



TUGAS AKHIR - SB-141510

# ANALISIS MIKROBIOLOGIS SALMONELLA PADA EKSTRAK IKAN GABUS (*Channa striata*) DENGAN PREPARASI DAN MASA SIMPAN YANG BERBEDA

LELY SUCIATI  
01311340000036

Dosen Pembimbing:  
Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si.  
Nur Hidayatul Alami, S.Si., M.Si.

DEPARTEMEN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN ANALITIKA DATA  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA 2020





**TUGAS AKHIR - SB-141510**

**ANALISIS MIKROBIOLOGIS SALMONELLA PADA  
EKSTRAK IKAN GABUS (*Channa striata*)  
DENGAN PREPARASI DAN MASA SIMPAN YANG  
BERBEDA**

**LELY SUCIATI  
NRP. 01311340000036**

**Dosen Pembimbing  
Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si.  
Nur Hidayatul Alami, S.Si., M.Si.**

**DEPARTEMEN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN ANALITIKA DATA  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA 2020**





**FINAL PROJECT - SB-141510**

**MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF SALMONELLA  
IN SNAKEHEAD FISH (*Channa striata*)  
EXTRACT WITH DIFFERENT PREPARATION AND  
TIME OF STORAGE**

**LELY SUCIATI  
NRP. 0131134000036**

**Supervisor  
Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si.  
Nur Hidayatul Alami, S.Si., M.Si.**

**BIOLOGY DEPARTMENT  
FACULTY OF SCIENCE AND DATA ANALYTICS  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA 2020**



**HALAMAN PENGESAHAN**

**ANALISIS MIKROBIOLOGIS SALMONELLA PADA  
EKSTRAK IKAN GABUS (*Channa striata*) DENGAN  
PREPARASI DAN MASA SIMPAN YANG BERBEDA**

**TUGAS AKHIR**

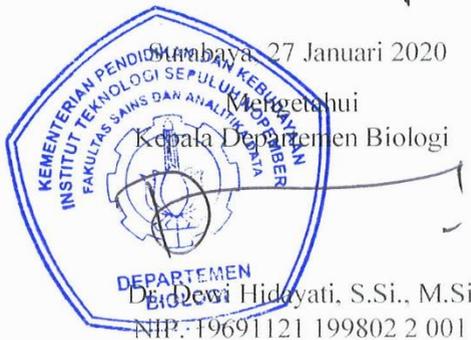
Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains  
Pada  
Departemen Biologi  
Fakultas Sains dan Analitika Data  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh:

**Lely Suciati**  
**NRP. 01311340000036**

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir

Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si. ....(Pembimbing 1)  
Nur Hidayatul Alami, S.Si., M.Si. ....(Pembimbing 2)





# **ANALISIS MIKROBIOLOGIS SALMONELLA PADA EKSTRAK IKAN GABUS (*Channa striata*) DENGAN PREPARASI DAN MASA SIMPAN YANG BERBEDA**

**Nama Mahasiswa** : Lely Suciati  
**NRP** : 01311340000036  
**Jurusan** : Biologi  
**Dosen Pembimbing** : Dr. Dewi Hidayati, M.Si.  
Nur Hidayatul Alami, S.Si., M.Si.

## **Abstrak**

*Berdasarkan banyaknya manfaat ikan gabus (Channa striata) yang sangat penting untuk kesehatan. Pada saat ini ikan gabus mulai banyak dikembangkan dalam bidang medis yang dibuktikan oleh penelitian terdahulu bahwa ikan gabus mengandung albumin yang berpotensi untuk meningkatkan kadar albumin, memperbaiki struktur jaringan pankreas serta menurunkan kadar gula darah hingga mencapai kadar normal pada penderita diabetes. Ekstrak Ikan Gabus (EIG) sangat potensial untuk dikembangkan sebagai nutraceutical anti diabetes. Dalam menghasilkan suatu produk perlu adanya indikator keamanan pangan yaitu bebas dari bakteri patogen salah satunya adalah Salmonella sp. Menurut SNI,2008 syarat standart keamanan pangan untuk Salmonella sp. harus negatif per 25 gram. Metode yang digunakan adalah diskriptif kualitatif. Sampel penelitian berupa EIG preparasi cair dan bubuk disimpan dalam masa simpan yang berbeda yaitu 2, 4 dan 8 minggu. Sampel diuji dengan media SSA (Salmonella Shigella Agar) dan media TSIA (Triple Sugar Iron Agar). Hasil menunjukkan EIG cair perlakuan waktu masa simpan 4 minggu positif Salmonella sp. dan EIG bubuk pada semua perlakuan masa simpan negatif Salmonella sp. Sehingga waktu masa simpan optimum tidak dapat ditentukan.*

**Kata Kunci:** masa simpan, EIG, uji mikrobiologi, Salmonella



**MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF SALMONELLA IN  
SNAKEHEAD FISH (*Channa striata*) EXTRACT WITH  
DIFFERENT PREPARATION AND TIME OF STORAGE**

**Name** : Lely Suciati  
**NRP** : 0131134000036  
**Department** : Biologi  
**Supervisor** : Dr. Dewi Hidayati, M.Si.  
Nur Hidayatul Alami, S.Si., M.Si.

*Abstract*

Based on the many benefits of Snakehead Fish (*Channa striata*) which is very important for health. At this time cork fish began to be developed in the medical field as evidenced by previous studies that Snakehead Fish contain albumin which has the potential to increase albumin levels, improve the structure of pancreatic tissue and reduce blood sugar levels to reach normal levels in diabetics. Snakehead Fish Extract (EIG) is very potential to be developed as an anti-diabetic nutraceutical, in producing a product it is necessary to have food safety indicators that are free from pathogenic bacteria one of which is *Salmonella* sp. according to SNI, 2008 standard requirements for food safety for *Salmonella* sp. must be negative per 25 grams. The method used is descriptive qualitative. The research sample in the form of liquid and powder preparation EIG was stored in different time of storage 2,4 and 8 weeks. Samples were tested with SSA (*Salmonella Shigella Agar*) and TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) media. The result showed that the EIG liquid treatment positive *Salmonella* sp a time of storage on 4 weeks and EIG powder in all time of storage treatments negative *Salmonella* sp.. So that the optimum time of storage cannot be determined.

Keywords: time of storage, EIG, microbiology test, *Salmonella*.



## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas berkat dan karunianya yang telah diberikan, penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul **Analisis Mikrobiologis *Salmonella* sp. Pada Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) Dengan Preparasi Dan Masa Simpan Yang Berbeda**. Sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana sains pada departemen S1 Biologi di Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Analika Data, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

Penyusunan Tugas Akhir ini, penulis tidak lepas dari bimbingan dan bantuan berbagai pihak. Oleh sebab itu penulis menyampaikan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu yaitu:

1. Ibu Dr. Dewi Hidayati, S.Si. M.Si selaku ketua jurusan Biologi ITS dan Dosen Pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingan dan masukan.
2. Ibu Nur Hidayatul Alami S.Si., M.Si selaku Dosen pembimbing kedua yang telah banyak memberikan bimbingan dan masukan.
3. Ibu Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si dan Noor Nailis Sa'adah, S.Si, M.Si selaku Dosen penguji.
4. Ibu Siti Nurhayati, Mas Ari Zainal, dan keluarga besar yang telah memberikan do'a, semangat dan restunya.
5. Sahabat-sahabat terbaik saya Dian, Tika, Rahma, Febry, Ayu dan *Amblynx cinereus* yang telah membantu dan memberi semangat.

Penulis menyadari bahwa penulisan proposal ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat berarti bagi penulis dan semoga dapat bermanfaat untuk penulis maupun pembaca.

Surabaya, 28 Januari 2020

Penulis



## DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
Abstrak .....	ix
<i>Abstract</i> .....	xi
KATA PENGANTAR.....	xiii
DAFTAR ISI.....	xv
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR GAMBAR .....	xix
DAFTAR LAMPIRAN .....	xxi
BAB I PENDAHULUAN.....	23
1.1 Latar Belakang .....	23
1.2 Rumusan Masalah .....	24
1.3 Batasan Masalah.....	24
1.4 Tujuan.....	25
1.5 Manfaat.....	25
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	27
2.1 Biologi Ikan Gabus ( <i>Channa striata</i> ) .....	27
2.2 Kandungan Gizi Ikan Gabus .....	28
2.3 Bakteri <i>Salmonella</i> sp. ....	30
2.4 Penyakit Akibat Kontaminasi Mikroba .....	34
2.5 <i>Nutraceutical</i> .....	37
2.6 Gum Arab.....	39
2.7 Batas Cemaran Mikroba Pada Makanan.....	40
2.8 Identifikasi <i>Salmonella</i> .....	42
2.8.1 Uji Biokimia untuk <i>Salmonella</i> sp. Secara Umum.....	43
BAB III METODOLOGI .....	47
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	47
3.2 Metode Penyediaan Sampel Ekstrak Ikan Gabus (EIG) ....	47
3.2.1 Preparasi Ikan Gabus Dalam Bentuk Cair.....	47
3.2.2 Preparasi EIG dalam Bentuk Bubuk .....	48
3.2.3 Pengemasan EIG .....	48

3.3 Pembuatan Medium.....	48
3.3.1 Media <i>Lactose Broth</i> (LB) .....	48
3.3.2 Media <i>Tetrathionate Broth</i> (TTB).....	48
3.3.3 Media <i>Salmonella Shigela Agar</i> (SSA) .....	49
3.3.4 Media <i>Triple Sugar Iron Agar</i> (TSIA).....	49
3.4 Perlakuan EIG pada Masa Simpan yang Berbeda .....	49
3.5 Uji Mikrobiologis <i>Salmonella</i> .....	49
3.5.1 Tahap Pra Pengkayaan ( <i>Pra Enrichment</i> ).....	49
3.5.2 Tahap Pengkayaan ( <i>Enrichment</i> ).....	50
3.5.3 Isolasi dan Identifikasi <i>Salmonella sp.</i> .....	50
3.6 Rancangan Penelitian & Analisa Data.....	52
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>53</b>
4.1 Pengaruh Preparasi EIG.....	53
4.1.1 Uji Pra-Pengkayaan .....	53
4.1.2 Uji Tahap Pengkayaan .....	55
4.2 Tahap Isolasi dan Identifikasi .....	56
4.2.1 Hasil Uji media SSA ( <i>Salmonella Shigella Agar</i> ).....	56
4.2.2 Hasil Uji Biokimia media TSIA ( <i>Triple Sugar Iron Agar</i> ) .....	59
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>69</b>
5.1 Kesimpulan .....	69
5.2 Saran.....	69
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>71</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>79</b>

## DAFTAR TABEL

	Halaman
<b>Tabel 1.</b> Zat Gizi Ekstrak Ikan Gabus.....	29
<b>Tabel 2.</b> Morfologi Koloni Tipikal pada Media SSA.....	33
<b>Tabel 3.</b> Penyakit yang Disebabkan Spesies <i>Salmonella</i> sp.....	37
<b>Tabel 4.</b> Batas Cemaran Mikroba pada Daging .....	41
<b>Tabel 5.</b> Batas Cemaran Mikroba pada Olahan Ikan.....	41
<b>Tabel 6.</b> Reaksi Tipikal Biokimia <i>Salmonella</i> Terhadap TSIA.....	44
<b>Tabel 7.</b> Hasil Reaksi TSIA Sampel EIG Bubuk pada Masa Simpan Berbeda .....	60
<b>Tabel 8.</b> Hasil Reaksi TSIA Sampel EIG Cair pada Masa Simpan Berbeda .....	61



## DAFTAR GAMBAR

Halaman

<b>Gambar 1.</b> Ikan Gabus ( <i>Channa striata</i> ) (USGS,2016).....	27
<b>Gambar 2.</b> Bakteri <i>Salmonella</i> sp. ....	30
<b>Gambar 3.</b> <i>Salmonella</i> Pada Pewarnaan Gram.....	31
<b>Gambar 4.</b> <i>Salmonella</i> (kanan) pada Media MacConkey .....	31
<b>Gambar 5.</b> <i>Salmonella</i> (kiri) dan <i>Shigella</i> (kanan) pada Media SSA .....	32
<b>Gambar 6.</b> Alat Filtrasi Daging Ikan Gabus.....	47
<b>Gambar 7.</b> Media <i>Lactose Broth</i> Kontrol (a), <i>Lactose Broth</i> dengan Sampel EIG Cair (b), dan Media <i>Lactose</i> <i>Broth</i> dengan Sampel EIG Bubuk (c) .....	54
<b>Gambar 8.</b> Media TTB Kontrol (a), Media TTB dengan Sampel EIG Cair (b), Media TTB dengan Sampel EIG Bubuk (c) .....	55
<b>Gambar 10.</b> Hasil Pengamatan EIG Cair pada Media SSA dengan Masa Simpan yang Berbeda .....	58

<b>Gambar 11.</b> Hasil Positif (kiri), dan Hasil Negatif (kanan) <i>Salmonella</i> pada Sampel Cair Minggu ke-4 Pada Media SSA.....	58
<b>Gambar 12.</b> Hasil Positif (a), dan Hasil Negatif (b) <i>Salmonella</i> pada Sampel Cair Minggu ke-4 .....	62

## DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

<b>Lampiran 1.</b> Komposisi Media. ....	79
<b>Lampiran 2.</b> Flowchart Bergey's <i>Salmonella</i> sp.....	81
<b>Lampiran 3.</b> Skema Kerja.....	82
<b>Lampiran 4.</b> Tabel Rancangan Uji .....	86







# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Ikan Gabus (*Channa striata*) merupakan jenis ikan perairan umum yang bernilai ekonomis dengan jumlah hasil tangkapan yang melimpah di Indonesia (Sunarno, 2015). Selain sebagai bahan pangan, ikan gabus pada saat ini mulai banyak dikembangkan dibidang medis. Beberapa penelitian membuktikan bahwa ikan gabus mengandung albumin yang berpotensi untuk meningkatkan kadar albumin pada penderita hypoalbuminemia dan pasca operasi bedah (Suprayitno *et al.*, 2009).

Sebelumnya telah dilakukan beberapa penelitian salah satunya penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Abdulgani *et al.*,(2014) melaporkan bahwa Ekstrak Ikan Gabus (EIG) dapat menurunkan stres oksidatif, memperbaiki struktur jaringan pankreas serta menurunkan kadar gula darah hingga mencapai kadar normal pada tikus penderita diabetes. Berdasarkan potensi dibidang medis tersebut, EIG sangat potensial untuk dikembangkan sebagai produk nutraceutical. Nutraceutical adalah makanan atau bagian dari makanan yang aman dikonsumsi secara oral dan memberikan manfaat bagi kesehatan (Gam,2005).

Membahas tentang makanan tentunya tidak jauh juga dengan adanya kontaminasi mikroba, Swasti (2016) mengatakan bahwa makanan dengan masa simpan yang lebih lama menunjukkan peningkatan jumlah total mikroba. Salah satu mikroba yang dapat tumbuh dan berkembangbiak serta mampu memproduksi toksin dalam makanan adalah bakteri *Salmonella* sp. (Mutairi,2011). Keberadaan *Salmonella* sp. merupakan indikator keamanan pangan yang digunakan untuk memantau tingkat kebersihan (hygiene) makanan serta pengolahan produk pada pabrik makanan tersebut, dan menurut *Food and Drugs Administration* (1992), syarat standart mikrobiologi pangan pada daging segar/100 gr untuk *Salmonella* sp. harus negatif, *Escherichia coli* negatif dan bakteri

Coliform lain maksimum 250 cfu/gr (SNI,2009). Bentuk pada makanan terdapat 2 jenis yaitu padat dan cair, menurut beberapa penelitian, bentuk produk terbaik pada makanan atau minuman adalah bentuk bubuk (padat). Seperti yang dijelaskan Buckle (2009) yang berkaitan dengan produk bentuk bubuk bahwa “Susu bubuk mempunyai daya tahan yang lebih lama daripada susu cair dan tidak perlu disimpan di lemari es karena kandungan uap airnya sangat rendah sehingga menyebabkan tingkat ketahanannya lebih baik daripada susu cair yang memiliki kadar air yang lebih banyak”(Buckle, 2009).

