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 0%	1,33 c	2,77 d	2,80 e	2,77 d
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 5%	0,05 ab	0,94 b	0,76 b	0,31 a
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 10%	0,04 a	0,09 a	0,17 a	0,18 a
Asap cair tempurung kelapa konsentrasi 15%	0,05 ab	0,15 a	0,30 a	0,27 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 0%	2,48 d	0,34 c	1,49 c	1,15 b
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 5%	0,19 ab	0,09 a	0,08 a	0,11 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 10%	0,18 ab	0,09 a	0,12 a	0,13 a
Asap cair tongkol jagung konsentrasi 15%	0,24 b	0,14 a	0,16 a	0,19 a
Asap cair bambu konsentrasi 0%	0,05 ab	1,35 c	2,22 d	2,55 cd
Asap cair bambu konsentrasi 5%	0,06 ab	1,65 b	2,12 d	2,17 c
Asap cair bambu konsentrasi 10%	0,07 ab	1,77 c	2,44 de	1,751 c
Asap cair bambu konsentrasi 15%	0,07 ab	0,20 a	0,18 a	0,30 a

Keterangan : nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan's $\alpha = 5\%$

Berdasarkan Tabel 8 dapat diketahui, bahwa asap cair dari bahan tempurung kelapa, tongkol jagung dan bambu dengan konsentrasi 10% memiliki nilai absorbansi yang relatif rendah, sedangkan asap cair bambu dengan konsentrasi 0% memiliki nilai absorbansi yang relatif tinggi yaitu 2,80A. Pengukuran nilai absorbansi ini dinyatakan sebagai konsentrasi mikroorganisme yang terkandung dalam larutan asap cair. Makin sedikit jumlah sel dalam suspensi, makin

besar intensitas cahaya yang lolos, makin besar nilai transmitans yang tercatat. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan asap cair dari tiga jenis bahan tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Asap cair dari bahan tongkol jagung dan tempurung kelapa dengan konsentrasi 5% memiliki nilai absorbansi yang relatif rendah. Sedangkan asap cair dari bahan bambu dengan konsentrasi 0% memiliki nilai absorbansi yang relatif tinggi.

Pengukuran nilai absorbansi ini dinyatakan sebagai konsentrasi mikroorganisme yang terkandung dalam larutan asap cair. Makin sedikit jumlah sel dalam suspensi, makin besar intensitas cahaya yang lolos, makin besar nilai transmitans yang tercatat. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan asap cair dari tiga jenis bahan tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Asap cair dari bahan tongkol jagung dengan konsentrasi 5% memiliki nilai absorbansi yang relatif rendah, sedangkan asap cair dari bahan tempurung kelapa, tongkol jagung dan bambu dengan konsentrasi 0% memiliki nilai absorbansi yang relatif tinggi. Pengukuran nilai absorbansi ini dinyatakan sebagai konsentrasi mikroorganisme yang terkandung dalam larutan asap cair. Makin sedikit jumlah sel dalam suspensi, makin besar intensitas cahaya yang lolos, makin besar nilai transmitans yang tercatat. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan asap cair mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut :

- Bahan pengawet makanan telah berhasil diekstrak dari bahan alami dari 3 jenis asap cair yang berasal dari tempurung kelapa, tongkol jagung dan bambu
- Asap cair dari 3 jenis asap cair (tempurung kelapa, tongkol jagung dan bambu) dapat bermanfaat sebagai bahan pengawet yang ditunjukkan oleh kemampuan zona hambat dan nilai absorbansi
- Asap cair mempunyai kemampuan dalam menghambat bakteri patogen (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*) pada berbagai periode penyimpanan ikan mujair (hari ke-1, -2, -3 dan -4).

DAFTAR PUSTAKA

- Arbain, D. 1995. Uji Bioaktivitas dan Penelitian Kimia Bahan Alam. Workshop Isolasi Senyawa Aktif Biologis. FMIPA, Universitas Andalas. Padang.
- Cahyadi, W. 2006. Bahan Tambahan Pangan. Bumi Aksara. Jakarta.
- Harborne, J.B. 1987. Metabolisme Fitokimia : Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Terjemahan oleh K. Padmawinata. ITB. Bandung.
- Harborne, J.B., and Swain, T., 1969. Perspective in Phytochemistry. Academic Press., London.
- Harini, N. dan M. Wachid. 2012. Pengembangan Bahan Pengawet Alami Asap Cair (Liquid Smoke) sebagai Senyawa Anti Bakteri. PBP. UMM. Malang.
- Hayne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid II. Badan Penelitian dan Pengembangan Hutan, Departemen Kehutanan. Jakarta.
- Hikam, A.C. 2009. Perubahan Mikrobiologis dan Kimiawi Selama Fermentasi Kecutan di Pabrik Tahu Kitagama. Skripsi jurusan TPHP, Fakultas Teknologi Pertanian, UGM, Yogyakarta.
- Johnson, M., dan Snyder, H.E. 1978. Soymilk a Comparison of Processing Methods on Yield And Composition. J. Food Sci. 43:349-351.
- Ray, Bibek. 1996. Fundamental Food Microbiology. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
- SNI No. 01-0222-1995. Bahan Tambahan Makanan. Badan Standarisasi Nasional.
- Stanburry, P. F., Whitaker, A., dan Hall, S. J. 1995. Principle of Fermentation Technology. Elsevier Science Ltd. London.
- Steel and Torri. 1987. Analisis Statistik dan Rancangan Percobaan. Terjemahan. Gramedia. Jakarta.
- Subiantoro. 2007. Metode Skrining untuk Antimikroba Bahan Alam. Skrining Senyawa

- Bioaktif yang Dipandu dengan Bioassay-nya. Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Brawijaya. Malang.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., Suhardi., 1997. Analisis Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty dan PAU-UGM. Yogyakarta
- Tranggono, Suhardi, Haryadi, Suparmo, Murdiati, A., Sudarmadji, S., Rahayu, K.,
- Naruki, S. Dan Astuti, M. 1990. Bahan Tambahan Pangan (Food Additives). Pusat Antar Universitas (PAU) Pangan dan Gizi. UGM. Yogyakarta.
- Utomo, E.P. 2007. Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism. Workshop Skrining Senyawa Bioaktif yang Dipandu dengan Bioassay-nya. Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Brawijaya. Malang.
- Warsito. 2007. Metode Isolasi dan Pemurnian Senyawa Metabolit Sekunder dari Tanaman. Skrining Senyawa Bioaktif yang Dipandu dengan Bioassay-nya. Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Brawijaya. Malang.