

**PENGARUH PENAMBAHAN MINYAK OREGANO ESENSIAL
(*Origanum vulgare*) PADA AKTIVITAS MIKROBA KOLOID NANO
KONSENTRAT PROTEIN IKAN GABUS (*Channa striata*)**

*The effect of addition of Oregano Essential Oil (*Origanum vulgare*) on microbial
activity in Colloid of Snakefish (*Channa striata*) Protein Nano Concentrate*

OLEH

**ERVAN TOGATOROP
G311 13 302**



**PROGRAM STUDI ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN
DEPARTEMEN TEKNOLOGI PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

HALAMAN PENGANTAR

**PENGARUH PENAMBAHAN MINYAK OREGANO ESSENSIAL
(*Origanum vulgare*) PADA AKTIVITAS MIKROBA KOLOID NANO
KONSENTRAT PROTEIN IKAN GABUS (*Channa striata*)**

Oleh:

ERVAN TOGATOROP

G311 13 302

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar

SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN

pada

Departemen Teknologi Pertanian

**PROGRAM STUDI ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN
DEPARTEMEN TEKNOLOGI PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Pengaruh Penambahan Minyak Oregano Esensial
(*Origanum vulgare*) Pada Aktivitas Mikroba Koloid
Nano Konsentrat Protein Ikan Gabus (*Channa
striata*)
Nama : Ervan Togatorop
Stambuk : G 311 13 302
Program Studi : Ilmu dan Teknologi Pangan

Disetujui
Tim Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II



Prof. Dr. Ir. Meta Mahendradatta
NIP. 19660917 199112 2 001

Dr. Ir. Jumriah Langkong, MS
NIP. 19571215 198703 2 001

Mengetahui

Ketua Departemen Teknologi Pertanian



Prof. Dr. Ir. Meta Mahendradatta
NIP. 19660917 199112 2 001

Tanggal Lulus:

Ervan Togatorop (G311 13 302) Pengaruh Penambahan Minyak Oregano Esensial (*Origanum vulgare*) Pada Aktivitas Mikroba Koloid Nano Konsentrat Protein Ikan Gabus (*Channa striata*)
Dibawah Bimbingan : Meta Mahendradatta dan Jumriah Langkong

ABSTRAK

Koloid nano konsentrat protein ikan gabus (KPIG) merupakan produk dari konsentrat protein ikan gabus yang mengalami proses nanoteknologi kemudian ditambahkan bahan lain hingga menghasilkan produk suplemen dalam bentuk koloid. Akan tetapi produk ini rentan akan kontaminasi mikroorganisme yang menyebabkan umur simpan produk yang rendah. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya tahan bakteri *Bacillus coagulans* terhadap minyak oregano esensial pada koloid nano konsentrat protein ikan gabus serta untuk mengetahui pengaruh aplikasi minyak oregano pada koloid nano konsentrat protein ikan gabus terhadap aktivitas bakteri tersebut. Adapun prosedur dari penelitian ini terdiri dari 3 tahapan yaitu pembuatan nano KPIG, pembuatan produk dispersi nano KPIG, penentuan nilai *Minimum inhibitory concentration*, serta pengamatan. Pengamatan dilakukan dengan pengujian viskositas, organoleptik (aroma dan warna), mikrobiologi TPC (*Total Plate Count*), pewarnaan Gram dan Uji biokimia. Hasil pengujian biokimia menunjukkan bahwa mikroba pada KPIG adalah bakteri *Bacillus coagulans*, yang merupakan bakteri Gram positif. *Minimum inhibitory concentration* yang didapatkan adalah 0,025 %. Minyak oregano konsentrasi 0,025% (v/v) mampu menurunkan 2,42 log cfu/ml *B. Coagulans* atau sebesar 47,4%. Produk dengan konsentrasi minyak oregano 0,025 % lebih diterima panelis dibandingkan konsentrasi 0,05 atau 0,1 % untuk parameter aroma. Warna koloid nano KPIG memiliki tingkat kesukaan konsentrasi 0,025 % sebesar 3,37, konsentrasi 0,05 % sebesar 3,6 dan konsentrasi 0,1 % sebesar 3,75. Semua konsentrasi masih dapat diterima oleh panelis. Parameter viskositas konsentrasi 0,025 sebesar 79,8 cP, konsentrasi 0,05 sebesar 77,94cP, konsentrasi 0.1 sebesar 77,87cP.

Kata Kunci: *Bacillus coagulans*, Koloid, Minyak Oregano, Nano konsentrat.

Ervan Togatorop (G311 13 302) The effect of addition of Oregano Essential Oil (Origanum vulgare) on microbial activity in Colloid of Snakefish (Channa striata) Protein Nano Concentrate
Supervised : Meta Mahendradatta and Jumriah Langkong

ABSTRACT

Colloid nano concentrated from Snakehead fish protein is a product made from nano concentrates that has been processed with nanotechnology then modified with various ingredients to produce a supplement product in the form of colloid. However, this product is susceptible to microorganism contamination which causes a low shelf life of the product. The purpose of the study was to determine the resistance of *Bacillus coagulans* to oregano essential oil in colloid nano concentrated Snakehead fish protein, and to determine the effect of oregano oil application on nano concentrated Snakehead fish protein on bacterial activity. The procedure of this study consists of 4 stages, namely nano concentrated Snakehead fish protein production, then colloid products nano concentrated Snakehead fish protein production, determination the value of minimum inhibitory concentration, and observation. Observations were made viscosity, organoleptic (aroma and color), Gram staining, and biochemical test. The results of biochemical testing showed that the microbial in the product were *Bacillus coagulans*, which is Gram-positive bacteria. Minimum inhibitory concentration of oregano oil is 0,025%. Oregano oil concentration of 0,025% (v/v) reduce 2,42 log cfu / ml or 47,4% of *Bacillus coagulans*. Products with 0,025% oregano oil concentration were more acceptable to panelists than 0,05% or 0,1% concentration for aroma parameters. The color parameter scores for concentration of 0,025% at 3,37, for concentration of 0,05% was 3,6 and for concentration of 0.1% was 3.75. All concentrations were still acceptable to panelists The viscosity parameter concentration of 0.025 was 79.8 cP, the concentration of 0.05 was 77.94cP, the concentration of 0.1 was 77.87cP.

Keywords: *Bacillus coagulans*, *Colloid*, *Oregano oil*, *Nano concentrate*.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan hormat syukur penulis panjatkan kepada Tuhan yang Maha Esa yang telah memberikan segala berkat yang melimpah sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi. Penulis menghaturkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Ayahanda dan Ibunda penulis, yakni bapak **Douglas Gordon** dan Ibu **Maria Niawati**, yang melalui doa dan restu beliau berdualah penulis mampu menyelesaikan skripsi ini dengan judul “Pengaruh Penambahan Minyak Oregano Esensial (*Origanum vulgare*) Pada Aktivitas Mikroba Koloid Nano Konsentrat Protein Ikan Gabus (*Channa striata*)” yang disusun sebagai salah satu syarat penyelesaian studi dan meraih gelar sarjana pada program studi Ilmu dan Teknologi Pangan Universitas Hasanuddin, Makassar. Penyelesaian tugas akhir ini tidak terlepas berbagai dukungan luar biasa yang senantiasa berada di sekeliling penulis. Dengan ini penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan kepada:

1. Bapak Prof Dr.Agr. Ir. Baharuddin, selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin, beserta para wakil dekan Bapak Dr. Ir Hatta Jamil, M.Si., Bapak Dr.rer nat Zaenal, STP,. M.Food Tech, , Ibu Dr. Ir. Novaty Eny Dunga,M.P;
2. Ibu Prof. Dr. Ir. Meta Mahendradatta selaku Pembimbing I dan Ibu Dr. Ir. Jumriah Langkong MS selaku Pembimbing II serta kepada yang telah banyak membantu Penulis dalam pembuatan skripsi ini dengan memberikan ilmu, saran serta kritik untuk lebih baik kedepannya;
3. Bapak Dr. Muhammad Asfar, S.TP., MS serta Bapak Prof. Dr. Ir Amran Laga, MS sebagai Dosen penguji dalam ujian skripsi
4. Kepada Ketua Prodi Ilmu dan Teknologi Pangan, Februadi Bastian., STP., M.Si, Ph.d dan para Dosen Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin, khususnya kepada seluruh dosen Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan yang telah memberikan banyak ilmu, motivasi serta semangat dan tentunya pembelajaran kepada penulis selama berkuliah di Universitas Hasanuddin;

5. Seluruh staff/pegawai akademik, Perpustakaan Pusat Universitas Hasanuddin dan Perpustakaan Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin atas segala bantuannya selama Penulis berkuliah di Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin;
6. Kepada Keluarga KATADIA DEAFRIENDS, Eco Youth Corps, Indonesia Interfaith Forum, IYFCCSD, Sikola Cendekia Pesisir, Youth Force.id, GMKI Kom Agrokompleks, terimakasih sudah menjadi wadah penulis untuk mengembangkan potensi diri.
7. Sahabatku-sahabatku, Dirga Utama Mahardika, Serlina Rantetandung, Andi Yusniar Chadijah, Sarah Fahmiyah, Dwi Prayogi terimakasih atas dukungan selama penulis berkuliah.
8. Keluarga Rantai'13, ITP'13, KKNT Miangas 93, terimakasih sudah mengisi perjalanan berkuliah penulis

Penulis menyadari segala keterbatasan penulis sehingga dalam tugas akhir ini masih memiliki kekurangan dan kesalahan. Akhir kata, semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi pembaca, khususnya penulis. Aamiin.

Makassar, Juni 2020

Penulis

RIWAYAT HIDUP PENULIS



Ervan Togatorop lahir di Jakarta, tanggal 9 November 1995. Terlahir dari pasangan **Douglas Gordon** dan **Maria Niawati**, Pendidikan formal yang pernah dijalani adalah :

1. Sekolah Dasar Negeri 173345 Aritonang (2001-2007)
2. Sekolah Menengah Pertama Negeri 2 Muara (2007-2010)
3. Sekolah Menengah Atas Negeri 1 Muara (2010-2013)

Pada Tahun 2013 penulis diterima di Perguruan Tinggi Negeri melalui jalur penerimaan mahasiswa SBMPTN Program Strata Satu (S1) dan tercatat sebagai mahasiswa Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin Makassar.

Selama menempuh pendidikan di jenjang sarjana, penulis aktif dalam bidang akademik maupun organisasi. Penulis pernah menjadi koordinator asisten Aplikasi Mikrobiologi Umum Tahun 2015-2018, dan Magang di PT Satoimo Sulawesi Sukses Tahun 2018, sedangkan dalam bidang organisasi, penulis merupakan pendiri komunitas tuli Katadia DEAFRIENDS, Koordinator bidang PSDM sikola cendekia pesisir dan relawan Empowering Youth Across ASEAN. Penulis pernah melakukan pertukaran pelajar ke Mahidol University, Thailand. Selain itu, Penulis Mendapatkan penghargaan seperti Proyek Sosial Terbaik di Youth Volunteering Innovation Challenge oleh United Nation (PBB) bidang kerelawanan, Juara 3 proyek sosial terbaik di Creative project competition oleh Nutrifood dan sobat diabet, Juara 3 Indonesia Bergizi Creative Project oleh JAPFA.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
RINGKASAN.....	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR.....	vi
RIWAYAT HIDUP	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
I. PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	2
I.3 Tujuan dan Kegunaan	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Konsentrat Protein Ikan Gabus	4
II.2 Nano Teknologi	5
II.3 Koloid	6
II.4 <i>Bacillus coagulans</i>	7
II.5 Minyak oregano esensial (<i>Origanum vulgare</i>)	8
II.6 Mekanisme Antibakteri.....	10
II.7 Viskositas.....	13
II.8 Uji Organoleptik	13
III. METODOLOGI PENELITIAN	14
III.1 Waktu dan Tempat	14
III.2 Alat dan Bahan	14
III.3 Metode Penelitian	14
III.4 Desain Penelitian	14
III.5 Prosedur Penelitian.....	15
III.5.1. Pembuatan Nano KPIG	15

III.5.2. Pengujian Antibakteri Minyak Oregano Esensial	15
III.5.3. Penentuan <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC).....	16
III.5.4. Aplikasi Minyak Oregano Pada Nano KPIG.....	17
III.6 Parameter pengujian	17
III.7 Rancangan Percobaan dan Analisis data	19
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	21
IV.1 Nano Konsentrat Protein Ikan Gabus.....	21
IV.2 Identifikasi Mikroba pada Nano KPIG	22
IV.2.1 Pewarnaan Gram	22
IV.2.2 Uji Biokimia.....	23
IV.3 Total Mikroba KPIG tanpa Oregano.....	26
IV.4 Daya Tahan Bakteri <i>Bacillus Coagulans</i> Terhadap Minyak Oregano	26
IV.5 Viskositas	29
IV.6 Uji Organoleptik.....	30
IV.6.1 Aroma.....	30
IV.6.2 Warna	31
IV. PENUTUP	33
V. 1 Kesimpulan.....	33
V. 2 Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	38

DAFTAR TABEL

No.	Teks	Halaman
1.	Spesifikasi Persyaratan Mutu Konsentrat Protein Ikan	4
2.	Komponen Kimia Minyak Oregano esensial.....	9
3.	Klasifikasi hambat zona antibakteri.....	17
4.	Karakteristik Reaksi Uji Biokimia	23
5.	Hasil Pengamatan Diameter Zona Bening Minyak Oregano	27

DAFTAR GAMBAR

No.	Teks	Halaman
1.	Nano Konsentrat Protein Ikan Gabus.....	5
2.	Kenampakan Morfologi <i>Bacillus coagulans</i>	8
3.	Struktur Senyawa Carcavrol	10
4.	Mekanisme Bahan Anti Mikroba Terhadap Bakteri Gram Postif dan Bakteri Gram Negatif	11
5.	Bentuk Morfologi <i>Bacillus coagulans</i>	22
6.	Pengaruh Lama Penyimpanan terhadap TPC	26
7.	Pertumbuhan Mikroba Pada Nano KPIG Dengan Penambahan Minyak Oregano	28
8.	Pengaruh Konsentrasi Minyak Oregano Terhadap Uji Viskositas	29
9.	Pengaruh Konsentrasi Minyak Oregano Terhadap Parameter Aroma nano konsentrat ikan gabus.....	31
10.	Pengaruh Konsetrasi Minyak Oregano Terhadap Parameter Warna...	32

DAFTAR LAMPIRAN

No	Teks	Halaman
1.	Hasil Uji Parameter Viskositas.....	38
2.	Hasil Uji Anova Viskositas	38
3.	Hasil Perhitungan Mikroba sampai hari ke 12	39
4.	Hasil uji ANOVA perhitungan mikroba.....	39
5.	Hasil Uji Parameter Aroma	40
6.	Analisa Uji Statistik Perhitungan Aroma	41
7.	Analisa Uji Lanjut Duncan Aroma	41
8.	Hasil Uji Parameter Warna	42
9.	Analisa Uji Statistik Warna	42
10.	Hasil Uji Lanjut Duncan Warna	43
11.	Flowchart identifikasi bakteri Bacillus Sp	44
12.	Dokumentasi Penelitian.....	45

I. PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Konsentrat protein ikan gabus (KPIG) adalah sebuah produk yang dibuat dari bahan baku ikan gabus yang telah melalui berbagai proses pengolahan serta teknologi, sehingga diperoleh kandungan protein yang lebih tinggi dibandingkan dari bahan baku asalnya. KPIG diproduksi sebagai bahan pada pembuatan berbagai produk olahan pangan karena nilai gizinya tinggi juga sifat fungsional proteinnya tidak hilang selama proses pengolahan. Pada konsentrat protein ikan gabus (KPIG) dilakukan proses nanoteknologi untuk memperoleh hasil dalam ukuran nano sehingga lebih mudah proses tubuh dalam proses metabolisme. Nano konsentrat protein ikan gabus atau nano KPIG adalah konsentrat protein ikan gabus yang melalui proses pemecahan partikel dengan metode sonikasi sehingga diperoleh ukuran partikel kurang dari 100 nanometer.

