



LAPORAN AKHIR PKM-PENELITIAN

BAKTERI ASAM LAKTAT ASAL BEKASAM SEBAGAI PENGAWET ALAMI FILLET IKAN KAKAP PENGGANTI FORMALIN PADA SUHU *CHILLING*

Diusulkan oleh :

Lolyta Nur Atika	C34100023	(2010, Ketua Kelompok)
Rahmawati	C34100008	(2010, Anggota Kelompok)
Hamasyah Hamzah M	C34110034	(2011, Anggota Kelompok)
Muhamad Yunus	C24110036	(2011, Anggota Kelompok)

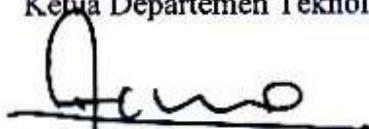
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2014

PENGESAHAN PKM-P

1. Judul Kegiatan : Bakteri Asam Laktat Asal Bekasam sebagai Pengawet Alami *Fillet* Ikan Kakap Pengganti Formalin pada Suhu *Chilling*
2. Bidang Kegiatan : PKM-P
3. Ketua Pelaksana
- a. Nama Lengkap : Lolyta Nur Atika
 - b. NIM : C34100023
 - c. Jurusan : Teknologi Hasil Perairan
 - d. Universitas / Institut : Institut Pertanian Bogor
 - e. Alamat Rumah / No. HP : Babakan tengah, Wisma RZ no.9 Dramaga Bogor/ 085890552323
 - f. Alamat email : lollytana@gmail.com
4. Anggota Pelaksana Kegiatan : 4 orang
5. Dosen Pendamping :
- a. Nama Lengkap dan Gelar : Dr. Desniar, SPi, MSi.
 - b. NIDN : 0024127003
 - c. Alamat Rumah dan No.HP : Jl Dahlia no. 58. Perumahan Cibeureum, Caringin, Bogor.
6. Biaya Kegiatan Total :
- a. DIKTI : Rp 11.217.000,-
 - b. Sumber Lain : -
7. Jangka Waktu Pelaksanaan : 4 bulan

Bogor, 10 Juni 2014

Menyetujui,
Ketua Departemen Teknologi Hasil Perairan



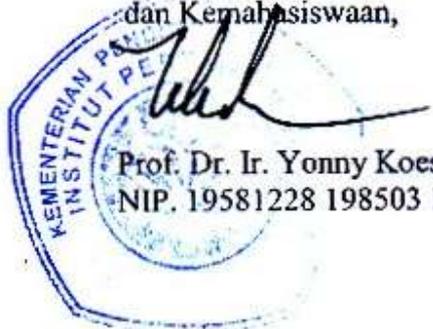
Prof. Dr. Ir. Joko Santoso, M.Si
NIP. 19670922 199203 1 003

Ketua Pelaksana Kegiatan



Lolyta Nur Atika
NIM. C34100023

Wakil Rektor Bidang Akademik
dan Kemahasiswaan,



Prof. Dr. Ir. Yonny Koesmaryono, MS
NIP. 19581228 198503 1 003

Dosen Pendamping



Dr. Desniar, Spi, M.Si
NIP. 19701224 199702 2 001

ABSTRAK

Penggunaan formalin pada pengawetan ikan kian merebak, sehingga diperlukan adanya pengawet alami yang aman untuk konsumen dan lingkungan. Bakteri asam laktat (BAL) yang aman untuk dikonsumsi dapat menghasilkan metabolit berupa bakteriosin, H₂O₂ dan asam-asam organik yang dapat mematikan bakteri patogen dan pembusuk, sehingga diharapkan dapat memperpanjang masa simpan filet ikan kakap pada suhu *chilling*. Bakteri yang digunakan yaitu *Lactobacillus* sp. yang berasal dari bekasam. Filet kakap diberi perlakuan dengan penambahan sel bakteri (P), dan filet tanpa perlakuan (N) serta dibandingkan dengan formalin 4% (F). Masing-masing fillet kemudian diinkubasi pada suhu *chilling*. Hasil analisis *Total Volatile Base* (TVB), pH, *Total Plate Count* (TPC) dan Total BAL menunjukkan bahwa filet kakap sudah tidak layak konsumsi adalah yaitu pada filet kontrol (N) rentang hari 4-7 inkubasi, pada filet dengan penambahan BAL (P) pada rentang 7-9 hari. Filet dengan formalin masih belum mengalami pembusukan pada hari ke-11 dan berbeda dengan filet dengan penambahan bakteri. Sel Bakteri asam laktat dapat diduga tidak dapat menggantikan formalin dari segi lama penyimpanan, namun perlakuan ini (P) dapat memperpanjang masa simpan filet 3-4 hari dibanding dengan filet tanpa perlakuan (N).

Kata kunci: filet, *Lactobacillus* sp., pH, Total BAL, TPC, TVB.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT, karena atas rahmat dan karunia-Nya sehingga kami dapat menyelesaikan Laporan akhir Program Kreatifitas Mahasiswa bidang Penelitian dengan judul Bakteri Asam Laktat Asal Bekasam Sebagai Pengawet Alami Filet Ikan Kakap Pada Suhu *Chilling*. Laporan akhir ini merupakan salah satu Pertanggungjawaban kami terhadap usulan yang telah kami ajukan dalam bentuk proposal dan didanai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi.

Pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dorongan hingga kami dapat menyelesaikan penelitian, laporan kemajuan, log book, hingga laporan akhir, yaitu:

- 1 Dr.Desniar, SPi, MSi selaku dosen pendamping yang telah memberikan pengarahan dalam proses PKM ini
- 2 Prof. Dr Ir Joko Santoso, Msi, selaku ketua Departemen Teknologi Hasil Perairan
- 3 Ibu Ema Masruroh, SSI; Dini Indriani, AMd; dan Annisa Saskia SPi yang telah membantu kami selama penelitian di Laboratorium,
- 4 Teman teman seperjuangan dalam laboratorium

Penulis menyadari bahwa penulisan Laporan akhir ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak sangat diharapkan. Semoga Laporan ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang memerlukannya dan dapat menjadi laporan akhir yang baik dalam pertanggung jawaban dana PKM ini .

Bogor, 10 Juni 2014

Tim Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
PENDAHULUAN.....	1
Perumusan Masalah	2
Tujuan	2
TINJAUAN PUSTAKA	2
Bakteri Asam Laktat	2
Bahaya Formalin.....	3
Bakteri Asam Laktat sebagai Biopreservative.....	3
METODE PENELITIAN	4
Waktu dan Tempat.....	4
Bahan dan Alat	4
Prosedur Penelitian	4
Pembuatan kultur bakteri asam laktat.....	4
Uji pengawetan fillet ikan dari sel bakteri dan media kultur BAL.....	5
Pengukuran pH (AOAC 1995)	5
Analisis TVB (<i>Total volatile base</i>) (AOAC 1995).....	5
TPC (<i>Total Plate Count</i>) (modifikasi SNI 01-2332.3-2006).....	6
Total Bakteri Asam Laktat (Fardiaz 1992).....	6
HASIL YANG DICAPAI	7
Tahap Kultivasi Bakteri	7
<i>Total Volatile Base</i> (TVB).....	7
Nilai pH	9
<i>Total Plate Count</i> (TPC).....	10
Total Bakteri Asam Laktat.....	11
KESIMPULAN DAN SARAN	12
Kesimpulan	12
Saran	12
DAFTAR PUSTAKA	12
LAMPIRAN.....	15

PENDAHULUAN

Ikan merupakan salah satu bahan pangan yang mudah mengalami kemunduran mutu atau *perishable food*, namun ikan memiliki kandungan gizi yang dapat memenuhi kebutuhan manusia terutama untuk anak-anak yang memerlukan perkembangan dan kecerdasan otak (Nilawati 2006). Ikan yang mudah mengalami pembusukan tersebut maka banyak cara untuk mengawetkan ikan. Salah satu jenis ikan yang mempunyai nilai ekonomis dan banyak di konsumsi masyarakat dalam bentuk segar adalah ikan kakap.

