

---

## **IDENTIFIKASI BAKTERI *ESHERICHIA COLI* DALAM DAGING IKAN TUNA (*THUNNUS SP.*) DI BALAI KARANTINA IKAN, PENGENDALIAN MUTU DAN KEAMANAN HASIL PERIKANAN (BKIPM) MATARAM**

**[Identification Of *Esherichia Coli* Bacteria In Tuna Fish (*Thunnus sp.*) Meat at The Fish Quarantine, Quality Control And Fishery Product Safety Center (BKIPM) Mataram]**

**Adyan Mukhlas<sup>1)\*</sup>, Aminullah<sup>2)</sup>**

**Universitass 45 Mataram**

<sup>1)</sup>[adyan.m@gmail.com](mailto:adyan.m@gmail.com) (corresponding), <sup>2)</sup>[aminullahhmtk@gmail.com](mailto:aminullahhmtk@gmail.com)

### **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui teknik identifikasi bakteri *E. coli* pada daging ikan tuna (*Thunnus sp.*) di Balai Karantina, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BKIPM) Mataram. Metode penelitian ini termasuk penelitian laboratorium menggunakan metode partisipasif. Partisipasi aktif adalah keterlibatan dalam suatu kegiatan yang dilakukan secara langsung dilapangan (Nazir, 2011). Dimana metode ini penulis mengikuti kegiatan yang ada di BKIPM dengan cara observasi dan wawancara pada pegawai dan staf khususnya teknisi laboratorium BKIPM yang membidangi teknik identifikasi bakteri *E. coli* pada daging ikan tuna. Teknik pengumpulan data terdiri atas observasi, wawancara, dan dokumentasi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa identifikasi bakteri *E. coli* pada daging ikan tuna yang dilaksanakan di BKIPM dimulai dari sterilisasi alat, preparasi sample, uji pendugaan menggunakan media LTB dan EC\_Broth, uji penegasan menggunakan media L-EMB dan PCA, serta uji biokimia yang meliputi uji indol, uji MR/VP, dan uji sitrate. Berdasarkan hasil uji dilaboratorium BKIPM, sampel ikan baby tuna dan tuna filed dinyatakan negative *E. coli* sehingga aman untuk di konsumsi

---

**Kata kunci:** Bakteri; *esherichia coli*; ikan tuna; *thunnus sp.*

### **ABSTRACT**

*This study aims to determine the identification technique of *E. coli* bacteria in tuna (*Thunnus sp.*) meat at the Mataram Quarantine, Quality Control and Fishery Product Safety Center (BKIPM). This research method includes laboratory research using participatory methods. Active participation is involvement in an activity carried out directly in the field (Nazir, 2011). Where this method the author follows the activities at BKIPM by observing and interviewing employees and staff, especially BKIPM laboratory technicians who are in charge of *E. coli* bacteria identification techniques in tuna meat. Data collection techniques consist of observation, interviews, and documentation. The results of this study indicate that the identification of *E. coli* bacteria in tuna meat carried out at BKIPM starts from sterilization of equipment, sample preparation, presumptive tests using LTB and EC\_Broth media, confirmatory tests using L-EMB and PCA media, as well as biochemical tests including indole tests, MR/VP tests, and citrate tests. Based on laboratory test results at the BKIPM (Indonesian Food and Fisheries Agency), samples of baby tuna and filed tuna were declared negative for *E. coli*, making them safe for consumption.*

---

**Keywords:** Bacteria; *Escherichia coli*; tuna; *Thunnus sp.*

## PENDAHULUAN

Indonesia yang memiliki potensi sumber daya kelautan dan perikanan yang cukup baik. Salah satunya yaitu Provinsi Nusa Tenggara Barat (NTB). Provinsi NTB memiliki luas lautan 59% dari keseluruhan total wilayah, dengan panjang pantai 2.333 km. Pada tahun 2020, Provinsi NTB memiliki total produksi produk perikanan laut sejumlah 222.930,93 ton, dengan nilai produksi Rp 2.982.776.045.015 (Statistik perikanan tangkap tahun 2020). Provinsi NTB memiliki beberapa komoditas utama pada sektor perikanan tangkap, diantaranya adalah ikan tuna. Data Statistik Perikanan Tangkap Provinsi NTB menunjukkan bahwa produksi ikan tuna yang didaratkan oleh nelayan di Provinsi NTB mencapai 9. 687. 466ton pada tahun 2022 (Damayanti et al., 2023)

Ikan tuna (*Thunnus* sp.) merupakan salah satu jenis ikan laut yang sangat populer dan di dunia. Ikan tuna memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi yaitu berkisar antara Rp. 43.000 – Rp. 135.000/kg(Damayanti et al., 2023), ikan tuna memiliki tekstur daging yang padat, rasa yang gurih, dan kandungan nutrisi yang tinggi. Ikan tuna memiliki kandungan protein yang tinggi dan mempunyai rasa yang lezat. Onyia et al. (2014) melaporkan bahwa ikan tuna mengandung sebagian besar asam amino esensial penting, khususnya, lisin, metionin dan triptofan yang kurang dalam protein nabati. Selain itu, ikan tuna juga kaya akan omega-3, vitamin B12, selenium, dan berbagai mineral penting lainnya.