Koloid nano konsentrat merupakan sebuah produk yang dibuat dari nano konsentrat dengan penambahan madu kemudian dimodifikasi dengan berbagai bahan-bahan sehingga menjadi sebuah produk suplemen dalam bentuk koloid. Koloid nano konsentrat ini dibuat sebagai suplemen pangan yang diperuntukkan untuk anak-anak. Koloid nano konsentrat ini hadir untuk menjadi suplemen dalam memenuhi kebutuhan gizi masyarakat secara instan sehingga tidak perlu lagi mengolah bahan mentah agar dapat dikonsumsi untuk memenuhi kebutuhan gizi. Nano KPIG diolah menjadi suplemen dalam bentuk koloid agar lebih disukai oleh anak-anak jika dibandingkan dengan suplemen dalam bentuk kapsul sebab suplemen dalam bentuk kapsul lebih terlihat seperti obat sehingga daya tarik anak kurang. Namun pada penelitian sebelumnya (Fatanah, 2019) diperoleh bahwa umur simpan produk nano KPIG masih relatif singkat pada suhu ruang. Penelitian telah dilakukan untuk menentukan umur simpan produk nano KPIG. Pada hari keenam total koloni mikroba telah melewati batas ambang FAO (2011) Produk konsentrat protein ikan dikategorikan aman apabila jika total koloni bakteri (Total Plate Count) tidak melebihi 1×10^5 colony forming unit (cfu) atau 5 log cfu/ml. Berdasarkan uji biokimia, sampel KPIG telah ditumbuhi bakteri *Bacillus coagulans*.

Bacillus coagulans adalah bakteri gram positif, *nonpathogenic* yang bersifat anaerobik fakultatif. Dalam industri pengalengan sayur ketika nilai pH diatur antara 4 sampai 4.5, bakteri ini sering ditemukan, jejak spora *Bacillus coagulans* mampu tumbuh dan berkembang pada pH serendah 4 (De Clerck *et al.*, 2004; Lucas *et al.*, 2006). Selain itu,

bakteri ini mampu meningkatkan pH makanan pada nilai yang memungkinkan perkecambahan spora bakteri lain. *Bacillus coagulans* dapat menyebabkan kerugian ekonomi dalam industri pangan akibat “flat sour spoilage” yakni pengasaman drastis karena produksi asam laktat tanpa gas (Lucas *et al.*, 2006). *Bacillus coagulans* perlu dicegah karena dapat mempercepat penurunan mutu nano KPIG.

Berdasarkan penelitian Haberbeck (2011), minyak oregano memiliki sifat aktivitas antibakteri pada *Bacillus coagulans*. Minyak oregano adalah minyak esensial yang terbuat dari tumbuhan oregano. Komponen utama minyak oregano adalah carvacrol dan thymol, yang memiliki aktivitas biologi yang tinggi, termasuk anti inflamasi, anti bakteri dan anti oksidan. Dutra *et al.* (2019) menemukan bahwa minyak oregano memberikan efek penghambat pada berbagai jenis bakteri dan memiliki spektrum luas sifat antibakteri. Oleh karena itu, minyak oregano esensial dapat digunakan sebagai agen antibakteri alami yang efektif. Pada penelitian ini dipelajari aktivitas dan efektivitas minyak oregano pada berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan *Bacillus coagulans* pada nano koloid nano konsentrat protein ikan gabus

I.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan sebelumnya bahwa sesuai dengan standar mutu konsentrat protein ikan menurut FAO, produk konsentrat protein ikan dikategorikan aman jika total koloni bakteri (Total Plate Count) tidak melebihi 1×10^5 colony forming unit (cfu) atau 5 log cfu/ml. Oleh sebab itu rumusan masalah dari penelitian ini adalah berapa konsentrasi optimum dari minyak oregano esensial terhadap daya tahan pertumbuhan *Bacillus coagulans* pada koloid nano konsentrat protein ikan gabus serta mengetahui pengaruh aplikasi minyak oregano pada nano KPIG terhadap aktivitas bakteri tersebut.

I.3. Tujuan dan Kegunaan

Penelitian ini memiliki tujuan yaitu:

1. untuk mengetahui daya tahan bakteri *Bacillus coagulans* dan Minimum Inhibitory concentration terhadap minyak oregano esensial pada koloid nano konsentrat protein ikan gabus.
2. untuk mengetahui pengaruh aplikasi minyak oregano pada koloid nano konsentrat protein ikan gabus terhadap aktivitas bakteri tersebut.

Kegunaan dari penelitian ini adalah bahwa minyak oregano dapat diaplikasikan sebagai pengawet alami khususnya pada produk koloid nano konsentrat protein ikan gabus dan secara umum pada berbagai jenis konsentrat protein ikan lainnya.

II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Konsentrat Protein Ikan Gabus (KPIG)

Konsentrat protein ikan gabus (KPIG) adalah sebuah produk yang dibuat dari bahan baku ikan gabus yang telah melalui berbagai proses pengolahan serta teknologi, sehingga diperoleh kandungan protein yang lebih tinggi dibandingkan dari bahan baku asalnya. KPIG diproduksi sebagai bahan pada pembuatan berbagai produk olahan pangan karena nilai gizinya tinggi juga memiliki sifat fungsional proteinnya tidak hilang selama proses pengolahan (Dewita dan Syahrul, 2010). Protein yang tinggi pada konsentrat ikan gabus diperoleh dengan cara menghilangkan sebagian besar lemak dan kadar air yang terkandung pada bahan baku ikan gabus (Asfar, 2018). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan (Trilaksani dkk., 2014) menyatakan bahwa konsentrat protein ikan gabus mengandung air (4,73%), protein (84,69%), lemak (0,62%), dan abu (4,61%). Sebelum diolah menjadi konsentrat protein, ikan gabus segar memiliki kandungan protein mencapai 25,1% sedangkan 6,224% dari protein tersebut berupa albumin. Di bawah ini merupakan spesifikasi mutu konsentrat ikan :

bentuk pengemasan yaitu:

1. *Edible film* merupakan bahan pengemas yang telah dibentuk terlebih dahulu berupa lapisan tipis (film) sebelum digunakan untuk mengemas produk pangan
2. *Edible coating* merupakan pengemas yang dibentuk langsung pada produk dan bahan pangan
3. Enkapsulasi yaitu suatu aplikasi yang ditujukan untuk membawakan komponen-komponen bahan tambahan makanan tertentu untuk meningkatkan penanganan terhadap suatu produk pangan sesuai dengan yang diinginkan.

Tabel 1. Spesifikasi Persyaratan Mutu Konsentrat Protein Ikan

Komposisi	Mutu		
	I	II	III
Kimia :			
Air (%) maks	10	12	12
Protein Kasar (%) min	80	75	55
Serat Kasar (%) maks	1,5	2,5	3
Abu (%) maks	10	15	20
Lemak (%) maks	0,75	3	10
Ca (%)	2,5 – 5,0	2,5 – 6,0	2,5 – 7,0
P (%)	1,6 – 3,2	1,6 – 4,0	1,6 – 4,7
Mikrobiologi :			
Salmonella (pada 25 gram sampel)	negatif	Negatif	Negatif
Organoleptik	7	6	6

Sumber : Ruiter (1995).

Albumin merupakan protein yang memiliki struktur globular, dapat larut dalam air dan larutan garam encer serta dapat mengalami koagulasi apabila dalam kondisi panas. Albumin biasanya banyak ditemukan pada ikan gabus, putih susu dan serum darah (Rauf, 2015). Ikan gabus mengandung 6,224% albumin dan 0,001741% Zn dengan asam amino esensial yaitu treonin, valin, metionin, isoleusin, leusin, fenilalanin, lisin, histidin, dan arginin, serta asam amino non-esensial seperti asam aspartat, serin, asam glutamat, glisin, alanin, sistein, tiroksin, hidrosilisin, amonia, hidrosiprolin dan prolin (Suprayitno, 2006). Albumin memiliki peranan yang penting di dalam tubuh manusia, adapun berbagai fungsi dari albumin yaitu sebagai pengikat dan transport, pengaturan tekanan osmotik, penghambatan pembentukan fatelet dan anti trombosit, permeabilitas sel dan fungsi sebagai antioksidan serta sebagai pembawa molekul-molekul kecil yang memiliki hubungan dengan metabolisme dan juga pada obat yang memiliki sifat susah larut (Sunatrio, 2003).



Gambar 1. Nano Konsentrat protein ikan gabus

II.2 Nano Teknologi

Nano teknologi merupakan suatu proses rekayasa berdasarkan fungsi system pada tingkat molekular. Teknologi ini berpatokan bagaimana cara manipulasi atau perakitan diri dari atom, molekul atau kelompok molekul menjadi material atau alat dengan sifat-sifat baru. Teknologi nano sendiri diturunkan dari istilah nanometer. Satu nanometer setara dengan sepersatu miliar meter, kurang lebih seratus ribu kali lebih kecil dari diameter rambut manusia, seribu kali lebih kecil dari sel darah merah, dan setengah kali diameter DNA. Cara kerja nano teknologi yaitu melalui proses “*top down*” ataupun “*bottom up*”. Top down berarti memperkecil ukuran sampai pada skala nano Sedangkan bottom up merupakan kebalikan proses dari top up, dimana pada proses ini atom-atom atau molekul dimanipulasi sehingga menjadi susunan dengan skala nano. Dalam bidang pengolahan pangan akan dapat muncul berbagai produk pangan yang memiliki nilai gizi, nutrisi yang tinggi, cita rasa serta keawetannya jika dibandingkan makanan konvensional sejenis akibat dari keuntungan teknologi nano.

Pengaplikasian nano teknologi dalam industri pangan masih tergolong rendah. Namun, beberapa industri pangan besar dunia sudah mulai mengembangkan nano teknologi baik dalam sektor pengolahan, produk, pemantauan kualitas, dan pada kemasan pangan. Produk yang beragam akibat dari adanya teknologi nano dapat meningkatkan keinginan konsumen (Haryono, 2013). Adapun hal-hal yang telah dilakukan dalam pengaplikasian nano teknologi dalam bidang pangan antara lain :

1. Nano – mikroenkapsulasi komponen bioaktif

Nano enkapsulasi merupakan suatu teknologi yang digunakan dalam proses pengemasan dengan skala nano untuk dapat melindungi komponen bioaktif berupa polifenol, mikronutrien, enzim, antioksidan dan ultraceuticals dari kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan seperti oksidasi, pH dan degradasi enzim (Ezhilarasi *et al.*, 2013).

2. Nano emulsi/ nano koloid

Nano emulsi merupakan disperse koloid yang terdiri atas 2 cairan dan tidak dapat bercampur serta memiliki tetesan diameter sebanyak 50-1000 nm. Nano koloid merupakan disperse yang terdiri dari 2 bagian yang tidak dapat bersatu karena terdiri dari fase cair dan fase padat (Sanguansri & Augustin, 2006).

II.3 Koloid

Koloid adalah suatu campuran zat heterogen antara dua zat atau lebih di mana partikel-partikel zat yang berukuran koloid tersebar merata dalam zat lain. Ukuran koloid berkisar antara 1-100 nm ($0,7 - 10,5 \mu\text{m}$).

Di dalam larutan koloid secara umum, ada 2 zat sebagai berikut :

1. Zat terdispersi : zat yang terlarut di dalam larutan koloid
2. Zat pendispersi : zat pelarut di dalam larutan koloid

Berdasarkan fase terdispersinya sistem koloid dapat dikelompokkan menjadi tiga yaitu sol (fase terdispersi berupa zat padat), emulsi (fase terdispersi berupa zat cair), dan buih (fase terdispersi berupa gas). Sifat sistem koloid terdiri atas tiga yaitu :

a. Efek Tyndall

Efek Tyndall adalah gejala penghamburan cahaya oleh partikel-partikel koloid. Partikel koloid menghamburkan cahaya ke segala arah, sehingga partikel koloid yang sebenarnya tidak terlihat akan tampak sebagai titik-titik terang. Efek Tyndall dapat digunakan untuk membedakan antara koloid dengan larutan maupun suspensi.

b. Gerak Brown

Gerak Brown yaitu gerakan terus-menerus secara acak/berliku-liku dari partikel koloid dalam mediumnya. Gerakan ini terjadi karena adanya tumbukan oleh molekul-molekul pada sisi-sisi partikel yang tidak sama. Dengan adanya gerak Brown ini maka partikel koloid terhindar daripengendapan karena terus-menerus bergerak, sehingga koloid menjadi stabil

c. Adsorpsi

Adsorpsi yaitu penyerapan pada permukaan partikel koloid oleh adanya gaya adhesi zat-zat asing. Daya adsorpsi koloid sangat besar karena permukaan partikel koloid yang sangat luas bila dibandingkan permukaan zat padat dengan jumlah yang sama. Koloid yang berbeda akan mengadsorpsi zat-zat yang berbeda pula. Sifat adsorpsi koloid ini umumnya digunakan untuk mengadsorpsi/membuang kotoran/warna dan bau, memisahkan campuran, memekatkan bijih tambang, dan proses pemurnian lainnya.

II.4 *Bacillus coagulans*

Bacillus coagulans adalah bakteri gram positif, berukuran 0,9 sampai 5,0 μm size, anaerobik fakultatif, nonpathogenic, pembentuk spora, bakteri asam laktat. Bakteri ini resistan terhadap panas, dengan suhu pertumbuhan optimum sekitar 35 sampai 50⁰C and pH pertumbuhan optimum sekitar 5.5 sampai 6.5. *Bacillus coagulans* memiliki karakteristik mikroba yang sering digunakan sebagai probiotik. Beberapa strain *Bacillus coagulans* dilaporkan sebagai fakultatif anaerobic, bakteri termofilik yang mampu tumbuh pada pH 6.2, suhu 60–65⁰C. Meskipun *Bacillus coagulans* memproduksi asam, namun tidak memproduksi gas dari maltose, raffinose, mannitol, dan sukrosa fermentasi. *Bacillus coagulans* menyebabkan kerusakan pada produk susu, buah dan sayuran karena memproduksi asam. Selain asam laktat, beberapa strain juga menghasilkan α -amylase thermostable. Spora *Bacillus coagulans* menjadi terminal, sedangkan spora spesies lain menjadi subterminal. Selain itu, *Bacillus coagulans* berbeda dari genus bacillus lainnya karena tidak memproduksi cytochrome-C oxidase, tidak mengubah nitrat menjadi nitrit. D dilaporkan dapat tumbuh pada pH 4.5 dan suhu 65 ⁰C dan diisolasi dari produk yang mengandung susu dan karbohidrat.