Penanganan ikan yang baik perlu dilakukan agar ikan masih dalam keadaan segar saat sampai ke konsumen. Salah satu bentuk penanganan ikan adalah membuatnya menjadi *fillet*, akan tetapi *fillet* ikan merupakan media yang sangat baik bagi pertumbuhan bakteri, baik bakteri patogen dan bakteri pembusukan. Metode pendinginan dianggap cukup efektif dalam menjaga kesegaran dan mempertahankan mutu *fillet* ikan, namun pada beberapa proses penanganan ikan sering tidak dapat dilakukan metode pendinginan yang baik sehingga sering dilakukan cara lain, yaitu dengan penambahan bahan pengawet kimia buatan (*food additive*). Terdapat beberapa zat pengawet yang dapat memperpanjang masa simpan ikan, yaitu meliputi pengawet alami dan pengawet sintetis. Pengawet sintetis yang telah banyak digunakan adalah nitrit, nitrat dan sulfat. Penggunaan beberapa pengawet sintetis masih dalam kontroversi, baik dalam jenis maupun dosis yang digunakan. Hal ini disebabkan karena pengawet sintetis pada dosis tertentu dapat menjadi komponen toksik ataupun bersifat karsinogenik pada manusia, bahkan terdapat beberapa oknum yang ditemukan menggunakan bahan pengawet yang berbahaya seperti formalin. Pane (2009) menemukan bahwa Formalin pernah ditemukan pada ikan asin teri medan, ebi, ikan asin kristal, ikan gembung aso, udang dan cumi-cumi segar pada hasil penelitiannya. Bahkan Dinas Kelautan dan Pertanian DKI Jakarta (2012) menemukan adanya kandungan formalin dalam makanan segar di supermarket. Terdapat 22 sampel yang diambil dari ikan segar, ikan olahan basah dan kering, dan juga ikan beku hasilnya ada 3 yang positif mengandung formalin yaitu salmon *fillet*, otak-otak ikan, dan telur ikan. Hal ini sangat membahayakan kesehatan konsumen, oleh karena itu diperlukan pengawet dapat memperpanjang daya simpan walau berada di suhu *chilling* dan dapat menggantikan formalin. Pengurangan penggunaan bahan pengawet kimia buatan dapat menjadi alternatif penanganan lain yang dapat menekan pertumbuhan mikroba yang lebih alami dan aman.

Bakteri asam laktat merupakan bakteri gram positif yang sangat menguntungkan manusia. Pemanfaatan yang sudah ada yaitu berupa minuman probiotik fermentasi yang membantu kesehatan tubuh manusia karena dapat mengatur keseimbangan flora normal dalam sistem pencernaan manusia. Salah satu bakteri asam laktat yang menguntungkan yaitu dari genus *Lactobacillus* yang dapat memberikan efek yang menguntungkan bagi kesehatan seperti penanggulangan diare, meningkatkan sistem imun tubuh, menurunkan kadar kolesterol, pencegahan kanker kolon dan usus dan penanggulangan dermatitis atopik pada anak-anak. Bakteri asam laktat dapat menghasilkan metabolit berupa bakteriosin yang dapat mematikan bakteri gram positif yaitu seperti bakteri pembusuk dan bakteri patogen serta aman dikonsumsi. Ross *et al.* (2002)

menyatakan bahwa beberapa asam organik seperti asam laktat, asetat dan propionat yang dihasilkan sebagai produk akhir bakteri asam laktat dapat memberikan lingkungan yang asam, sehingga tidak menguntungkan untuk pertumbuhan beberapa mikroorganisme patogen dan pembusuk. Bakteri asam laktat dapat diperoleh dari produk hasil fermentasi salah satunya yaitu bekasam. Bekasam merupakan bentuk olahan fermentasi ikan tawar khas Indonesia. Salah satu jenis bakteri yang telah berhasil diidentifikasi dari produk olahan bekasam yaitu oleh Desniar (2012) adalah *Lactobacillus plantarum* SK5. Kelebihan-kelebihan dari bakteri asam laktat ini diharapkan dapat diaplikasikan sebagai pengawet fillet ikan kakap agar memperpanjang daya simpan pada suhu *chilling* untuk pengganti formalin dan bahan lain yang berbahaya bagi kesehatan konsumen.

Perumusan Masalah

Proses pengawetan filet ikan untuk dipertahankan agar tetap segar sangatlah penting. Hal ini dikarenakan sifat bahan pangan filet ikan yang mudah mengalami kebusukan. Pendinginan pada suhu *chilling* merupakan salah satu proses mempertahankan mutu yang banyak diaplikasikan pada swalayan, namun daya tahannya hanya dapat mencapai 4-6 hari. Hal ini masih belum cukup untuk memperpanjang masa simpan fillet karena masih ada ditemukannya penyalahgunaan formalin dalam pengawetan ikan yang membahayakan konsumen. Kemampuan bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* SK5 asal bekasam telah dilaporkan memiliki aktivitas yang tinggi dalam antimikrob bakteri patogen dalam makanan. Namun belum ada data yang menampilkan tentang kemampuannya dalam pengawetan filet dalam suhu *chilling*.

Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memanfaatkan bakteri asam laktat asal bekasam sebagai pengawet alami filet ikan kakap pada suhu *chilling*. Luaran yang diharapkan setelah dilakukannya penelitian ini adalah adanya bahan pengawet alami yang dapat memperpanjang daya simpan filet ikan kakap pada suhu *chilling*. Penelitian ini diharapkan juga memberikan manfaat bagi masyarakat umum, perkembangan industri perikanan dan bidang keilmuan. Manfaat jangka panjang dari penelitian ini untuk masyarakat umum diantaranya adanya pengawet alami pengganti formalin yang aman, pengawet alami dalam memperpanjang masa simpan filet ikan pada suhu *chilling* baik dalam penyimpanan atau penyajian dalam penjualan baik di supermarket, pasar tradisional atau rumah tangga. Manfaat bagi industri perikanan antara lain menekan biaya produksi dari sistem rantai dingin atau pembekuan dalam jangka waktu tertentu. Manfaat bagi keilmuan diantaranya adalah artikel ilmiah yang memuat informasi pemanfaatan bakteri asam laktat sebagai pengawet alami filet ikan kakap.

TINJAUAN PUSTAKA

Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat merupakan bakteri gram positif yang menghasilkan asam laktat dari suatu proses fermentasi. Bakteri asam laktat terbagi menjadi homofermentatif dan heterofermentatif berdasarkan tipe fermentasinya. Kelompok

tersebut sama-sama menghasilkan bakteri asam laktat, namun hanya kelompok heterofermentatif yang menghasilkan hasil sampingan senyawa lain yaitu CO₂, etanol, asetaldehid, diasetil, H₂O₂, bakteriosin. Bakteri yang termasuk ke dalam bakteri asam laktat yaitu famili Lactobacillaceae, yaitu *Lactobacillus*, dan famili Streptococcaceae, terutama *Leuconostoc*, *Streptococcus* dan *Pediococcus*. *Streptococcus*, *Pediococcus* dan beberapa spesies *Lactobacillus* bersifat homofermentatif, sedangkan *Leuconostoc* dan spesies *Lactobacillus* yang lain bersifat heterofermentatif (Fardiaz 1992).

Ross *et al.* (2002) menyatakan bahwa beberapa asam organik seperti asam laktat, asetat dan propionat dihasilkan sebagai produk akhir yang memberikan lingkungan asam sehingga tidak menguntungkan untuk pertumbuhan beberapa mikroorganisme patogen dan pembusuk. Sebagian bakteriosin dari BAL adalah kationik, hidrofobik atau molekul amphifilik yang terdiri atas 20-60 residu asam amino. Beberapa BAL menghasilkan keragaman bakteriosin yang tinggi, sangat aktif terhadap patogen, dan berpotensi sebagai preservatif makanan (Cleveland *et al.* 2001). Aktivitas H₂O₂ terhadap bakteri Gram positif, termasuk BAL, umumnya bakteristatik, sedangkan beberapa bakteri Gram negatif lebih cepat terbunuh (Ouweland dan Vesterlund 2004).