Menurut Damayanti et al., (2023), beberapa bakteri seperti *Salmonella* sp., *Shigella*, *Esherichia coli*, *Enterococci* dan *Clostridium* sering mengkontaminasi ikan segar. Umumnya makanan merupakan sumber infeksi dan keracunan oleh bakteri yang berasam rendah seperti daging, ikan, telur dan produk dalam bentuk olahan. Bakteri *E. coli* diisolasi pertama kali oleh Theodor Escherich pada tahun 1885 dari tinja seorang bayi (Merchant dan Parker, 1961). *E. coli* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2  $\mu\text{m}$ , diameter 0,7  $\mu\text{m}$ , lebar 0,4-0,7  $\mu\text{m}$  dan bersifat anaerob fakultatif. *E. coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Al et al., 2018).

Bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) merupakan salah satu bakteri yang mudah menyebar dengan cara mencemari air dan mengkontaminasi bahan yang bersentuhan secara langsung. Bakteri *E. coli* terdapat pada saluran pencernaan serta terkandung pada kotoran manusia dan hewan mamalia yang kemudian akan masuk ke dalam perairan laut. Keberadaan bakteri *E. coli* dalam daging ikan tuna dapat berdampak pada kesehatan apabila melebihi ambang batas yang seharusnya. Bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) merupakan flora normal yang ada didalam kolon manusia. Umumnya *E. coli* tidak menyebabkan suatu penyakit pada manusia tetapi pada beberapa kondisi tertentu, bakteri *E. coli* dapat menimbulkan penyakit yaitu bila jumlah koloni terlalu banyak, *Escherichia coli* hidup diluar habitat atau keadaan manusia sebagai pejamu yang lemah karena suatu kondisi seperti mengalami penyakit imunosupresan (Imamah et al., 2021)

Bakteri berkembang biak bila pada tempat yang memungkinkan untuk melakukan perkembangbiakan. Tempat kolonisasi bakteri didalam hospes menunjukkan apakah dapat menular atau tidak. Jika dapat, secara langsung atau tidak langsung. Jadi konsep dapat menularnya sebuah infeksi tergantung pada tempat hidup mikroba dari sumber pembiakan sampai tiba dalam hospes barunya Untuk perpindahan tempat mikroba membutuhkan reservoir (Tambayong, 2005). *Escherichia coli* (*E. coli*) memberikan dampak yang buruk pada tubuh, maka sangat penting mencuci tangan menggunakan sabun pada setiap kegiatan, Hindari kontaminasi dengan memakai peralatan masak dan makan dengan bersih, Jauhkan daging mentah dari makanan dan hindari mengkonsumsi susu mentah serta untuk membunuh bakteri *E. coli* dalam makanan, maka pastikan memasak makanan atau minuman sampai matang (Depkes RI, 2005).

Oleh karena itu, pentingnya dilakukan penelitian ini untuk mengetahui Teknik identifikasi bakteri *E. coli* pada daging ikan tuna (*Thunnus* sp.) di Balai Karantina, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BKIPM) Mataram.

## METODE PENELITIAN

Metode penelitian ini termasuk penelitian laboratorium menggunakan metode partisipatif. Partisipasi aktif adalah keterlibatan dalam suatu kegiatan yang dilakukan secara langsung dilapangan (Nazir, 2011). Dimana metode ini penulis mengikuti kegiatan yang ada di BKIPM dengan cara observasi dan wawancara pada pegawai dan staf khususnya teknisi laboratorium BKIPM yang membidangi teknik identifikasi bakteri *E. coli* pada daging ikan tuna. Teknik pengumpulan data terdiri atas observasi, wawancara, dan dokumentasi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Keadaan Umum Lokasi Penelitian

Balai karantina ikan pengendalian mutu dan keamanan hasil perikanan mataram terletak di jalan Adi Sucipto, Pejarakan Karya Kecamatan Ampenan. Kota Mataram Nusa Tenggara Barat. Sedangkan dari letak geografis gedung ini terletak pada  $8^{\circ}33'52''$  Lintang Selatan dan  $116^{\circ}5'51''$  Bujur Lintang Timur berdekatan dengan jalanraya sehingga mudah dijangkau bagi pengguna jasa yang melakukan pemeriksaan hama dan penyakit ikan terhadap komoditas perikanan.



**Gambar 1. Lokasi Penelitian**

Unit pelaksanaan teknis karantina ikan di Provinsi Nusa Tenggara Barat (NTB) yaitu Wilayah kerja karantina ikan selaparang Mataram pada tahun 1998, yang merupakan bagian dari stasiun karantina ikan Ngurah Rai Denpasar Bali yang berlokasi di daerah Mataram Desa Pejarakan di area Bandar Udara Selaparang. Pada bulan April 1994 Wilker karantina ikan Selaparang Mataram mengalami peningkatan nomenklatur menjadi stasiun karantina ikan selaparang Mataram. Berdasarkan Keputusan Menteri Nomer KEP/29/MEN/2002 tanggal 8 Juli tahun 2002 stasiun karantina ikan selaparang Mataram berubah menjadi stasiun karantina ikan kelas 1 selaparang Mataram dan pada tahun 2004 dengan dikeluarkannya Kepmen Nomer KEP/32/MEN/2004 tanggal 30 Juli tahun 2004 menjadi stasiun karantina ikan kelas selaparang Mataram. Berdasarkan Kepmen KEP/15/MEN/2010 tentang organisasi dan tata kerja kementerian kelautan dan perikanan diterapkan Badan Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (Balai KIPM). Dilaksanakan tugas pengembangan, pemantauan dan evaluasi perkarantina ikan pengendalian mutu dan keamanan hasil perikanan.