Berdasarkan beberapa pernyataan di atas, maka dari itu perlu dilakukan uji mikrobiologis *Salmonella* sp. terhadap perlakuan masa simpan ekstrak ikan gabus dan menentukan bentuk preparasi manakah yang paling aman dari kontaminasi mikroba. Penelitian preparasi Ekstrak Ikan Gabus (EIG) cair dan bubuk dengan masa simpan berbeda dilakukan untuk menentukan bentuk preparasi dan masa simpan paling optimum dan paling aman dari Ekstrak Ikan Gabus tersebut, sehingga diperoleh nutraceutical ekstrak ikan gabus yang layak konsumsi dan aman sebagai produksi komersial.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah yang dibahas dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh preparasi dan masa simpan terhadap kualitas EIG (Ekstrak Ikan Gabus) berdasarkan analisis mikrobiologis keberadaan *Salmonella* sp.

## **1.3 Batasan Masalah**

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Ekstrak ikan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Ekstrak ikan Gabus dalam bentuk cair dan bubuk dari spesies *Channa striata*.
2. Faktor masa simpan diuji dalam tiga waktu yakni 2 Minggu, 4 Minggu dan 8 Minggu.
3. Metode identifikasi bakteri *Salmonella* hingga level genus.

#### **1.4 Tujuan**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan pengaruh preparasi dan masa simpan paling optimum untuk menghasilkan kualitas produk EIG terbaik berdasarkan analisis keamanan produk terhadap keberadaan bakteri *Salmonella*.

#### **1.5 Manfaat**

Manfaat dari penelitian ini untuk memperluas informasi mengenai bakteri indikator keamanan pangan dan tentang masa simpan yang optimum pada ekstrak ikan gabus sebagai nutraceutical anti diabetes.



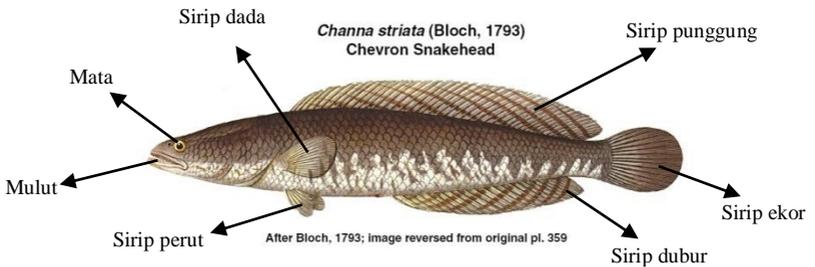
## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Biologi Ikan Gabus (*Channa striata*)

Menurut Nelson (1994), Courtenay and Williams (2004), klasifikasi ikan Gabus adalah sebagai berikut:

Class	: Actinopterygii
Subclass	: Neopterygii
Ordo	: Perciformes
Subordo	: Channoidei
Family	: Channidae
Genus	: <i>Channa</i>
Species	: <i>Channa striata</i>

Ikan Gabus (*Channa striata*) merupakan jenis ikan perairan umum yang bernilai ekonomis dengan jumlah hasil tangkapan yang melimpah di Indonesia. Ikan Gabus mengandung senyawa-senyawa penting yang berguna bagi tubuh, salah satunya adalah protein.



**Gambar 1.** Ikan Gabus (*Channa striata*) (USGS,2016)

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Chai (1990), kadar protein pada ikan Gabus lebih tinggi dibandingkan dengan ikan bandeng atau ikan mas, yaitu mencapai 25,5 % dalam satu individu ikan. Ikan Gabus mengandung tiga jenis protein, diantaranya protein miofibril, sarkoplasma, dan stroma. Protein sarkoplasma mengandung protein albumin, mioalbumin, mioprotein

(Chai,1990). Protein albumin banyak dimanfaatkan dalam bidang kesehatan karena dapat digunakan sebagai antioksidan, senyawa proteksi hati serta berpengaruh pada proses penyembuhan luka seperti pada pasien pasca operasi bedah. Kadar protein dalam tubuh ikan dipengaruhi oleh tahap perkembangan ikan yang digambarkan melalui ukuran tubuh ikan (Moedjiharto,2008). Berdasarkan penelitian Gam *et al.* (2006) menunjukkan bahwa ikan gabus dengan ukuran panjang tubuh 16 - 23 cm memiliki kadar protein yang lebih besar daripada ikan gabus yang berukuran 24 - 30 cm. Hal ini dikarenakan pada ikan gabus yang lebih kecil, berenang lebih aktif daripada ikan gabus yang besar, sehingga sintesis protein berlangsung lebih cepat.

## **2.2 Kandungan Gizi Ikan Gabus**

Hasil analisis komposisi zat gizi ekstrak ikan gabus (Tabel 1) menunjukkan bahwa ekstrak ikan gabus mengandung berbagai senyawa yang terkait dengan proses penyembuhan luka (Wee,1992). Proses sintesis jaringan memerlukan asupan protein terutama albumin, vitamin dan mineral (Zn, Cu, dan Fe). Sebagaimana dijelaskan oleh Price, S.(2006) bahwa ketersediaan zat gizi (protein, vitamin, Zn) merupakan salah satu faktor yang memicu penyembuhan luka. Ekstrak ikan gabus mengandung protein dengan kadar yang sebanding dengan kadar protein susu sapi (3,6 %), tetapi lebih rendah dibanding protein putih telur (10,6 %). Protein ekstrak ikan gabus sebagaimana protein hewani lainnya mempunyai kualitas yang baik karena tersusun dari asam amino-asam amino esensial, sehingga sangat baik untuk mendukung proses sintesis jaringan. Albumin merupakan fraksi protein terbesar dalam ekstrak ikan gabus (64,61 % total protein) (Steinhauserova, 2015).

Komposisi gizi Ekstrak Ikan Gabus yang dikutip dari (Santoso., et al,2008) :

**Tabel 1.** Zat Gizi Ekstrak Ikan Gabus  
(Santoso et al.,2008)

<i>Zat Gizi</i>	<i>Kadar</i>
<i>Protein (g/100 ml)</i>	<i>3,37 ± 0,27</i>
<i>Albumin (g/100 ml)</i>	<i>2,17 ± 0,14</i>
<i>Zn (mg/100 ml)</i>	<i>3,43 ± 0,28</i>
<i>Cu (mg/100 ml)</i>	<i>2,34 ± 0,99</i>
<i>Fe (mg/100 ml)</i>	<i>0,81 ± 0,09</i>

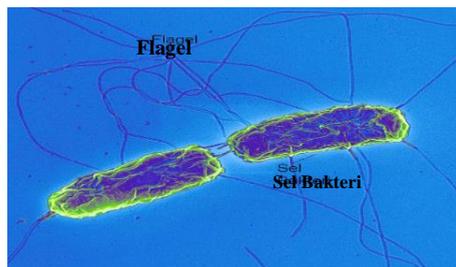
Ekstrak ikan gabus mengandung albumin dengan kadar yang cukup tinggi ( $2,17 \pm 0,14$  g/100 ml), lebih tinggi dibandingkan albumin dalam susu ( $0,17$  g/100 ml). Aplikasi ekstrak ikan gabus dalam diet bagi penderita yang terindikasi hipoalbumin, secara nyata dapat meningkatkan kadar albumin serum penderita. Pemberian 2 kg ikan gabus per hari atau setara dengan 400 ml ekstrak ikan gabus selama 5 hari telah meningkatkan kadar albumin pasien hipoalbumin ( $1,8$  g/100ml) menjadi normal ( $> 3,5$  g/100 ml)(Lawley *et al*,2008).

Kadar mineral tembaga (Cu) ekstrak ikan gabus mencapai  $2,34 \pm 0,99$  mg/ 100 ml. Anak-anak memerlukan tembaga  $0,08$  mg/kg BB, dan jika telah dewasa memerlukan tembaga  $0,03$  mg/kg BB, maka dengan pemberian  $3$  ml/kg bb/hari ekstrak ikan gabus memberikan kontribusi asupan tembaga sebesar  $3,28$  mg per hari dan telah memenuhi kebutuhan tembaga. Dengan demikian ekstrak ikan gabus dapat digolongkan kedalam makanan sumber tembaga yang baik (Hawley,2003). Kadar mineral besi (Fe) ekstrak ikan gabus  $0,81 \pm 0,09$  mg/100 ml, lebih tinggi jika dibandingkan dengan susu sapi segar ( $0,2-0,4$  mg/100 ml). Dengan pemberian  $3$  ml/kg BB/hari, ekstrak ikan gabus berkontribusi memberikan asupan Fe sebesar  $7,97$  % AKG per hari, sehingga ekstrak ikan gabus bukan merupakan sumber Fe yang baik. Mineral zinc (Zn)

mempunyai peranan penting dalam proses penyembuhan luka. Dijelaskan oleh Armin (2005) bahwa mineral zinc bersifat esensial untuk sintesis DNA oleh sel-sel mamalia. Defisiensi mineral zinc (Zn) menyebabkan apoptosis sel. Zinc (Zn) juga mempengaruhi berbagai aspek dalam sistem imun, mulai dari sistem pertahanan oleh kulit sampai regulasi gen pada limfosit (Baird *et al.*, 2006).

### 2.3 Bakteri *Salmonella* sp.

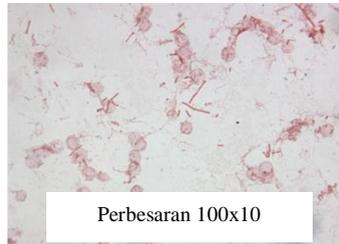
Bakteri *Salmonella* sp. merupakan bakteri patogen penyebab sakit perut yang dapat menyebabkan kematian, yang disebut sebagai Salmonellosis. *Salmonella* memiliki banyak *serotype* yang semuanya diketahui bersifat patogen, sehingga adanya bakteri ini dalam makanan dianggap membahayakan kesehatan (Baylis *et al.*, 2011). Habitat alami *Salmonella* sp. adalah di usus manusia dan hewan, sedangkan air dan makanan merupakan media perantara penyebaran *Salmonella* sp. (Cliver and Doyle, 1990). *Salmonella* sp. dapat menginfeksi manusia jika mencemari makanan dan kemudian dikonsumsi oleh manusia.



**Gambar 2.** Bakteri *Salmonella* sp.  
(Jawet'z *et al.*, 2001)

Pada pewarnaan Gram, bakteri Gram negatif berwarna merah ditunjukkan pada (Gambar 3). Karena bakteri Gram Negatif memiliki kandungan lipopolisakarida yang tinggi pada lapisan dinding selnya sehingga pada saat pewarnaan tahap decolorizing menggunakan alkohol lapisan lipopolisakarida menjadi tidak

berwarna karena pada pewarnaan pertama dengan Kristal violet melekat pada lapisan lipopolisakarida dan saat diberikan pewarnaan kedua yaitu safranin menghasilkan gambaran berwarna merah secara mikroskopis yang mencerminkan bakteri gram negatif (WHO,2003).



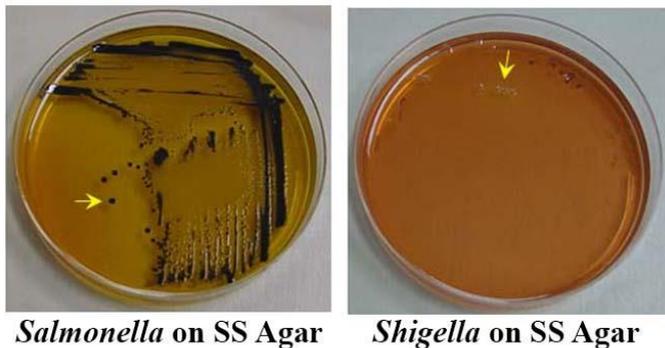
**Gambar 3.** *Salmonella* pada Pewarnaan Gram (Bridson, 2006)

Munculnya koloni *Escherichia coli* dan *Salmonella enterica*. Pertumbuhan pada agar MacConkey, 24 jam, 37° C dalam kondisi aerob. Koloni positif laktosa dari *E. coli* berwarna Merah, dan koloni negatif laktosa dari *S.enterica* ssp. tidak berwarna, dapat dilihat pada Gambar 4.



**Gambar 4.** *Salmonella* (kanan) pada Media MacConkey (Kenneth,2008)

*Salmonella* tidak akan memfermentasi laktosa, tetapi menghasilkan gas hidrogen sulfida (H<sub>2</sub>S). Koloni bakteri yang dihasilkan akan tampak tidak berwarna dengan pusat-pusat hitam. *Shigella* tidak memfermentasi laktosa atau menghasilkan gas hidrogen sulfida, sehingga koloni yang dihasilkan tidak berwarna. Dapat dilihat perbedaannya pada Gambar 5. berikut ini:



**Gambar 5.** *Salmonella* (kiri) dan *Shigella* (kanan) pada Media SSA (Kenneth,2008)

*Salmonella* sp. merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang, termasuk famili Enterobacteriaceae, terdiri dari 2300 serotipe. *Salmonella* memiliki antigen Vi, suatu polimer polisakarida bersifat asam yang terdapat pada permukaan membrannya. *Salmonella* bersifat motil dan patogenik (Hawley 2003). *Salmonella* merupakan mikroorganisme fakultatif intraseluler yang dapat hidup bahkan berkembang biak dalam makrofag, tahan terhadap enzim-enzim di lisosom, mempunyai kemampuan untuk mencegah dan menghambat fusi fagolisosom sehingga sulit untuk dibunuh (Doyle *et al.*,2001). Salah satu cara untuk membunuh kuman ini adalah dengan memacu fungsi makrofag untuk menghancurkan dan mengeliminasi bakteri tersebut menggunakan imunostimulan. Imunostimulan akan

memacu fungsi makrofag untuk *killing*. Makrofag yang teraktivasi akan melepaskan berbagai metabolit (Baird *et al.*,2006). Koloni tipikal *Salmonella* pada media SSA dapat dilihat pada Tabel.

**Tabel 2.** Morfologi Koloni Tipikal pada Media SSA.  
(Pollock and Dahlgren, 1974)

Bacteria	Typical colonial
<i>Escherichia coli</i>	Slight Growth, pink or red
<i>Enterobacter/Klebsiella</i>	Slight Growth, pink
<i>Proteus</i>	Colorless, usually with black center
<i>Salmonella</i>	Colorless, usually with black center
<i>Shigella</i>	Colorless
<i>Pseudeumonas</i>	Irregular, Slight Growth
Gram-positive bacteria	No Growth

Keterangan: Reaksi tipikal *Salmonella* sp. ditunjukkan ketika media SSA terdapat koloni tidak berwarna dengan titik hitam di bagian tengahnya.