Bahaya Formalin

Formalin merupakan cairan jernih tidak berwarna atau hampir tidak berwarna, bau menusuk, uap merangsang selaput lendir hidung dan tenggorokan. Formalin larut dalam air dan dengan etanol 95%. Larutan formalin mengandung formaldehida dan metanol sebagai stabilisator, dengan kadar formaldehida tidak kurang dari 34,0% dan tidak lebih dari 38,0%. Formalin dapat masuk ke dalam tubuh dengan jalan inhalasi uap, kontak langsung dengan larutan yang mengandung formalin atau dengan jalan memakan atau meminum makanan yang mengandung formalin (Cahyadi 2006). Jika formalin terhirup (inhalasi) lewat pernafasan akan segera diabsorpsi ke paru-paru dan menyebabkan paparan akut berupa pusing kepala, rinitis, rasa terbakar dan lakrimasi, bronkhitis, edema pulmonari atau pneumonia karena dapat mengecilkan bronkhus dan menyebabkan akumulasi cairan di paru. Pada orang yang sensitif dapat menyebabkan alergi, asma dan dermatitis. Jika lewat penelanan (ingestion) sebanyak 30 ml (2 sendok makan) dari larutan formalin dapat menyebabkan kematian, hal ini disebabkan sifat korosif formalin terhadap mukosa saluran cerna lambung, disertai mual, muntah, nyeri, pendarahan. Jika terpapar terus menerus dapat menyebabkan kerusakan pada hati, ginjal dan jantung (Widyaningsih dan Murtini 2006). Formalin pernah ditemukan pada ikan asin teri medan, ebi, ikan asin kristal, ikan gembung aso, udang dan cumi-cumi segar (Pane 2009).

Bakteri Asam Laktat sebagai Biopreservative

Bakteri asam laktat (BAL) *S. thermophilus* (St), *Pediococcus acidilactici* (Pa), *Pediococcus pentosaceus* (Pp), *Lactobacillus acidophilus* (Lb a), *Lactobacillus helveticus* (Lb. h), *Lactobacillus plantarum* (Lb.p), *Lactococcus lactis* (Lc l) dalam penelitian Sualayandi dan Manja (2011) dapat mengurangi indeks pembusukan ikan *chunk makarel* meliputi parameter total BAL, TMA-N, TVB-N, FFA, PV dan pH yang disimpan pada suhu 37⁰C. BAL pun sebelumnya telah digunakan untuk menghambat bakteri pembusuk pada daging daging

(Ammor et al., 2006), pengurangan indikator pembusukan dapat dikarenakan oleh penghambatan bakteri pembusuk ikan seperti spesies *Shewanella* dan *Pseudomonas*, yang berperan dalam konversi dari indeks pembusukan. Trimetilamina merupakan hasil produksi *Pseudomonas putrefaciens*, *Photobacterium* spp. dan beberapa *Moraxella* yang sering ada pada ikan. BAL juga menghasilkan banyak senyawa ekstraseluler seperti laktat asam, hidrogen peroksida dan senyawa diacetyl yang memfasilitasi untuk meningkatkan kualitas biokimia ikan, berkurang mikrobiota dan keamanan fillet ikan beku (Ibrahim dan Salha 2009).

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan Februari 2014 sampai bulan Juni 2014. Penelitian dilakukan di beberapa laboratorium yaitu di Laboratorium Mikrobiologi Hasil Perairan, Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium terpadu Fakultas kedokteran Hewan dan Laboratorium pendidikan Biokimia.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu biakan bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp.. Media yang digunakan untuk pembuatan kultur BAL dan perhitungan TPC adalah MRSB (*de Man, Rogosa Sharp Broth*), PCA (*Plate Count Agar*), BPB (*buffer posphat buffered*), larutan NaCl jenuh, akuades, larutan TCA 7%, vaselin, asam borat (H_3BO_3), larutan K_2CO_3 , kertas serap (*tissue*), alkohol 70%, masker, sarung tangan, kapas steril, plastik wrap, aluminium foil.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, pisau, pipet, erlenmeyer, tabung reaksi, timbangan analitik, mortar, pengaduk, labu ukur, *beaker glass*, pH-meter, tabung reaksi, cawan petri, inkubator, oven, sudip, jarum ose, pembakar bunsen, refrigerator, inkubator, autoklaf dan vorteks.

Prosedur Penelitian

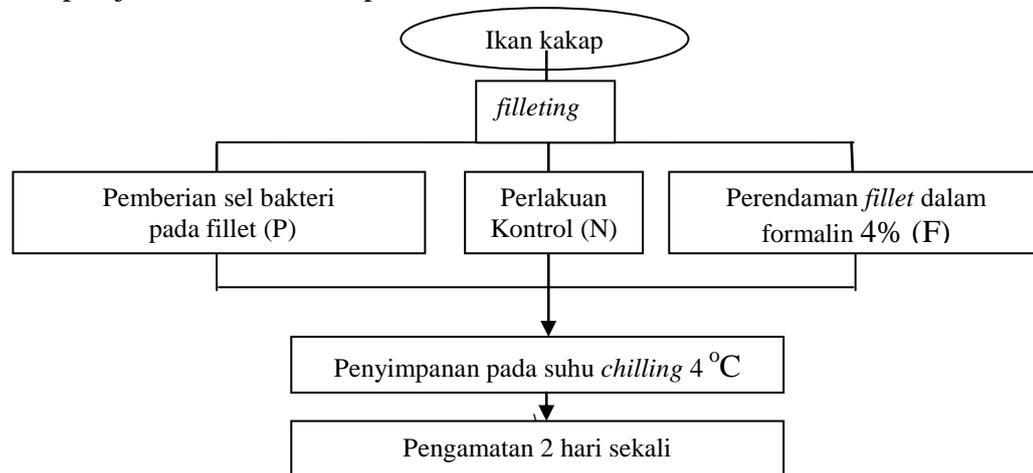
Penelitian ini terdiri dari tiga tahap. Tahap pertama adalah pembuatan kultur bakteri asam laktat. Tahap kedua adalah pembuatan bahan untuk perlakuan pada filet. Tahap ketiga adalah uji pengawetan fillet ikan dari larutan bakteri asam laktat dengan analisis pH, TVB (*Total Volatile Base*), TPC (*Total Plate Count*) dan Total Bakteri Asam Laktat dari filet ikan yang telah mengalami perendaman.

Pembuatan kultur bakteri asam laktat

Proses pembuatan kultur bakteri asam laktat diawali dengan mengambil satu ose isolat *Lactobacillus* dicelupkan ke dalam media MRSB 10 ml kemudian diinkubasi pada suhu $37^{\circ}C$ selama 48 jam maka terbentuklah isolat *Lactobacillus* dalam media MRSB. Hasil kultur kemudian dilakukan pengukuran *optical density* dan diencerkan sehingga terbentuk OD 0,6-0,8. Kultur sebanyak 20 mL kemudian dituang pada MRSB steril 180 mL kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu $37^{\circ}C$ maka terbentuklah kultur bakteri 200 mL lalu dilakukan uji total BAL.

Uji pengawetan fillet ikan dari sel bakteri dan media kultur BAL

Potongan *fillet* ikan kakap sebanyak 240 gram diberi larutan bakteri asam laktat sebanyak 30,4 mL (Sudalayanti dan Manja 2012). Sebanyak 30 gram filet lainnya diberikan tanpa perlakuan sebagai kontrol. Perlakuan selanjutnya adalah dengan menambahkan formalin 4%. Seluruh filet disimpan pada suhu *chilling* (4 ± 1 °C) dan dianalisis selama dua hari sekali. Analisis yang dilakukan adalah berupa uji TPC, total BAL, pH dan TVB.



Gambar 1 Skema perlakuan penelitian

Pengukuran pH (AOAC 1995)

Analisis penentuan pH dilakukan menggunakan alat pH meter. Pengukuran pH sampel dilakukan dengan mengambil 5 gram sampel yang ditambahkan akuades 45 mL, lalu dihomogenkan selama 2 menit. Elektroda dari pH meter dicelupkan kedalam sampel hingga nilai pH terbaca stabil.