### Tugas dan Fungsi BKIPM

Berdasarkan Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan Nomor 92/PERMEN- KP/2020 tentang Organisasi dan Tata Kerja Unit Pelaksana Teknis Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan, Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan mempunyai tugas dan fungsi sebagai berikut:

a. Tugas

Melaksanakan pencegahan masuk dan tersebarnya Hama dan Penyakit Ikan Karantina (HPIK) dari luar negeri dan dari suatu area ke area lain di dalam negeri atau keluar dari dalam Wilayah Negara Republik Indonesia, pengendalian mutu dan keamanan hasil perikanan, serta penerapan sistem manajemen mutu dan pengawasan keamanan hayati ikan.

b. Fungsi

- a. Penyusunan pemantauan, dan evaluasi rencana, program, dan anggaran, serta pelaporan dibidang pelayanan operasional karantina ikan, pengendalian mutu, dan keamanan hasil perikanan;
- b. Pelaksanaan pencegahan masuk dan tersebarnya hama dan penyakit ikan karantina dari luar negeri dan dari suatu area ke area lain di dalam negeri, atau keluar dari dalam wilayah negara republik Indonesia
- c. Pelaksanaan pencegahan keluar dan tersebarnya hama dan penyakit ikan tertentu dari wilayah Negara Republik Indonesia yang dipersyaratkan negara tujuan;
- d. Pelaksanaan tindakan karantina terhadap media pembawa hama dan penyakit ikan karantina/hama dan penyakit ikan tertentu, jenis ikan dilindungi, dilarang, dibatasi, dan invasif, serta benda lain;
- e. Pelaksanaan pengujian terhadap hama dan penyakit ikan karantina, hama dan penyakit ikan tertentu, mutu dan keamanan hasil perikanan, dan keamanan hayati ikan;
- f. Pelaksanaan sertifikasi kesehatan ikan, sertifikasi mutu dan keamanan hasil perikanan, dan sertifikasi keamanan hayati (biosecurity);
- g. Pelaksanaan pengelolaan dan pelayanan laboratorium dan instalasi;
- h. Pelaksanaan pembuatan koleksi media pembawa, hama dan penyakit ikan karantina, dan/atau hama dan penyakit ikan tertentu;
- i. Pelaksanaan pemantauan terhadap hama dan penyakit ikan karantina, mutu dan keamanan hasil perikanan, dan keamanan hayati ikan;
- j. Pelaksanaan pengawasan terhadap hama dan penyakit ikan karantina dan keamanan hayati ikan;
- k. Pelaksanaan surveilan terhadap hama dan penyakit ikan karantina dan keamanan hayati ikan;
- l. Pelaksanaan inspeksi, verifikasi, surveilan, audit, dan pengambilan contoh ikandan hasil perikanan di unit pengolahan ikan dalam rangka sertifikasi penerapan program manajemen mutu terpadu;
- m. Penerapan sistem manajemen mutu pelayanan operasional dan laboratorium;
- n. Penindakan pelanggaran perkarantinaan ikan, pengendalian mutu dan keamanan hasil perikanan, dan keamanan hayati ikan;
- o. Pengumpulan, pengolahan data dan informasi perkarantinaan ikan, pengendalian mutu dan keamanan hasil perikanan, dan keamanan hayati ikan; dan
- p. Pelaksanaan urusan ketatausahaan.

**Sarana dan Prasarana BKIPM**

Sarana dan prasarana pada laboratorium pemeriksaan penyakit ikan di Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan bertujuan untuk menunjang kegiatan pemeriksaan penyakit ikan adalah sebagai berikut:

a. Sarana Laboratorium Parasitologi

Sarana pada laboratorium parasite adalah pinset, gunting, mikroskop, object glass, cover glass dan lemari pendingin.

b. Sarana Laboratorium Bakteriologi

Sarana pada laboratorium bakteriologi adalah laminary air flow, cawan petri, jarum ose, timbangan analitik, autoclave, lemari gantung, oven, lemari pendingin, hot plate stove, Bunsen, object glass, tabung reaksi dan mikroskop.

## Teknik Identifikasi Bakteri *E. coli* dalam Daging Ikan Tuna

### Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat merupakan proses penting untuk memastikan tidak adanya kontaminasi mikroorganisme pada peralatan yang digunakan. Sterilisasi merupakan suatu proses pemusnahan segala bentuk mikroorganisme, baik yang berbentuk vegetative maupun yang berbentuk spora. Mikroorganisme yang dimaksud dapat berupa kuman, virus, rickettsia maupun jamur. Jadi produk steril yang dihasilkan telah bebas dari semua jenis mikroorganisme hidup (Wulandari et al., 2022)



Perendaman menggunakan odex



Pencucian menggunakan air dan sabun



Sterilisasi autoclave

**Gambar 2. Sterilisasi Alat**

Kegiatan sterilisasi alat yang diterapkan di BKIPM dilaksanakan di ruang destruksi yang ada di laboratorium alat dan preparasi sample. Adapun metode sterilisasi yang dilaksanakan adalah sterilisasi kimia yaitu: a). Mencuci semua peralatan menggunakan cairan pembersih odex dan sabun, b). Alat yang telah dicuci ditiriskan untuk kemudian di sterilisasi lebih lanjut menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit, c). pengeringan menggunakan oven. Hal ini sesuai dengan pernyataan Wulandari et al., (2022) yang menyatakan bahwa peralatan yang terbuat dari gelas seperti erlenmeyer, test tube, petridisk disterilkan dengan autoclave. Sebelum digunakan peralatan dicuci dan disikat dengan detergen kemudian dibilas air tawar, tunggu kering, setelah itu ditutup rapat dengan aluminium foil dan plastik, sedangkan tabung reaksi dan pipet ditutup kapas, dibungkus aluminium foil dan plastic.