Klasifikasi bakteri *Bacillus coagulans*

Kingdom : Bacteria

Phylum : Firmicutes

Class : Bacilli

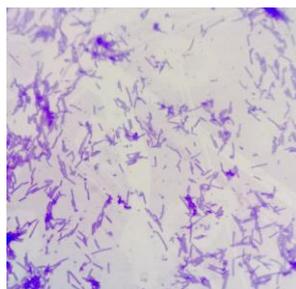
Order : Bacillales

Family : Bacillaceae

Genus : *Bacillus*

Species: *Bacillus coagulans*

Bacillus coagulans, non-pathogenic, anaerobic fakultatif, dan bakteri acidophilic. *Bacillus coagulans* adalah bakteri pembusuk makanan yang penting. Dalam industri pengalengan sayur ketika nilai pH diatur antara 4 sampai 4,5, bakteri ini sering ditemukan, sejak spora *Bacillus coagulans* mampu tumbuh dan berkembang pada pH serendah 4 (De Clerck *et al.*, 2004; Lucas *et al.*, 2006). Selain itu, bakteri ini mampu meningkatkan pH makanan kenilai yang memungkinkan perkecambahan spora *Clostridium botulinum* dapat hidup. *Bacillus coagulans* dapat menyebabkan kerugian ekonomi dalam industri pangan karena “flat sour spoilage” yakni pengasaman drastis karena produksi asam laktat tanpa gas (Lucas *et al.*, 2006).



Gambar 2. Penampakan Morfologi *Bacillus coagulans* dalam 100 kali perbesaran mikroskop (Universitas Teknologi Malaysia)

II.5. Minyak Oregano Esensial (*Origanum vulgare*)

Minyak esensial adalah minyak volatil yang berasal dari tanaman. Minyak esensial umumnya ditemukan pada bagian tanaman seperti akar, daun, bunga dan buah. Minyak esensial berguna dalam antibakteri anti jamur, antioksidan. Sejak abad pertengahan di Arab, telah digunakan sebagai bahan farmasi, kosmetik, makanan dan industri kimia.

Oregano adalah tanaman herbal yang terdapat di Mediterania dan Asia. Semua bagian oregano dapat diekstrak menjadi minyak oregano, yang menjadi minyak oregano esensial. Komponen utama minyak oregano adalah carvacrol dan thymol, yang memiliki aktivitas biologi yang tinggi, termasuk anti inflamasi, anti bakteri dan anti oksidan.

Marília (2015) menemukan bahwa minyak oregano memberikan efek penghambat pada berbagai jenis bakteri memiliki spektrum luas sifat antibakteri. Lambert and Pearson (2000) menemukan bahwa minyak oregano esensial meningkatkan permeabilitas membran sel *S. aureus* dan *P. aeruginosa*. Dutra *et al.* (2019) menemukan bahwa minyak oregano esensial dapat secara efektif mengontrol *Alicyclobacillus*, yang mungkin terkait dengan aktivitas antioksidan yang baik dari senyawa yang ada di dalamnya. Oleh karena itu, minyak oregano esensial dapat digunakan sebagai agen antibakteri alami yang efektif.

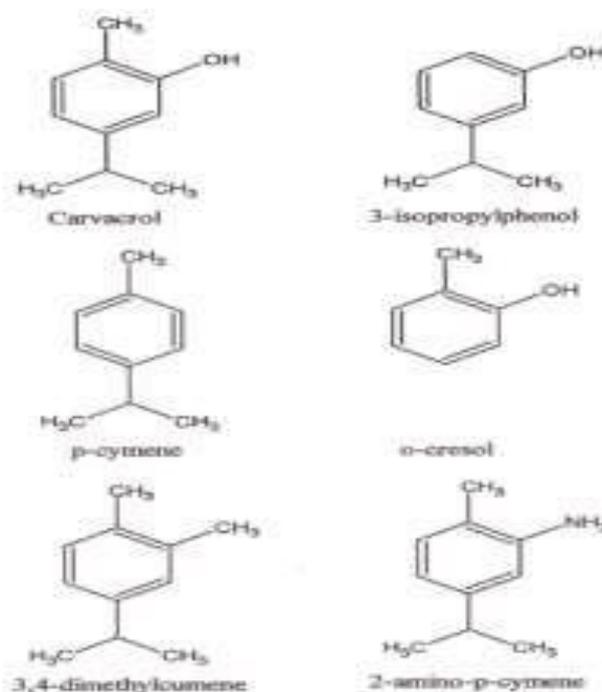
Tabel 2. Komponen kimia minyak oregano esensial

Komposisi	Proporsi	Komposisi	Proporsi
α -Pinene	1,542	Linalool	4,031
Champene	0,326	Thymol	4,223
β -Pinene	0,289	Carvacrol	64,86
Myrcene	1,923	Ethyl caprate	4,322
α - Terpinene	0,529	β -bisabolene	1,580
ρ -Cymene	8,354	(E)- β -Farnese	0,164
Cineole	0,163	Ledol	1,811
γ -Terpiene	2,395	Total	96,512

Sumber : Dutra *et al.* (2019)

Analisis komposisi minyak oregano ditunjukkan pada Tabel 2, yang berisi 15 jenis senyawa, terhitung 96,512% dari total konten. Bahan-bahan ini termasuk α -Pinene (1,542%), Camphene (0,326%), β -Pinene (0,289%), Myrcene (1,923%), α -Terpinene (0,529%), ρ -Cymene (8,34%), Cineole (0,163) %), γ -Terpinene (2,395%), Linalool (4,031%), Thymol (4,223%), Carvacrol (64,86%), Ethyl caprate (4,322%), β Bisabolene (1,580%), (E) - β -Farnesene (0,164%) dan Ledol (1,811%). Hasil menunjukkan bahwa komponen utama minyak oregano adalah carvacrol, terhitung 64,86% dari total komposisi (Mechergui, 2016).

Bahan-bahan antimikroba tanaman oregano, mengandung carvacrol, geraniol dan timol dapat menyebabkan kerusakan membran dan sel mengalami lisis (Carson *et al* 2002). Ultee *et al* (1999), karvakrol atau komponen alami dari oregano akan berinteraksi dengan membran *Bacillus spp* dan menyebabkan perubahan permeabilitas membran terhadap H⁺ dan K⁺; lemahnya *proton motive force* dan mengurangi ATP pool sehingga energi ATP tidak terbentuk, yang akhirnya sel akan mengalami kematian.



Gambar 3. Struktur senyawa *carvacrol* (Veldhuizen at al., 2006)

Senyawa *amphipathicity* seperti *carvacrol* dan *2-amino-p-cymene* dapat dijadikan prasyarat untuk menentukan tujuan optimal pada membrane bakteri. Gugus hidroksil berinteraksi dengan bagian polar membran, sedangkan cincin benzene berada di bagian dalam membran bakteri. Peningkatan 3 kali lipat MIC untuk *amino-p-cymene* menunjukkan keterlibatan kelompok hidroksil dalam pembentukan ikatan hidrogen, karena amino kelompok ini memiliki kapasitas jauh lebih rendah untuk membentuk obligasi. Ikatan hidrogen mudah terjadi di membran dengan fosfat atau ester yang terkait dengan fosfat.

II.6 Mekanisme Antibakteri

Beberapa cara penghambatan yang dilakukan oleh komponen aktif diantaranya adalah dengan bereaksi dengan membran sel, mengganggu kestabilan membran sitoplasma, peningkatan permeabilitas membran, menghambat enzim ekstraseluler mikroba dan berpengaruh pada metabolisme mikroba. Mekanisme penghambatan pertumbuhan mikroba yang disebabkan oleh bahan antimikroba adalah dengan bereaksi dengan dinding sel dan membran sel, peningkatan permeabilitas membran, menginaktivasi enzim dan material genetic (Pelczar, 2008).

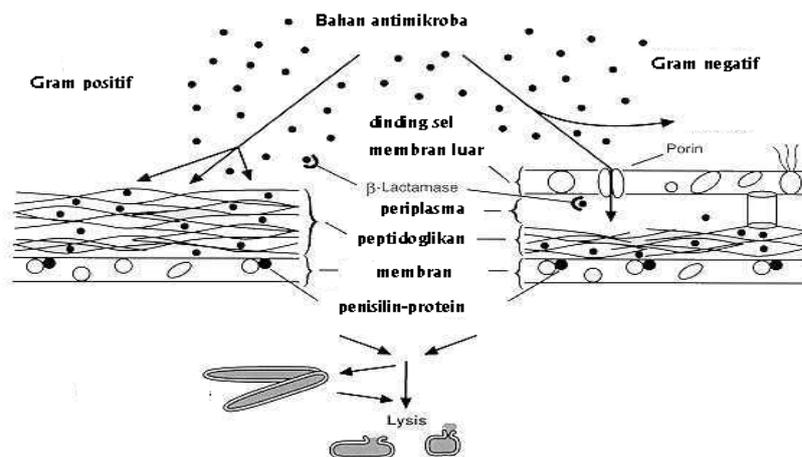
1. Bereaksi dengan dinding sel

Unit dasar dari dinding sel bakteri disusun oleh peptidoglikan (murein, mukopeptida) yang berfungsi secara mekanis untuk melindungi dan memberikan ketegaran pada dinding sel. Menurut Madigan (2003), bakteri Gram positif mempunyai lapisan peptidoglikan yang

berselang seling dengan asam teikoat atau polimer asam yang lainnya. Pada bakteri Gram negatif, lapisan peptidoglikan yang tipis berdekatan dengan membran sitoplasma, sedangkan pada bagian luarnya terdapat lapisan luar yang mengandung lipoprotein, lipopolisakarida, protein dan fosfolipid.

Perbedaan struktur dinding sel berpengaruh pada ketahanannya terhadap perlakuan bahan antimikroba dan bagian penting dari dinding adalah lapisan peptidoglikan karena lapisan ini berfungsi untuk melindungi sel bakteri dari perubahan kondisi lingkungan dan faktor-faktor luar yang menyebabkan kerusakan membran sel yang berakibat kematian sel bakteri tersebut. Bakteri Gram positif lebih sensitif terhadap perlakuan biosida dari pada bakteri Gram negatif (Maillard, 2002).

Mekanisme masuknya bahan antimikroba terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif berbeda. Pada bakteri Gram positif, bahan antimikroba dapat langsung masuk dan akan mengisi lapisan peptidoglikan kemudian berikatan dengan protein, selanjutnya dapat menyebabkan bakteri tersebut lisis. Sedangkan pada bakteri Gram negatif, bahan tersebut masuk melalui porin yang terdapat pada lapisan luar, kemudian masuk ke lapisan peptidoglikan dan selanjutnya membentuk ikatan dengan protein.



Gambar 4. Mekanisme bahan antimikroba terhadap bakteri Gram negatif dan Gram positif.

2. Bereaksi dengan membran sel

Seperti halnya bahan antimikroba (antibiotik), komponen aktif dari beberapa jenis tanaman juga dapat berfungsi sebagai bahan antimikroba. Bahan antimikroba alami atau komponen aktif tanaman mempunyai mekanisme penghambatan yang berbeda-beda (Cowan, 1999). Senyawa antimikroba akan menghambat sintesa dinding sel, meningkatkan permeabilitas membran dan merusak membran sel. Sifat karakteristik dari minyak atsiri

adalah berikatan dengan lipid membran sel bakteri, berpengaruh pada struktur sel dan permeabilitas membran. Kerusakan lebih lanjut dari sel bakteri adalah keluarnya ion-ion yang diikuti dengan

Senyawa antimikroba alami dari buah beri yaitu fenolik dan asam-asam organik mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri dengan beberapa cara seperti mengganggu kestabilan membran sitoplasma, permeabilitas membran, menghambat enzim ekstraseluler mikroba dan merusak substrat yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroba . Daya kerja dari senyawa fenol sebagai senyawa antimikroba adalah dengan membentuk ikatan pada permukaan sel kemudian berpenetrasi ke dalam sel sasaran dengan cara difusi pasif untuk bakteri Gram positif atau untuk bakteri Gram negatif adalah dengan mengganggu ikatan hidrofobik pada konsentrasi rendah, fenolik akan mempengaruhi membran sel sedang pada konsentrasi lebih tinggi akan dapat masuk ke dalam menyerang sitoplasma sel bakteri. Fenolik akan menempel pada membran sel dan menjadi bagian dari membran sel tersebut sehingga akan menyebabkan terganggunya lapisan fosfolipid dari membran sel (Kim, 1995). Kematian sel (Prabuseenivasan., *et al* 2006). Terganggunya lapisan fosfolipid dari membran sel akan menyebabkan perubahan permeabilitas membran yang selanjutnya diikuti dengan kerusakan membran dan keluarnya metabolit seluler seperti protein, asam nukleat dan ion-ion logam Ca^{2+} dan K^{+} . Pengaruh lain dari fenolik terhadap membran sel adalah menyebabkan terjadinya denaturasi protein dan liisisnya sel bakteri (Prindle dan Wright, 1971). Penghambatan pertumbuhan bakteri diduga berhubungan dengan struktur sel bakteri (Ultee *et al* 2002).

3. Inaktivasi enzim

Menurut Davidson dan Branen (1993), senyawa antimikroba selain bereaksi dengan membran sel yang berakibat pada peningkatan permeabilitas membran, kebocoran sel dan melisiskan dinding sel juga dapat menginaktifkan enzim-enzim intraseluler. Alisin yang merupakan komponen aktif dari bawang merah pada konsentrasi tertentu (0,0005 M) dapat menghambat metabolisme enzim. Menurut Barone dan Tansey (1977) di dalam Unal *et al* (2001), alisin merusak metabolisme awal dari sel mikroba dengan menginaktifkan gugus SH dari protein yaitu dengan proses oksidasi tiol disulfida. Aktivitas enzim ATP ase akan terpengaruh dengan adanya kerusakan membran (Lambert *et al* 2000). Eugenol dari cengkeh selain menghambat pertumbuhan juga akan menghambat produksi listeriosin 0 dari *L. monocytogenes* (Filgueras dan Vanetti, 2006).

II.7 Viskositas

Viskositas adalah kekentalan atau daya alir yang pada suatu system larutan kental atau hidrokoloid. Viskositas suatu produk dapat dipengaruhi oleh banyaknya kandungan gel yang terkandung pada produk. Semakin banyak gel yang terkandung maka viskositas suatu produk akan semakin meningkat. Selain kandungan gel suhu juga dapat mempengaruhi tingga viskositas produk. Viskositas dapat diketahui dengan cara melakukan pengujian viskositas adapun caranya yaitu dapat dilakukan dengan menggunakan alat pengukur viskositas yaitu viskometer dengan kecepatan geser (Febrina, 2007).

II.8 Uji Organoleptik

Uji organoleptik (evaluasi sensori) adalah suatu ilmu yang digunakan untuk mengukur tekstur, penampakan, aroma dan flavor produk pangan dengan mengandalkan penginderaan manusia. Pengujian organoleptik dilakukan membutuhkan manusia sebagai panelis agar dapat memberikan respon terhadap suatu produk yang diuji. Baik tidaknya produk tersebut dapat di sampaikan oleh panelis melalui kertas yang dikenal dengan istilah kuisoner. Secara umum panelis ada tiga yaitu panelis terlatih, panelis semi terlatih (panelis laboratorium) dan konsumen. Pada dasarnya metode pengujian organoleptik ada beberapa namun pada pengujian koloid nano KPIG dilakukan pengujian dengan metode hedonik yang bertujuan untuk memberikan nilai kesukaan terhadap suatu karakteristik atau atribut mutu produk yang disajikan. Suatu atribut mutu diperkirakan berdasarkan salah satu sampel, dengan menggunakan metode skala rasio. Dalam uji hedonik panelis diminta untuk menilai penampilan sampel berdasarkan atribut atau sifat sensori dalam skala angka. (Kristianto, 2011).