Analisis TVB (*Total volatile base*) (AOAC 1995)

Analisis TVB diawali dengan menghaluskan sampel sebanyak 15 gram dengan *homogenizer* yang ditambahkan 45 mL larutan TCA 7%. Larutan disaring dengan kertas saring sehingga filtrat yang diperoleh berwarna jernih. Sebanyak 1 mL asam borat (H_3BO_3) dimasukkan ke dalam *inner chamber* cawan *Conway* (bagian dalam cawan). filtrat sampel sebanyak 1 mL dimasukan ke dalam *outer chamber* cawan *Conway* (bagian luar) kemudian ditambahkan 1 mL larutan K_2CO_3 ke dalam *outer chamber* dengan posisi cawan *Conway* hampir menutup, setelah itu cawan *Conway* ditutup rapat dan diinkubasi dalam inkubator selama 2 jam pada suhu 37 °C. sampel yang telah diinkubasi kemudian dititrasi dengan HCl pada bagian asam borat hingga berwarna merah jambu kemerahan yang disesuaikan dengan warna blanko. Analisis TVB ini dilakukan secara duplo. Perhitungan nilai TVB dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$TVB \left(\frac{mgN}{100 g} \right) = \frac{(i - j) \times 14,007 \times FP \times 100}{\text{Berat sampel (g)}}$$

Keterangan:

i = volume titrasi sampel (mL)

j = volume titrasi blanko

FP = faktor pengenceran

TPC (*Total Plate Count*) (modifikasi SNI 01-2332.3-2006)

Pengujian TPC dilakukan untuk mengetahui jumlah bakteri pembusuk pada sampel. Analisis ini dilakukan secara duplo. Pembuatan larutan contoh dilakukan dengan mencampurkan 10 gram sampel yang telah dihaluskan ke dalam erlenmeyer yang berisi 90 mL larutan *buffer phospat buffered* (bpb) steril, lalu dihomogenkan. Ambil 1 ml dari cairan tersebut dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml *buffer phospat buffered* (bpb) steril sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2} kemudian divortex dan dipipet 1 mL ke 9 mL larutan bpb berikutnya sehingga diperoleh pengenceran 10^{-3} . Banyaknya pengenceran disesuaikan dengan keperluan penelitian. Pemipetan dilakukan dari masing-masing tabung pengenceran sebanyak 1 ml larutan contoh dan dipindahkan ke dalam cawan petri steril secara duplo dengan menggunakan pipet steril. Media agar dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 10 ml dan digoyangkan sampai permukaan agar merata (metode tuang), diamkan beberapa saat hingga mengeras. Cawan petri yang telah berisi agar dan larutan contoh dimasukkan ke dalam inkubator dengan posisi terbalik. Suhu inkubator yang digunakan adalah sekitar 37°C dan diinkubasi selama 48 jam. Selanjutnya dilakukan pengamatan dengan menghitung jumlah koloni yang ada di dalam cawan petri. Jumlah koloni bakteri yang dihitung adalah cawan petri yang mempunyai koloni bakteri antara 30-300 koloni dengan rumus perhitungan sebagai berikut.

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_2) + (0,1 \times n_2)] \times (d)}$$

Keterangan:

- N = jumlah koloni produk, dinyatakan dalam koloni per ml atau koloni per g;
 $\sum C$ = jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung; 1 n adalah jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung; 2 n adalah jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung;
 d = pengenceran pertama yang dihitung

Total Bakteri Asam Laktat (Fardiaz 1992)

Metode hitung cawan (Total Plate Count) digunakan untuk menentukan total BAL sehingga diketahui bakteri yang digunakan untuk pengawetan masih ada atau tidak. Perhitungan total BAL menurut Fardiaz (1992) yaitu dilakukan dengan menghitung BAL yang tumbuh pada media biakan *Man Rogosa and Sharpe* (MRS). Penghitungan total BAL diawali dengan homogenisasi sampel lalu diencerkan dalam aquades steril dengan perbandingan 1:9. Pengenceran dilakukan dari 10^{-1} - 10^{-8} , pada pengenceran pertama sebanyak 0,1 mL sampel diencerkan ke dalam 0,9 mL aquades steril, pengenceran kedua dilakukan dengan 0,1 mL yang sudah diencerkan pada pengenceran pertama dimasukkan ke dalam 0,9 mL aquades steril, pengenceran ketiga dan seterusnya dilakukan dengan cara yang sama seperti pengenceran kedua. Pencawanan dilakukan dengan media biakan MRS agar. Setelah padat, cawan tersebut diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 37°C selama 48 jam. Pengamatan dilakukan dengan perhitungan jumlah koloni dengan *plate counter* kemudian dimasukkan ke dalam rumus perhitungan. Jumlah koloni yang dapat dihitung yaitu 25-250 koloni dengan rumus perhitungan sebagai berikut.

$$N = \frac{\Sigma C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times (d)}$$

Keterangan :

- N = jumlah koloni produk, dinyatakan dalam koloni per ml atau koloni per g;
 ΣC = jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung; 1 n adalah jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung; 2 n adalah jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung;
 d = pengenceran pertama yang dihitung.

HASIL YANG DICAPAI

Tahap Kultivasi Bakteri

Bakteri *Lactobacillus* sp. yang di-*refresh* pada agar miring dilakukan pewarnaan gram dan menghasilkan bakteri Gram positif dengan berwarna ungu dan berbentuk basil. Pengamatan hasil pewarnaan Gram disajikan pada Gambar 2. Hasil tersebut kemudian dilakukan kultur pada MRSB.

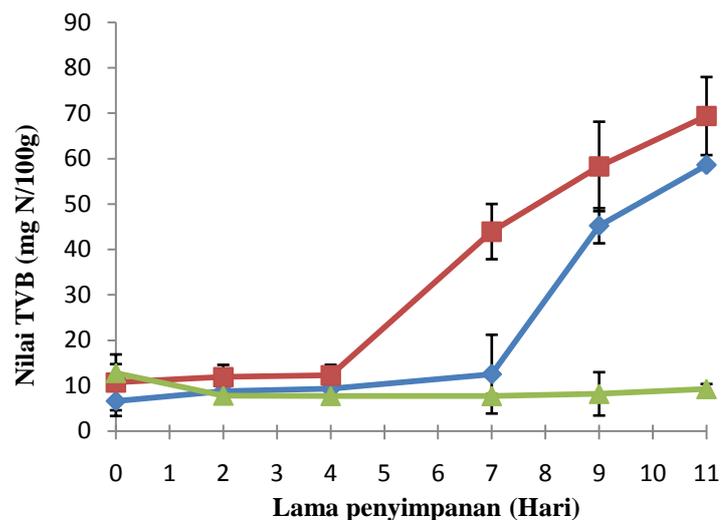


Gambar 2 Pewarnaan Gram bakteri *Lactobacillus* sp.

Satu lup yang diambil dari agar miring kemudian diinokulasikan pada media MRSB 20 mL. Hasil inkubasi menunjukkan bahwa OD yang diukur menggunakan spektrofotometer menghasilkan nilai yang melewati batas OD (over), sehingga perlu dilakukan pengenceran untuk mencapai OD 0,6-0,8 dengan panjang gelombang 660 nm. Pengenceran dilakukan dengan perbandingan 1:10 sehingga menghasilkan nilai OD sebesar 0,7. Hasil pengenceran tersebut kemudian dituang pada media MRSB 90 mL yang kemudian diinkubasi selama 24 jam sehingga menghasilkan bobot padatan sel bakteri setelah dilakukan sentrifugasi sebesar 1,1 gram.