### Pembuatan Reagen Pereaksi dan Media Identifikasi *E. coli*

#### a. Pembuatan Reagen Pereaksi

Reagen merupakan zat kimia atau campuran yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa atau menentukan sifat kimia suatu zat. Reagen digunakan dalam mikrobiologi untuk membantu mengenali atau membedakan bakteri berdasarkan sifat biokimia atau strukturalnya (Andarti, I. Y., 2015). Pembuatan reagen pereaksi di BKIPM Mataram mengacu pada SNI 2332.1:2015. Adapun reagen yang digunakan dalam identifikasi bakteri *E. coli* adalah sebagai berikut:

#### 1. *Butterfield's Phosphate Buffer* (BPB)

- BPB stock:

Bahan:

- $\text{KH}_2\text{PO}_4$  30g
- Aquades 500ml

Adapun 5 langkah kerja dalam pembuatan reagen BPB stok adalah ditimbang 34gram  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dilarutkan dengan aquades hingga volume 1000ml, ditepatkan pH 7,2 dengan 1N NaOH. Kemudian dilakukan sterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit, setelah itu dilakukan penyimpanan BPB stock dalam refrigerator (Indonesia & Nasional, 2015)

- BPB larutan kerja:

Adapun 5 langkah kerja yang dilakukan dalam membuat BPB larutan kerja adalah diambil 10ml larutan stock ditambahkan aquades hingga volume 1000ml.

## 2. Larutan 0,5% pepton water

### Bahan

- Pepton 5 g
- Aquades 1 L

Dilakukan pemanasan seluruh bahan tersebut hingga mendidih. Kemudian disterilisasi selama 15 menit pada suhu 121 °C.

## 3. Pereaksi Kovacs

### Bahan

- *p*-Dimethylaminobenzaldehyde 5 g
- *Amyl alcohol* 75 mL
- HCl (*concentrate*) 25 mL

Dilartukan *p*-Dimethylaminobenzaldehyde dalam *amyl alcohol*, ditambahkan HCl secara perlahan. Simpan pada suhu 4 °C. Untuk uji *indol* tambahkan 0,2 mL – 0,3 mL ke dalam kultur bakteri dalam *tryptone broth*. Warna merah pada permukaan lapisan menunjukkan reaksi positif.

## 4. Pereaksi VP

### Larutan 1

- Alpha naphthol 5 g
- Alcohol 100 mL

### Larutan 2

- KOH 0,1 g
- Aquades 100 mL

### Cara uji VP :

Dipindahkan 1mL kultur yang telah diinkubasi 48 jam dan ditambahkan 0,6 mL larutan 1 dan 0,2 mL larutan 2. Dilakukan pengadukan, untuk mempercepat reaksi tambahkan sedikit kreatin. Simpan pada suhu ruang selama 4 jam. Reaksi positif jika terbentuk warna merah muda *eosin* sampai merah mirah delima (*ruby*).

## 5. Indikator methyl red

- *Methyl red* 0,1 g
- *Ethanol 95%* 300 mL

Dilartukan *methyl red* dalam *ethanol* dan tepatkan dengan *Aquades* hingga 500 ml.

## b. Pembuatan Media

Media uji merupakan seam substami yang komposisinya terdiri dari nutrisi tertentu yang diperlukan untuk menumbuhkan dan mempelajari sifat-sifat bakteri. Komposisi nutrisi media yang komplit mengandung sumber karbon, nitrogen, belerang, fosfat, logam mikro, vitamin, penyubur, NaCl dan air. Media diferensial merupakan media yang dapat menumbuhkan beberapa jenis bakteri dan menyebabkan koloni-koloni suatu bakteri tertentu mendapatkan bentuk yang khas. Media ini menumbuhkan bakteri kelompok Enterobacteriaceae, salah satunya adalah *Esherichia coli* yang akan tumbuh dengan membentuk koloni berwarna spesifik dengan ciri-ciri bentuk bulat, diameter 2-3 mm, warna hijau dengan kilap logam dan bintik biru kehijauan di tengahnya (Fatiqin et al., 2019).

Adapun Langkah pembuatan media yang dilsanakan pada saat penelitian di laboratorium BKIPM berdasarkan SNI 2332.1:2015 adalah sebagai berikut:

### 1. *Lauryl Tryptose Broth* (LTB)

Tryptose atau trypticase	20g
Lactose	5g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2,75g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2,75g
NaCl	5 g
Sodium lauryl sulfat	0,1g
Aquades	1L

Adapun Langkah kerja yang dilakukan dalam membuat media LTB adalah dilakukan pencampuran bahan bahan, dan dituang sebanyak 9ml kedalam tabung reaksi yang telah diisi tabung

durham.dilakukan sterilisasi selama 15menit menggunakan autoclave pada suhu 121°C(Indonesia & Nasional, 2015).