III. METODOLOGI PENELITIAN

III.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September sampai bulan November 2019, bertempat di Laboratorium Kimia Analisa dan Pengawasan Mutu Pangan dan Laboratorium Mikrobiologi dan Keamanan Pangan, Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Departemen Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin, Makassar.

III.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, pengayak 100 mesh, *hot plate*, *autoclave*, *incubator*, *spektrofotometri*, *viscometer Brookfield DV-E*, *refrigerator*, *sonicator*, botol kaca dan alat-alat gelas seperti pipet volume, gelas ukur, cawan petri, tabung reaksi, gelas kimia.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah KPIG, Media TSIA, Media PCA, Media NA, aquades, dimethyl sulfoxide (DMSO), glukosa, asam sitrat.

III.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan 3 tahap yaitu (1) pembuatan nano konsentrat protein ikan gabus, (2) pembuatan koloid nano KPIG dengan penambahan minyak oregano dan (3) penentuan nilai *minimum Inhibitory concentration*. Parameter pengamatan dan analisa yang dilakukan yaitu total mikroba koloid nano KPIG dengan penambahan minyak oregano, uji biokimia, pengukuran viskositas dan uji organoleptik (aroma dan warna).

III.4 Desain Penelitian

Penelitian ini terdiri atas 1 faktor yaitu :

A1 = Konsentrasi Minyak Oregano 0,025 % (v/v)

A2 = Konsentrasi Minyak Oregano 0,05 % (v/v)

A3 = Konsentrasi Minyak Oregano 0,1% (v/v)

A4 = Konsentrasi Minyak Oregano 0,2 % (v/v)

A5 = Konsentrasi Minyak Oregano 0,4 % (v/v)

A6 = Konsentrasi Minyak Oregano 0,8% (v/v)

A7 = Konsentrasi Minyak Oregano 1,6 % (v/v)

A8 = Konsentrasi Minyak Oregano 3,2 % (v/v)

A9 = Konsentrasi Minyak Oregano 6,4 % (v/v)

A10 = Konsentrasi Minyak Oregano 12,8 % (v/v)

III.5 Prosedur Penelitian

III.5.1 Pembuatan Nano KPIG

Pembuatan nano KPIG dilakukan dengan memodifikasi penelitian dari (Asfar, 2018) dengan beberapa tahapan yaitu KPIG diayak dengan ayakan 100 mesh. Kemudian ditambahkan CMC yang telah diemulsikan dan air sebanyak 100 ml. selanjutnya ditambahkan madu, perisa aroma dan dihomogenisasi dengan Ultraturax 6000 rpm. Dispersi yang diperoleh kemudian disonikasi selama 30 menit.

III.5.2 Pengujian Antibakteri Minyak Oregano Esensial

III.5.2.1 Pembuatan Media Agar Cawan (Pelczar dan Chan, 2007)

Serbuk NA (*Nutrient Agar*) sebanyak 28 g dilarutkan pada 1000 mL akuades dan dipanaskan hingga larutan berwarna kuning jernih. Media disterilkan menggunakan autoklaf pada tekanan 1.5 atm dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media kemudian dituang ke dalam cawan Petri masing-masing sebanyak 20 mL dan dibiarkan hingga memadat. Selanjutnya, media dapat digunakan untuk penumbuhan dan pengujian antibakteri.

III.5.2.2 Pembuatan Media Agar Miring (Pelczar dan Chan, 2007)

Serbuk NA (*Nutrient Agar*) sebanyak 2.8 g dilarutkan pada 100 mL akuades dan dipanaskan hingga larutan berwarna kuning jernih. Media disterilkan menggunakan autoklaf pada tekanan 1.5 atm dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media kemudian dituang ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 mL dalam posisi tabung miring dan dibiarkan hingga memadat. Media dapat digunakan untuk peremajaan kultur bakteri.

III.5.2.3 Pembuatan Medium MRSA (Pelczar dan Chan, 2007)

Sebanyak 6,2 g medium MRSA dan CaCO₃ 1% dilarutkan ke dalam 100 mL air suling dan dibuat dalam pH 6,2. Kemudian dipanaskan sambil diaduk sampai homogen. Selanjutnya larutan dibagi ke dalam 4 buah erlenmeyer masing-masing sebanyak 25 mL. Kemudian mulut masing-masing erlenmeyer ditutup dengan menggunakan aluminium foil lalu disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121 O C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

III.5.2.4 Medium TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Media TSIA sebanyak 6,5 g dilarutkan ke dalam aquades sebanyak 100 mL, dibuat dengan pH 7,4. Kemudian dipanaskan sambil diaduk sampai homogen. Kemudian sebanyak 25 mL larutan dibagi ke dalam masing masing 4 buah erlenmeyer. Kemudian

mulut masing-masing erlenmeyer ditutup dengan menggunakan aluminium foil lalu disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121^o C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

III.5.2.5 Medium SIM (*Sulfid Indol Motility*)

Sebanyak 3 g medium SIM dilarutkan ke dalam 100 mL air suling dibuat dengan pH 7,3. Kemudian dipanaskan sambil diaduk sampai homogen. Selanjutnya larutan dibagi ke dalam 4 buah erlenmeyer masing-masing sebanyak 25 mL. Selanjutnya mulut masing-masing erlenmeyer ditutup dengan menggunakan aluminium foil lalu disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121^o C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

III.5.2.7 Konfirmasi Kultur dengan Pewarnaan Gram (Pelczar dan Chan 2007)

Sebanyak 1 ml sampel dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan fisiologis. Selanjutnya suspensi dihomogenkan. Sebanyak 1 ml suspensi disebarkan di cawan petri yang telah terisi media NA dan diinkunbasi selama 24 jam. Anakan pertama isolat yang tumbuh dioleskan di atas kaca preparat, lalu dikeringudarkan dan difiksasi panas. Kaca preparat kemudian ditetaskan dengan larutan kristal violet dan didiamkan selama 1 menit. Setelah satu menit, kelebihan zat warna dibuang dan dibilas dengan akuades. Kaca preparat selanjutnya ditetaskan dengan larutan iodium dan didiamkan selama 2 menit. Kelebihan zat warna pada kaca preparat dibuang dan dibilas dengan akuades. Kaca preparat dipucatkan dengan beberapa tetes alkohol 95%, lalu dibilas dengan akuades. Safranin kemudian ditetaskan dan didiamkan selama 30 detik. Kelebihan safranin dibuang dan dibilas dengan akuades serta di keringkan. Olesan bakteri pada kaca preparat diamati menggunakan mikroskop pada perbesaran 1000. Bakteri Gram positif akan nampak berwarna ungu, sedangkan Gram negatif berwarna merah.

III.5.2.8 Penentuan Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

Bakteri uji yang digunakan untuk penentuan MIC antimikroba pada media sintetik adalah *Bacillus coagulans*. Sebanyak 2 ml biakan bakteri yang mengandung pada fase akhir log dimasukkan ke dalam erlenmeyer 50 ml yang berisi 18 ml MRS Agar (Haberbeck, 2011), kurva pertumbuhan *Bacillus coagulans* mencapai akhir fase log pada jam ke-14, selanjutnya bakteri mengalami fase stationer (Sanadi *et al*, 2017). Selanjutnya ditambahkan minyak oregano, Konsentrasi minyak oregano yang digunakan dalam penelitian ini bervariasi mulai dari 12,5% (v/v), 6,25% (v/v), 3,13%(v/v), 1,56%(v/v), 0,78%(v/v), 0,39%(v/v), 0,20%(v/v), 0,10%(v/v), 0,05% (v/v) and 0,025% (v/v) Cakram dicelupkan ke dalam larutan sampel sampai merata di seluruh permukaan cakram dengan berbagai macam konsentrasi yang telah disiapkan. Kemudian cakram tersebut diletakkan

dalam media yang telah ditanami bakteri. Langkah selanjutnya dilakukan dengan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Aktifitas antibakteri terbesar ditunjukkan oleh luas diameter zona bening terbesar yang terbentuk dari konsentrasi tersebut. Konsentrasi terkecil dari sampel yang mampu menghambat bakteri yang diinokulasikan dengan terbentuknya zona bening merupakan nilai MIC.

Tabel 3 Klasifikasi hambat zona antibakteri

Diameter Zona Hambat (mm)	Aktivitas Antibakteri
≤10	Tidak aktif
11-15	Lemah
16-19	Sedang
≥20	Kuat

Sumber: Greenwood *et al*, 2007

III.5.2.9 Aplikasi Minyak Erogano pada Nano KPIG

Hasil MIC yang terpilih diaplikasikan ke dalam nano KPIG. Sebanyak 2 ml bakteri uji dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 50 ml yang berisi nano KPIG kemudian ditambah minyak oregano sebanyak satu, dua, dan empat kali konsentrasi hasil MIC sebelumnya. Selanjutnya dikontakkan selama 0, 3, dan 6 jam pada suhu 37°C dalam inkubator bergoyang (150 rpm). Pengamatan jumlah sel bakteri dilakukan setelah inkubasi selama 24 jam dengan menggunakan metode cawan.

III.6 Parameter Pengamatan

III.6.1 Jumlah Total Bakteri (FDA, 2011)

Penentuan jumlah bakteri uji berguna untuk mengetahui jumlah total bakteri awal sehingga dapat dihitung berapa kali pengenceran yang diperlukan untuk mendapatkan jumlah total bakteri sebesar 10⁵ CFU/ml. Sebanyak 1 ose kultur padat diinokulasikan masing-masing pada 10 ml media dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni kultur bakteri diencerkan dalam larutan NaCl 0,85%. Sebanyak 1 ml dari masing-masing pengenceran ditumbuhkan pada 15 ml media NA dan MRSA dengan metode cawan tuang secara duplo. Cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh diamati dan dihitung dengan hitungan cawan langsung. Koloni Bakteri yang berjumlah 25 -250 dihitung berdasarkan metode *anaerobic plate count* (APC).

$$\% \text{ Jumlah koloni } \left(\frac{\text{CFU}}{\text{ml}} \right) = \frac{\text{jumlah koloni pada cawan (25 - 250)}}{(n1 + 0.1 n2)d}$$

Keterangan : n = jumlah cawan

D = pengenceran pada cawan pertama

III.6.2 Uji Biokimia (Fadlya, 2008)

III.6.2.1 Uji indol

Isolat mikroba diisolasi pada media pepton kemudian diinkubasikan selama 1x 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian, reagen Kovac diteteskan perlahan pada dinding tabung hingga terlihat garis pemisah antara media dan reagen. Jika hasil positif ditunjukkan dengan adanya cincin warna merah yang terbentuk pada garis pemisah, sedangkan jikalau hasil negatif ditandai dengan tidak terbentuknya cincin merah antara media.

III.6.2.2 Uji sitrat

Isolat mikroba dilakukan isolasi pada media *Simmon's Citrate* (SC). Pengujian sitrat bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri dalam menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber energi. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna media dari hijau menjadi biru.

III.6.2.3 Uji MR

Uji *methyl red* merupakan uji yuntuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasi metilen glikon. Media yang digunakan dalam uji MR adalah glukosa phospat. Setelah isolate bakteri diinkubasi, media ditambahkan *methyl red* 1%. Hasil positif ditandai dengan adanya perubahan warna media menjadi merah setelah. Apabila hasil negatif ditandai dengan tidak adanya perubahan warna media setelah ditambahkan reagen *methyl red* 1%. Semua isolat yang diuji menunjukkan hasil negatif untuk uji MR.

III.6.2.4 Uji VP

Media yang digunakan untuk uji VP adalah media glukosa phospat. Uji VP adalah uji untuk mengetahui kemampuan bakteri untuk menghasilkan asetil metil karbinol (asetoin) sebagai hasil fermentasi glukosa. Setelah isolat diinkubasi, media ditambahkan α naphthol 5% dan KOH 40%. Hasil uji VP positif apabila media yang ditambahkan reagen α naphthol 5% dan KOH 40% terjadi perubahan warna menjadi merah. Sedangkan jika hasil negatif maka tidak terjadi perubahan warna media.

III.6.4 Uji Organoleptik (SNI 01-2346-2006)

Uji organoleptik pada pengujian sampel nano KPIG berupa aroma dan warna. Pengujian organoleptik aroma dan warna dilakukan dengan metode hedonik, pada pengujian ini hasil dituliskan dengan menggunakan skala bertingkat berdasarkan variasi konswntrasi sampel yang berbeda.

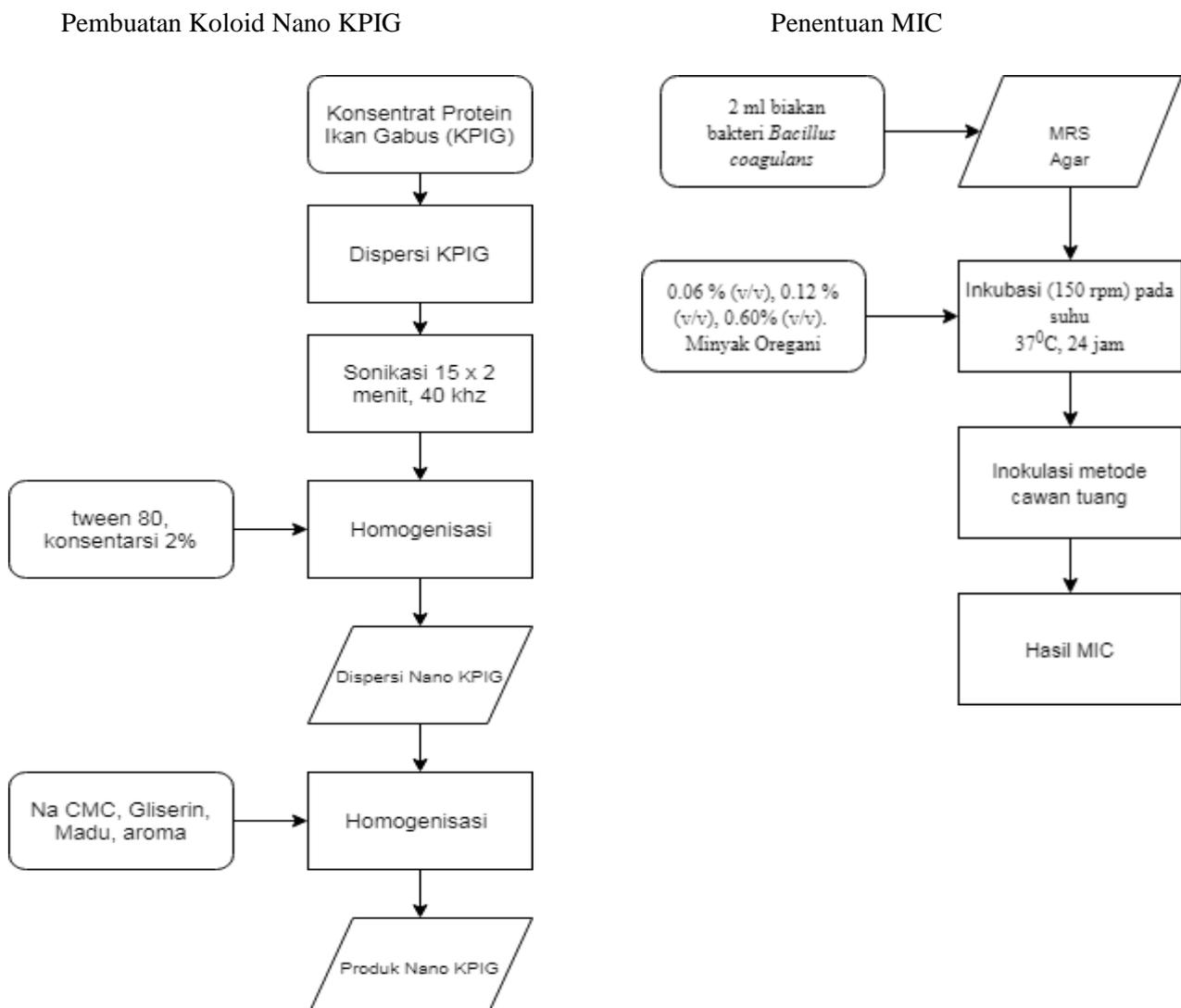
III.6.5 Pengukuran Viskositas (Febrina dkk., 2007)

Pengukuran viskositas pada sampel koloid nano konsentrat dengan penambahan madu dilakukan dengan menggunakan alat viskometer dengan kecepatan geser dan nomor spindle yang sesuai. Sampel sebanyak 40 ml dimasukkan ke dalam wadah. Kemudian diukur viskositasnya dengan viscometer Brookfield dan diatur kecepatan 60 rpm, selanjutnya ditentukan spindle no 2. Dicatat hasilnya dalam satuan cP atau *centipoises*.