Total Volatile Base (TVB)

Total Volatile Base (TVB) merupakan suatu analisis untuk menentukan nilai basa-basa yang mudah menguap yang terbentuk pada suatu produk pangan sebagai akibat dari hasil penguraian komponen protein oleh aktivitas mikroorganisme (Topatubun *et al* 2008) Nilai. Terdapat standar kesegaran ikan berdasarkan nilai TVB menurut Farber (1965) yaitu sangat segar dengan nilai TVB kurang dari 10 mg N/100 g, segar dengan nilai TVB 10-20 mg N/100 g, batas dapat dikonsumsi 20-30 mg N/100 g dan busuk diatas 30 mg N/100 g. Hasil analisis *Total volatile base* (TVB) pada filet ikan kakap disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3 Hasil analisis nilai TVB filet ikan kakap pada suhu 4 ± 1 °C pada sampel filet dengan pelumuran bakteri (P=◆), filet kontrol (N=■), dan filet dengan perendaman formalin 4% (F=▲)

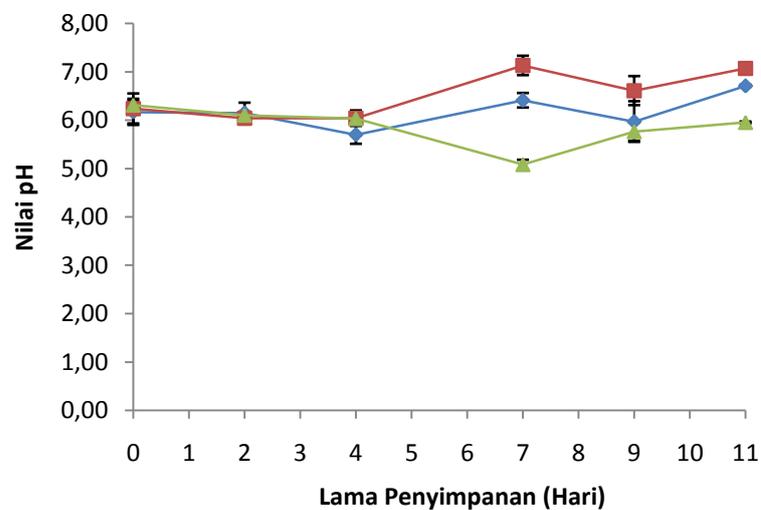
Data pada Gambar 3 menunjukkan bahwa filet kontrol (N) lebih cepat mengalami kenaikan nilai TVB dibandingkan dengan filet yang diberi perlakuan yaitu pada hari ke-7. Nilai TVB pada filet dengan pelumuran sel bakteri (P) mengalami kenaikan yang cukup tajam pada hari ke-9. Standar yang telah ditentukan oleh Farber (1965) menunjukkan bahwa filet kontrol telah mengalami kebusukan dan tidak layak konsumsi antara setelah hari ke-4 hingga hari ke-7, sedangkan pada filet dengan pelumuran bakteri (P) telah mengalami kebusukan dan tidak layak konsumsi setelah hari ke-7 hingga ke-8, sebab kedua sampel ini sudah memiliki nilai TVB lebih dari 30 mg N/100 g. Filet dengan pelumuran bakteri ini telah terbukti dapat memperpanjang masa simpan pada suhu 4 ± 1 °C hingga 2 sampai 3 hari dari filet kontrol.

Hal ini sesuai dengan penelitian Indraprasti *et al.* (2012) menunjukkan bahwa filet kakap pada suhu *chilling* telah mencapai nilai TVB yang melebihi standar setelah penyimpanan lebih dari 4 hari dan memiliki nilai TVB sebesar 60,48 mgN/100 g pada penyimpanan hari ke-8. Kenaikan kadar TVB tersebut diakibatkan oleh adanya aktivitas bakteri pembusuk pada ikan. Jenis bakteri yang umum ditemukan pada fillet ikan antara lain *Pseudomonas*, *Achrombacter* dan *Flavobacterium* (Kwaadsteniet *et al.* 2008). Santoso (2008) melaporkan bahwa bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen dan pembusuk seperti *Salmonella choleraesius*, *Escheriochia coli*, *Vibrio parahaemoliticus*, *Shigella* sp. *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, Asam yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat mempunyai sifat antibakteri terhadap bakteri patogen enterik sehingga media hasil kultur bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* yang netral hanya dapat menghambat bakteri *E. choli*, *Shigella* dan *Morganella morganii*.

Nilai pH

Nilai pH dapat menentukan tingkat kesegaran ikan. Ikan yang sudah tidak segar memiliki pH daging yang tinggi (basa) dibandingkan ikan yang masih segar. Menurut Kristoffersen et al (2006), hal ini terjadi karena timbulnya senyawa-senyawa yang bersifat basa seperti amoniak, trimetialamin, dan senyawa volatil lainnya. Data nilai pH pada filet ikan kakap disajikan pada Gambar 4.

Data pada Gambar 4 menunjukkan bahwa pH filet kontrol memiliki nilai pH yang lebih tinggi disbanding perlakuan filet ikan yang lain. Hal ini dapat diduga bahwa filet ikan mengalami proses kemunduran mutu yang lebih cepat yang menghasilkan basa yang menguap seperti TVB yang menyebabkan suasana semakin basa pada filet ikan. Proses perubahan pada fillet ikan tersebut terjadi karena aktivitas enzim dan mikroorganisme. Kedua hal tersebut menyebabkan tingkat kesegaran ikan menurun (Weeber *et al.* 2008).



Gambar 4 Hasil analisis nilai pH filet ikan kakap pada suhu 4 ± 1 °C pada sampel filet dengan pelumuran bakteri (P= \blacklozenge), filet kontrol (N= \blacksquare), dan filet dengan perendaman formalin 4% (F= \blacktriangle)

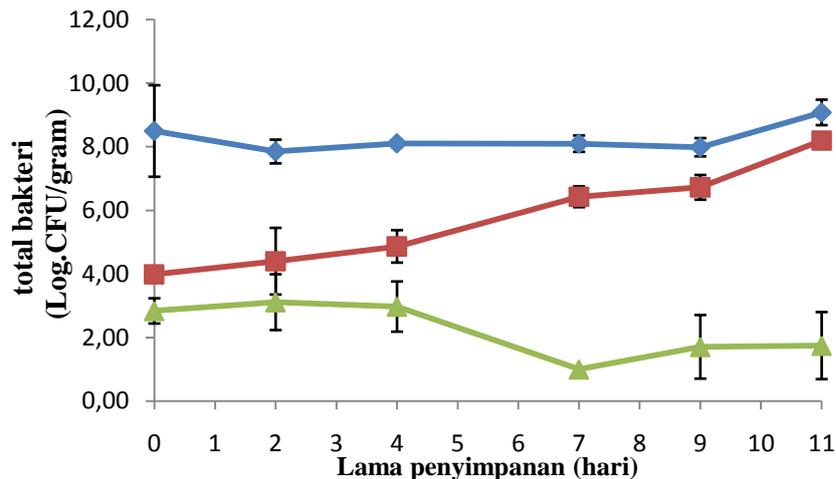
Nilai pH pada pada sampel P dan N meningkat dari penyimpanan hari ke-4 ke penyimpanan hari ke-7. Kenaikan nilai tersebut juga terjadi saat kenaikan nilai TVB pada hari yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa naiknya pH diakibatkan oleh bentuknya suasana basa dari penguraian protein yang dihasilkan oleh aktifitas bakteri pembusuk. Nilai pH pada filet dengan pelumuran bakteri (P) memiliki nilai pH lebih rendah dari kontrol (N) dan lebih tinggi dari filet berformalin (F).

Erikson dan Misimi (2008) melaporkan bahwa fillet ikan akan mengalami pengkerutan pada bagian daging akibat tidak adanya rangka yang mampu menyangga bagian daging fillet serta kontraksi otot yang terjadi pada daging. Proses perubahan pada fillet ikan tersebut terjadi karena aktivitas enzim dan mikroorganisme. Kedua hal tersebut menyebabkan tingkat kesegaran ikan menurun (Weeber *et al.* 2008). Kristoffersen *et al.* (2006) menyatakan bahwa perubahan pH pada ikan terjadi karena timbulnya senyawa-senyawa yang bersifat basa seperti amoniak, trimetialamin, dan senyawa volatil lainnya, sehingga nilai

pH dapat menentukan tingkat kesegaran ikan. Ikan yang sudah tidak segar memiliki pH daging yang tinggi (basa) dibandingkan ikan yang masih segar.

Total Plate Count (TPC)

Total Plate Count (TPC) merupakan suatu analisis yang menunjukkan nilai total bakteri mesofilik yang dapat tumbuh dari suatu sampel. Analisis TPC juga dapat menunjukkan jumlah bakteri pembusuk yang kemungkinan tumbuh pada suatu sampel. Data hasil analisis TPC disajikan pada Gambar 5.