## 2. EC Broth

Trypticase atau tryptose	20g
Bile salt No.	31,5g
Lactose	5g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,5g
NaCl	5g
Aquades	1L

Adapun Langkah kerja yang dilakukan dalam membuat media EC-Broth adalah dilakukan pencampuran bahan bahan, kemudian dilakukan penuangan sebanyak 9ml kedalam tabung reaksi yang telah berisi tabung durham, setelah itu dilakukan sterilisasi menggunakan autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C(Indonesia & Nasional, 2015).

## 3. Levine's Oesin Methylene Blue (L-EMB) Agar

Peptone	10g
Lactose	10g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2g
Bacto agari	15g
Eosin	0,4g
Methylene blue	0,065g
Aquades	1L

Adapun Langkah kerja yang dilakukan dalam membuat media L-EMBagar adalah dilakukan pelarutan pesptone, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> dan agar kedalam 1L aquades. Diambil 100ml campuran dan disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian ditambahkan 5ml lactose steril dan 2ml larutan eosin serta 4,3ml methylene blue, kemudian didihkan kembali pada suhu 121°C selama 15 menit.

## 4. MR/VP Broth

<u>Media 1</u>		<u>Media 2</u>	
Buffered peptone water powder	7g	Pancreatic digest casein	3,5g
Glucose	5g	Peptic digest	3,5g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	5g	Dextrode	5g
Aquades	1L	Potassium phosphate	5g
		Aquades	1L

Adapun langkah kerja yang dilakukan dalam membuat media MRVP Broth adalah dilakukan pencampuran semua bahan kedalam aquades. Kemudian dituang kedalam tabung reaksi 10ml. dilakukan sterilisasi selama 15 menit pada suhu 121°C.

## 5. Simmone Citrate Agar

<i>Sodium citrate</i>	2 g
NaCl	5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1 g
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 g
MgSO <sub>4</sub>	0,2 g
<i>Bromthymol blue</i>	0,08 g
<i>Bacto agar</i>	15 g
<i>Aquades</i>	1 L

Dilakukan pengadukan dan didihkan 1 menit – 2 menit sampai seluruh agar larut. Pipet ke dalam tabung ukuran 16 mm x 150 mm. Dilakukan sterilisasi selama 15 menit pada suhu 118 °C –

121 °C. Sebelum beku miringkan tabung hingga memperoleh agar miring 4 cm – 5 cm dan agar tegak 2 cm – 3 cm.

#### 6. Plate Count Agar (PCA)

Tryptone	5 g
Yeast extract	22,5 g
Dextrose	1 g
Bacto agar	15 g
Aquades	1 L

Dilakukan pemanasan pada seluruh bahan tersebut hingga mendidih. Sterilisasi selama 15 menit pada suhu 121°C.

#### Uji Mikrobiologi Bakteri *E. coli* pada Daging Ikan Tuna

Uji mikrobiologi merupakan suatu metode yang dilakukan untuk mengetahui keberadaan mikroorganisme yang terdapat didalam sebuah sample baik produk makanan maupun minuman. Penentuan mutu ikan segar maupun ikan olahan melalui uji mikrobiologi sangat penting dilakukan untuk mengetahui mutu dan keamanan produk sehingga dapat mencegah terjadinya kontaminasi akibat keracunan makanan borne disease bakteri patogen atau food (FBD) yang disebabkan mikroba masuk kedalam tubuh bersama makanan (Mailoa et al., 2019). prosedur uji mikrobiologi bakteri *E. coli* yang terdapat dalam daging ikan tuna yang dilaksanakan pada saat kegiatan penelitian adalah sebagai berikut:

##### a. Preparasi Sample

Preparasi sample merupakan tahap awal yang dilakukan untuk mengetahui cemaran bakteri *E. coli* yang terdapat dalam daging ikan tuna, Adapun langkah kerja yang dilakukan dalam preparasi sample adalah: a). Diambil sample dari lemari penyimpanan. Sample yang digunakan adalah baby tuna dengan kode (BT) dan tuna filed dengan kode (TF), b). Dilakukan pemotongan dan penimbangan sample ikan tuna. Berat sample yang digunakan sebagai bahan pengujian adalah 25gr. Sample yang telah ditimbang dimasukkan kedalam kantong sample, c). Dilakukan penambahan larutan BPB sebanyak 225ml kedalam kantong sample, d). Dilakukan homogenisasi sample menggunakan alat stomacher. Homogenate ini merupakan larutan dengan pengenceran  $10^{-1}$ .



a. Pemotongan sample ikan tuna



b. Penimbangan sample



c. Penambahan larutan BPB



d. Homogenisasi sample

**Gambar 3. Preparasi Sample Ikan Tuna**

##### b. Uji Pendugaan *E. coli*

Setelah dilakukan preparasi sample, Langkah selanjutnya yang dilakukan adalah uji pendugaan bakteri *E. coli* pada daging ikan tuna. Uji pendugaan dilakukan untuk mengetahui keberadaan bakteri *E. coli* dalam daging ikan tuna. Berdasarkan kegiatan penelitian yang telah dilaksanakan, uji pendugaan *E. coli* dilakukan dengan cara menginokulasi masing masing 1ml larutan sampel kedalam tabung yang berisi tabung durham dan 9ml media LTB. Kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C.