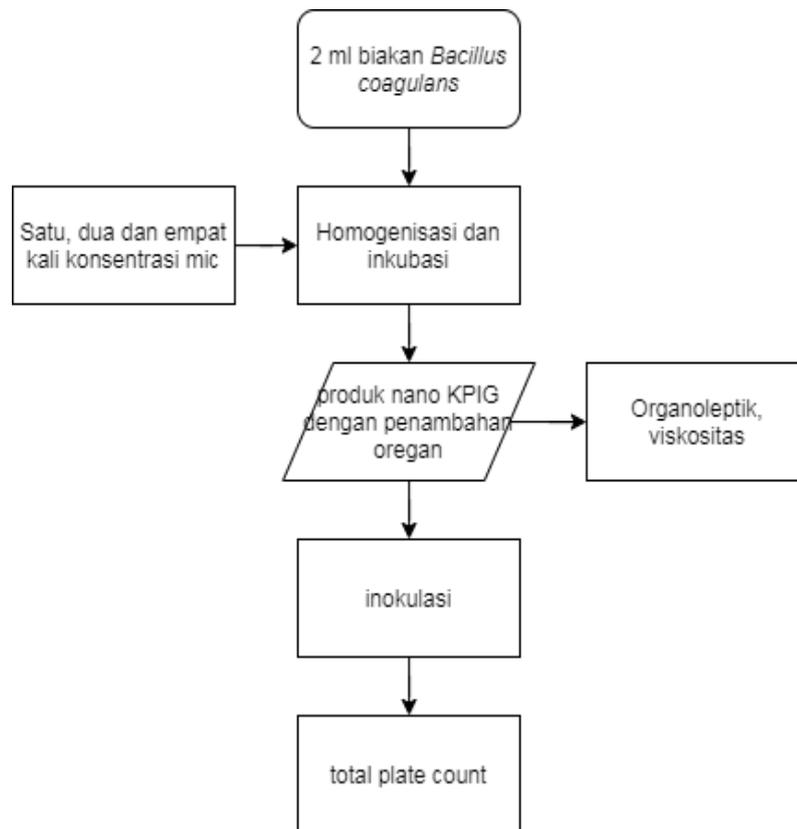
III.7. Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) 1 faktor dengan 3 kali ulangan. Analisa data diuji dengan analisa sidik ragam Anova dan jika ada pengaruh nyata dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan

III.8 Diagram Alir



Aplikasi Minyak Oregano pada Nano KPIG



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Nano Konsentrat Protein Ikan Gabus (KPIG)

Konsentrat protein ikan gabus adalah ekstrak protein albumin dari ikan gabus dalam bentuk tepung yang diperoleh dengan cara menghilangkan sebagian besar lemak dan kadar air sehingga diperoleh kandungan protein yang lebih tinggi dibandingkan bahan baku asalnya. Konsentrat protein ikan dapat digunakan sebagai suplemen makanan dan sebagai bahan fortifikasi untuk memperkaya protein dan nilai gizi produk makanan suplemen terutama untuk anak-anak. Menurut Asfar (2018) pembuatan konsentrat protein ikan dilakukan dengan cara ikan gabus dilakukan pembersihan, penyiangan dan pengukusan. Selanjutnya dilakukan pemisahan tulang dan kulit, pengeringan dan penepungan sehingga diperoleh tepung KPIG. konsentrat protein ikan gabus mengandung air (4,73%), protein (84,69%), lemak (0,62%), dan abu (4,61%).

Konsentrat protein ikan gabus diolah menjadi nano konsentrat protein ikan gabus atau KPIG dalam bentuk nano yakni 10 – 150 μm . Pengecilan ukuran KPIG dilakukan agar penyerapan zat gizi dan metabolisme tubuh lebih cepat. Teknik proses nanoteknologi KPIG yang dilakukan pada penelitian ini adalah teknik sonikasi. Pengecilan partikel KPIG dilakukan dengan cara KPIG diencerkan selanjutnya dihomogenisasi dengan ultraturaks, dan produk disonikasi dengan sonikator. Teknik sonikasi memiliki kemampuan memecah partikel dengan gelombang ultrasonik pada frekuensi > 20 kHz. Menurut Nakahari et al (2007) bahwa ketika gelombang ultrasonik menjalar pada fluida terjadi siklus rapatan dan regangan. Tekanan yang terjadi selama regangan menyebabkan molekul dalam fluida tertarik dan terbentuk kehampaan kemudian terbentuk gelembung yang akan menyerap energi dari gelombang ultrasonik. Akibat energi yang diserap lebih besar dari energi yang keluar, gelembung memuai sampai ukuran kritis yang bergantung pada fluida. Tanpa energi input, gelembung tidak dapat mempertahankan dirinya, dan akan mengalami ledakan akibat tekanan dari fluida sekitarnya. Ledakan tersebut menaikkan suhu dan tekanan 1000 atm hal ini mengakibatkan terjadinya pemutusan ikatan kimia sehingga partikel menjadi lebih kecil.

IV.2 Identifikasi Mikroba Pada Nano KPIG

IV.2.1 Pewarnaan Gram

Konfirmasi kultur bakteri dilakukan dengan teknik pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram merupakan salah satu teknik pewarnaan diferensial yang paling penting dan paling luas digunakan untuk mencirikan banyak bakteri (Pelzar dan Chan 2007). Kultur bakteri uji terlebih dahulu dilakukan uji konfirmasi sederhana menggunakan pewarnaan Gram untuk mengetahui jenis Gram bakteri. Bakteri diwarnai dengan zat warna kristal violet dan iodium, dibilas dengan alkohol, kemudian diwarnai lagi dengan zat warna merah safranin. Melalui pewarnaan Gram, dapat diketahui sifat dinding sel bakteri terhadap cat pewarna kristal violet dan safranin. Bakteri Gram positif adalah bakteri yang menyerap kristal violet akan tetap berwarna ungu setelah pelunturan dengan alkohol. Bakteri Gram negatif adalah bakteri yang warna ungunya luntur pada pencucian dengan alkohol, dan menyerap zat warna safranin sehingga akan berwarna merah muda (James, *et al.*, 2005).



Gambar 5. Bentuk morfologi bakteri *B. coagulans* dengan pewarnaan Gram perbesaran 1.000x

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan diperoleh hasil uji biokimia terhadap sampel yang masih baru yaitu bakteri gram positif. dengan bentuk morfologi bakteri yang terlihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 1.000x berwarna ungu dan berbentuk basil (batang). Menurut Campbell *et al.* (2003), struktur dinding sel dapat menentukan respon pewarnaan. Bakteri diwarnai dengan zat warna violet dan yodium, kemudian dibilas dengan alkohol dan lalu diwarnai dengan zat warna safranin. Bakteri Gram Positif yang dinding selnya mengandung peptidoglikan akan menjerat zat warna kristal violet. Bakteri Gram Negatif memiliki sedikit peptidoglikan, yang terletak di suatu gel periplasmik antara membran plasma dan lapisan membran bagian luar. Zat warna violet yang digunakan mudah lepas dari bakteri gram negatif apabila, akan tetapi selnya tetap menahan zat warna merah.

IV.2.2 Uji Biokimia

Mikroba adalah suatu proses yang bertujuan untuk mengetahui bentuk, sifat-sifat maupun morfologi dari suatu mikroba atau dengan kata lain untuk memperlihatkan bagian-bagian sel mikroba. Identifikasi mikroba dapat dilakukan dengan metode pewarnaan gram dan untuk mengetahui jenis mikroba secara spesifik dapat dilanjutkan dengan pengujian biokimia. Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan diperoleh hasil uji biokimia terhadap sampel yang masih baru yaitu bakteri gram positif berupa *Bacillus coagulans* dapat dilihat pada Tabel 3

Tabel 4. Karakteristik Reaksi Uji biokimia *Bacillus coagulans*

No	Uji Biokimia	<i>Bacillus coagulans</i>
1	MRVP	Positif/+
2	VP	Positif /+
3	Indol	Negatif/-
4	Metil red	Positif/+
5	NaCl	Tidak tumbuh
6	SIM	Tidak bermotil/-
7	Sitrat	Negatif/-
8	Glucose	Positif/+
9	Manitol	Negatif/-

IV.2.2.1 Uji MR (Methyl Red)

Uji MR (*Methyl Red*) adalah uji untuk menentukan adanya fermentasi asam campuran oleh bakteri. Hasil penelitian terlihat bahwa isolat positif terhadap uji *Methyl Red* yang ditandai dengan berubahnya warna media dari kuning menjadi merah setelah ditetesi reagen. Bakteri biasanya memfermentasikan glukosa pada media *Methyl Red*, akan dihasilkan asam laktat, asam suksinat, dan asam format, asam asetat. Asam-asam ini akan terakumulasi menurunkan pH sampai 5 atau kurang. Bila indikator *Methyl Red* ditambahkan pada biakan bakteri, maka media yang mengandung asam-asam tersebut akan merubah warna media menjadi merah. Hal ini menandakan bahwa mikroba biakan merupakan penghasil asam campuran. Hal ini sesuai dengan Fadlya (2008) yang menyatakan bahwa biakan menunjukkan hasil yang positif terhadap uji MR apabila adanya perubahan warna media dari kuning menjadi merah.

IV.2.2.2 Uji VP (Voges Preskauer)

Uji VP (*Voges Preskauer*) merupakan uji yang dilakukan untuk membedakan antara mikroba yang menghasilkan asam dalam jumlah besar dengan mikroba yang menghasilkan produk netral seperti asetilmetilkarbonil (asetoin) sebagai hasil metabolisme glukosa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa mikroba pada koloid nano KPIG memiliki hasil yang positif terhadap uji VP. Berdasarkan uji VP menunjukkan adanya bakteri *Bacillus sp.* Hal ini ditandai dengan adanya perubahan media menjadi merah muda jika ditambahkan reagen KOH 40% dan alfa-naftol 5%. Jika hasil positif ditandai dengan biakan dalam media tersebut menghasilkan 2,3-butanadiol ataupun asetoin. Produk asetilmetilkarbonil yang dihasilkan membuat bakteri mampu memfermentasi karbohidrat dalam jumlah besar. Keberadaan asetoin pada media membuat warna media berubah dari kuning menjadi merah muda.

Uji *Voges Preskauer* dilakukan untuk mengidentifikasi mikroba yang mampu menghasilkan 2,3-butadiol dari hasil fermentasi karbohidrat, dan akan terjadi penumpukan senyawa 2,3-butadiol tersebut dalam media. Penambahan reagen 40% KOH serta 5% α -naftol digunakan untuk menentukan keberadaan senyawa asetoin (asetilmetilkarbonil) adalah senyawa awal dalam sintesis pembentukan 2,3-butanadiol. Pada penambahan KOH, keberadaan asetoin ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media menjadi merah muda. Perubahan warna ini dipertegas dengan penambahan α -naftol. Sebagian 2,3-butanadiol akan teroksidasi karena kontak dengan udara dan akan kembali jadi senyawa asetoin yang akan mempertegas warna hasil reaksi. Hal ini sesuai dengan Lay (1994) yang menyatakan bahwa uji VP adalah uji untuk mengetahui adanya kandungan 2,3-butanadiol, dalam uji VP terbentuk adalah asetoin. Asetoin adalah senyawa awal pada pembentukan senyawa 2,3-butadiol yang selalu terbentuk secara bersamaan, maka uji VP dilakukan untuk menentukan adanya kandungan senyawa 2,3-butanadiol

IV.2.2.3 Uji Indol

Uji indol adalah uji untuk menguji kemampuan suatu bakteri *Bacillus sp* untuk memenghidrolisis asam amino triptofan. Asam amino triptofan merupakan asam amino penyusun protein, asam amino ini dapat digunakan oleh mikroba dengan menguraikan protein. Reagen dalam uji indol adalah reagen Kovac. Berdasarkan hasil penelitian uji indol koloid nano konsentrat protein ikan gabus, hasil uji indol yang diperoleh dalam penelitian ini adalah negatif, hal ini ditandai dengan pada permukaan media, tidak terbentuknya lapisan berupa cincin merah muda, yang berarti bakteri uji tidak dapat

menghasilkan indol sebagai sumber energi. Sedangkan hasil uji positif ditandai dengan terbentuknya cincin rosindol warna merah. Bakteri yang mempunyai enzim triptofanase dapat menghidrolisis asam amino triptofan yang memiliki gugus indol. Indol akan bereaksi dengan reagen Kovac. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pelczar dan Chan (2008) yang menyatakan bahwa hasil uji indol positif ditandai dengan terbentuknya terbentuk rosindol merah berupa pada lapisan atas media.

IV.2.2.4 Uji Fermentasi Karbohidrat

Fermentasi merupakan aktivitas biokimia yang dilakukan oleh mikroba yang memecah senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Pada uji fermentasi karbohidrat, sukrosa, laktosa, maltosa dan manitol adalah jenis sakarida yang dipakai. Jenis karbohidrat glukosa akan masuk dalam tahap fermentasi tahap. Jenis karbohidrat sukrosa, laktosa, manitol dan maltosa akan dihidrolisis menjadi komponen monosakarida penyusunnya. Laktosa tersusun atas galaktosa dan glukosa. Sukrosa tersusun dari monosakaridaglukosa dan fruktosa. Manitol tersusun atas monosakarida manosa atau galaktosa. Sedangkan maltosa terdiri dari dua molekul glukosa

Berdasarkan hasil uji fermentasi laktosa dan maltosa, isolat mikroba pada produk koloid nano konsentrat protein ikan gabus terdapat bakteri *Bacillus sp.* Hasil uji Fermentasi manitol diperoleh hasil positif karena warna media berubah menjadi kuning terang dan timbul gas sedangkan untuk fermentasi sukrosa positif karena warna media berubah menjadi kuning dan timbul gas begitu juga dengan uji fermentasi laktosa dan maltosa, bahwa di dalam produk terdapat bakteri. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pelczar dan Chan (2008), yang menyatakan bahwa hasil bakteri *Bacillus sp* mampu menghidrolisis sakarida seperti glukosa, manitol, sukrosa, laktosa, dan maltosa. Jika terjadi perubahan warna media menjadi warna kuning berarti bakteri uji tersebut mampu membentuk senyawa asam dan gelembung gas dari hasil fermentasi.