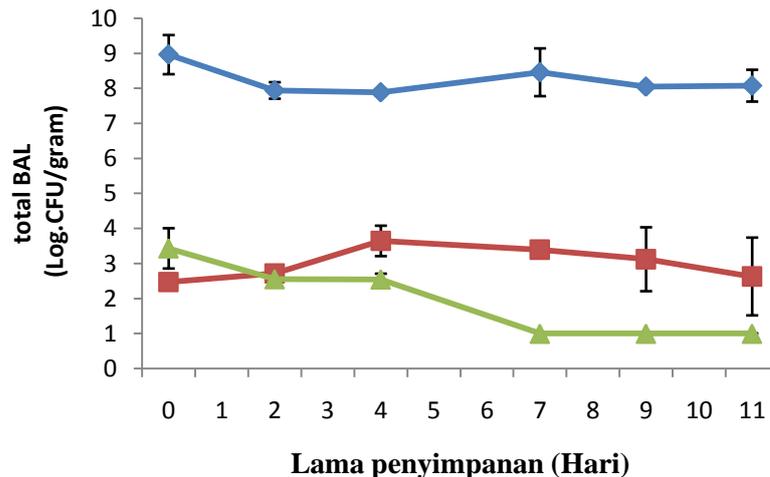
Gambar 5 Hasil analisis TPC filet ikan kakap pada suhu 4 ± 1 °C pada sampel filet dengan pelumuran bakteri (P=◆), filet kontrol (N=■), dan filet dengan perendaman formalin 4% (F=▲)

Data pada Gambar 5 menunjukkan bahwa jumlah bakteri pembusuk pada filet kontrol kian menaik seiring dengan lamanya waktu penyimpanan. Jumlah total bakteri pada ikan segar menurut SNI 01-2696-2006 adalah maksimal 5×10^5 koloni/gram atau 5.69 log.cfu/gr. Pada awal sebelum penyimpanan sampel memiliki nilai TPC dibawah 5.69 log.cfu/gr. Hal ini membuktikan bahwa saat awal analisis filet masih dalam keadaan segar dan berubah seiring lama penyimpanan. Filet ikan tanpa perlakuan (N) telah mengalami pembusukan saat antara hari ke-4 hingga ke-7 saat penyimpanan pada suhu inkubasi dalam pendingin 4 ± 1 °C. Tingginya jumlah bakteri pada filet yang dilumuri bakteri (P) seiring penyimpanan menunjukkan terhitungnya pula bakteri asam laktat yang tumbuh. Filet dengan perlakuan formalin 4% memiliki nilai TPC yang lebih rendah secara keseluruhan, hal ini dapat diduga bahwa bakteri tidak dapat hidup dalam lingkungan tersebut.

Kardono (2006) menyatakan bahwa formalin memiliki unsur aldehida yang bersifat mudah bereaksi dengan protein dan mudah berikatan dengan unsur protein mulai dari permukaan hingga terus meresap ke jaringan yang dalam, dengan matinya protein setelah terikat dengan unsur kimia dari formalin, maka protein tersebut tidak akan diserang bakteri pembusuk. Formalin juga membunuh bakteri dengan membuat jaringan dalam bakteri yang menyebabkan bakteri tersenut dehidrasi dan membentuk lapisan baru dipermukaannya.

Total Bakteri Asam Laktat

Analisis total bakteri asam laktat dilakukan untuk melihat pertumbuhan jumlah bakteri asam laktat dari seluruh perlakuan. Analisis total bakteri asam laktat pada filet ikan kakap disajikan pada Gambar 6. Nilai total bakteri asam laktat alami pada filet kontrol (N) dari hari pertama hingga hari ke-11 penyimpanan yaitu 2,5log.cfu/gram hingga 4,11 log.cfu/gram. Hal ini serupa dengan penelitian Cosansu *et al.* (2011) bahwa total bakteri asam laktat pada *horse mackerel* yaitu 3-4 log.cfu/gram pada hari ke-0 hingga ke-10 penyimpanan pada suhu 4 °C.



Gambar 6 Hasil analisis Total BAL filet ikan kakap pada suhu 4 ± 1 °C pada sampel filet dengan pelumuran bakteri (P= \blacklozenge), filet kontrol (N= \blacksquare), dan filet dengan perendaman formalin 4% (F= \blacktriangle)

Data pada Gambar 6 menunjukkan bahwa bakteri pada filet yang diberi perlakuan sel bakteri (P) menunjukkan masih adanya pertumbuhan bakteri asam laktat. Sedangkan filet dengan tanpa perlakuan atau kontrol (N) memiliki nilai total BAL yang lebih rendah setelah ikan berformalin. Hal ini diduga bahwa filet tanpa perlakuan (kontrol) terdapat bakteri penghasil asam laktat alami yang dapat hidup. Sedangkan pada filet berformalin (F), jumlah BAL kian menurun karena mati akibat formalin. Kardono (2006) menyatakan bahwa formalin memiliki unsur aldehida yang bersifat mudah bereaksi dengan protein dan mudah berikatan dengan unsur protein mulai dari permukaan hingga terus meresap ke jaringan yang dalam, dengan matinya protein setelah terikat dengan unsur kimia dari formalin, maka protein tersebut tidak akan diserang bakteri pembusuk. Formalin juga membunuh bakteri dengan membuat jaringan dalam bakteri yang menyebabkan bakteri tersenut dehidrasi dan membentuk lapisan baru dipermukaannya.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Filet dengan penambahan BAL (P) mengalami kemunduran mutu yang tidak layak konsumsi pada rentang 7-9 hari seangkan Filet kontrol (N) sudah tidak layak konsumsi pada penyimpanan setelah hari ke-4 hingga hari ke-7. Filet dengan formalin masih belum mengalami pembusukan pada hari ke-11. Bakteri asam laktat dapat diduga tidak dapat menggantikan formalin dari segi lama penyimpanan, namun perlakuan ini (P) dapat memperpanjang masa simpan filet lebih dari 3-4 hari dibanding dengan filet tanpa perlakuan (N).

Saran

Penelitian selanjutnya disarankan untuk lebih mengeksplorasi tentang media hasil kultur bakteri *Lactobacillus sp.* dan ekstraksi hasil metabolit yang dihasilkan bakteri tersebut, sehingga terapat data perbandingan kembali. Selain itu perlu juga diadakannya uji organoleptik untuk melihat hasil dari parameter lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Ammor S, Tauveron G, Dufour E, Chevallier I. 2006. Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility: behaviour of pathogenic and spoilage bacteria in dual species biofilms including a bacteriocin-like-producing lactic acid bacteria. *Food Control*. 17: 462-468.
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. Virginia: The Association of Official Analytical and Chemist. AOAC Inc.
- [BSN] Badan standardisasi Nasional. SNI-01-2332.3-2006. Cara Uji mikrobiologi-Bagian 3: Penentuan angka lempeng total (ALT) pada produk perikanan. Jakarta: Badan standardisasi Nasional.
- [BSN] Badan standardisasi Nasional. SNI 01-2696.1-2006. Filet kakap beku-Bagian 1: Spesifikasi. Jakarta: Badan standardisasi Nasional.
- Cahyadi S. 2006. *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. Cetakan. Pertama*. Jakarta: PT. Bumi Aksara.
- Cleveland J, Montville TJ, Nes IF, Chikindas ML. 2001. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation [review]. *Int J Food Microbiol*. 71: 1-20.
- Cosansu S, Mol S, Alakavuk DU, Tosun SY. 2011. Effects of *Pediococcus* spp. On Quality of vacuum-paced horse mackerel during cold storage. *Journal of Agricultural Sciences*. 17 :59-66.
- Desniar. 2012. Karakterisasi bakteri asam laktat dari produk fermentasi ikan (bekasam). [disertasi]. Bogor (ID): Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.