*Salmonella* sp. dapat menghasilkan enterotoksin yang dapat menyebabkan infeksi pada saluran intestinal pada manusia dan hewan berdarah panas. *Salmonella* sp. hidup pada feses manusia dan beberapa binatang, dan dapat juga hidup di air tetapi bersifat inaktif. Spesies penting dari *Salmonella* sp. sering menyebabkan penyakit adalah *S. enteritis* dan *S. typhimurium* (Ray,1996). Infeksi yang disebabkan *Salmonella* sp. menimbulkan masalah serius pada berbagai kasus kesehatan masyarakat karena menyebabkan penyakit tipus, paratipus atau tipus ringan dan gastroenteritis. Soeharsono (2002) menjelaskan bakteri *Salmonella* sp. terhambat perkembangannya pada suhu 10°C dan tidak dapat berkembang pada suhu dibawah 5°C. *Salmonella* tidak meninggalkan bau maupun rasa apapun pada makanan, kecuali jika bahan makanan (daging) mengandung *Salmonella* dalam jumlah besar, maka akan terjadi perubahan warna dan bau (merah muda pucat sampai kehijauan, berbau busuk) (Baylis *et al.*, 2011).

Beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan daya tahan *Salmonella* sp. adalah suhu, pH, kelembaban dan potensial oksidasi-reduksi. *Salmonella* sp. dapat tumbuh pada suhu 5 – 45 °C bahkan sampai suhu 47 °C, berkembang baik pada suhu di atas 24 °C dan tumbuh optimal pada suhu 37 – 38°C. Organisme ini relatif sensitif terhadap panas dan pada suhu 60°C selama 15 - 20 menit menyebabkan kematian (Soeharsono, 2002). Interval pH untuk pertumbuhannya adalah 4 - 9, dibawah pH 4 atau diatas pH 9 *Salmonella* sp. akan mati. Kecepatan kematian akan meningkat bila pH mendekati 2 dan pH optimum untuk pertumbuhan *Salmonella* sp. antara 6,6 - 8,2 (Cliver and Doyle, 1990).

## **2.4 Penyakit Akibat Kontaminasi Mikroba**

Sebagian besar penyakit pada manusia disebabkan oleh makanan yang tercemar bakteri patogen, seperti penyakit Tipus, Disentri, Botulisme, dan Hepatitis A (Winarno, 1997). Penyakit lain yang disebabkan oleh bakteri dan sering menimbulkan masalah serta memiliki dampak yang cukup berbahaya terhadap kesehatan manusia antara lain adalah *antraks*, *salmonellosis*, *brucellosis*, *tuberkulosis*, *klostridiosis*, *E. coli*, *kolibasilosis*, dan *S. aureus* (Supar, 2005). Penyakit karena makanan dapat berpengaruh buruk terhadap kemampuan tubuh untuk mencerna, menyerap, atau mendinginkan zat gizi, selain itu juga dapat menginduksi perubahan metabolik akut dan kronis. Menurut FAO/WHO (1992) terdapat ratusan juta manusia di dunia menderita menular maupun tidak menular karena pangan yang tercemar (Afrianti, 2008). Pertumbuhan mikroba dalam bahan pangan dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti tersedianya nutrisi, air, suhu, pH, oksigen, dan adanya zat penghambat. Keberadaan mikroba di dalam pangan tidak selamanya menguntungkan, tetapi juga dapat mendatangkan kerugian. Misalnya jika kehadiran mikroba tersebut mengubah bau, rasa, dan warna yang tidak dikehendaki, menurunkan berat atau volume, menurunkan nilai gizi/nutrisi, mengubah bentuk dan

susunan senyawa serta menghasilkan toksin yang membahayakan di dalam pangan (Novitasari, 2014).

Pangan yang memiliki kandungan mikroba tertentu dapat menimbulkan penyakit bila dikonsumsi. Menurut penyebabnya, penyakit yang ditimbulkan oleh makanan dapat digolongkan dalam dua kelompok besar, yaitu keracunan dan infeksi mikroba. Keracunan dapat terjadi karena tertelannya suatu racun baik organik atau anorganik yang mungkin terdapat secara alamiah pada bahan pangan, serta tertelannya toksin yang merupakan hasil metabolisme sel-sel mikroba tertentu. Gejala keracunan karena toksin tersebut disebut intoksikasi. Sedangkan tertelannya atau masuknya mikroba ke dalam tubuh, kemudian menembus sistem pertahanan tubuh dan hidup serta berkembangbiak di dalam tubuh disebut infeksi (Supardi, 2007)

Selanjutnya adalah *Foodborne disease* merupakan salah satu penyakit hasil dari pencernaan dan penyerapan makanan yang mengandung mikroba oleh tubuh manusia. Mikroba yang menimbulkan penyakit dapat berasal dari makanan produk ternak yang terinfeksi atau tanaman yang terkontaminasi (Bahri, 2001). Makanan yang terkontaminasi selama pengolahan dapat menjadi media penularan penyakit. Penularan penyakit ini bersifat infeksi, yaitu suatu penyakit yang disebabkan oleh mikroba yang hidup dan berkembangbiak pada tempat terjadinya peradangan. Departemen Kesehatan mengelompokkan penyakit bawaan makanan menjadi lima kelompok, yaitu yang disebabkan oleh virus bakteri, amuba/protozoa, parasit, dan penyebab bukan kuman. Sedangkan Karla dan Blaker (2011) membagi menjadi tiga kelompok, yaitu: penyakit infeksi yang disebabkan oleh perpindahan penyakit. Penjamah makanan memegang peranan penting dalam penularan ini. Golongan kedua adalah keracunan makanan atau infeksi karena bakteri. Golongan ketiga adalah penyebab yang bukan mikroorganisme (Susana, 2003). Mikroba masuk ke dalam saluran pencernaan manusia melalui makanan, yang kemudian dicerna dan

diserap oleh tubuh. Dalam kondisi yang sesuai, mikroba patogen akan berkembang biak di dalam saluran pencernaan sehingga menyebabkan gejala penyakit. *Foodborne disease* yang disebabkan oleh *Salmonella* sp. dapat menyebabkan kematian pada manusia, media pencemarannya dapat berasal dari air pencuci yang telah terkontaminasi. Bakteri *Salmonella* sp. dapat ditularkan dari hewan yang menderita *Salmonellosis* atau karier ke manusia, melalui bahan pangan telur, daging, susu, atau air minum dan bahan-bahan lainnya yang tercemar oleh ekskresi hewan atau penderita. Ekskresi ini terutama adalah keluaran dari saluran pencernaan berupa feses hewan (Ariyanti, 2003).

Penyakit akibat keracunan makanan tercatat tergolong tinggi. Badan POM pada tahun 2004 melaporkan selama tahun 2003 telah terjadi 43 kasus keracunan makanan dan jumlah itu meningkat pada tahun 2004 menjadi 62 kasus yang tercatat dari Januari hingga September 2004 (Widagdo, 2003). Penyakit yang ditimbulkan bakteri ini disebut *Salmonellosis*. *Salmonellosis* pada manusia ada dua macam yaitu demam tifoid dan non tifoid. Demam tifoid merupakan masalah umum dan masalah kesehatan yang utama di negara berkembang termasuk Indonesia. Penyakit ini bersifat endemis hampir di semua kota besar di wilayah Indonesia. Diperkirakan demam tifoid terjadi sebanyak 60.000 hingga 1.300.000 kasus dengan sedikitnya 20.000 kematian per tahun (Ariyanti, 2003). Berikut ini adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella* sp. dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Penyakit yang Disebabkan Spesies *Salmonella* sp. (SNI,2008)

No.	Bakteri	Penyakit
1.	<i>Salmonella typhi</i>	Thypoid fever, Salmonella bacteremia
2.	<i>Salmonella paratyphi A, B, dan C</i>	Parathypoid fever, Salmonella bacteremia
3.	<i>Salmonella cholerasuis</i>	Salmonella bacteremia
4.	<i>Salmonella typhimurium</i>	Salmonella gastroenteritis
5.	<i>Salmonella enteriditis</i>	Salmonella gastroenteritis
6.	<i>Salmonella haidar</i>	Salmonella gastroenteritis
7.	<i>Salmonella heidelberg</i>	Salmonella gastroenteritis
8.	<i>Salmonella agona</i>	Salmonella gastroenteritis
9.	<i>Salmonella Virchow</i>	Salmonella gastroenteritis
10.	<i>Salmonella seftenberg</i>	Salmonella gastroenteritis
11.	<i>Salmonella indiana</i>	Salmonella gastroenteritis
12.	<i>Salmonella newport</i>	Salmonella gastroenteritis
13.	<i>Salmonella anatum</i>	Salmonella gastroenteritis

## 2.5 Nutraceutical

*Nutraceutical* (kadang disebut sebagai *functional food*) adalah bahan-bahan tertentu yang memiliki kemampuan untuk meningkatkan kualitas kesehatan, mencegah sakit atau bersifat obat (Jay *et al.*, 2005). *Nutraceutical* adalah istilah yang merupakan kombinasi antara *nutrition* (nutrisi) dan *pharmaceutical* (farmasetika) yaitu makanan atau produk makanan yang mendukung kesehatan dan memberikan keunggulan dalam bidang medis, termasuk mencegah dan mengatasi penyakit. Produk

yang termasuk nutraceutical bisa berupa zat gizi yang diisolasi, suplemen makanan, dan makanan yang didesain khusus untuk diet, produk herbal, dan makanan olahan seperti sereal, sup, dan berbagai jenis minuman (Biesalski, 2001). *Nutraceutical* adalah terapi biologis non spesifik yang digunakan untuk meningkatkan kualitas kesehatan, mencegah ganasnya penyakit dan mengontrol gejala penyakit (Dureja *et al.*, 2003).

*Nutraceutical* merupakan istilah dari Nutrition (gizi) dan Pharmaceutical (Farmasi) yang diciptakan pada tahun 1989 oleh Stephen DeFelice, MD. *Nutraceutical* adalah makanan dengan manfaat medis-kesehatan termasuk pencegahan dan pengobatan penyakit. Contoh *Nutraceutical*, termasuk produk susu yang diperkaya kalsium untuk orang defisiensi dan buah jeruk untuk vitamin C (Espin *et al.*, 2007). Senyawa kompleks dari unsur-unsur transisi juga digunakan secara luas dalam berbagai aplikasi kesehatan. Revolusi besar penerapan senyawa kompleks dalam bidang kesehatan adalah penggunaan senyawa cis platin (cis dimetil dikloro platina) dalam pengobatan kanker (Kanerek, 1991). Pengobatan secara kimia ini hingga kini dikenal luas dengan sebutan pengobatan secara kemoterapi. Aplikasi lain adalah penggunaan berbagai senyawa kompleks untuk pemenuhan kebutuhan akan suplemen yang menyuplai beberapa unsur kimia yang diperlukan tubuh, seperti Kalsium, Zinc, Magnesium, Kromium dan lainnya (Dureja, 2003). *Nutraceutical* harus membantu dalam pencegahan dan mengobati penyakit atau gangguan kesehatan. *Nutraceutical* yang berkaitan dengan penyakit tertentu bekerja sesuai kebutuhan atau gejala penyakit tersebut. Sebagai contoh, dalam pengendalian *diabetes mellitus* ada beberapa fenomena kerja nutraceutical seperti memperlambat absorpsi glukosa, menghambat absorpsi lemak, aktivasi AMPK : AMP-activated kinase dan penggunaan protective mineral, seperti kromium, magnesium dan kalsium (McCarty, 2005).

## 2.6 Gum Arab

Gum arab dihasilkan dari getah bermacam-macam pohon *Acacia* sp. di Sudan dan Senegal. Gum arab pada dasarnya merupakan serangkaian satuan-satuan D-galaktosa, L-arabinosa, asam D-galakturonat dan L-ramnosa. Berat molekulnya antara 250.000-1.000.000. Gum arab jauh lebih mudah larut dalam air dibanding hidrokoloid lainnya. Pada olahan pangan yang banyak mengandung gula, gum arab digunakan untuk mendorong pembentukan emulsi lemak yang mantap dan mencegah kristalisasi gula (Tranggono dkk,1991). Gum dimurnikan melalui proses pengendapan dengan menggunakan etanol dan diikuti proses elektrodialisis (Stephen and Churms, 1995). Menurut Imeson (1999), gum arab stabil dalam larutan asam. pH alami gum dari *Acacia* Senegal ini berkisar 3,9-4,9 yang berasal dari residu asam glukoronik. Emulsifikasi dari gum arab berhubungan dengan kandungan nitrogennya (protein).

Gum arab dapat meningkatkan stabilitas dengan peningkatan viskositas. Jenis pengental ini juga tahan panas pada proses yang menggunakan panas namun lebih baik jika panasnya dikontrol untuk mempersingkat waktu pemanasan, mengingat gum arab dapat terdegradasi secara perlahan-lahan dan kekurangan efisiensi emulsifikasi dan viskositas.

Menurut Alinkolis (1989), gum arab dapat digunakan untuk pengikatan flavor, bahan pengental, pembentuk lapisan tipis dan pemantap emulsi. Gum arab akan membentuk larutan yang tidak begitu kental dan tidak membentuk gel pada kepekatan yang biasa digunakan (paling tinggi 50%). Viskositas akan meningkat sebanding dengan peningkatan konsentrasi (Tranggono dkk, 1991). Gum arab mempunyai gugus arabinogalactan protein (AGP) dan glikoprotein (GP) yang berperan sebagai pengemulsi dan pengental (Gaonkar,1995). Hui (1992) menambahkan bahwa gum arab merupakan bahan pengental emulsi yang efektif karena kemampuannya melindungi koloid dan sering digunakan pada

pembuatan roti. Gum arab memiliki keunikan karena kelarutannya yang tinggi dan viskositasnya rendah.

## **2.7 Batas Cemaran Mikroba Pada Makanan**

Selain diharuskan bergizi dan menarik, makanan juga harus bebas dari bahan-bahan berbahaya yang dapat berupa cemaran kimia, mikrobahan bahan lainnya. Mikroba dapat mencemari pangan melalui air, debu, udara, tanah, alat-alat pengolah (selama proses produksi atau penyiapan) juga sekresi dari usus manusia atau hewan (Lawyer *et al.*,2008).

Penyakit akibat pangan (*food borne diseases*) yang terjadi segera setelah mengkonsumsi pangan, umumnya disebut dengan keracunan. Pangan dapat menjadi beracun karena telah terkontaminasi oleh bakteri patogen yang kemudian dapat tumbuh dan berkembangbiak selama penyimpanan, sehingga mampu memproduksi toksin yang dapat membahayakan manusia (Kanerek,2002). Selain itu, ada juga makanan yang secara alami sudah bersifat racun seperti beberapa jamur/tumbuhan dan hewan. Umumnya bakteri yang terkait dengan keracunan makanan diantaranya adalah *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, *Vibrio cholerae*, *E.coli enteropatogenik* dan *Enterobacter sakazaki*, dsb (Lawley *etal*,2008).