## 1. Uji Selective *E. coli* Media LTB



Inokulasi bakteri media LTB



Setelah inkubasi media LTB

**Gambar 4. Uji pendugaan *E coli* media LTB**

Adapun Langkah yang dilakukan dalam uji selective media LTB adalah sebagai berikut: a) Dilakukan pengenceran sample  $10^{-2}$  dengan cara memasukkan larutan 10-1 kedalam tabung reaksi yang telah berisi 9ml larutan BPB. Pengenceran dilakukan hingga  $10^{-5}$ , b). disiapkan tabung yang telah berisi tabung durham dan media LTB. Dilakukan inokulasi sample kedalam media LTB menggunakan mikro pipet dengan cara mengambil 1 ml sample dari setiap tabung pengenceran dan dimasukkan kedalam tabung LTB, c). dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu  $35^{\circ}\text{C}$ , d). dilakukan pengamatan, tabung positif ditandai adanya kekeruhan dan terdapat gas atau gelembung udara didalam tabung durham. Berikut adalah tabel hasil pengamatan uji selective media LTB

**Tabel 1. Hasil pengamatan uji pendugaan media selective LTB**

Pengenceran ke-	Baby tuna (BT)		Tuna filed (TF)	
	Gas	Kekeruhan	Gas	Kekeruhan
$10^{-1}$	-	-	-	-
$10^{-2}$	-	-	-	-
$10^{-3}$	-	-	+	+
$10^{-4}$	-	-	-	-
$10^{-5}$	-	-	-	-

Ke: (-) : hasil negative  
(+): hasil positif

Berdasarkan tabel hasil pengamatan dapat diketahui bahwa sample tuna filed (TF) pada pengenceran  $10^{-3}$  terdapat gas dalam tabung durham serta terdapat warna kekeruhan, hal ini mengindikasikan dugaan adanya bakteri *E. coli* dalam larutan tersebut. Menurut Imamah et al (2021) menyatakan bahwa hasil tabung yang positive ditandai dengan adanya kekeruhan dan gas pada tabung durham. Setelah dipastikan adanya kekeruhan dan gas pada sample TF  $10^{-3}$ , maka pengujian selanjutnya yang dilakukan adalah uji konfirmasi *E. coli* di media selective EC Broth. Langkahnya adalah dengan menginokulasi 1ml sample dari tabung LTB (TF-3) yang positif kedalam 9ml media EC Broth. Setelah itu dilakukan inkubasi pada suhu  $35^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Berikut tabel hasil pengamatan media EC Broth.

## 2. Uji Selective Media EC- Broth



Inokulasi bakteri media EC-broth



Setelah inkubasi media EC-broth

**Gambar 5. Uji pendugaan *E coli* media EC-broth**

Adapun langkah kerja yang telah dilakukan dalam uji selective media EC- *Broth* adalah: a). dilakukan inokulasi sample positif *E. coli* dari media LTB kedalam tabung media EC-Broth yang telah berisi tabung durham menggunakan jarum ose yang telah disterilisasi menggunakan Bunsen, b). dilakukan inkubasi sample pada suhu 35°C selama 24 jam, c). dilakukan pengamatan, sample positif menunjukkan reaksi kekeruhan dan terdapat ges didalam tabung durham. Berikut adalah tabel hasil pengamatan dalam media EC- *Broth*.

**Tabel 2. Hasil pengamatan media EC *Broth***

Media	Gas	Kekeruhan
EC <i>Broth</i>	+	+

Ket. (+): positif  
 (-): negatif

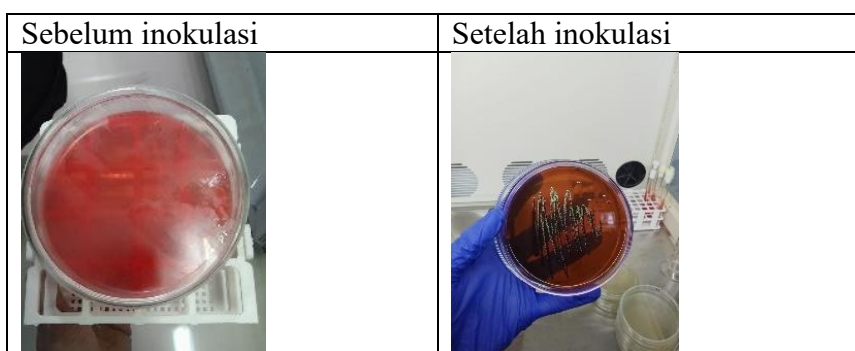
Berdasarkan tabel hasil pengamatan, dapat diketahui bahwa inokulasi pada media EC *Broth* menunjukkan adanya kekeruhan dan gelembung gas dalam tabung durham. Adanya reaksi berupa kekeruhan dan gelembung gas yang terdapat dalam tabung durham mengindikasikan adanya bakteri *E. coli* dalam larutan sample. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Alda et al., (2024) Gelembung gas yang terperangkap dalam tabung Durham merupakan hasil fermentasi laktosa dalam medium oleh bakteri Gram negatif seperti *Escherichia coli*.

**c. Uji Penegasan Bakteri *E. coli***

Uji penegasan *E. coli* merupakan uji lanjutan dari uji pendahuluan untuk lebih memastikan lagi adanya bakteri *E. coli* atau tidak (Alda et al., 2024). Apabila koloni atau warnanya samar maka perlu dilakukan uji penegasan untuk memastikan bahwa media yang tumbuh tersebut adalah bakteri *E. coli*. Pada kegiatan penelitian di BKIPM, uji penegasan *E. coli* dilakukan menggunakan media selektif L-EMB dan media PCA miring.