- [DKP Jakarta] Dinas Kelautan dan Pertanian DKI Jakarta. 2012. DKP DKI Temukan Ikan Salmon Berformalin di Supermarket. *dkpjakarta.web.id* (10 Oktober 2013).
- Farber L. 1965. Freshness test. Didalam *Fish As Food*. Borgstrom G. New York: Academic Press
- Fardiaz S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka
- Gram I dan Dalgaard P. 2002. Fish spoilage bacteria-problems and solutions. *Current Opinion Biotechnol.* 13: 226-266.
- Ibrahim SM, Salha GD (2009). Effect of antimicrobial metabolites produced by lactic acid bacteria on quality aspects of frozen Tilapia (*Oreochromis niloticus*) filets. *World J. Fish Marine Sci.* 1: 40-45
- Indraprasti NS, Suprihatin, Setiawan WK. 2012. Kombinasi kitosan-ekstrak pala sebagai bahan antibakteri dan pengawet alami pada filet kakap merah (*Lutjanus sp.*). *Jurnal Teknologi Industri Pertanian.* 22(2) : 122-130.
- Kardono, LB. 2006. Formalin Bukan Formalitas. *Buletin CP.* 73(7). : 1-3.
- Kwaadsteniet MD, Doeschate KT, Dicks LMT. 2008. Characterization of the structural gene encoding Nisin F, a new lantibiotic produced by a *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* isolate from freshwater catfish (*Clarias gariepinus*). *Applied and Environmental Microbiology* 74(2):547–549.
- Nilawati NS, Nugraheni SA, Frieda NRH. 2006. Hubungan Konsumsi Ikan dengan Perkembangan Kognisi Anak Baduta (12-23 Bulan), Studi di Kecamatan Gandus Kota Palembang Tahun 2006. *Jurnal Psikologi.* 33(2): 1-12
- Ouwehand AC, Vesterlund S. 2004. Antimicrobial components from lactic acid bacteria. Di dalam Salminen S, Wright SV, Ouwehand A, editor. *Lactic Acid Bacteria. Microbiological and Functional Aspects. Ed. ke-3, Revised and Expanded.* New York: Marcel Dekker, Inc. Hlm 389-403.
- Pane, S N. 2009. Pengaruh Pencucian terhadap Pelepasan Kadar Formalin pada Ikan Asin dan Ebi secara Spektrofotometri Sinar Tampak. [Skripsi] Medan: Fakultas Farmasi Universitas Sumatra Utara.
- Ross RP, Morgan S, Hill C. 2002. Preservation and fermentation: past, present and future. *Int J Food Microbiol.* 79:3-16.
- Santoso E. 2008. Bakteri asam laktat (bal) pada cumi-cumi kering asin dan aktivitas penghambatannya terhadap bakteri patogen dan bakteri pembusuk. *Agroteksos* 18 (1-3) : 46-53.
- Sitipoan HP. 2012. Studi identifikasi kandungan formalin pada ikan pindang di pasar tradisional dan modern kota semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat* 1(2): 983 – 994
- Sudalayandi K, Manja. 2011. Efficacy of lactic acid bacteria in the reduction of trimethylamine-nitrogen and related spoilage derivatives of fresh Indian mackerel fish chunks. *African Journal of Biotechnology.* 10(1): 42-47.

Suwetja. 1993. *Metode Penentuan Mutu Ikan*. Manado: Fakultas Perikanan Universitas Sam Ratulangi

Widyaningsih TW, Murtini ES. 2006. *Alternatif Pengganti Formalin Pada Produk Pangan*. Surabaya: Trubus Agirasana.

LAMPIRAN

Lampiran 1 anggaran biaya yang telah dikeluarkan

Anggaran biaya alat, bahan pendukung dan kesekretariatan

Tanggal	uraian	transaksi	satuan	harga	jumlah
24/12/2013	labeling	label	1	4000	4000
24/12/2013	penaruhan sampel saat uji pH	plastik lif	1	6500	6500
24/12/2013	log book	buku agenda	2	9000	18000
07/01/2014	kondisi anaerob pada waah tertutup	atri lilin jumbo	1	9400	9400
07/01/2014	wrapping cawan	Klinpak Cling Wrapping	1	16500	16500
13/01/2014	teknik aseptik	ethanol 70% 1 liter	1	35000	35000
13/01/2014	teknik aseptik	spirtus 1 liter	1	25000	25000
13/01/2014	pembuatan media	aquades 1 galon	1	20000	20000
13/01/2014	alat pembantu	spatula	1	15000	15000
13/01/2014	alat pembantu refresh bakteri	ose	1	10000	10000
10/02/2014	alat pembantu	wadah pencil	1	8000	8000
10/02/2014	alat pembantu filet	sendok	5	1000	5000
10/02/2014	alat pembantu filet	pencapit	2	5000	10000
10/02/2014	alat pembantu filet	pisau	4	7000	28000
10/02/2014	alat pembantu filet	talenan	3	15000	45000
12/02/2014	wrapping cawan	klinpark cling wrapping	1	16400	16400
12/02/2014	penutupan erlenmeyer media	klinpark alumunium foil	1	22700	22700
12/02/2014	pemisahan sel bakteri	Sentrifugasi 10 menit	2	50000	100000
14/02/2014	penutupan erlenmeyer media	kapas 500 gram	1	53000	53000
15/02/2014	proses sterilisasi alat	Ap (plastik panas)	2	7500	15000
15/02/2014	penaruhan sampel saat uji pH	plastik klip	1	4000	4000
15/02/2014	pengukuran suhu pada kulkas	termometer Hg	1	20000	20000
07/04/2014	penaruhan cawan	tray set	1	44900	44900
07/04/2014	teknik aseptik	tissu tessa hand	1	13800	13800
08/04/2014	pemisahan sel bakteri	Sentrifugasi	2	50000	100000
11/04/2014	proses sterilisasi alat	plastik tahan panas	1	7500	7500
16/04/2014	penutupan erlenmeyer media	kapas 250 gram	2	15000	30000
16/04/2014	teknik aseptik	tissu	1	20000	20000
29/04/2014	teknik aseptik	spirtus 1 liter	1	25000	25000

29/04/2014	teknik aseptik	handseal	1	52000	52000
18/04/2014	keseekretarian	prin warna			6000
27/04/2014	penaruhan cawan	kotak marco	1	16500	16500
06/05/2014	penaruhan filet	petri dish	75	10000	750000
13/05/2014	pemisahan sel bakteri	Sentrifugasi 10 menit	2	50000	100000
24/05/2014	penutupan erlenmeyer media	alumunium foil	1	17500	17500
11/07/2014	keseekretarian	jilid dan prin warna			18200
11/07/2014	keseekretarian	fotocopy/print			2000
SUB TOTAL 1					1689900

Total pengeluaran sampel utama, transportasi dan masuk Laboratorium

Tanggal	uraian	transaksi	satuan	harga	jumlah
Jan- 14	daftar masuk lab	masuk lab			150000
Feb-14	sampel percobaan tahap 1	ikan kakap	3 kg	60000	180000
06-Apr-14	sampel ulangan1	ikan kakap	3 kg	60000	180000
06-Apr-14	tranportasi pengambilan sampel tahap 1	rental mobil	10 jam	250000	250000
06-Apr-14	tranportasi pengambilan sampel tahap 1	bensin	23 liter	6500	150000
06-Apr-14	tranportasi pengambilan sampel tahap 1	supir	10 jam	100000	100000
12-Mei-14	sampel ulangan 2	ikan kakap	4 kg	60000	240000
12-Mei-14	tranportasi pengambilan sampel tahap 2	rental mobil	12 jam	250000	250000
12-Mei-14	tranportasi pengambilan sampel tahap 2	supir	12 jam	150000	150000
12-Mei-14	tranportasi pengambilan sampel tahap 2	bensin	150000	150000	150000
12-Mei-14	tempat transportasi sampel	styrofoam	2	20000	40000
Juni-14	monev internal	poster	2	35000	70000
SUB TOTAL 2					1910000

Total pengeluaran Analisis sampel (duplo)

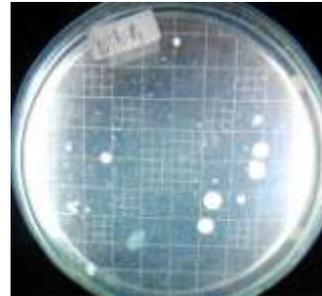
analisis percobaan sampel P dan N				
analisis	biaya	jumlah analisis	jumlah sampel	jumlah biaya
uji TPC	35000	5	4	700000
uji T bal	35000	5	4	700000
uji TVB	55000	5	4	1100000
pH	10000	5	4	200000
Analisis ulangan 1 sampel P dan N				
analisis	biaya	jumlah analisis	jumlah sampel	jumlah biaya
uji TPC	35000	6	2	420000
uji T bal	35000	6	2	420000
uji TVB	55000	6	2	660000
pH	10000	6	2	120000
Analisis ulangan 2 sampel P,N,FI,F2				
analisis	biaya	jumlah analisis	jumlah sampel	jumlah biaya
uji TPC	35000	6	4	840000
uji T bal	35000	6	4	840000
uji TVB	55000	6	4	1320000
pH	10000	6	4	240000
SUB TOTAL 3				7560000