Berikut adalah batas cemaran mikroba pada makanan yang dikutip dari SNI (Standart Nasional Indonesia) khususnya pada daging, karena dalam penelitian ini menggunakan daging Ikan Gabus (*Channa striata*). Ditunjukkan pada Tabel 4. dibawah ini:

**Tabel 4.** Batas Cemaran Mikroba pada Daging  
(SNI,2008)

Jenis Cemaran Mikroba	Batas Maksimum Cemaran Mikroba (BMCM)	
	Daging Segar/Beku	Daging Tanpa Tulang
a) Jumlah Total Kuman (Total Plate Count)	$1 \times 10^4$	$1 \times 10^4$
b) <i>Coliform</i>	$1 \times 10^2$	$1 \times 10^2$
c) <i>Escherichia coli</i> (*)	$5 \times 10^1$	$5 \times 10^1$
d) <i>Enterococci</i>	$1 \times 10^2$	$1 \times 10^2$
e) <i>Staphylococcus aureus</i>	$1 \times 10^2$	$1 \times 10^2$
f) <i>Classtridium sp</i>	0	0
g) <i>Salmonella sp</i> (**)	negatif	negatif
h) <i>Camphylobacter sp</i>	0	0
i) <i>Listeria sp</i>	0	0

Keterangan:

(\*) : dalam satuan MPN/gram

(\*\*):dalam satuan kualitatif

Berikut adalah tabel batas cemaran mikroba pada makanan yang dikutip dari BPOM (Badan Penelitian Obat dan Makanan) khususnya pada Produk Ikan, karena dalam penelitian ini menggunakan daging Ikan Gabus (*Channa striata*). Ditunjukkan pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Batas Cemaran Mikroba pada Olahan Ikan  
(BPOM No.16 Tahun 2016)

Kategori pangan	Jenis pangan olahan	Mikroba	Batas Cemaran
Ikan dan produk pengolahan kukus	Disimpan dalam suhu dingin	ALT	$10^4$ koloni / gr
		<i>Staphylococcus aureus</i>	$10^4$ koloni / gr
		<i>Salmonella sp.</i>	Negatif / 25gr

Keracunan pangan oleh bakteri dapat berupa intoksifikasi atauinfeksi. Intoksifikasi disebabkan oleh adanya toksin bakteri

yang terbentuk di dalam makanan pada saat bakteri bermultiplikasi, sedangkan keracunan pangan berupa infeksi, disebabkan oleh masuknya bakteri ke dalam tubuh melalui makanan yang terkontaminasi dan tubuh memberikan reaksi terhadap bakteri tersebut (Del Portillo,2000). Ada dua jenis intoksifikasi makanan yang disebabkan oleh bakteri yaitu botulism, karena adanya toksin dalam makanan yang dihasilkan oleh *Clostridium botulinum* dan intoksifikasi lain yaitu *stafilokokkal*, yang disebabkan oleh enterotoksin dari *Staphylococcus aureus* (Lim,2000).

Sedangkan keracunan pangan oleh bakteri yang merupakan infeksi, dikelompokkan menjadi dua. Kelompok pertama berasal dari makanan yang berfungsi sebagai pembawa bakteri, misalnya disentri demam tifoid, kolera, brusellosis dan lain-lain. Kelompok kedua berasal dari makanan yang berfungsi sebagai media pertumbuhan bakteri, sehingga bakteri dapat berkembangbiak, diantaranya bakteri *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, dan *Escherichia coli* enteropatogenik (Augustin *et al.*, 2004). Untuk mengetahui bahwa pangan sudah tercemar, dapat dilihat secara fisik dari tekstur makanan tersebut. Namun banyak makanan terutama yang sudah melewati suatu proses pengolahan, tetap mempunyai tekstur yang masih baik tetapi mengandung suatu cemaran seperti bakteri patogen, yang disebabkan oleh penanganan yang tidak memadai (Wee,1992).

## **2.8 Identifikasi *Salmonella***

Dalam menentukan kualitas bahan pangan diperlukan berbagai uji keamanan bahan pangan, salah satunya adalah uji mikrobiologi. Menurut Fardiaz (1993) bahwa “Uji mikrobiologi merupakan salah satu uji yang penting, karena selain dapat menduga daya tahan simpan suatu makanan, juga dapat digunakan sebagai indikator sanitasi makanan atau indikator keamanan makanan. Ada berbagai macam uji mikroba yang digunakan diantaranya adalah uji kuantitatif, uji kualitatif dan uji bakteri indikator. Uji kuantitatif bertujuan untuk menekan kualitas dan

daya tahan suatu makanan, uji kualitatif bertujuan untuk menentukan tingkat keamanan suatu bahan pangan dan uji bakteri indikator bertujuan untuk menentukan tingkat sanitasi bahan pangan. Pengujian yang dilakukan pada setiap bahan pangan tidak sama tergantung dari berbagai faktor, diantaranya adalah cara penanganan dan konsumsinya, cara penyimpanan dan pengepakan, jenis dan komposisi serta berbagai faktor lainnya (Baird *et al.*, 2006).

Untuk bahan pangan seperti Ekstrak Ikan biasanya dilakukan pengujian mikrobiologi, yaitu dengan cara mengisolasi bakteri pada media selektif. Selanjutnya dilakukan serangkaian uji biokimia secara umum yang meliputi uji fisiologis (uji motil), uji metil- red, uji voges-proskauer, uji TSIA, uji KIA, uji sitrat dan uji fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa, sukrosa), dsb. Sehingga diperoleh data yang menunjukkan sifat-sifat yang dimiliki oleh bakteri tersebut (Del Portillo, 2000).

### **2.8.1 Uji Biokimia untuk *Salmonella* sp. Secara Umum**

#### **a. Uji Fisiologis (Uji motil)**

Uji ini bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri melakukan pergerakan atau tidak (Dundu, 2000). Koloni bakteri yang diisolasi pada medium *Salmonella Shigella Agar* dipindahkan dengan menggunakan sengkeli ke medium NA semisolid dengan cara menusuk bagian tengah dari media. Setelah itu diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C. Uji bersifat positif jika ada pergerakan dari bakteri yang ditandai dengan pertumbuhan melebar pada bagian tengah sebagai akibat tusukan jarum ose (Schnieder, M., 2003).

#### **b. Uji Methyl Red-Voges Proskauer**

Uji ini bertujuan untuk menentukan kemampuan isolat uji dalam mengoksidasi glukosa dengan produksi dan stabilisasi asam yang tinggi sebagai hasil produk akhir (Dundu, 2000). Prosedur kerjanya yaitu menggunakan media Methyl Red-Voges Proskauer (MR-VP) kemudian secara aseptik bakteri uji diinokulasi ke dalam masing-masing tabung reaksi yang telah berisi 7 ml MR-VP lalu

diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C, kultur di dalam MR-VP yang telah berumur 5-7 hari diberi tetes larutan merah metil, kemudian pada tabung VP ditambahkan 3 tetes larutan alphanaftol dan 2 tetes pereaksi KOH, apabila Methyl Red berwarna merah maka hasilnya positif sebaliknya bila berwarna kuning atau jingga maka hasilnya negatif, sedangkan untuk VP terbentuknya warna merah jambu sampai merah tua menunjukkan reaksi positif dan bila tidak berubah reaksi negative (Schnieder, M., 2003).

c. Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Uji ini bertujuan untuk mengetahui terjadinya fermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa, produksi gas dari glukosa dan produksi hidrogen sulfida (H<sub>2</sub>S) (Fardiaz, 1993). Bakteri uji diinokulasikan ke dalam medium *Triple Sugar Iron Agar*(TSIA) dengan cara menggoreskan bagian miringnya dan menusuk bagian tegaknya, menginkubasikan pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 - 48 jam, pada bagian tegaknya *Salmonella* akan memfermentasikan glukosa, warna media berubah dari ungu menjadi kuning, dapat membentuk gas H<sub>2</sub>S, warna media berubah dari ungu menjadi hitam. Sedangkan pada bagian miring *Salmonella* akan memfermentasikan laktosa atau sukrosa, warna media menjadi kuning (Schnieder, M., 2003). Reaksi Tipikal TSIA dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

**Tabel 6.** Reaksi Tipikal Biokimia *Salmonella* Terhadap TSIA (Feng,2007)

No.	Karakteristik	Bagian Media	
		Lereng Media ( <i>slant</i> )	Dasar Media ( <i>butt</i> )
1.	Fermentasi Glukosa	Merah	Kuning
2.	Fermentasi Sukrosa dan atau Laktosa	Kuning	Kuning
3.	Gas (H <sub>2</sub> S)	-	Hitam

Keterangan: Reaksi tipikal *Salmonella* spp. ditunjukkan ketika media TSIA berwarna merah pada bagian lereng dan berwarna kuning pada bagian dasar media dengan atau tanpa gas (H<sub>2</sub>S).

Dari beberapa hasil kemampuan bakteri dalam memfermentasi glukosa, laktosa, dan sukrosa dapat dilihat pada penjelasan berikut yang dikemukakan oleh (Mahon *et al.*,2014).

- No fermentation (-/-)

Bakteri tidak dapat memfermentasi glukosa, laktosa, dan sukrosa sehingga pada uji TSIA akan menghasilkan warna merah (-) pada lereng dan merah (-) pada dasar agar.

- Glucose fermentation only (-/+)

Bakteri dapat memfermentasi glukosa tetapi tidak memfermentasi laktosa dan/atau sukrosa sehingga pada uji TSIA akan menghasilkan warna merah (-) pada lempeng dan kuning (+) pada dasar agar.

- Lactose (or sucrose or both) fermentation (+/+)

Bakteri dapat memfermentasi semua gula-gula baik glukosa, laktosa, dan sukrosa sehingga pada uji TSIA akan menghasilkan warna kuning (+) pada lempeng dan kuning (+) pada dasar agar.

- H<sub>2</sub>S production (+/+ H<sub>2</sub>S atau -/+ H<sub>2</sub>S)

Bakteri dapat memproduksi H<sub>2</sub>S (hidrogen sulfida) sehingga pada uji TSIA akan menghasilkan warna hitam pada media.

#### d. Uji Agar Besi Kigler (KIA)

KIA adalah suatu medium gabungan yang mengandung glukosa, laktosa, fenol merah, dan ferri sitrat (Hart dan Paul, 1997). Uji ini bertujuan untuk mengetahui terjadinya fermentasi glukosa dan laktosa, pembentukan gas dari glukosa serta produksi hidrogen sulfida (H<sub>2</sub>S). Prosedur kerja yaitu bakteri uji diinokulasikan ke dalam medium KIA dengan cara menggoreskan bagian miringnya dan menusuk bagian tegaknya. Menginkubasikan pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 - 48 jam. Mengamati terjadinya perubahan warna, untuk *Salmonella* pada bagian dasar akan memfermentasikan glukosa, warna media dari kuning tetap kuning atau menjadi hitam, dapat membentuk gas H<sub>2</sub>S sedangkan pada bagian slant *Salmonella* akan memfermentasikan laktosa, warna media dari kuning menjadi merah muda atau hitam (Schneider, M., 2003).

e. Uji *Simmon Citrate Agar* (SCA)

Uji ini bertujuan untuk menentukan kemampuan bakteri dalam menggunakan sitrat sebagai satu-satunya karbon energi (Dundu, 2000). Bakteri uji diinokulasikan ke dalam medium *simmon citrate* dengan cara menggoreskan bagian miringnya dan menusuk bagian tegaknya. Menginkubasikan pada suhu 37<sup>o</sup>C selama 24 - 48 jam. Mengamati perubahan yang terjadi yaitu hasil positif akan ditunjukkan dengan adanya perubahan warna dari hijau menjadi biru, sedangkan bila tidak terjadi perubahan warna maka uji bersifat negatif (Schnieder, M., 2003).

f. Uji Fermentasi Karbohidrat

Uji ini bertujuan untuk menentukan kemampuan isolat uji dalam mendegradasi dan memfermentasikan karbohidrat tertentu dengan produksi suatu asam dan gas (Dundu, 2000). Tiga macam fermentasi karbohidrat meliputi *Phenol Red Base-Glukosa Broth*, *Phenol Red Base-Laktosa Broth*, *Phenol Red Base-Sukrosa Broth*, dengan cara membuat Phenol Red pH 7,4 yang ditambahkan dengan 1% karbohidrat. Kemudian dengan teknik aseptik bakteri uji diinokulasi ke dalam tabung untuk masing-masing media fermentasi. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>o</sup> dan dilakukan pengamatan terhadap perubahan yang terjadi terutama warna dan gas yang ditimbulkan. Pembentukan asam terlihat melalui perubahan warna media karbohidrat dari merah menjadi kuning. Pembentukan gas terlihat dalam tabung durham (Schnieder, M., 2003).

## **BAB III METODOLOGI**

### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Agustus 2019 hingga November 2019 di laboratorium Zoologi dan Rekayasa Hewan serta di laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Analika Data, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

### **3.2 Metode Penyediaan Sampel Ekstrak Ikan Gabus (EIG)**

#### **3.2.1 Preparasi Ikan Gabus Bentuk Cair**

Ikan gabus yang digunakan sebanyak 2 Kg. Preparasi menggunakan daging ikan gabus (tanpa bagian tubuh lainnya). Daging ikan gabus dipisahkan dari organ tubuh lainnya dan ditambahkan akuades dengan perbandingan 1:1 kemudian dimasukkan ke dalam blender dan difiltrasi.



**Gambar 6.** Alat Filtrasi Daging Ikan Gabus

Setelah dihaluskan dengan blender dan difiltrasi menggunakan mesh ukuran 60. Ekstrak Ikan Gabus yang diperoleh rata-rata 240 ml dari 1 kg daging ikan (Mustafa *et al.*,2013; Nitipong *et al.*,2014)

### **3.2.2 Preparasi EIG dalam Bentuk Bubuk**

Bahan yang digunakan untuk pembuatan EIG dalam bentuk bubuk meliputi gum arab, gelatin, aquades, aluminium foil, kertas label, dan tisu. Preparasi EIG dalam bentuk bubuk dilakukan dengan metode vakum yang diadopsi dari metode Yuniarti *et al.*, (2013). Ikan Gabus dipisahkan dari organ tubuh lainnya dan dimasukkan ke dalam blender yang telah diisi aquades dengan perbandingan 1:1 (100 gram dalam 100 ml) setelah itu difiltrasi dengan mesh ukuran 60 sehingga didapatkan EIG (Ekstrak Ikan Gabus). Selanjutnya Gum arab ditambahkan Ekstrak Ikan Gabus dengan perbandingan 1:2 lalu dihomogenkan dengan batang pengaduk, dituangkan hasil campuran ke dalam cawan petri, kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 30<sup>0</sup>C-53<sup>0</sup>C selama 5 hari, sehingga didapatkan sampel kering, kemudian sampel kering tersebut diblender hingga halus dan diayak menggunakan mesh ukuran 60 dan didapatkan EIG dalam bentuk bubuk.

### **3.2.3 Pengemasan EIG**

EIG yang diperoleh dari ekstraktor kemudian dimasukkan dalam botol vial 100 ml yang telah disterilisasi menggunakan autoklaf. Botol vial ditutup rapat dan dibungkus dengan plastic wrap agar EIG tetap steril.

## **3.3 Pembuatan Medium**

### **3.3.1 Media *Lactose Broth* (LB)**

Media *Lactose Broth* dibuat dengan melarutkan LB sebanyak 1,4 gr kemudian dilarutkan dalam 60 ml aquades, selanjutnya dipanaskan di atas kompor listrik dan diaduk secara perlahan-lahan hingga larut, setelah itu didinginkan dan ditutup dengan aluminium foil, lalu disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit setelah itu media siap digunakan.

### **3.3.2 Media *Tetrathionate Broth* (TTB)**

Media *Tetrathionate Broth* (TTB) dibuat dengan melarutkan sebanyak 1,15 gr dan dilarutkan pada 30 ml aquades. selanjutnya

dipanaskan di atas kompor listrik dan diaduk secara perlahan-lahan hingga larut, setelah itu didinginkan dan ditutup dengan aluminium foil, lalu disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit setelah itu media siap digunakan.