**1. Uji Penegasan Media L-EMB**

Adapun langkah kerja yang dilakukan pada saat pengujian L-EMB adalah: a). dilakukan inokulasi sampel dari media EC *Broth* ke media L-EMB dengan menggunakan jarum ose steril, b). dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C, c). melakukan pengamatan koloni *E. coli* terduga memberikan ciri yang khas (*typical*) yaitu hitam pada bagian tengah, datar dan dengan atau tanpa hijau metalik. Adapun gambar hasil pengamatan dari media L-EMB adalah sebagai berikut:

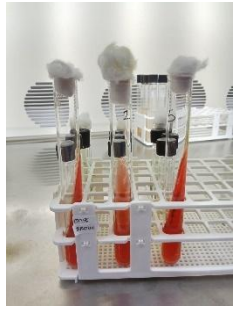


**Gambar 6. Pengamatan Media L-EMB**

Berdasarkan tabel hasil pengamatan dapat diketahui bahwa adanya pertumbuhan mikroba berwarna hijau metalik kehitaman, hal ini mengindikasikan bahwa mikroba yang tumbuh pada media tersebut merupakan *E. coli*. Menurut Fatiqin et al (2019), menyatakan bahwa bakteri *E. coli* ditunjukkan dengan adanya koloni berwarna hijau metalik mengkilat dengan titik hitam dibagian tengah koloni yang tumbuh pada media Eosin Methylene Blue Agar (EMBA). Warna hijau metalik mengkilat menunjukkan *E. coli* dapat memfermentasi laktosa menghasilkan produk akhir bersifat asam kuat.

## 2. Uji Pendugaan Media PCA Miring

Setelah dilakukan uji selektif menggunakan media L-EMB, Langkah selanjutnya adalah melakukan inokulasi menggunakan media PCA miring, inokulasi ini merupakan tahap pengkayaan bakteri *E. coli*, tujuannya adalah untuk mengetahui keberadaan dan pertumbuhan *E. coli* dalam sample. Adapun Langkah kerja yang dilaksanakan dalam kegiatan ini adalah: a). menginokulasi koloni bakteri dari media selektif L-EMB ke media selektif PCA miring menggunakan jarum ose. Diinkubasi selama 18 jam - 24 jam pada suhu 35 °C dan digunakan untuk pengujian selanjutnya. Hasil pertumbuhan dari pertumbuhan di PCA miring dapat di hitung menggunakan alat koloni counter (Amalia et al., 2015).



Inokulasi *E. coli* media PCA miring

Hasil pengamatan media PCA miring

**Gambar 7. Inokulasi bakteri media PCA miring**

### d. Uji Biokimia Bakteri *E. coli* pada Daging Ikan Tuna

Uji biokimia dilakukan untuk mengidentifikasi dan mengkonfirmasi sifat karakteristik bakteri *E. coli* dalam sample ikan tuna. Adapun beberapa uji kimia *E. coli* yang dilakukan pada saat kegiatan penelitian diantaranya uji indol untuk mengetahui kemampuan *E. coli* memecah triptofan menjadi indol yang bereaksi dengan pereaksi kovac's dan menghasilkan cincin merah dipermukaan media, uji *Methyl Red* (MR) untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan asam kuat selama fermentasi glukosa, uji *Voges- Proskauer* (VP) untuk mengetahui produksi asetoin dari fermentasi glukosa, dan uji *Citrate* untuk mengetahui kemampuan *E. coli* menggunakan Citrate sebagai satu- satunya sumber karbon. Adapun Langkah kerja yang dilakukan dalam media ini adalah dengan menginokulasi bakteri dari PCA miring kedalam masing masing media. Berdasarkan uji biokimia yang telah dilakukan, didapatkan hasil pengamatan sebagai berikut:

**Tabel 3. Interpretasi hasil uji biokimia *E. coli***

Kriteria	Tuna filed
Indol	—
Methyl Red (MR)	-
Voges Proskauer (VP)	-
Sitrat	-

Ket: (+): hasil positif  
(-): hasil negatif

Berdasarkan tabel hasil pengamatan dapat diketahui bahwa produksi indol negative, tidak ada perubahan warna sampel setelah diberi peraksi kovac's yang artinya mikroba yang terdapat dalam sample tidak dapat memecah triftofan menjadi indol. Hasil positif ditunjukkan pada uji indole yang ditunjukkan dengan adanya bentukan cincin merah pada media SIM dan motility yang terlihat dari kekaburan yang terjadi pada media di daerah sekitar tusukan(Kristiawan et al., 2022)

Pada uji MR/ VP juga menunjukkan hasil negative, artinya koloni bakteri tidak dapat menghasilkan asam kuat selama fermentasi glukosa serta tidak mampu memproduksi asetoin dari fermentasi glukosa. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan warna pada sample setelah ditetesi 5 tetes pereaksi *Methyl Red*, *alpha naphthol* dan 40%KOH. Sedangkan pada uji sitrat dapat

dilihat bahwa hasilnya juga negative, media sitrat tetap berwarna hijau dan tidak mengalami perubahan warna, artinya mikroba tidak mampu menggunakan sitrate sebagai satu satunya sumber karbon. Berdasarkan Barrow dan Feltham (2003) dalam Fatiqin et al., (2019), bakteri *E. coli* tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbon dan tidak mengubah urea menjadi amoniak sehingga pada uji sitrat dan uji urease dinyatakan negatif.