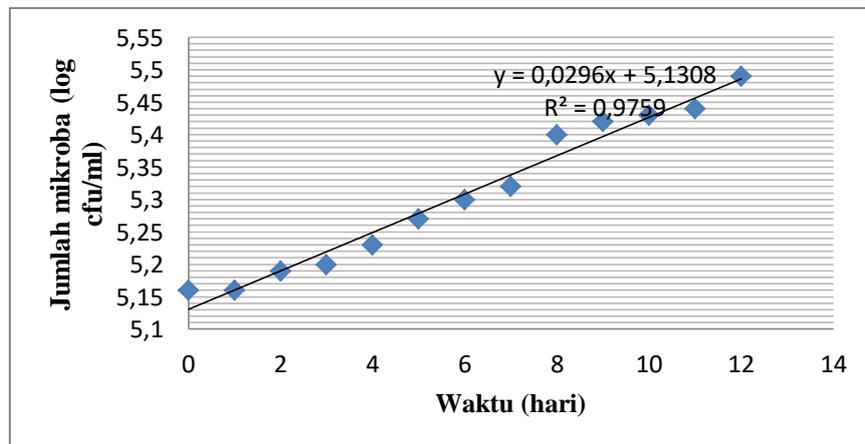
IV.2.2.5 Uji Sitrat

Uji sitrat merupakan uji yang dilakukan untuk menguji kemampuan *Bacillus sp* memanfaatkan senyawa sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Asam akan dihilangkan dalam media apabila bakteri uji mampu menggunakan sitrat, sehingga akan meningkatkan pH dan mengubah warna media yang hijau menjadi biru. Bakteri hasil isolasi dari nano konsentrat protein ikan gabus mampu mengubah warna media dari hijau menjadi biru, hal ini menunjukkan bahwa bakteri uji tersebut mampu memanfaatkan sitrat

sebagai satu-satunya sumber karbon, hal ini sesuai dengan pernyataan (Schlegel dan Karin 1994) bahwa bakteri *Bacillus sp* mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbonnya.

IV.3 Total Mikroba KPIG tanpa Oregano

Pengujian *Total plate count* (TPC) pada produk koloid nano konsentrat protein ikan gabus pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penurunan mutu yang terjadi pada produk selama penyimpanan dengan cara menghitung jumlah total bakteri. Koloid nano KPIG dibuat dengan melalui proses sterilisasi dengan suhu 121⁰C. Perlakuan sterilisasi dilakukan dengan tujuan untuk mematikan dan memusnahkan mikroba yang mungkin dapat tumbuh dan dapat mempercepat proses penurunan mutu pada produk koloid. Isolat mikroba ditumbuhkan dalam media BHIB kemudian dimasukkan kedalam larutan fidiologis dan disesaikan dengan standard MC. Frland kemudian diinkubasi selama 2 x 24 jam.



Gambar 6. Grafik pengaruh lama penyimpanan terhadap nilai TPC

Berdasarkan gambar diatas hasil penelitian diperoleh Nilai TPC suhu telah Pada hari pertama yaitu 5,1 log cfu/ml total koloni mikroba telah melewati batas ambang FAO (2011) Produk konsentrat protein ikan dikategorikan aman apabila jika total koloni bakteri (Total Plate count) tidak melebihi 1×10^5 colony forming unit (CFU) atau 5 log CFU/ml. Berdasarkan uji biokimia, sampel KPIG telah ditumbuhi bakteri *Bacillus coagulans*.

IV.4 Daya Tahan Bakteri *Bacillus Coagulans* Terhadap Minyak Oregano

Minimum inhibitory concentration adalah kemampuan konsentrasi terendah suatu senyawa antimikroba yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba. Metode yang digunakan dalam uji ini adalah metode difusi cakram. Metode ini dilakukan dengan meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Pencelupan cakram pada larutan uji hingga seluruh permukaan cakram basah. Pengamatan dilakukan setelah bakteri diinokulasi, pertumbuhan bakteri

diamati untuk melihat zona bening disekitar cakram. Pemilihan metode ini karena mudah dan sederhana untuk menentukan aktivitas antibakteri sampel yang di uji. Kertas cakram yang digunakan berdiameter 0,5 cm. Minyak oregano dengan konsentrasi 0.025 %, 0.05%, 0.1%, 0.2%, 0.4%, 0.8 %, 1.6 %, 3.2 %, 6.4%, 12.8% (v/v). Isolat mikroba *Bacillus coagulans* pada media NA dipindahkan kedalam larutan fisiologis dan disesuaikan dengan standar Mc Farland. Larutan uji dengan masing-masing konsentrasi diambil sebanyak 10 μ L lalu ditetaskan pada kertas cakram, kemudian diletakkan di atas media inokulum. Diinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 37°C Pertumbuhan mikroba diamati dan zona bening yang terbentuk di sekeliling cakram diukur menggunakan jangka sorong.

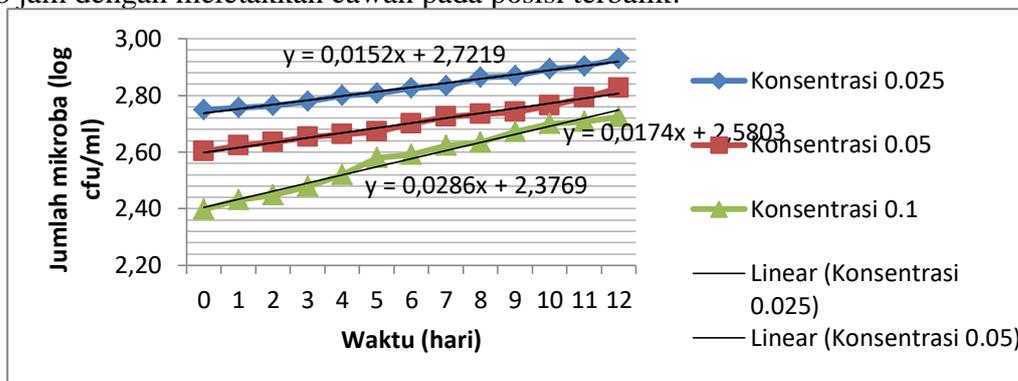
Tabel 5. Hasil Pengamatan diameter zona bening aktivitas minyak oregano esensial

Ulangan	Konsentrasi EOE(%)									
	0.025	0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	1.6	3.2	6.4	12.8
1	11.3	12.9	13.6	14.1	16	16.6	18.1	19.5	20.25	21.6
2	11.3	12.9	13.65	14.15	16.05	16.6	18.05	19.5	20.3	21.6
3	11.35	12.95	13.65	14.15	16	16.55	18.1	19.6	20.3	21.55
rata2	11.32	12.92	13.63	14.13	16.02	16.58	18.08	19.53	20.28	21.58
Simpangan baku	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029	0.058	0.029	0.029

Bakteri *Bacillus coagulans* memiliki daya tahan yang kuat terhadap minyak oregano esensial pada konsentrasi 0.025%. Minyak oregano esensial memiliki *minimum inhibitory concentration* terhadap *Bacillus coagulans* sebesar 0.025% karena sudah terlihat adanya zona berhambatan berupa zona bening. Konsentrasi minyak oregano 0,025%, 0,05%, 0,1%, 0,2% memiliki aktivitas antimikroba yang lemah. Konsentrasi minyak oregano 0,4%, 0,8%, 1,6%, 3,2 % memiliki kekuatan aktivitas antimikroba yang sedang. Konsentrasi minyak oregano 6,4%, 12,8% memiliki kekuatan aktivitas antimikroba yang kuat. Menurut Greenwood (2011) bahwa suatu senyawa dengan zona bening 11-15 mm memiliki aktivitas antibakteri yang lemah, zona bening 16-19 mm memiliki memiliki aktivitas antibakteri yang sedang dan zona bening diatas 20 mm memiliki memiliki aktivitas antibakteri yang kuat. *Minimum inhibitory concentration* minyak oregano terhadap bakteri *Bacillus coagulans* adalah 0.025 %. Semakin tinggi konsentrasi minyak oregano semakin besar nilai luas zona bening atau semakin besar kemampuan minyak oregano membunuh mikroba. Komponen utama minyak oregano adalah carvacrol dan thymol, yang memiliki aktivitas biologi yang tinggi, termasuk anti inflamasi, anti bakteri

dan anti oksidan. Dutra *et al.*, (2019) menemukan bahwa minyak oregano memberikan efek penghambat pada berbagai jenis bakteri memiliki spektrum luas sifat antibakteri.

Hasil MIC yang terpilih diaplikasikan ke dalam nano KPIG, ditambah minyak oregano sebanyak satu, dua, dan empat kali konsentrasi hasil MIC atau 0.025 %, 0.05 % dan 0.1 % Selanjutnya dikontakkan selama 3 jam dalam inkubator bergoyang (150 rpm) suhu 37°C. Kemudian 1 ml suspensi pengenceran 10⁻¹ dipindahkan dengan mikropipet steril ke dalam larutan 9 ml larutan fisiologis untuk mendapatkan pengenceran 10⁻². Dibuat pengenceran 10⁻³ dengan cara yang sama seperti pada pembuatan sampel contoh diatas sesuai kebutuhan. Selanjutnya masukkan sebanyak 1 ml suspensi dari setiap pengenceran ke dalam cawan petri. Tuang media PCA yang sudah didinginkan hingga temperatur 45 °C ± 1 °C pada masing-masing cawan yang sudah berisi suspensi. Supaya larutan contoh dan media PCA tercampur seluruhnya, lakukan pemutaran cawan ke depan dan ke belakang atau membentuk angka delapan dan diamkan sampai menjadi padat. Selanjutnya dinkubasikan pada temperatur 34 °C sampai dengan 36 °C selama 24 jam sampai dengan 48 jam dengan meletakkan cawan pada posisi terbalik.



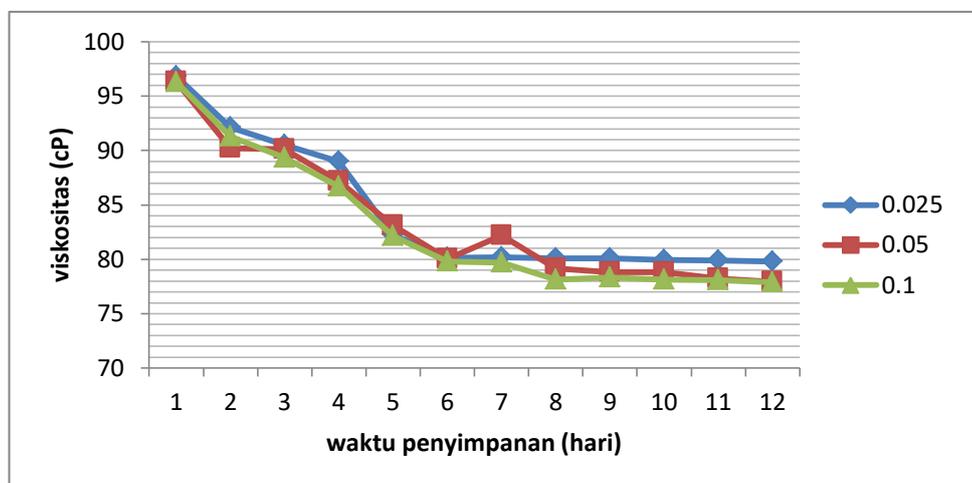
Gambar 7. Grafik pertumbuhan mikroba pada nano KPIG dengan penambahan minyak oregano

Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa konsentrasi 0,025% berbeda nyata ($p \leq 0,05$) terhadap 0,05% dan 0,1%. Berdasarkan hasil yang diperoleh, minyak esensial oregano konsentrasi 0,025% (v/v) menurunkan 2.42 log cfu/ml *Bacillus coagulans* atau berkurang sebanyak 47,4%. Semakin besar jumlah konsentrasi minyak oregano yang ditambahkan maka semakin besar jumlah penurunan bakteri. Produk konsentrat protein ikan dikategorikan aman apabila jika total koloni bakteri (Total Plate count) tidak melebihi 1×10^5 colony forming unit atau 5 log cfu/ml. Nano KPIG dengan penambahan minyak oregano sampai hari ke 12 menunjukkan bahwa sampel masih dalam batas ambang FAO aman yaitu konsentrasi oregano 0.025 jumlah mikroba adalah 2.93 log cfu/ml,

konsentrasi oregano 0.05 jumlah mikroba adalah 2.83 log cfu/ml, konsentrasi oregano 0.01 jumlah mikroba adalah 2.72 log cfu/ml. Semakin tinggi konsentrasi oregano semakin kuat aktivitas antibakterinya. FAO (2011) Produk konsentrat protein ikan dikategorikan aman apabila jika total koloni bakteri (Total Plate count) tidak melebihi 1×10^5 colony forming unit atau 5 log cfu/ml. Berdasarkan uji biokimia, sampel KPIG telah ditumbuhi bakteri *Bacillus coagulans*.

IV.5 Viskositas

Pengujian viskositas pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat kekentalan produk selama penyimpanan. Makin kental suatu cairan, makin besar gaya yang dibutuhkan untuk membuatnya mengalir pada kecepatan tertentu. Viskositas dari suatu fluida dapat diukur dengan viscometer Brookfield, yang mengukur viskositas dengan gaya yang dibutuhkan untuk memutar poros dalam cairan yang diuji. Viskositas nanodispersi konsentrat ikan gabus selama penyimpanan dapat dilihat pada grafik berikut



Gambar 8. Konsentrasi Minyak Oregano Terhadap Uji Viskositas

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh viskositas nano KPIG dengan penambahan minyak oregano esensial pada konsentrasi 0,025%, 0,05% 0,1% memiliki perbedaan dan fase menurun. Produk nano koloid konsentrat ikan gabus dengan dengan penambahan minyak oregano esensial disimpan selama 12 hari menunjukkan viskositas pada suhu kamar yaitu konsentrasi 0.025 sebesar 79.8 cP, konsentrasi 0,05 sebesar 77,94cP, konsentrasi 0.1 sebesar 77,87cP

Hasil analisa sidik ragam produk koloid nano konsentrat ikan gabus dengan penambahan minyak esensial oregano terhadap viskositas menunjukkan tidak berpengaruh nyata pada taraf 5% ($<0,05$) sehingga tidak dilanjutkan dengan uji lanjut. Terjadi penurunan viskositas pada produk. Kondisi ini terjadi diakibatkan adanya penurunan ion-

ion padatan terlarut sehingga produk nano KPIG menjadi lebih encer dan viskositas menurun. Menurunnya ion-ion padatan terlarut dipengaruhi oleh kemampuan mikroba hasil fermentasi dalam mendegradasi senyawa kompleks menjadi senyawa lebih sederhana yang menyebabkan menurunnya padatan terlarut sehingga nano KPIG menjadi lebih encer. Viskositas pada zat cair terjadi akibat adanya gaya-gaya kohesi antar molekul zat cair (Giancoli, 2014). Viskositas dipengaruhi oleh penambahan Na CMC. Na CMC digunakan sebagai pengental dan pengemulsi. Na CMC dapat menstabilkan tekstur dan viskositas nano KPIG dengan pembentukan gel. Pembentukan gel dapat terjadi karena kemampuannya dalam berikatan dengan air. Pada prinsipnya pembentukan gel hidrokolid terjadi karena adanya pembentukan jala atau jaringan tiga dimensi oleh molekul primer yang terentang pada seluruh volume gel yang terbentuk dengan memerangkap sejumlah air di dalamnya. Terjadi ikatan silang pada polimer-polimer yang terdiri dari molekul rantai panjang dalam jumlah yang cukup maka akan terbentuk bangunan tiga dimensi yang kontinu sehingga molekul pelarut akan terjebak diantaranya, terjadi immobilisasi molekul pelarut dan terbentuk struktur yang kaku dan tegar yang tahan terhadap gaya maupun tekanan tertentu. Gelasi merupakan fenomena yang melibatkan penggabungan, atau terjadinya ikatan silang antara rantai-rantai polimer. Hal ini sesuai dengan pernyataan Giancoli (2014) yang menyatakan bahwa bahan penstabil memiliki sifat sebagai pengemulsi yang ditandai dengan adanya gugus yang bersifat polar (hidrofilik) dan non polar (hidrofobik). Ketika dicampurkan dalam bahan pangan cair maka gugus polar akan berikatan dengan air dan tekstur bahan pangan menjadi kokoh.