### **3.3.3 Media *Salmonella Shigela Agar (SSA)***

Media SSA dibuat dengan melarutkan sebanyak melarutkan sebanyak 1,15 gr dan dilarutkan dalam 30 ml aquades. selanjutnya dipanaskan di atas kompor listrik dan diaduk secara perlahan-lahan hingga larut, setelah itu didinginkan dan ditutup dengan aluminium foil, lalu disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit setelah itu media siap digunakan.

### **3.3.4 Media *Triple Sugar Iron Agar (TSIA)***

Medium TSIA digunakan pada tahap identifikasi. Media TSIA dibuat dengan melarutkan TSIA sebanyak 3,8712 gr pada 60 ml aquades, selanjutnya dipanaskan di atas kompor listrik dan diaduk secara perlahan-lahan hingga larut, setelah itu didinginkan dan ditutup dengan aluminium foil, lalu disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit setelah itu media siap digunakan. Untuk identifikasi jenis bakteri tidak memerlukan pengenceran karena perubahan warna saja sudah bisa mengindikasikan adanya bakteri tertentu pada suatu bahan pangan.

## **3.4 Perlakuan EIG pada Masa Simpan yang Berbeda**

Pengaruh faktor fisik terhadap uji mikrobiologis EIG yang digunakan sebagai perlakuan yaitu waktu penyimpanan. Faktor waktu masa simpan diuji dalam tiga titik waktu, yaitu 2 minggu, 4 minggu, 8 minggu. Perlakuan dilakukan dengan tiga pengulangan.

## **3.5 Uji Mikrobiologis *Salmonella***

### **3.5.1 Tahap Pra Pengkayaan (*Pra Enrichment*)**

Disiapkan Ekstrak Ikan Gabus 2,5 gr untuk sampel bubuk dan 2,5 ml untuk sampel cair, kemudian dimasukkan masing-masing kedalam erlenmeyer dan ditambahkan 25 ml larutan *Lactosa Broth* dihomogenkan selama 2 menit pastikan pH sampai netral.

Dihomogenkan dan ditutup dengan sumbat. Inkubasi 24 jam  $\pm$  2 jam pada suhu  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

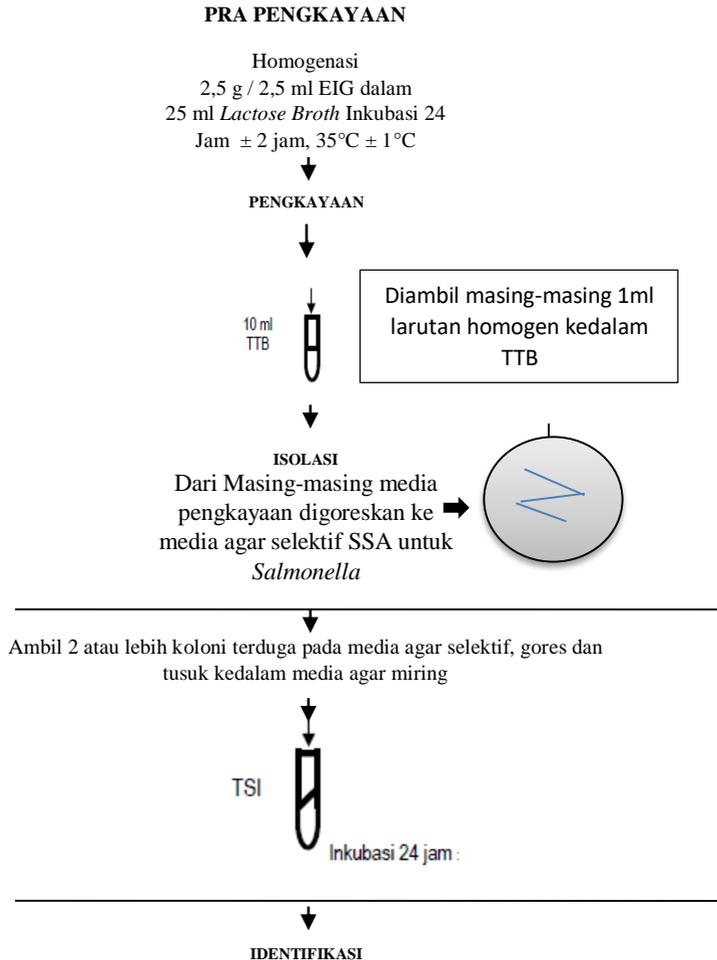
### **3.5.2 Tahap Pengkayaan (*Enrichment*)**

Pengkayaan adalah tahap memperbanyak jumlah bakteri yang akan diuji, sedangkan bakteri yang lain dihambat pertumbuhannya. Tahap pertama dikencangkan tutup sumbat dan masing-masing sampel dihomogenkan perlahan. Kemudian dipindahkan masing-masing 1 mldan ke dalam 10 ml *Tetrathionate Broth* (TTB), inkubasi medium selama 24 jam  $\pm$  2 jam pada suhu  $42^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  (Water bath). Perlakuan dilakukan pada sampel kering (bubuk) dan cair.

### **3.5.3 Isolasi dan Identifikasi *Salmonella* sp.**

Untuk mengenal karakteristik yang dimiliki oleh salah satu jenis bakteri, dilakukan dengan cara mengisolasi bakteri pada medium selektif. Prosedur kerjanya yaitu diagitasi tabung yang berisi *Tetrathionate Broth* (TTB) dengan Vortex setelah itu dengan menggunakan Dry Galsky ratakan TTB sebanyak 0,1 ml ke dalam media *Salmonella Shigela Agar* (SSA) yang sebelumnya disimpan di tempat gelap pada suhu ruang. Kemudian disimpan selama 24 jam pada suhu  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  dan diamati kemungkinan adanya koloni *Salmonella*. Tahap selanjutnya diambil koloni terduga dengan menggunakan jarum inokulasi steril dan digoreskan pada permukaan media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) dengan cara menggores agar miring dan menusuk agar tegak. Simpan media agar selektif yang telah diambil koloninya pada suhu  $5^{\circ}\text{C}$ - $8^{\circ}\text{C}$ . Kemudian diinkubasi TSIA selama 24 jam  $\pm$  2 jam pada suhu  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Rancangan skema kerja secara lengkap ditunjukkan pada skema berikut ini :

## Skema Rancangan Uji *Salmonella* sp.



(SNI,2008)

### **3.6 Rancangan Penelitian & Analisa Data**

Data dianalisis secara kualitatif dan deskriptif. Uji kualitatif terdiri dari tahapan Pra pengayaan, pengaya selektif, isolasi *Salmonella* dengan media *Salmonella Shigella Agar* (SSA), dan uji biokimia *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) (BAM, 2007). Hasil dibandingkan dalam preparasi bentuk cair dan bubuk, dengan beberapa masa simpan yaitu 2 minggu, 4 minggu, 8 minggu. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali, kemudian hasil disajikan secara deskriptif menggunakan tabel (dapat dilihat pada lampiran).

## **BAB 4**

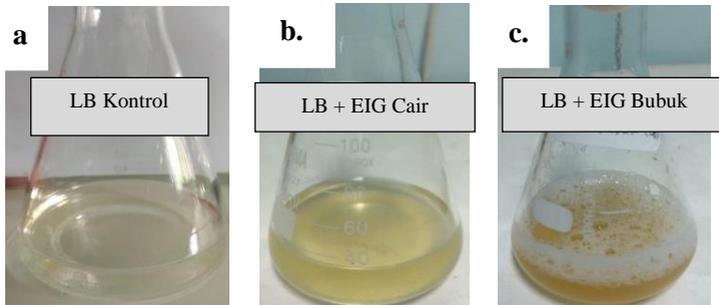
### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Pengaruh Preparasi EIG bentuk Cair dan Bubuk Serta Masa Simpan Terhadap Kualitas EIG Berdasarkan Keberadaan Salmonella Pada Beberapa Tahap Uji**

##### **4.1.1 Uji Pra-Pengayaan**

Identifikasi *Salmonella* sp. dimulai dari tahap pra-pengkayaan dengan menggunakan media *Lactose Broth* (LB). LB digunakan untuk menumbuhkan *Salmonella* dan bakteri koliform dari makanan, air, atau hasil ternak. LB sering digunakan pada tahap pra-pengayaan untuk bakteri koliform atau bakteri *family Enterobacteriaceae* (McLandsborough, 2004).

Pada penelitian ini terdapat 2 sampel uji yang terdiri dari sampel EIG bubuk dan sampel EIG cair, keduanya dihomogenkan dengan *Lactose Broth*. Larutan *Lactose Broth* berwarna kuning bening ditunjukkan pada Gambar 7 (a) warna tersebut menandakan tidak terdapat organisme pada sampel. Larutan *Lactose Broth* yang bercampur dengan sampel EIG cair berwarna kuning keruh (b), sedangkan *Lactose Broth* yang bercampur dengan EIG bubuk berwarna kuning pekat (c) yang ditunjukkan pada Gambar 7. Perbedaan warna tersebut menandakan adanya reaksi enzimatik pepton dan ekstrak beef yang terkandung dalam *Lactose Broth* dan juga protein dari Ekstrak Ikan Gabus (EIG) yang memberikan sumber karbon dan nitrogen untuk pertumbuhan bakteri pada LB (Corry et al., 2012).

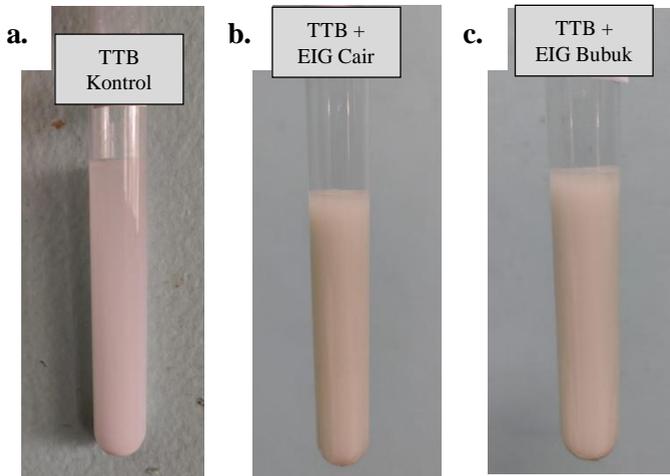


**Gambar 7.** Media *Lactose Broth* Kontrol (a), *Lactose Broth* dengan Sampel EIG Cair (b), dan Media *Lactose Broth* dengan Sampel EIG

*Lactose Broth* memungkinkan untuk perbaikan sel yang rusak dan memberikan nutrisi untuk bakteri *Salmonella sp.* dibandingkan bakteri yang lain (Acumedia,2010). Jay (2000) mengatakan bahwa secara umum *Salmonella* tidak mampu memfermentasi laktosa, sukrosa, atau salisin, namun glukosa dan beberapa jenis monosakarida tertentu dapat difermentasi dengan disertai produksi gas. Selain itu, *Salmonella* umumnya memanfaatkan asam amino sebagai sumber N, namun beberapa strain *Salmonella* seperti *S. Typhimurium* memanfaatkan nitrat, nitrit, dan  $\text{NH}_3$  sebagai sumber nitrogen. Walaupun fermentasi laktosa umumnya tidak dapat dilakukan oleh mikroorganisme ini, beberapa serotipe dapat memanfaatkan gula ini sebagai sumber karbon (Jay,2000). *Lactose Broth* dapat memoderasi setiap pergeseran pH yang terjadi selama masa inkubasi. Sebagian besar *Salmonella sp.* tidak dapat memfermentasikan laktosa sehingga tidak menyebabkan penurunan pH *Lactose Broth* secara signifikan. Berbeda dengan bakteri lain yang dapat memfermentasikan laktosa yang akan membuat penurunan drastis pH pada *Lactose Broth*. Pada saat tahap pra-pengayaan jika ada bakteri yang dapat memfermentasi laktosa akan membuat pH turun dengan drastis namun saat pH semakin menurun bakteri tersebut akan mati. *Salmonella sp.* akan menjadi lebih toleran terhadap asam daripada organisme yang lain sehingga dapat bertahan dan dapat tumbuh (Phyllis,2002).

#### 4.1.2 Uji tahap Pengayaan

Tahap selanjutnya adalah pengkayaan selektif dengan menggunakan media *Tetrathionate Broth* (TTB). Media tersebut secara selektif memperkaya jumlah *Salmonella* yang terdapat pada sampel.



**Gambar 8.** Media TTB Kontrol (a), Media TTB dengan Sampel EIG Cair (b), Media TTB dengan Sampel EIG Bubuk (c)

Pada media TTB, senyawa selektif berupa garam empedu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Selain itu terdapat senyawa selektif seperti natrium tiosulfat dan tetrathionat untuk menghambat pertumbuhan bakteri koliform. *Tetrathionate Broth* (TTB) kontrol berwarna putih susu (a) ditunjukkan pada Gambar 8. Menandakan tidak terdapat organisme yang tumbuh dan TTB yang sudah dicampur dengan Ekstrak Ikan Gabus berwarna putih keruh (b dan c) ditunjukkan pada Gambar 8, yang menandakan telah tumbuh organisme didalam media.

Tetrathionate terbentuk di dalam media akibat penambahan iodine dan kalium iodida ( $I_2$ -KI). Pada media TTB, *Salmonella* dapat tumbuh karena memiliki enzim tetrathionat reduktase (Oxid Manual, 2009). Adanya enzim tetrathionat reduktase pada

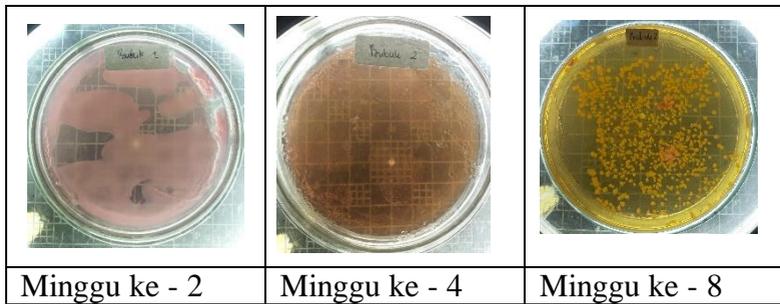
*Salmonella* menyebabkan *Salmonella* tahan terhadap efek toksik dari tetrathionat ( $S_4O_6^{2-}$ ) selama pengkayaan. Selanjutnya dilakukan proses isolasi dengan medium SSA (*Salmonella Shigella Agar*) dan identifikasi menggunakan media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*).

#### **4.2 Tahap Isolasi dan Identifikasi**

Tahap isolasi menggunakan media selektif *Salmonella Shigella Agar* memungkinkan untuk menemukan koloni tipikal *Salmonella* sp. yang sebelumnya diperkaya dengan media TTB (*Tetrathionate Broth*). Seperti yang dikemukakan pada penelitian sebelumnya oleh (Ayu, 2017) bahwa di dalam Ekstrak Ikan Gabus terdapat banyak koloni bakteri diantaranya adalah jenis *E.coli*. Menurut Grunnet (1975) dan Cabelli (1978) dalam Farida (2005) menunjukkan adanya korelasi positif antara densitas bakteri *E. coli* dengan bakteri *Salmonella*, semakin tinggi kandungan bakteri *E. coli* maka semakin positif peluang bakteri *Salmonella* akan ditemukan.