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan dapat dipastikan bahwa sample ikan tuna dan baby tuna yang diuji adalah negative *E. coli*. *Escherichia coli* dapat tumbuh dengan cepat pada suhu 30-42°C, tumbuh lambat pada suhu 44-45°C, dan tidak dapat tumbuh pada suhu 10°C atau lebih rendah. Strain ini resisten terhadap pH 4,5 atau lebih rendah. Bakteri akan mati pada suhu pasteurisasi 64,3°C selama 9,6 detik, tetapi sel dapat bertahan hidup pada pangan dengan suhu -20°C (Sopandi dan Wardah, 2014). *Escherichia coli*, adalah salah satu jenis spesies utama bakteri gram negatif. *E. coli* merupakan indikator dari kontaminan dengan sumber/ bahan fekal. Habitat alami dari *E. coli* adalah saluran pencernaan bawah hewan dan manusia (Arlita, 2008).

## PENUTUP

### Simpulan

Adapun kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah Identifikasi bakteri *E. coli* pada daging ikan tuna yang dilaksanakan di BKIPM dimulai dari sterilisasi alat, preparasi sample, uji pendugaan menggunakan media LTB dan EC\_Broth, uji penegasan menggunakan media L-EMB dan PCA, serta uji biokimia yang meliputi uji indol, uji MR/VP, dan uji sitrate. Berdasarkan hasil uji dilaboratorium BKIPM, sampel ikan baby tuna dan tuna filed dinyatakan negative *E. coli* sehingga aman untuk di konsumsi.

### Saran

Berdasarkan kegiatan penelitian yang telah dilaksanakan, Adapun saran yang dapat penulis berikan adalah pengujian mikrobiologi pada daging ikan tuna sebaiknya lebih sering dilakukan untuk memastikan keamanan produk hasil perikanan yang beredar di Masyarakat khususnya di pasar pasar domestic yang ada di NTB. Sosialisasi tentang tata cara penanganan hasil tangkap ikan tuna yang baik dan benar sebaiknya lebih sering dilakukan guna meminimalisir resiko infeksi bakteri yang menyebabkan penyakit jika di konsumsi

## DAFTAR PUSTAKA

- Al, H., Manaf, A., Retnowati, W., & Indrawati, R. (2018). *Saudi Journal of Pathology and Microbiology (SJPM) Antibacterial Effect of Siwak (Salvadora persica) Against Pseudomonas aeruginosa*. 3362, 18–21. <https://doi.org/10.21276/sjpm.2018.3.10.10>
- Alda, Tenriawaru, E. P., & Sohriati, E. (2024). Deteksi cemaran bakteri *Escherichia coli* pada Kerang Kijing Taiwan (*Anadonta woodiana*) di Desa Bosso Timur Kecamatan Walenrang Utara Kabupaten Luwu. *Cokroaminoto Journal of Biological Science*, 6(1), 2723–6281.
- Amalia, E., Soeprapto, H., & Syakirin, M. B. (2015). Analisis Bakteri *Escherichia coli* pada budidaya Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Tambak-tambak Kota Pekalongan. In *PENA Akuatika* (Vol. 14, Issue 1).
- Damayanti, A. A., Buhari, N., Gigentika, S., Baroqi, R. A., Wildan, Timur, P. S., Amrollah, Rustandi, S., & Umam, M. (2023). The biological characteristics of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the Indian Ocean, south of Nusa Tenggara (FMA 573), Indonesia. *AACL Bioflux*, 16(5), 2419–2433.
- Fatiqin, A., Novita, R., & Apriani, I. (2019). PENGUJIAN SALMONELLA DENGAN MENGGUNAKAN MEDIA SSA DAN *E. coli* MENGGUNAKAN MEDIA EMBA PADA BAHAN PANGAN. *Indobiosains*, 1(1), 22–29. <https://doi.org/10.31851/indobiosains.v1i1.2206>
- Imamah, P. N., Efendy, M., Studi, P., Kelautan, I., Universitas, F. P., Madura, T., Ikan, K., &

- Sampang, K. (2021). *ANALISIS CEMARAN BAKTERI Escherichia coli PADA DAGING IKAN PELAGIS KECIL ( Studi Kasus ) DI PERAIRAN LAUT UTARA DAN SELATAN KABUPATEN*. 2(1), 17–24.
- Indonesia, S. N., & Nasional, B. S. (2015). *Cara uji mikrobiologi - Bagian 1 : Penentuan koliform dan Escherichia coli pada produk perikanan*.
- Kristiawan, V., Mahatmi, H., Sudipa, P. H., & Rahmadani, D. (2022). Bakteri Escherichia coli Teridentifikasi pada Rektum Lumba-Lumba Hidung Botol Indo-Pasifik di Umah Lumba Rehabilitation Center, Taman Nasional Bali Barat. *Indonesia Medicus Veterinus*, 11(2), 234–245. <https://doi.org/10.19087/imv.2022.11.2.234>
- Mailoa, M. N., Lokollo, E., Nendissa, D. M., & Harsono, P. I. (2019). Karakteristik Mikrobiologi dan Kimiawi Ikan Tuna Asap. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 22(1), 89–99. <https://core.ac.uk/download/pdf/291864206.pdf>
- Wulandari, S., Nisa, Y. S., Taryono, T., Indarti, S., & Sayekti, R. S. (2022). Sterilisasi Peralatan dan Media Kultur Jaringan. *Agrotechnology Innovation (Agrinova)*, 4(2), 16. <https://doi.org/10.22146/a.77010>