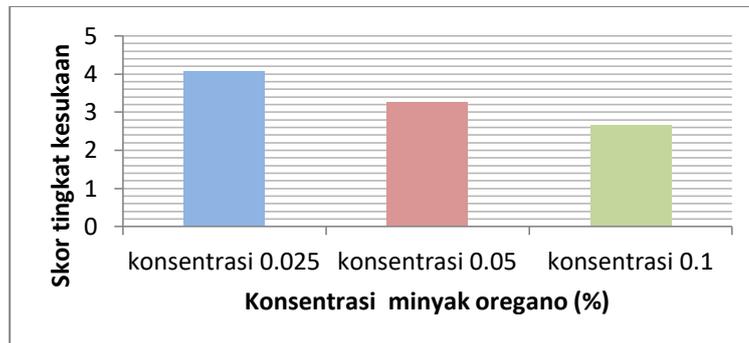
IV.6 Uji Organoleptik

Penilaian sensori merupakan indikator yang penting bagi penerimaan suatu produk.. Suatu produk yang diproduksi sasaran utamanya adalah konsumen jadi salah satu pemenuhan mutu suatu produk tersebut harus dengan kriteria konsumen dimana kenampakan, citarasa, dan nilai gizi suatu produk merupakan faktor utama. Pengujian organoleptik yang dilakukan pada penelitian ini meliputi aroma dan warna dengan tiga variasi konsentrasi uji, yaitu konsentrasi 0.025, konsntrasi 0.05 dan konsentrasi 0,1. Sampel uji organoleptik berupa uji hedonik.

IV.6.1 Aroma

Aroma merupakan atribut sensori yang sangat menentukan tingkat penerimaan suatu produk, dengan aroma yang khas dan disenangi akan meningkatkan penerimaan konsumen. Menurut Winarno (2004) bahwa aroma makanan banyak menentukan kelezatan

bahan makanan tersebut. Aroma biasanya muncul dari bahan yang diolah karena senyawa *volatile* yang terkandung pada bahan pangan yang keluar melalui proses pengolahan atau perlakuan tertentu. Hasil uji organoleptik parameter aroma dapat dilihat pada gambar 9

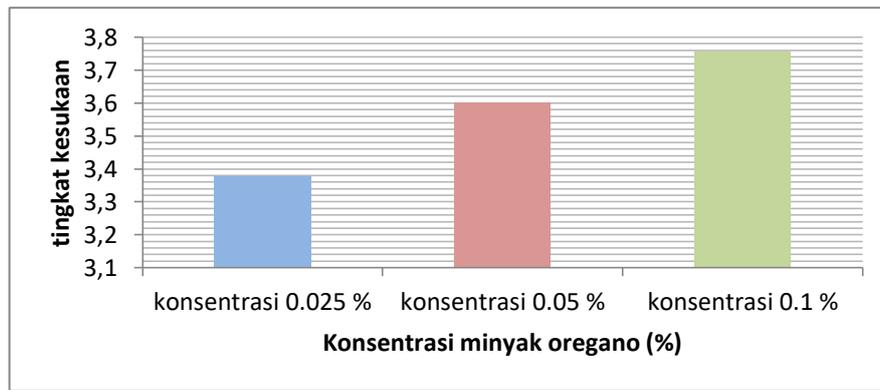


Gambar 9. Pengaruh Konsentrasi Minyak Oregano Terhadap Parameter Aroma nano konsentrat ikan gabus

Hasil analisa statistik produk koloid nano konsentrat ikan gabus dengan penambahan minyak oregano dengan konsentrasi 0.025 %, konsentrasi 0,05 % dan konsentrasi 0.1 % menunjukkan berpengaruh nyata pada taraf 5% ($<0,05$) terhadap parameter aroma sehingga dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan. Penambahan minyak oregano konsentrasi 0.025 % berbeda nyata terhadap konsentrasi 0,05 % dan konsentrasi 0.1 %. Aroma produk dipengaruhi oleh senyawa volatil minyak oregano. Produk dengan konsentrasi minyak oregano 0.025 % lebih diterima panelis dibandingkan konsentrasi 0.05, sedangkan produk dengan konsentrasi minyak oregano 0.025 % lebih diterima panelis dibandingkan konsentrasi 0.15 %. Semakin tinggi konsentrasi minyak oregano yang digunakan semakin tajam aroma produk. Parameter aroma menentukan penerimaan konsumen karena aroma atau rangsangan bau menjadi impuls yang akan menuju ke syaraf penciuman dan menggambarkan tentang karakteristik suatu produk. Hal ini sesuai dengan pernyataan (Wijaya 2007) yang menyatakan bahwa semakin lama waktu dan suhu penyimpanan, maka akan semakin memperbesar tingkat penguapan senyawa volatil pada produk.

IV.6.2 Warna

Warna merupakan daya tarik terbesar untuk konsumen dalam memilih makanan selain rasa dan aromanya. Winarno (2004), mengemukakan bahwa rupa lebih banyak melibatkan indera penglihatan dan merupakan salah satu indikator untuk menentukan apakah bahan pangan diterima atau tidak oleh konsumen, hasil uji organoleptik parameter warna dapat dilihat pada gambar 10



Gambar 10. Pengaruh Konsentrasi Minyak Oregano Terhadap Parameter Warna

Produk koloid nano konsentrat ikan gabus dengan penambahan minyak oregano dengan konsentrasi 0.025 %, konsentrasi 0,05 % dan konsentrasi 0.1 % menunjukkan berpengaruh nyata pada taraf 5% ($<0,05$) terhadap parameter warna sehingga dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan. Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa penambahan minyak oregano dengan konsentrasi 0.025 % berbeda nyata terhadap konsentrasi 0,05 % dan konsentrasi 0.1 %. Warna produk koloid nano konsentrat ikan gabus dengan penambahan minyak oregano memiliki tingkat kesukaan konsentrasi 0.025 % sebesar 3.37, konsentrasi 0,05 % sebesar 3,6 dan konsentrasi 0,1 % sebesar 3,75. Semua konsentrasi masih dapat diterima oleh panelis.

Hasil analisa sidik ragam produk koloid nano konsentrat ikan gabus dengan dengan penambahan minyak oregano dengan konsentrasi 0.025 %, konsentrasi 0,05 % dan konsentrasi 0,1 % menunjukkan sangat berpengaruh nyata pada taraf 5% ($<0,05$) terhadap parameter warna sehingga dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan. Hal tersebut disebabkan karena adanya perbedaan konsentrasi setiap bahan. Semakin tinggi konsentrasi menyebabkan kecerahan warna koloid nano konsentrat dengan penambahan madu semakin cerah dari warna awal. Menurut Muchtadi (2010), penyebab dari perubahan warna disebabkan oleh reaksi kimia gula dan asam amino dari protein yang dikenal sebagai reaksi pencoklatan (browning) atau reaksi Maillard. Reaksi Maillard terjadi bila bahan pangan mengalami pemanasan atau penyimpanan.

V. PENUTUP

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. *Minimum Inhibitory concentration* minyak oregano terhadap bakteri *Bacillus coagulans* adalah sebesar 0.025 % dan zona bening sebesar 11.316 mm. Minyak oregano konsentrasi 0,025% (v/v) menurunkan 2.42 log CFU/ml *B. Coagulans* atau berkurang sebanyak 47,4%. Hal ini telah sesuai dengan standarisasi mutu ikan gabus menurut FAO (2011) bahwa produk konsentrat protein ikan dikategorikan aman apabila jika total koloni bakteri (Total Plate count) tidak melebihi 1×10^5 colony forming unit atau 5 log cfu/ml.
2. Penambahan minyak oregano dengan berbagai konsentrasi pada produk nano konsentrat protein ikan gabus mempengaruhi warna, aroma, jumlah mikroba, tetapi tidak berpengaruh terhadap viskositas produk.

V.2 Saran

Saran penelitian selanjutnya adalah dilakukan penelitian terhadap derajat keasaman, pengujian mikroba patogen, dan uji sensori rasa produk setelah ditambah minyak oregano.

DAFTAR PUSTAKA

- Asfar, M. 2018. **Teknologi Proses Nano-Konsentrat Protein Ikan Gabus (*Channa Striata*)**. Disertasi. Program Pascasarjana UNHAS. Makassar.
- Campbell, N.A., Reece, J.B., and Mitchell, L.G. (2003). **Biologi**. Jilid 2. Edisi Kelima. Alih Bahasa: Wasmen. Jakarta: Penerbit Erlangga
- Cowan. M. Murphy. 1999. **Plant Product as Antimicrobial Agents**. J. Microbiology Reviews. 12 (4): 564-582.
- Davidson. P. M. and A. L. Branen. 1993. **Antimicrobial in Food (2nd)**. Marcel Dekker, Inc New York.
- De Clerck, O., Coppejans, E., Schils, T., Verbruggen, H., Leliaert, F., De Vriese, T. And Marie, D., 2004, **The marine red algae of Rodrigues (Mauritius, Indian Ocean), in P. G. Oliver and A. M. Holmes (eds) The Marine Biodiversity of Rodrigues, Indian Ocean**. Proceedings of the First International Marine Biodiversity Workshop for Rodrigues 10 September to 5 October 2001, Journal of Natural History, 38, 3021–3057.
- Dewita, Syahrul dan Isnaini. 2010. **Pemanfaatan Konsentrat Protein Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) Untuk Pembuatan Biskuit Dan Snack**. Jurusan Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia Volume XIV Nomor 321 Tahun 2011: 30-34.
- Dutra, Maurilio T., Castro, J., Menezes, j., Ramos, T., (2019) . **Bioactivity of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil against Alicyclobacillus spp.**," Industrial Crops & Products : 345–349
- Fadlya, 2008, **Isolasi dan Identifikasi Bakteri Proteolitik dari Limbah Tahu**, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- FDA Food and Drug Administration. 2001. **Bacteriological analytical manual: aerobic platecount**.<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm063346>.
- FAO Food Agriculture Organization, 2011, **Fish Protein Concentrate**, <Http://Www.Fao.Org/3/X5917e01.Htm>
- Fatanah, N. 2019. **Kajian Penurunan Mutu Produk Koloid Nano Konsentrat Protein Ikan Gabus (*Channa Striata*) Selama Penyimpanan**. Skripsi. Program Sarjana UNHAS. Makassar.

- Febrina, Elin, 2007. **Formulasi Sediaan Emulsi Buah Merah (Pandanus conoideus Lam.) Sebagai Produk Antioksidan Alami.** Bandung: Universitas Padjajaran.
- Filgueiras C. T. dan M. C. D. Vanetti. 2006. **Effect of Eugenol on Growth and Listeriolysin O Production by Listeria.** Braz. arch. biol. technol . 49 (3): 405-409.
- Ezhilarasi, P. N., P. Karthik, N. Chhanwal, and C. Anandharamkrishnan. 2013. **Nanoencapsulation techniques for food bioactive components : a review.** Food and Bioprocess Technology 6:628-647.
- Giancoli, D.C. 2014. **Fisika: Prinsip dan Aplikasi Jilid 1 Edisi 7.** Jakarta: Erlangga.
- Greenwood D, Finch R, Davey P, Wilcox M. 2007. **Antimicrobial Chemoterapy** Ed ke-5 Great Clarendon street (UK): Oxford University Press.
- Haberbeck, L., Alberto C., Salomão B., Aragão G. (2011). **Bacillus coagulans spore inactivation through the application of oregano essential oil and heat.** LWT - Food Science and Technology 46 (2012) 267e273.
- Haryono. 2013. **Tren Nano Teknologi di Industri Pangan pada 2010.** Majalah Sains Indonesia, Indonesia.
- James, J., C. Baker, H. Swain. 2008. **Prinsip-prinsip sains untuk keperawatan.** Erlangga, Jakarta
- Kim J. M. 1995. **Antibacterial activity of carvacrol, citral and geraniol against Salmonella typhimurium in culture medium and fish cubes.** J. Food Sci 60 (6): 1365- 1368.
- Lambert, R.J.W. and Pearson, J. (2000). **Susceptibility testing: accurate and reproducible minimum inhibitory concentration (MIC) and non-inhibitory concentration (NIC) values.** Journal of Applied Microbiology 88, 784±790.
- Lucas, R., Grande, M. J., Abriouel, H., Maqueda, M., Ben Omar, N., Valdivia, E., et al. (2006). **Application of the broad-spectrum bacteriocin enterocin AS-48 to inhibit Bacillus coagulans in canned fruit and vegetable foods.** Food and Chemical Toxicology, 44, 1774e1781.
- Lay, B. W. 1994. **Analisis Mikroba di Laboratorium.** Raja Grafindo Persada. Jakarta
- Maillard J. J. 2002. **Bacterial Target sites for Biocide Action.** J. of Applied Microbiology Symposium Supplement (92): 16 S- 27 S.
- Mechergui, K., Jaouadi, W., Coelho, J.P., Khouja, M.L., 2016. **Effect of harvest year on production, chemical composition and antioxidant activities of essential oil of**

- oregano (*Origanum vulgare subsp glandulosum (desf.) ietswaart*) growing in North Africa.** Ind. Crops Prod. 90, 32–37
- Muchtadi, T.R. 2010. **Teknologi Proses Pengolahan Pangan.** AlfaBeta, Bandung.
- Pelczar MJ, Chan ECS. 2008. **Dasar-Dasar Mikrobiologi II.** Hadioetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL, penerjemah. Jakarta (ID): UI Press. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology.*
- Prabuseenivasan S., M. Jayakumar dan S. Ignacimuthu. 2006. **In vitro Antibacterial Activity of Some Plants Essential Oils.** BMC Complementary and Alternative Medicine 2006, 6:39.
- DE clerck, O., Coppejans, E., Schils, T., Verbruggen, H., Leliaert, F., De vriese, T and Marie, D., 2004, **The marine red algae of Rodrigues (Mauritius, Indian Ocean),** in P. G. Oliver and A. M. Holmes (eds) *The Marine Biodiversity of Rodrigues, Indian Ocean. Proceedings of the First International Marine Biodiversity Workshop for Rodrigues 10 September to 5 October 2001, Journal of Natural History,* 38, 3021–3057
- Prindle, R.F. dan E.S. Wright. 1971. **Phenolic compound. Di dalam ; A. Lawrence dan S.S. Block (ed). Desinfection, Sterilization and Preservation.** Lea and Febringer. Philadelphia
- Rauf. R. 2015. **Kimia Pangan.** Yogyakarta : Penerbit ANDI Yogyakarta.
- Ruiter, A., 1995. **Fish And Fishery Products. Compositon, Nitriton Properties And Stability.** CAB International, Singapore.
- Sanadi, N.N.F., Fan, Y., Leow, C., Wong, C., Koay, S.Y., 2017. **Growth of *Bacillus Coagulans* Using Molasses as a Nutrient Source.** *Journal Chemical Engineering Transactions.* Vol. 56, 2017. 978-88-95608-47-1
- Sanguansri, P., M. A. Augustin. 2006. **Nanoscale materials development-a food industry perspective.** Trends Food Sci Tech. 17(10):547-556.
- Schlegel G. Hans, Schmidt Karin, 1994, **Mikrobiologi Umum,** Edisi Keenam. Diterjemahkan oleh Tedjo Baskoro dan Joke R. Wattimena, UGM press, Yogyakarta
- Sunatrio,S., 2003. **Peran albumin pada Penyakit Kritis, dalam Konsensus pemberian Albumin pada Sirosis Hati.** FKUI Press. Jakarta.
- Suprayitno, 2006. **Potensi serum Albumin dari Ikan Gabus.** Kompas. Cybermedia.