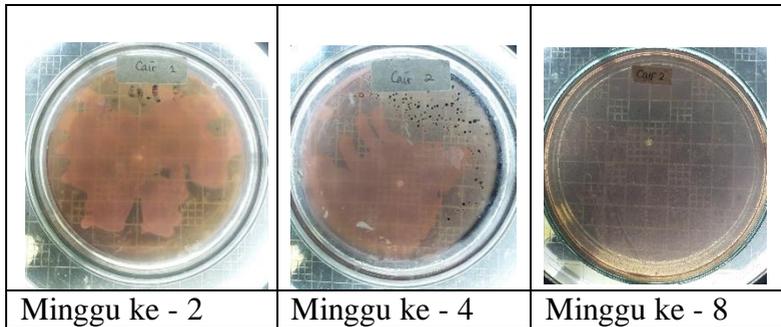
##### **4.2.1 Hasil Uji media SSA (*Salmonella Shigella Agar*)**

Koloni bakteri yang tumbuh pada media selektif SSA merupakan cara yang digunakan untuk mengetahui keberadaan *Salmonella* sp. Pertumbuhan koloni pada sampel Ekstrak Ikan Gabus (EIG) bentuk cair dan bubuk pada media *Salmonella Shigella Agar* (SSA) diperoleh hasil koloni tipikal yang berbeda. Hasil pertumbuhan koloni pada sampel EIG bubuk ditunjukkan pada gambar di bawah ini :



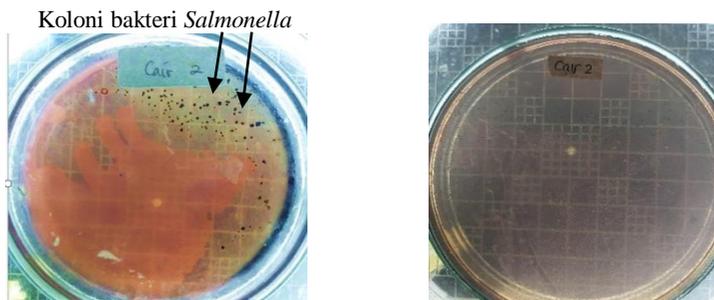
**Gambar 9.** Hasil Pengamatan EIG Bubuk pada Media SSA dengan Masa Simpan yang Berbeda

Berdasarkan hasil pengamatan media SSA Ekstrak Ikan Gabus (EIG) bentuk bubuk diatas menunjukkan koloni tipikal yang tumbuh pada minggu kedua, keempat dan kedelapan merupakan bakteri *E. coli*. Seperti yang dikemukakan oleh Downes (2001) Bakteri coliform *Escherichia coli* juga dapat tumbuh pada media SSA dengan koloni berwarna merah muda karena kemampuannya memfermentasi laktosa. Namun tidak menghasilkan gas  $H_2S$  sehingga tidak membentuk endapan hitam (Downes, 2001). Pada minggu kedelapan ( $\pm 72$  jam inkubasi), media SSA yang digunakan berubah warna dari merah muda menjadi kuning. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa media SSA terdiri laktosa, pepton, garam empedu, besi (III) sitrat dan indicator retusal red. Bakteri *Salmonella* sp. menggunakan pepton yang berasal dari media tersebut untuk sumber energi. Hasil dari proses metabolisme bakteri tersebut adalah amonia. Amonia mampu menaikkan pH pada media SSA. Karena adanya perubahan pH tersebut maka media SSA yang tadinya berwarna kemerahan (merah muda) berubah menjadi berwarna kuning (Del- Portilo,2000). Hasil pertumbuhan koloni pada media SSA sampel EIG cair ditunjukkan pada Gambar 10 sebagai berikut :



**Gambar 9.** Hasil Pengamatan EIG Cair pada Media SSA dengan Masa Simpan yang Berbeda

Berdasarkan hasil pengamatan media SSA Ekstrak Ikan Gabus (EIG) bentuk cair diatas menunjukkan koloni tipikal yang tumbuh pada minggu kedua, keempat dan kedelapan paling banyak ditemukan koloni bakteri *E. coli* dan juga ditemukan sedikit koloni bakteri *Shigella*. Namun pada Minggu ke-4 ditemukan koloni *Salmonella* berwarna bening dengan inti hitam di tengahnya dimana hal tersebut sesuai dengan yang dijelaskan pada Bacteriological Analytical Manual mengenai *Salmonella* (Andrews dan Hammack, 2011). Sedangkan *Shigella* membentuk koloni tidak berwarna tanpa ada inti hitam (Health Protection Agency 2007). Hasil positif *Salmonella* sp. pada minggu keempat dapat dilihat pada Gambar 11.



**Gambar 10.** Hasil Positif (kiri), dan Hasil Negatif (kanan) *Salmonella* pada Sampel Cair Minggu ke-4 Pada Media SSA

EIG cair pada minggu ke 4 terdapat koloni yang hitam dan black center, hasil ini diduga sebagai bakteri *Salmonella* sp. yang menghasilkan H<sub>2</sub>S. *Salmonella* melakukan reduksi tiosulfat menjadi sulfat sehingga terlihat sebagai koloni hitam. Beberapa *salmonella* sp. menghasilkan bulatan hitam ditengah koloni (black center) sebagai hasil produksi gas H<sub>2</sub>S. Hasil pengamatan pada media Salmonella Shigella Agar tersebut juga ditemukan koloni bakteri *Shigella* sp. , koloni tampak kecil dan halus serta tidak berwarna. Menurut Muktiningsih et. al. (2016), komponen utama media SSA yang berperan dalam selektivitasnya adalah laktosa, pepton, garam empedu, besi (III) sitrat dan indikator retusal red. Prinsip diferensiasi jenis-jenis bakteri tersebut didasarkan pada kemampuan metabolismenya. Bakteri dari genus *Salmonella* dapat menghasilkan H<sub>2</sub>S dan tiosulfat reduktase sehingga akan membentuk koloni berwarna hitam gelap serta menimbulkan bau yang kurang sedap. Hal ini berbeda dengan bakteri dari genus *Shigella*. Bakteri dari genus *Shigella* tidak memfermentasi laktosa dan tidak menghasilkan H<sub>2</sub>S maupun enzim tiosulfat reduktase sehingga koloni yang tumbuh berwarna putih atau tidak berwarna (bening).

Perubahan ini tidak mempengaruhi warna dari koloni bakteri yang tumbuh tersebut. Namun perlu dilakukan uji lanjutan yaitu uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) untuk memastikan bakteri tersebut adalah dari genus *Salmonella*.

#### **4.2.2 Hasil Uji Biokimia media TSIA (Triple Sugar Iron Agar)**

Prinsip dari uji karbohidrat *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) adalah kemampuan organisme untuk memfermentasi 3 gula. TSIA untuk mengetahui bakteri yang memfermentasi glukosa, laktosa, sukrosa, pembentukan H<sub>2</sub>S dan gas. Hasil fermentasi diamati pada 2 tempat, yaitu bagian miring dan bagian dasar (Molita, 2017). Reaksi spesifik untuk *Salmonella* pada TSIA adalah adanya fermentasi glukosa (warna kuning) dan memproduksi H<sub>2</sub>S (hitam). Hasil reaksi TSIA pada sampel Ekstrak Ikan Gabus preparasi bubuk dapat dilihat pada Tabel 7.

**Tabel 7.** Hasil Reaksi TSIA Sampel EIG Bubuk pada Masa Simpan Berbeda

Masa Simpan	Slant	Butt	Gas	H <sub>2</sub> S
 Minggu ke 2	<i>Acid</i> (kuning)	<i>Alkaline</i> (merah)	negatif	negatif
 Minggu ke 4	<i>Acid</i> (kuning)	<i>Alkaline</i> (merah)	negatif	negatif
 Minggu ke 8	<i>Acid</i> (kuning)	<i>Acid</i> (kuning)	positif	negatif

Berdasarkan hasil Triple Sugar Iron Agar (TSIA) Ekstrak Ikan Gabus (EIG) bentuk bubuk diatas menunjukkan reaksi tipikal yang tumbuh pada minggu kedua, keempat dan kedelapan paling banyak ditemukan bakteri *E. coli* dan juga ditemukan reaksi tipikal bakteri *Shigella*. Dapat disimpulkan pada semua sampel Negatif *Salmonella* sp. Pada bagian agar yang miring, asam akan teroksidasi oleh udara dan oleh pemecahan protein sehingga menghasilkan warna merah. Warna kuning mengindikasikan bahwa bakteri memfermentasi glukosa sehingga terjadi reaksi asam (WHO,2003) (Woodland,2004). *Escherichia coli* positif memfermentasi laktosa, sukrosa dan glukosa sehingga pada slant dan butt menunjukkan reaksi asam (berwarna kuning), negatif H<sub>2</sub>S, positif gas seperti pada sampel EIG bubuk Minggu ke-8. Sedangkan *Shigella* menunjukkan reaksi alkaline (warna merah)

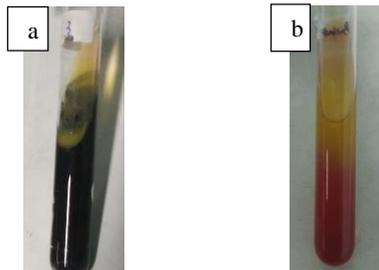
pada slant dan reaksi asam (warna kuning) pada butt, negatif gas dan H<sub>2</sub>S seperti pada sampel EIG bubuk Minggu ke-2 dan Minggu ke-4. Selanjutnya hasil reaksi TSIA pada sampel Ekstrak Ikan Gabus cair disajikan pada Tabel 8 berikut ini.

**Tabel 8.** Hasil Reaksi TSIA Sampel EIG Cair pada Masa Simpan Berbeda

Masa Simpan	Slant	Butt	Gas	H <sub>2</sub> S
 Minggu ke 2	<i>Acid</i> (kuning)	<i>Alkaline</i> (merah)	negatif	negatif
 Minggu ke 4	<i>Acid</i> (kuning)	hitam	positif	positif
 Minggu ke 8	<i>Acid</i> (kuning)	<i>Acid</i> (kuning)	positif	negatif

Berdasarkan hasil Triple Sugar Iron Agar (TSIA) Ekstrak Ikan Gabus (EIG) bentuk cair diatas menunjukkan reaksi tipikal positif *Salmonella* sp. pada Minggu ke-4. Pada sampel ini banyak terdapat H<sub>2</sub>S. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa koloni yang diinokulasikan merupakan bakteri *Salmonella* sp.. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Standar Nasional Indonesia (SNI) tahun 2008 dimana metode untuk uji *Salmonella* sp. pada hasil uji TSIA didapatkan hasil pada agar miring berwarna merah (alkalin), dasar

agar berwarna kuning (asam), H<sub>2</sub>S positif (hitam) dan gas bisa positif ataupun negatif (BSN, 2008). *Salmonella* sp. memfermentasikan glukosa serta tidak memfermentasikan laktosa dan sukrosa karena terjadi proses fermentasi dari salah satu gula yaitu glukosa maka dari itu terjadilah produksi asam yang mengakibatkan perubahan warna menjadi warna kuning pada dasar agar. Hasil uji positif *Salmonella* pada Triple Sugar Iron Agar (TSIA) ditunjukkan pada Gambar 12 (a).



**Gambar 11.** Hasil Positif (a), dan Hasil Negatif (b) *Salmonella* pada Sampel Cair Minggu ke-4

Pada tabung (a) Gambar 12, terlihat adanya gas pada slant (terangkat) karena hasil fermentasi yang dilakukan oleh bakteri akan menghasilkan asam format. Asam format tersebut jugalah yang berperan dalam perubahan warna media dari merah menjadi kuning. Asam format biasanya dioksidasi menjadi gas hydrogen (H<sub>2</sub>) dan karbondioksida (CO<sub>2</sub>) dengan bantuan enzim formate hydrogenase. Gas H<sub>2</sub> bersifat tidak larut dalam media sehingga terakumulasi dalam bentuk gelembung udara di sepanjang jalur inokulasi, antara media dan tabung, atau di dasar tabung. Hal inilah yang menyebabkan media akan terangkat ke atas. Menurut Haryani dkk (2012), fermentasi karbohidrat dapat terjadi secara aerob pada permukaan agar dan secara anaerob pada permukaan dasar agar. Pada permukaan atas glukosa akan dikatabolisme oleh *Salmonella* pada jalur Embolen-vasherof menghasilkan asam piruvat yang kemudian didegradasi sempurna dalam siklus asam sitrat menjadi CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, dan energi. Sedangkan pada dasar agar uji TSIA, katabolisme glukosa akan menghasilkan produk hasil akhir berupa

asam-asam organik, C CO<sub>2</sub> , H<sub>2</sub> , dan energy. Hal inilah yang menyebabkan media terangkat. TSIA agar berfungsi untuk mengetahui produksi H<sub>2</sub>S positif atau negatif yang berhubungan dengan sumber sulfur yang terdapat pada media. Salah satu kandungan TSIA adalah sodium tiosulfat. Sodium tiosulfat ini biasanya digunakan bakteri *Salmonella* sebagai sumber sulfur sehingga menghasilkan hidrogen sulfida (H<sub>2</sub>S). Hidrogen sulfida (H<sub>2</sub>S) akan bereaksi dengan fem sitrat sehingga menghasilkan ferrous sulfide yang menyebabkan warna hitam pada agar. Hal ini sesuai dengan pendapat Darmawan (2009), yang menyatakan bahwa bakteri *Salmonella* dapat menghasilkan gas H<sub>2</sub>S yang merupakan hasil reduksi dari asam amino yang mengandung sulfur. H<sub>2</sub>S yang dihasilkan akan bereaksi dengan garam Fe dalam media yang kemudian menjadi senyawa FeS berwarna hitam yang mengendap dalam media.

Hasil pada Minggu ke-2 negatif *Salmonella* sp. pada sampel Ekstrak Ikan Gabus (EIG) cair maupun bubuk. Hasil negatif uji keberadaan *Salmonella* sp. dapat disebabkan oleh beberapa hal antara lain tidak adanya kontaminasi *Salmonella* sp. pada sampel ikan yang digunakan, meskipun *Salmonella* sp. merupakan bakteri patogen yang sering terdapat pada ikan akan tetapi bakteri ini potensi penyebarannya lebih rendah dibandingkan dengan bakteri lain seperti *E.coli* (Azanza et al 2001; Oscar et al 2009). Selain itu juga pertumbuhan koloni mikroba-mikroba lain seperti *Escherichia coli* dan *Shigella* juga dapat menghambat pertumbuhan koloni *Salmonella* sp. dikarenakan sifatnya yang kalah bersaing dengan mikroba lain (Widiastuti 2005). Faktor lain yang mempengaruhi keberadaan *Salmonella* yaitu suhu. Ekstrak Ikan Gabus (EIG) disimpan pada suhu rendah (refrigerator) sebelum perlakuan dengan rentang waktu 0-2 minggu. Menurut D'Aoust (2000), ketahanan *Salmonella* selama penyimpanan beku tergantung jenis *Salmonella* dan jenis produk pangannya. Jumlah sel akan berkurang secara berangsur-angsur selama penyimpanan beku suhu -20 °C. Ketahanan *Salmonella* saat pembekuan juga

tergantung kondisi fisiologis sel sebelum dibekukan. Faktor lain yang menyebabkan koloni tidak tumbuh karena pH dan suhunya tidak sesuai. Kisaran suhu untuk pertumbuhan *Salmonella* sp. adalah 5.2 - 46.2°C, dengan optimal suhunya 35 - 43°C (ICMSF 1996).