Pengeluaran	Jumlah
SUB TOTAL 1	1689900
SUB TOTAL 2	1910000
SUB TOTAL 3	7560000
JUMLAH TOTAL PENGELUARAN	11159900
JUMLAH DIANAI DIKTI	11217000
SISA	57100

Lampiran 2 Bukti pendukung



Persiapan TPC



Hasil TPC



Ikan kakap merah



proses TPC



Penyaringan proses TVB



cawan conway TVB

Kenampakan filet ikan kakap pada H0



(P)

(N)

(F)

Kenampakan filet ikan kakap pada H2



(P)

(N)

(F)

Kenampakan filet ikan kakap pada H4



(P)

(N)

(F)

Kenampakan filet ikan kakap pada H7



(P)

(N)

(F)

Kenampakan filet ikan kakap pada H9



(P)

(N)

(F)

Kenampakan filet ikan kakap pada H11

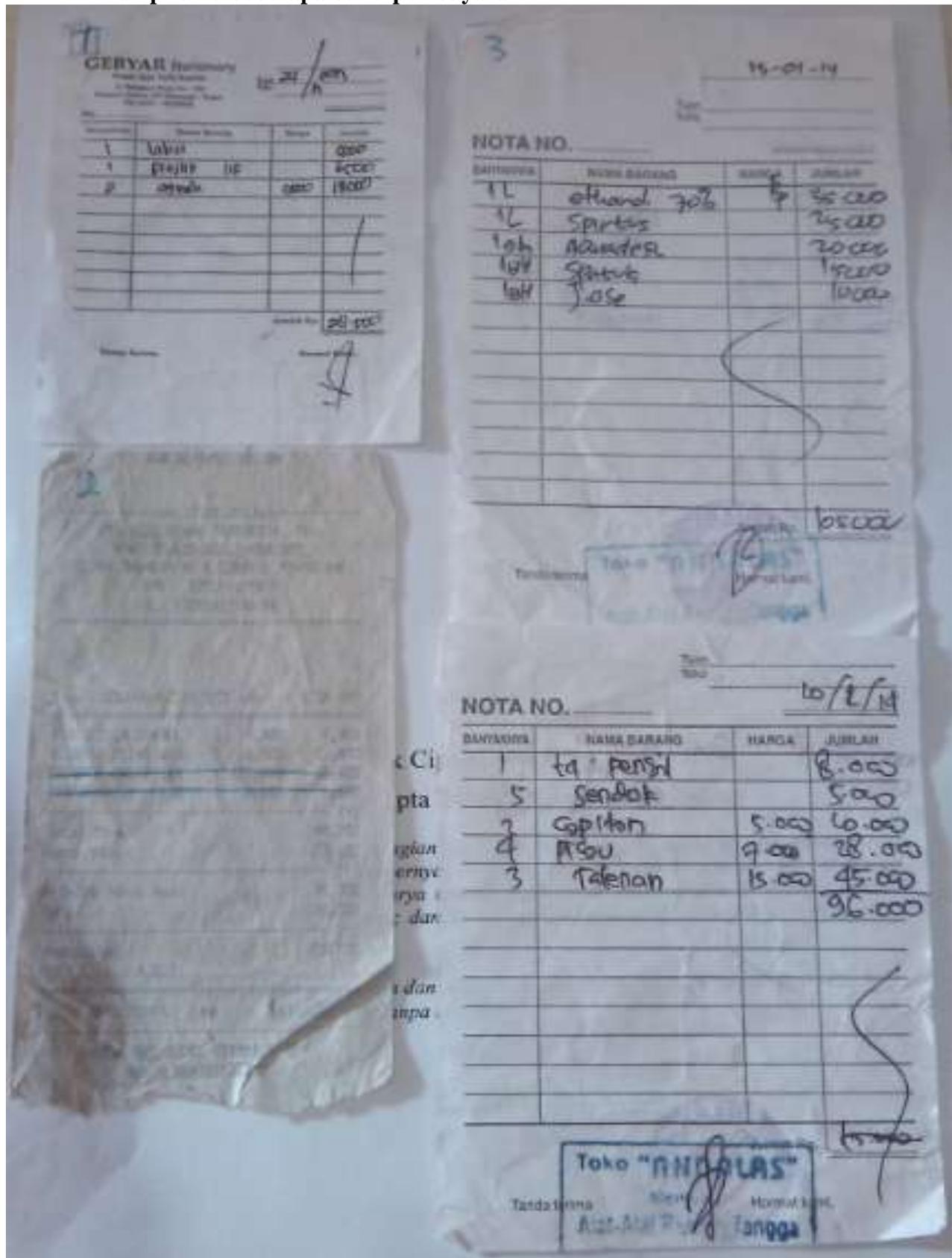


(P)

(N)

(F)

Lampiran 3 beberapa bukti pembayaran



GERYAR

12/21/14

No	Uraian	Harga	Jumlah
1	Lapis	500	1000
1	Pajir	500	1000
2	Spartas	500	1000

Total: 2000

3

15-01-14

NOTA NO.

BANYAK	NAMA BARANG	HARGA	JUMLAH
1L	Spartas 70%	500	5000
1L	Spartas	500	2500
1kg	AGUSTUS	2000	2000
1kg	Spartas	1500	1500
1kg	Jose	1000	1000

Total: 10500

10/2/14

NOTA NO.

BANYAK	NAMA BARANG	HARGA	JUMLAH
1	ta pensil	8000	8000
5	Sendok	1000	5000
2	Gigitan	3000	6000
4	RSU	7000	28000
3	Talenan	15000	45000

Total: 96000

Toko "ANGGAS"

Tanggal: 10/2/14

Alamat: ...

Tangga

9
 Toko "ANDALAS" 15-02-14
 Jl. ...
 ...

NOTA NO.

BANYAKNYA	NAMA BARANG	HARGA	JUMLAH
2	AP	7.500	15.000
1	Plastic clip		4.000
			Jumlah Rp. 19.000

APOTEK Afini

Jl. ...
 ...
 ...

Tgl. /

Banyaknya	Nama Barang	Harga Satuan	Jumlah
1	Thermometer hg		20000
			JUMLAH Rp. 20000

SEMOGA LEKAS SEMBUH

Terima kasih

Mengantun

Obat yang telah diberikan
 tidak dapat dikembalikan

Penjual/Petugas

No. _____
 Telah terima dari _____
 Uang sejumlah _____
 Untuk pembayaran _____

Lolyta - THP
 Geratis Riau Rupiah
 Serempak (2x)

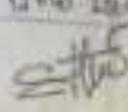
02- April - 2014

- elita

Rp. 100.000,-

No. _____
 Nama penerima dari _____
 Uang sejumlah _____
 Untuk pembayaran _____

Lolyta Nurhita - TWP
 Serah Kev Ruzh
 Sewangage (2x)

D/Mo 2019

 - EE -

Rp. 170.000,-

Makaira
 F & PERSINE
 CEPAT BERKUALITAS

Alamat: Gedung Perkantoran dan Toko Kain (TKPK)
 117 Wing H, Kampus IPN Darmasari - Gresik 61581
 Telp: (031) 7120764 (Psw); HP: 0815428002
 Email: makaira_s@makaira.com

Tempat: Gedung 301, First Floor, Sun. Building 01

Supir: Y
 Kapala: Y

SARAFNYA	NAMA BARANG	HARGA @	JUMLAH
1	gilet Ladau	-	3.000
-	brida Warna + 2/2	-	15.200
TOTAL			18.200

Normal Kain


GEBYAR Stationery
 Jalan Pahlawan 100
 2. Makasar, Kota No. 10
 Makasar Stationery & Gebyar - Makasar
 Telp: 0411-441000

No. _____
 Tanggal: 20-06-2019

No.	Barang	Harga	Jumlah
1	Aluminium part		17.500

Jumlah Rp. 17.500

Normal Kain