- Trilaksani W., Bambang R., dan Wahyu R. 2014. **Sedian Protein Ikan Gabus Dalam Bentuk Konsentrat Protein Ikan**. Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Ultee, A. Bennik M. H. J., R. Moezelaar .2002. **The Phenolic Hydroxyl Group of Carvacrol Is Essential for Action against the Food-Borne Pathogen *Bacillus cereus***. Applied and Environmental Microbiology 68 (4): 1561-1568.
- Unal. R., Fleming H P, McFeeters R F, Thompson R L, Breidt Jr, Giesbrecht. 2001. **Novels Quantitative Assays for Estimating the Antimicrobial Activity of Fresh Garlic Juice**. J. of Food Protection. 64 (2): 189-194.
- Veldhuizen EJ, Johanna LM, Bokhoven T, Zweijtzer C, Burt SA, Haagsman HP. 2006. **Structural Requirements for the antimicrobial Activity of Carvacrol**. J. Agric. Food Chem 2006; 54: 1874–1879
- Wijaya, C. H. 2007. **Pendugaan Umur Simpan Produk Kopi Instan Formula Merk-Z dengan Metode Arrhenius**. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Winarno, F.G. 2004. **Kimia Pangan dan Gizi**. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta

Lampiran

Lampiran 1. Hasil Uji Parameter Viskositas

Hari	Konsentrasi minyak oregano (cP)		
	0.025	0.05	0.1
1	96.8	96.32	96.27
2	92.1	90.23	91.3
3	90.51	90.12	89.32
4	88.97	87.2	86.7
5	82.24	83.12	82.12
6	80.16	80.05	79.79
7	80.17	82.19	79.69
8	80.07	79.14	78.12
9	80.09	78.83	78.34
10	79.96	78.8	78.11
11	79.87	78.23	78.06
12	79.8	77.94	77.87

Lampiran 2. Hasil Uji Anova Viskositas

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	9.498 ^a	2	4.749	0.125	0.883
Intercept	251435.388	1	251435.388	6619.419	0.000
Konsentrasi	9.498	2	4.749	0.125	0.883
Error	1253.489	33	37.985		
Total	252698.375	36			
Corrected Total	1262.987	35			

a. R Squared = .008 (Adjusted R Squared = -.053)

Keterangan:

p-Value > 0,05 = Tidak Nyata

p-Value < 0,05 = Berpengaruh Nyata

p-Value < 0,01 = Sangat Berpengaruh Nyata

Lampiran 3. Hasil Perhitungan Mikroba sampai hari ke 12

Konsentrasi	Jumlah mikroba (log cfu/ml)												
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0.025	2.74	2.75	2.77	2.79	2.8	2.81	2.83	2.83	2.86	2.87	2.89	2.9	2.93
0.05	2.6	2.62	2.63	2.65	2.66	2.67	2.7	2.72	2.73	2.74	2.76	2.79	2.83
0.2	2.40	2.43	2.45	2.48	2.52	2.58	2.59	2.62	2.63	2.67	2.7	2.71	2.72

Sumber : Data primer hasil penelitian , 2019

Lampiran 4. Hasil uji ANOVA perhitungan mikroba

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Viskositas

Konsentrasi	Mean	Std. Deviation	N
0.025	84.2283	6.10640	12
0.05	83.5142	6.04916	12
0.1	82.9742	6.33033	12
Total	83.5722	6.00711	36

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.411 ^a	2	0.206	29.825	0.000
Intercept	284.688	1	284.688	41284.718	0.000
Konsentrasi	0.411	2	0.206	29.825	0.000
Error	0.248	36	0.007		
Total	285.348	39			
Corrected Total	0.660	38			

a. R Squared = .624 (Adjusted R Squared = .603)

Keterangan:

p-Value > 0,05 = Tidak Nyata

p-Value < 0,05 = Berpengaruh Nyata

p-Value < 0,01 = Sangat Berpengaruh Nyata

jumlah_bakteri

Duncan^{a,b}

Konsentrasi	N	Subset		
		1	2	3
0.1	13	2.57692		
0.05	13		2.70000	
0.025	13			2.82846
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .007.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 13.000.

b. Alpha = .05.

Lampiran 5. Hasil Uji Parameter Aroma

	Konsentrasi								
	0.025			0.05			0.1		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
panelis 1	5	4	4	3	4	3	2	3	2
panelis 2	5	4	4	3	4	4	3	3	2
panelis 3	4	3	5	3	3	3	3	2	3
panelis 4	4	4	5	4	3	3	2	3	2
panelis 5	5	4	4	3	3	3	3	3	3
panelis 6	4	3	3	3	4	4	3	3	3
panelis 7	5	2	4	3	3	3	3	2	2
panelis 8	3	4	5	3	2	2	4	2	2
panelis 9	5	3	4	3	3	3	3	2	3
panelis 10	4	4	5	4	3	3	3	3	3
panelis 11	5	4	5	4	3	3	3	3	2
panelis 12	3	3	4	3	3	4	2	2	3
panelis 13	4	3	4	4	4	3	3	4	2
panelis 14	5	4	5	4	3	3	2	3	3
panelis 15	4	4	4	3	3	4	3	3	2
jumlah	65	53	65	50	48	48	42	41	37
rata-rata	4.3	4	4	3.3	3.2	3	3	3	2

Lampiran 6. Hasil uji ANOVA Aroma

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: aroma

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.970 ^a	2	1.485	17.793	.003
Intercept	99.556	1	99.556	1192.906	.000
konsentrasi	2.970	2	1.485	17.793	.003
Error	.501	6	.083		
Total	103.027	9			
Corrected Total	3.471	8			

a. R Squared = .856 (Adjusted R Squared = .808)

Keterangan:

p-Value > 0,05 = Tidak Nyata

p-Value < 0,05 = Berpengaruh Nyata

p-Value < 0,01 = Sangat Berpengaruh Nyata

Lampiran 7. Hasil Uji Duncan Aroma

Aroma

Duncan^{a,b}

konsentrasi	N	Subset		
		1	2	3
0.1	3	2.6667		
0.05	3		3.2444	
0.025	3			4.0667
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .083.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

Lampiran 8. Hasil Uji Parameter Warna

	Konsentrasi								
	0.025			0.05			0.1		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
panelis 1	4	4	3	4	4	3	5	5	4
panelis 2	3	4	3	3	4	4	3	5	4
panelis 3	4	3	3	3	3	3	5	4	3
panelis 4	3	3	3	4	3	5	5	3	5
panelis 5	4	4	4	3	3	3	3	3	3
panelis 6	3	3	3	3	4	4	3	3	3
panelis 7	3	4	4	3	3	5	3	4	4
panelis 8	3	4	4	3	5	2	4	4	4
panelis 9	3	3	4	3	3	3	3	4	3
panelis 10	3	3	3	4	3	3	3	3	5
panelis 11	3	3	5	4	3	3	3	5	4
panelis 12	3	3	3	3	3	4	5	4	3
panelis 13	4	3	3	4	4	5	3	4	4
panelis 14	3	3	3	4	5	5	5	3	3
panelis 15	4	4	3	3	5	4	3	3	4
Jumlah	50	51	51	51	55	56	56	57	56
rata-rata	3.333	3.4	3.4	3.4	3.667	3.733	3.733	3.8	3.733

Lampiran 9. Hasil uji ANOVA warna

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: warna

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.216 ^a	2	.108	9.522	.014
Intercept	115.204	1	115.204	10143.002	.000
Konsentrasi	.216	2	.108	9.522	.014
Error	.068	6	.011		
Total	115.489	9			
Corrected Total	.284	8			

a. R Squared = .760 (Adjusted R Squared = .681)

Keterangan:

p-Value > 0,05 = Tidak Nyata

p-Value < 0,05 = Berpengaruh Nyata

p-Value < 0,01 = Sangat Berpengaruh Nyata

Lampiran 10. Hasil uji Duncan warna

warna

Duncan^{a,b}

konsentrasi	N	Subset	
		1	2
0.025	3	3.3778	
0.05	3		3.6000
0.1	3		3.7556
Sig.		1.000	.124

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

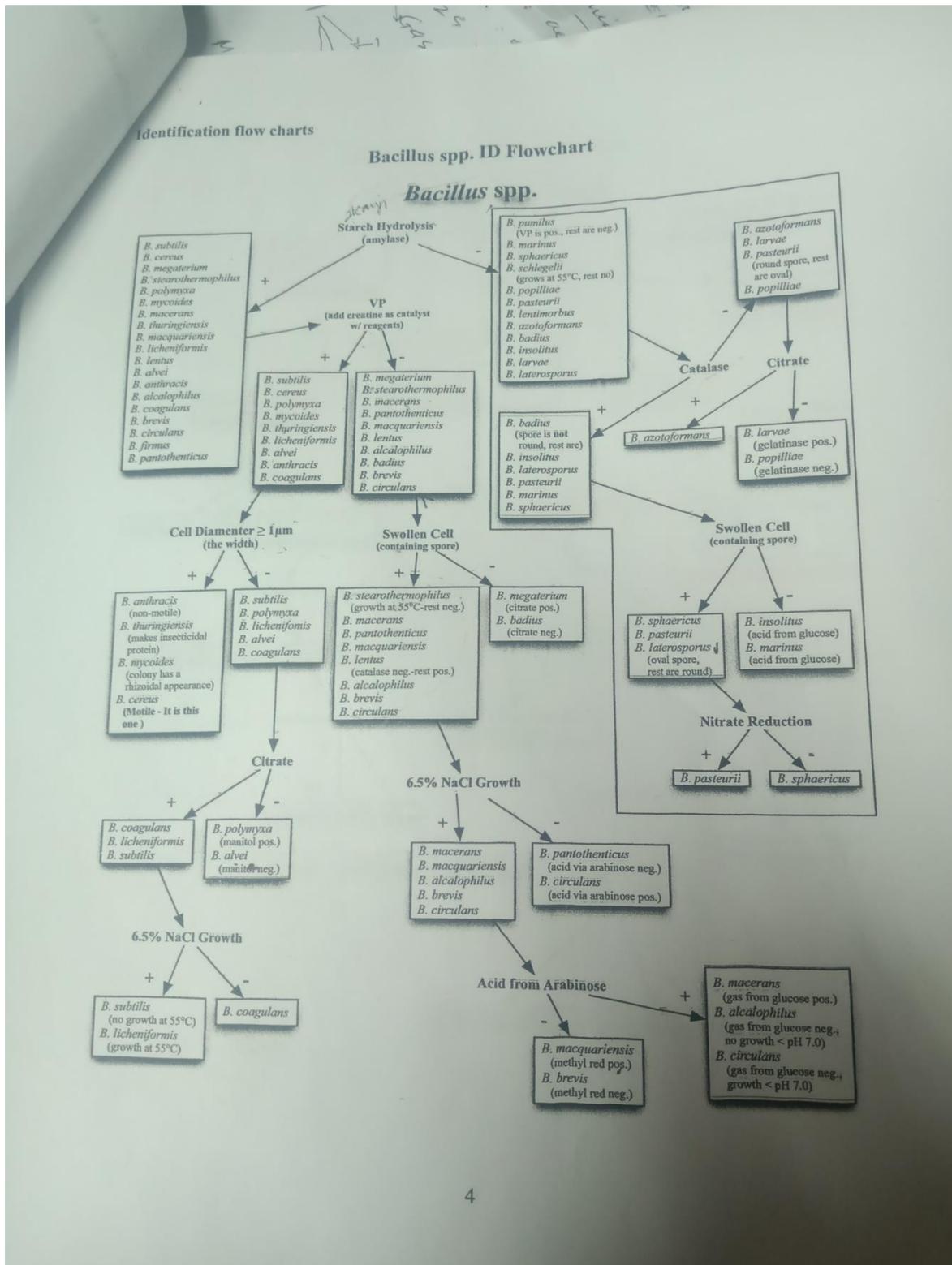
Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .011.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

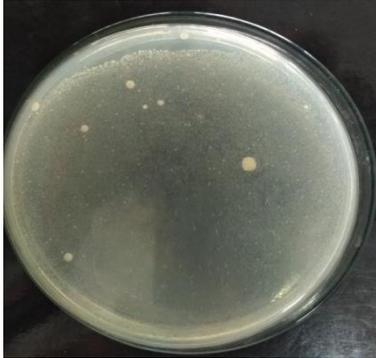
b. Alpha = .05.

Lampiran 11. Flowchart identifikasi bakteri Bacillus Sp.

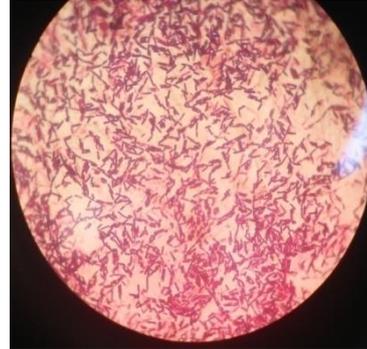


Lampiran 12. Dokumentasi Penelitian

Identifikasi Mikroba



Kenampakan mikroba dalam media agar



Hasil Pewarnaan Gram

Pembuatan Nano KPIG



Sterilisasi Alat dan Bahan



pengayakan



Pencampuran Bahan-Bahan



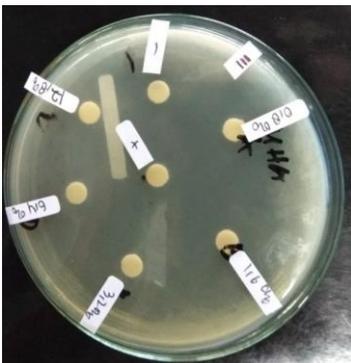
Homogenisasi dengan ultraturax



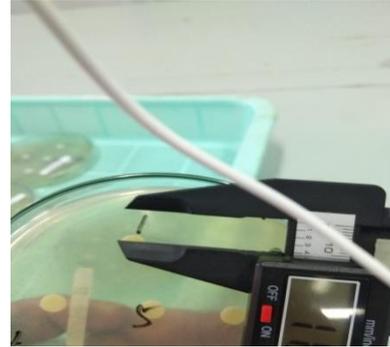
Sonikasi Sampel



Inkubasi Sampel



Contoh Zona Bening



Penghitungan Zona Bening