*Salmonella* sp. muncul pada sampel (EIG) Ekstrak Ikan Gabus preparasi bentuk cair pada Minggu ke-4 baik pada media *Salmonella Shigella Agar* (SSA) maupun *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA). Hal ini menunjukkan produk EIG merupakan ekstrak ikan yang mengandung banyak protein yang sangat disukai oleh bakteri. Bahaya terbesar dalam produk EIG adalah adanya bakteri patogen akibat adanya kontaminasi sewaktu proses pengolahan atau kontaminasi silang melalui wadah maupun penjamah makanan dan dibiarkan pada suhu ruang. Adanya kandungan protein dan kadar air pada produk mengakibatkan mikroba yang sudah ada pada awal penyimpanan akan berkembang biak dengan cepat. Oleh karena itu didapatkan hasil pada Minggu ke-2 negatif *Salmonella* sp. Mahony, Lucey, and McSweeney (2005), menyatakan pada umur dua minggu hingga empat minggu, aktivitas mikroba terjadi optimal. Hasil tersebut membuktikan *Salmonella* sp. berada pada fase dimana mereka dapat berkembang dengan baik. Hal ini sama dengan yang dijelaskan oleh Marriot (1995), bakteri berada pada (*Lag Phase*) yaitu dimana mikroba berusaha menyesuaikan dengan bahan pangan dan akan terdapat mikroba yang tidak sesuai hingga tidak dapat bertahan, mikroba yang bertahan akan melalui periode selanjutnya, periode pertumbuhan (*Logarithmic Growth Phase*) yaitu dimana mikroba berkembang biak dengan sangat pesat secara eksponensial karena kondisi substrat sesuai untuk berkembangbiak. Hasil positif juga menunjukkan bahwa *Salmonella* memang erat kaitannya dengan ikan laut dan ikan air tawar. Bakteri *Salmonella* di laut dan perairan air tawar berasal dari limbah organik domestik, industri dan dari tempat-tempat rekreasi (sumber mata air, danau dan pantai). Keberadaan bakteri

*Salmonella* dalam suatu perairan dapat diindikasikan dengan keberadaan bakteri indikator yaitu *Escherichia coli* karena bakteri ini sangat erat hubungannya dengan bakteri *Salmonella*. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian terdahulu oleh (Ayu,2017) bahwa terdeteksi *Escherichia coli* yang semakin meningkat pada Ekstrak Ikan Gabus pada lama penyimpanan hingga 8 minggu. Menurut Grunnet (1975) dan Cabelli (1978) dalam Farida (2005) menunjukkan adanya korelasi positif antara densitas bakteri *E. coli* dengan bakteri *Salmonella*, semakin tinggi kandungan bakteri *E. coli* maka semakin positif peluang bakteri *Salmonella* akan ditemukan dalam suatu perairan. Pencemaran bakteri *Salmonella* juga dapat terjadi pada saat pembudidayaan Ikan Gabus. Sistem sanitasi yang buruk dan kurangnya higienitas akan menyebabkan bakteri *Salmonella* tumbuh dengan baik.

*Salmonella* sp. akan tumbuh pada kisaran pH 3,8 - 9,5, dengan kisaran pH optimal untuk pertumbuhan 7-7,5 (ICMSF 1996). pH minimum di mana *Salmonella* sp. bisa tumbuh adalah tergantung pada suhu, keberadaan garam dan nitrit dan jenis asam yang ada. Di luar kisaran pH untuk pertumbuhan, sel-sel mungkin menjadi tidak aktif, tetapi sel telah terbukti bertahan lama dalam produk asam (Bell dan Kyriakides 2002; Jay *et al.* 2003), sebagaimana yang dikatakan juga oleh Fardiaz (1992), suhu inkubasi yang digunakan pada kisaran suhu tertentu karena setiap mikroba memiliki karakteristik. suhu yang berbeda-beda untuk tetap hidup dan berkembang biak. Suhu inkubasi sendiri ditentukan dari suhu optimum pertumbuhan mikroba supaya mikroba dapat tumbuh dengan baik. Sehingga apabila suhu inkubasi dinaikkan atau diturunkan dari suhu semula maka akan mengganggu pertumbuhan mikroba bahkan menyebabkan kematian pada mikroba tersebut karena lingkungan tidak lagi sesuai dengan karakteristiknya.

Pada minggu ke-8 didapatkan hasil negatif *Salmonella* sp. pada sampel Ekstrak Ikan Gabus (EIG) cair maupun bubuk. Hasil negatif dapat disebabkan karena beberapa faktor. Adanya kapasitas

antioksidan, menurut penelitian terdahulu oleh (Zulfikar, 2017) kandungan antioksidan total EIG masa simpan 8 minggu baik EIG bentuk cair maupun bubuk mengalami peningkatan daripada masa simpan 4 minggu dan 2 minggu. Hal ini dimungkinkan karena faktor enzimatik mikroba. Mikroba tersebut akan menskresikan protease yang dapat mendegradasi protein menjadi peptida. Beberapa peptida tidak aktif ketika bergabung pada protein induk tetapi akan aktif ketika terlepas. Salah satu peptida yang terdapat pada EIG adalah glutation. Kandungan glutation hasil degradasi protein ini memungkinkan adanya kandungan antioksidan Ekstrak Ikan Gabus cair maupun bubuk di Minggu ke-8 mengalami peningkatan. (Zulfikar, 2017) juga menambahkan kapasitas antioksidan total Minggu ke-4 EIG bentuk cair maupun bubuk mengalami penurunan dibandingkan Minggu ke-0, kemudian mengalami peningkatan kembali pada Minggu ke-8. Hal ini sesuai dengan hasil yang didapatkan dimana pada Minggu ke-4 positif *Salmonella* karena mengalami penurunan antioksidan dan pada Minggu ke-8 negatif *Salmonella* karena adanya peningkatan antioksidan, menyebabkan bakteri patogen terhambat pertumbuhannya.

Faktor lain mengapa *Salmonella* negatif tidak lain adalah berkurangnya kandungan nutrisi pada Ekstrak Ikan Gabus sehingga *Salmonella* tidak dapat tumbuh. Hal ini dimungkinkan disebabkan oleh penurunan aktivitas glutation dan albumin. Kinerja glutation dan albumin dipengaruhi oleh keberadaan *zinc*. Jika keberadaan *zinc* dalam EIG berkurang maka glutation dan albumin juga akan mengalami penurunan aktivitas. Pertumbuhan jumlah mikroba akan terhenti karena pembatas dari faktor lingkungan atau bahan pangan yang tidak mampu lagi menyediakan kebutuhan yang cukup bagi perkembangbiakan mikroba. Ketiadaan atau kekurangan sumber bahan pangan dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan mikroba hingga pada akhirnya dapat menyebabkan kematian. Nutrisi dibutuhkan

mikroba untuk proses metabolisme dan penyediaan bahan sel serta energi. Hal ini sesuai pendapat Dewantari *et al.*, (2016) bahwa mikroorganisme memerlukan suplai nutrisi sebagai sumber energi dan pertumbuhan selnya untuk kelangsungan hidupnya. Hal tersebut menjadi bukti bahwa *Salmonella* mengalami periode stasioner (*Stationary Growth Phase*) yaitu perkembangan melambat dan pertumbuhan jumlah mikroba akan terhenti karena pembatas dari faktor lingkungan atau bahan pangan yang tidak mampu lagi, menyediakan kebutuhan yang cukup bagi perkembangbiakan mikroba, juga terjadi karena pengaruh hasil samping metabolisme mikroba dan terjadi kompetisi tempat oleh mikroba, periode kematian (*Decline Death Phase*) yaitu dimana angka kematian mikroba melampaui angka perkembangbiakannya, hal ini terjadi karena habisnya makanan dan Reduced Death Phase, yaitu sel mikroba telah mati dan mikroba terdegradasi (Marriot,1995).

Dalam pertumbuhannya bakteri memerlukan air. Oleh karena itu, bahan makanan yang bersifat cair lebih cepat rusak dibandingkan dengan bahan makanan yang bersifat kering. Setiap 20 menit bakteri akan berkembang. Oleh karena itu, dalam jangka 5 sampai 6 jam, berjuta-juta bakteri akan tumbuh (Tille,2014). Dalam kondisi kering, sebagian bakteri terutama jenis bakteri patogen, membentuk dirinya menjadi spora-spora dengan lapisan pelindung dan menunggu sampai tersedia air. Selanjutnya mereka akan memecahkan kulit pelindung dan mulai tumbuh. Makanan kering dapat mengandung ribuan mikroba hidup, tetapi tidak tumbuh. Pada saat mikroba tidak aktif maka makanan tidak rusak. Oleh karena itu pada hasil data pengamatan didapatkan Ekstrak Ikan Gabus dalam bentuk bubuk lebih tahan atau lebih resisten terhadap bakteri *Salmonella* sp. dibuktikan dengan hasil pada semua waktu penyimpanan sama sekali tidak terdeteksi oleh *Salmonella* sp. Berdasarkan semua data yang diperoleh dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa jenis preparasi dapat

mempengaruhi ketahanan mikroba *Salmonella* sp. dan lama penyimpanan tidak ada korelasi dengan keberadaan *Salmonella* sp. pada Ekstrak Ikan Gabus (EIG). Tetapi untuk bakteri patogen lain seperti *Escherichia coli* terdapat korelasi masa simpan dimana semakin lama masa simpan semakin banyak keberadaan bakteri *E.coli* menurut penelitian terdahulu oleh (Ayu,2017) *E.coli* mengalami peningkatan dengan nilai APM 24/gr (1 Minggu) , 350/gr (4 Minggu) dan meningkat <1600/gr (8 Minggu).

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian Ekstrak Ikan Gabus (EIG) cair perlakuan waktu masa simpan 4 minggu positif terdeteksi *Salmonella* sp. sedangkan Ekstrak Ikan Gabus (EIG) bubuk pada semua perlakuan masa simpan negatif *Salmonella* sp. Namun EIG bubuk maupun cair terkontaminasi *E.coli* pada semua waktu masa simpan, oleh karena itu dapat dikatakan pada semua waktu masa simpan mengalami kontaminasi bakteri patogen. Sehingga waktu masa simpan optimum tidak dapat ditentukan.

#### **5.2 Saran**

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, diharapkan dilakukan penelitian lanjutan mengenai pengolahan Ekstrak Ikan Gabus (EIG) dengan peningkatan higienitas dan peningkatan sanitasi yang baik untuk menghambat cemaran bakteri patogen dan dilakukan waktu masa simpan harian kurang dari 2 minggu.



## DAFTAR PUSTAKA

Abdulgani, N., I. Trisnawati, Aunurohim, D. Hidayati, N. Aisyatussoffi and A. Arifiyanto. 2014 . Snakehead (*Channa striata*) extracts treatment towards hyperglycemic mice (*Mus musculus*) blood glucose levels and pancreatic histology structure. **Journal Application Biology Science**. Vol. 4 (5): 1-6.

*Acumedia. Lactose Broth*. November 2010. Diunduh di <http://neogen.com/pdf.diaskes> tanggal 9 september 2015. p 1-2

Augustin, Jorg and Scarbrough, Edward.2004. **Nutritional Additives. In Food Additives**. A. Larry Branen, P. Michael Davidson and Seppo Salminen (Eds.). Marcel Dekker. New York

Al-Mutairi MF. The Incidence of Enterobacteriaceae Causing Food Poisoning in Some Meat Products. **Advance Journal of Food Science and Technology** 3(2): 116-121. 2011.

Andrews WH, Hammack T. 2011. **Salmonella**. <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm07019.htm#Isol> Bacteriological Analytical.

BAM Bacteriological Analytical Manual Online. 2008. The API-20E® **Enteric Identification System**. <http://www.jlindquist.net> [17 November 2008].

Badan POM RI. **Pengujian Mikrobiologi Makanan**. InfoPOM Pengawas Obat dan Makanan Republik Indoneisa Vol. 9, No. 2.Maret 2008.

Badan POM RI. Info POM: **Pengujian Mikrobiologi Pangan**. Jakarta: Badan POM RI. 2008.

*Badan Standardisasi Nasional. Metode Pengujian Cemar Mikroba dalam Daging, Telur dan Susu Serta Hasil Olahannya.* SNI 2987-2008. Jakarta . 2008

Baird, S.K., T. Kurz., and T. Brunk., 2006. **Metallothionein protects against oxidative stress induced lysosomal destabilization.** *Biochem. J.* 15: 275 – 283.

Baylis C, Uyttendaele M, Joosten H, Davies A. *The Enterobacteriaceae and Their Significance To The Food Industry.* Brussels: **International Life Sciences Institute**, ILSI Microbiological Issues Task Force; 2011. Report No.: ISBN.

Biesalski, H.K., 2001. Nutraceuticals: The Link between Nutrition and Medicine. In:Kramer et al.(eds). **Nutraceuticals in Health and Disease Prevention.** Marcel Dekker Inc. New York.

Bridson EY. 2006. **The Oxoid Manual** Ed. Ke-9. England: Oxoid.

BSN (Badan Standardisasi Nasional).2009. SIN 7388: **Batas Cemar Mikroba dalam Pangan.** BSN, Jakarta. 37 hlm.

Buckle, K.A., R.A. Edward, G.H. Fleet dan Wootton. 2009. **Ilmu Pangan.Terjemahan:** Hari Purnomo dan Adiono. UI-Press. Jakarta

Corry, J E L , Curtis G.D.W, Baird R.M. **Handbook of Culture Media for Food and Water Microbiology.**3<sup>rd</sup> edition. The Royal Society of Chemistry.UK. 2012. p 266-280.

Chai, L.C. 1990. **Snakehead Culture.** Aquaculture in Taiwan. Blackwell Scientific Publication. p. 39 —42.

Cholik, F., Jagatraya, A.G., R.P. Poernomo, R.P., & Jauzi, A. 2005. **Ikan Gabus (*Channa striata*).** **Akuakultur Tumpuan Harapan Masa Depan Bangsa.** Kerja sama Masyarakat Perikanan Nusantara dengan Taman Akuarium Air Tawar, TMII. 415 hlm.

Darmawan, S. 2009. **Keanekaragaman Genetik *Salmonella thypi*.** *Jurnal kesehatan.* Vol 2(3)

Delost MD. **Introduction to Diagnostic Microbiology for The Laboratory Sciences**. Jones and Bartlett Learning: Burlington. 2015. Hlm54,212-213

Del-Portillo, F.G. 2000.**Moleculer and Celluler Biology of Salmonella Pathogenesis**. In Cary, J.W.J.E. Linz, dan D. Bhatnagar. *Microbial Foodborne Disease: Mechanisms of Pathogenesis and Toxin Synthesis*. Technomic Publishing Company, Inc. Cancaster, Pennsylvania, USA.

Downes, F.P. dan Ito K. 2001. **Comprendum of Methode for Microbiological Experience of Foods**, 4th Ed. Washington DC : APHA

Doyle, M.P. dan Beuchat, L.R., 2007. **Food Microbiology**. Fundamentals and Frontiers. Third Edition. ASM Press. Washington, D.C. hal. 69-75.

Fardiaz.1989. **Analisis Mikrobiologi Pangan**. *Departemen Pendidikan dan Kebudayaan*.IPB. Bogor

Food and Drug Administration<sup>17<sup>th</sup></sup>(FDA). 1998. **Bacteriological Analytical Manual**. 8<sup>th</sup> Edition. Center for Drug Evaluation and Research.Rockville. M.D. USA,

Gam L, Leow C, Baie S. Amino Acid Composition of Snakehead Fish (*Channa striata*) of Various Sizes Obtained at Different Times of The Year. **Malaysian Journal of Pharmaceutical Sciences**. 2005;3(2):19-30.

Gaonkar, A. G. 1995. **Ingredient Interactions Effects on Food Quality**. Marcell Dekker, Inc., New York

Haryani Y, Chainulfiffah dan Rustiana. **Fermentasi Karbohidrat oleh Isolat *Salmonella* spp.** Dari Jajanan Pinggir Jalan. *Jind Che Acta* Vol.3 (1). Riau. 2012

Holt, J.G., Noel, R.K., Peter, H.A., James, T.S., Stanley, T.W. 1994. **Bergey's manual of Determinative Bacteriology**. Ninth

Edition. Williams and Wilkins. Ballimore, Maryland USA. 186,242.

Hui, Y. H. 1992. **Encyclopedia of Food Science and Technology**. Volume II. John Willey and Sons Inc, Canada.

Imeson, A. 1999. **Thickening and Gelling Agent for Food**. Aspen Publisher Inc, New York  
Stephen, A. M. and S. C. Churms. 1995. **Food Polysaccharides and Their Applications**. Marcell Dekker, Inc, New York

Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., 2001, **Mikrobiologi Kedokteran Edisi XXII**, diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, 205-209, Penerbit Salemba Medika, Jakarta.

Jay JM, Loessner MJ, Golden DA. **Modern Food Microbiology Seventh Edition**. USA:Springer. 2005.

Kanerek, Robin B. and Marks-Kaufman, Robin. 1991. **Nutrition and Behavior, New Perspectives**. Van Nostrand Reinhold. New York.

Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM. **Medical Microbiology**. Thieme: New York. 2005.p282-287

Lawley, R., L. Curtis, and J. Davis. 2008. **The Food Safety Hazard Guidebook**. Royal Society of Chemistry. London. UK.

Lim, K.K.P. & Ng, P.K.L. 2000. **Snakeheads (Pisces: Channidae): Natural History, Biology and economic Importance**. Department of Zoology, National University of Singapore. <http://www.snakeheads.org>. Serial online 2001—2006. 22 pp.

Mahon, C.R., Lehman, D.C., Manuselis, G. (2014). **Textbook of Diagnostic Microbiology** (5th ed.). New York: Saunders

Masniari, P., S.M. Noor, dan Andriani. 2006. **Kepekaan Isolat Salmonella Entiritidis dan Salmonella Hadar yang Diisolasi dari Daging Ayam Terhadap Antibiotika**. Bogor.

McLandsborough LA. 2005. **Food Microbiology Laboratory**. New york: CRC Pr

Michael P. Doyle RL. **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. ASM Press:USA. 2013

Merchan, I.A., and Parker, R.A., 2000, **Veterinary Bacteriology and Virology**, Iowa State University, United State of America.

Mustafa, A., H. Sujuti, N. Permatasari, M. A. Widodo. 2013. **Determination Of Nutrient and Amino Acid** Composition Of Pasuruan *Channa striata* Extract

Moedjiharto, T.J. 2008. **Kualitas Albumin Ikan Gabus Lebih Baik Dari Telur**. ANTARA. <http://www.antarajatim.com>. Serial online 27 Mei 2008. 2 hlm

Molita, A. D. 2017. Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Pada Minuman Susu Kedelai Bermerek dan Tidak Bermerek di Kota Bandar Lampung. **Skripsi**. Fakultas Kedokteran. Universitas Lampung. Bandar Lampung.

Muktiningsih., F. Kurniadewi, dan Immanuel O.R.P. 2016. Isolasi Amfifikasi dan Sekuensing Fragmen 1,9 kilobasa Gen Heat Shock Protein 70 *Salmonella enterica* Serovar Thypi. **Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia**. Vol 11(1) : 32-40

Novitasari,Y. E. 2014. Screening Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amilase Dari Sumber Air Panas Singgahan Tuban Jawa Timur. **Unesa Journal Of Chemistry**. Vol 3 (3) : 1

Radji, M., 2010, **Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran**, Jakarta, EGC, hal. 10-19, 125-130.

Sarbini D, Rahmawaty S, Kurnia P. Uji Fisik, Organoleptik, dan Kandungan Zat Gizi Biskuit Tempe-Bekatul dengan Fortifikasi Fe dan Zn untuk Anak Kurang Gizi. **Jurnal Penelitian Sains & Teknologi**. 2009;10(1):18-26.

Schnieder, M. 2003. **New Channa Experiences**. Aquaristik Fachmagazin Nr. 171, p. 38—42. [http:// www.snakeheads.org](http://www.snakeheads.org). Serial online 2001—2006.

SNI 01-2332.1. 2008. *Cara Uji Mikrobiologi – Bagian2: Identifikasi Salmonella sp. pada Produk Perikanan*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.

[SNI] Standar Nasional Indonesia. 2008. *Metode Pengujian Mikroba dalam Daging, Telur, dan Susu, Serta Hasil Olahannya*. SNI 2897-2008. Jakarta : Dewan Standarisasi Nasional.

[SNI] Standar Nasional Indonesia. 2009. **Batas Maksimum Cemaran Mikroba Dalam Pangan**. SNI 01-7388-2009. Jakarta: Dewan Standarisasi Nasional.

Steinhauserova I & Borilova G. New Trends Towards More Effective Food Safety Control. **Procedia Food Science**. 2015;5: 274-277.

Sunarno. 2015. **Potential of glutathione antioxidant in the hippocampus repair** : Preliminary study on bioactive materials antiaging of snakehead fish (*Channa striata*) in animal models of aging. *International Journal of Science and Engineering*. 8(1): 22–25.

Suprayitno, E., Mujiharto, Titik. **The Effect of Fish Albumin Powders on Wound Healing of Wistar Rattus novogircus**, University of Brawijaya Malang. 2009.

Suryanti, Y., Priyadi, A., & Suhenda, N. 1997. Pemberian Pakan Buatan Untuk Ikan Gabus (*Chana striatus*) dalam Keramba di Kalimantan Timur. **Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia**. Pusat Riset Perikanan Budidaya. III(3): 35—40.

Tille PM. Bailey and Scott's **Diagnostic Microbiology**. 13th Edition. Elsevier: USA. 2014

Tranggono, S., Haryadi, Suparmo, A. Murdiati, S. Sudarmadji, K. Rahayu, S. Naruki, dan M. Astuti. 1991. **Bahan Tambahan Makanan (Food Additive)**. PAU Pangan dan Gizi UGM, Yogyakarta.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. 2007. **Nutrient Pollution: The Sources and Solution**.

Wee KL. 1992. **The biology and culture of snakeheads**. Recent advances in aquaculture, Westview Press, Boulder, Colorado.

Woodland J. **NWFHS Laboratory Procedures Manual**. Ed 2<sup>nd</sup>. 2004. p 14-15

Zaki, Ibnu. *Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Mikrobiologi Biskuit Bayi dengan Substitusi Tepung Labu Kuning (*Cucurbita moschata*) dan Tepung Ikan Patin (*Pangasius spp*) sebagai MP-ASI. (Skripsi)*. Semarang: Universitas Diponegoro. 2011.

Zulfikar, Azis. Analisis Kapasitas Antioksidan Ekstrak Ikan Gabus dengan Masa Simpan Berbeda. (**Tugas Akhir**). Surabaya: ITS. 2017.

Zuraini .A., M.N. Somchit. , M.H. Solihah., Y.M. Goh., A.K. Arifah., M.S. Zakaria, N. Somchit., M.A. Rajion., Z.A. Zakaria., A.M. Mat Jais. *Fatty acid and amino acid composition of three local Malaysian *Channa spp.* Fish*. **Food Chem** 97(4):674-678. 2006



## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Komposisi Media.

#### 1. *Lactose Broth (LB)*

Beef extract	3 g
Peptone	5 g
Lactose	5 g
Aquadest	1 liter

#### 2. *Salmonella Shigella Agar (SSA)*

Lab-Lemco powder	5,0 g
Peptone	5,0 g
Laktose	10,0 g
Bile Salt	8,5 g
Sodium Citrate	10,0 g
Sodium thiosulphate	8,5 g
Ferric citrate	1,0 g
Briliant green	0,00033 g
Neutral red	0,025 g
Bacto Agar	13,5 g
Aquadest	1 liter

#### 3. *Tetrathionate Broth (TTB)*

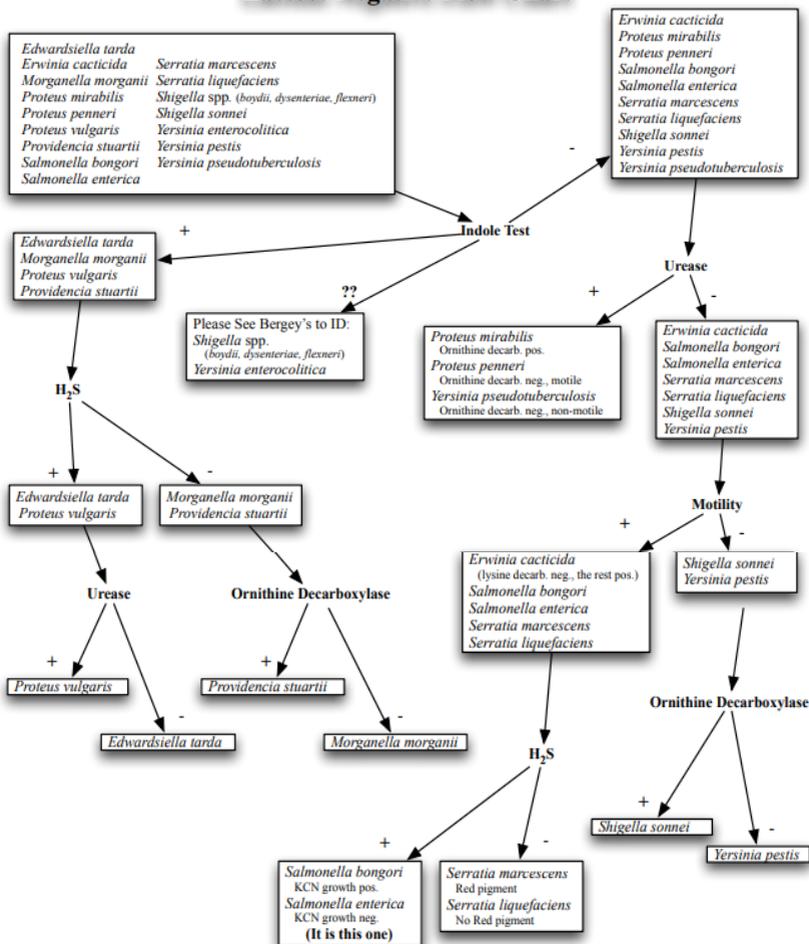
Poly Peptone	5 g
Bile salts	1 g
Calcium carbonate	10 g
Sodium thiosulfate 5H <sub>2</sub> O	30 g
Aquadest	1 liter

#### **4. *Triple Sugar Iron Agar (TSIA)***

Beef extract	3 g
Yeast extract	3 g
Peptone	15 g
Proteose Peptone	5 g
Glucose	1 g
Lactose	10 g
Sucrose	10 g
FeSO <sub>4</sub>	0,2 g
NaCl	5 g
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0,3 g
Agar	12 g

## Lampiran 2. Flowchart Bergey's *Salmonella* sp.

### Family Enterobacteriaceae Continued Lactose Negative Flow Chart



### Lampiran 3. Skema Kerja

#### Lampiran Skema Kerja

##### 1. Penyediaan Sampel Ekstrak Ikan Gabus (EIG)

Preparasi Ikan Gabus  
(*Channa striata*)

- Diukur Ikan 300-350 gram
- Dipisahkan daging dan organ tubuh lainnya
- Diekstraksi menggunakan ekstraktor (suhu 60°C)

Pengemasan Ekstrak Ikan Gabus  
(*Channa striata*)

- Disimpan Ekstrak Ikan Gabus dalam botol sampel 250 ml yang telah steril

Perlakuan masa simpan Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*)



## 2. Penyediaan sampel Ekstrak Ikan Gabus (EIG) bubuk

### Preparasi Ikan Gabus (*Channa striata*) bentuk bubuk

- Diukur Ikan 300-350 gram
- Dipisahkan daging dan organ tubuh lainnya
- Diekstraksi menggunakan ekstraktor (suhu 60°C)
- Disimpan dalam botol sampel 250 ml yang telah steril



- Dilarutkan gum arab dan EIG perbandingan 1:2 dan diratakan pada cawan petri
- Dikeringkan dalam oven dengan suhu 30-53°C
- Diblender hingga halus dan diayak

### Perlakuan masa simpan Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) bubuk

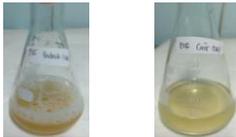


### 3. Uji Pra pengayaan & Pengayaan



Ekstrak Ikan Gabus yang telah disimpan

- Dipipet sampel sebanyak 2,5 ml kedalam Erlenmeyer yang berisi 25 ml LB
- Dihomogenkan dan diinkubasi 24 jam pada suhu 35°C



- Dipipet 1 ml sampel homogen ke dalam tabung reaksi
- Diinkubasi 24 jam pada suhu 42°C



#### 4. Uji Isolasi dan Identifikasi



TTB Yang telah diinkubasi

- Diambil 0,1 ml dan diratakan pada media SSA menggunakan dry galsky
- Diinkubasi 24 jam pada suhu 35<sup>0</sup>C



SSA Yang telah diinkubasi

- Diambil Koloni terduga dengan jarum ose, tusuk agar tegak dan menggores agar miring pada TSIA
- Diinkubasi 24 jam pada suhu 35<sup>0</sup>C



Didapatkan hasil biokimia  
*Salmonella* sp.

#### Lampiran 4. Tabel Rancangan Uji

Tabel Hasil Pengamatan Pada Media SSA dan TSIA

<b>Masa Simpan (Minggu)</b>	<b>SAMPEL</b>		<b>KET.</b>
	<b>BUBUK</b>	<b>CAIR</b>	
<b>2</b>			
<b>4</b>			
<b>8</b>			

NB: Hasil Negatif atau Positif ditunjukkan pada tabel disertai keterangan, perlakuan dilakukan pada minggu ke 2, minggu ke-4 dan minggu ke-8 dengan pengulangan tiga kali.

## **BIODATA PENULIS**



Penulis dengan nama lengkap Lely Suciati lahir di Surabaya tanggal 14 April 1996 dari orang tua bernama Siti Nurhayati dan Wahyu Sutarno sebagai anak satu-satunya. Saat ini penulis bertempat tinggal di Jl. Jagiran I No.47 Kecamatan Tambaksari, Surabaya 60136. Pendidikan penulis dimulai dari TK Megawati, Surabaya pada tahun 1999-2001, kemudian masuk SD Negeri Pacar Keling V pada tahun 2001-2007, melanjutkan ke SMP Negeri 9 Surabaya pada tahun 2007-2010, dan masuk SMA Negeri 1 Surabaya pada tahun 2010-2013, hingga akhirnya menempuh masa kuliah di Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Analitika Data Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.

Akhir kata penulis mengucapkan rasa syukur sebesar-besarnya atas terselesaikannya tugas akhir ini serta berterimakasih kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam pengerjaan dan memberikan motivasi kepada penulis.

