

JURNAL PENGOLAHAN HASIL PERIKANAN INDONESIA

(Dahulu Bernama Buletin Teknologi Hasil Perikanan)

Deskripsi Histologis dan Perubahan Komposisi Kimia Daun dan Tangkai Semanggi (<i>Marsilea crenata</i> Presl., Marsileaceae) Akibat Perebusan	Agoes Mardiono Jacob, Nurjanah, Miftakhul Arifin, Widi Sulistiono, Stefanus Senoadi Kristiono	81
Komposisi Asam Lemak Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>) dan Baung (<i>Macrones nemurus</i>) Budidaya	Edison	96
Karakteristik <i>Bacillus</i> sp. yang Diisolasi dari Rajungan (<i>Portunus pelagicus</i>) Segar dan Produk Kaleng di Perusahaan X	Dwi Indah Widya Yanti, Faiza A Dali	105
Pemanfaatan Kunyit (<i>Curcuma Domestica</i> Val) dan Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i> Swingle) dalam Pembuatan Abon Ikan Lemuru (<i>Sardinella lemuru</i>)	Djoko Poernomo, Uut Tri Utami, Agoes Mardiono Jacob, Roni Nugraha	118
Kemasan Cerdas dengan Sensor Pendeteksi Kebusukan Filet Ikan Nila	Bambang Riyanto, Akhiruddin Maddu, Yogi Waldingga Hasnedi	129
Pembuatan Kecap Ikan Petek (<i>Leiognathus splendens</i>) secara Fermentasi Enzimatis	Winarti Zahiruddin, Heni Sri Septiani, Pipih Suptijah	143



JURNAL PENGOLAHAN HASIL PERIKANAN INDONESIA

Ketua Redaksi : Nurjanah

Dewan Redaksi : Iriani Setyaningsih
Sunarya
Tati Nurhayati
Joko Santoso
Linawati Hardjito
Evy Damayanti
Hari Eko Irianto
Artati
Sukoso
Iwan Yusuf
Tri Winarni
Eddy Afrianto
Singgih Wibowo
Denny Indrajaya
Santoso
Victor Nikijuluw
Wini Trilaksana

Redaksi Pelaksana : Roni Nugraha
Husnul Fitriah

Sirkulasi : Pipih Suptijah

Alamat Redaksi : Jl. Lingkar Akademik Kampus IPB
Dramaga Bogor 16680
Telp. (0251) 4281675/ 8622915
Fax. (0251) 8622916,
E-mail: buletin_thpipb@yahoo.com

Dipublikasikan oleh Masyarakat Pengolahan Hasil
Perikanan Indonesia (MPHPI)

Terbit dua kali dalam setahun

Berlangganan untuk satu tahun
Rp. 100.000,00

Bank
BNI Cab. 61 Bogor
No Rek. 0170778406 a.n Buletin Teknologi Hasil
Perikanan

EDITORIAL

Masyarakat Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia mengadakan seminar nasional pada tanggal 8-9 Oktober 2010 bertempat di Universitas Padjadjaran. Seminar tersebut bertemakan "Peranan Pengolahan Hasil Perikanan dalam Mensukseskan Pengembangan Minapolitan".

Minapolitan adalah konsep pembangunan ekonomi berbasis perikanan dengan pendekatan dan sistem manajemen kawasan berdasarkan prinsip-prinsip: 1) integrasi, 2) efisiensi, 3) kualitas, dan 4) akselerasi tinggi. Konsep ini dikembangkan sebagai upaya Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia dalam mensukseskan visinya yaitu menjadi produsen ikan terbesar di dunia pada tahun 2015.

Tim Redaksi

KEPENGURUSAN MASYARAKAT PENGOLAHAN HASIL PERIKANAN INDONESIA (MPHPI) 2009-2013

Pelindung : Menteri Kelautan dan Perikanan Indonesia
Pembina : Dirjen P2HP, Es-I Mendiknas, Es-I Menperindag
Pengarah : Dir. Usaha & Investasi, Dir. PH, Ditjen P2HP
Sekretaris Pengarah: Prof. Hari Eko Irianto
Ketua Umum: Prof. Dr. Hari Eko Irianto
Ketua I: Prof. Dr. Sukoso
Ketua II: Ir. Adi Surya
Sekretaris: Dr. Joko Santoso
Sekretaris II: Drs. Made W. Arthajaya, MSi
Bendahara I: Dr. Ir. Nurjanah, MS
Bendahara II: Dewi Mufta
Departemen Industri: Dr. Bustami Ibrahim, Ir. Nur Retnowati,
Ir. M. Najib
Dept. Pendidikan: Dr. Eddy Afrianto, Dr. Amir Husni, Dr. Tri
Winarni Agustini, Ir. Wini Trilaksana, MSc
Dept. Litbang: Dr. Singgih Wibowo, MS, Dr. Hartati
Kartikaningsih, Fatur Rohman, Dr. Aef Permadi
Ketua Dept. Pengemb. Bisnis: Dr. Linawati Hardjito, Dr.
Welizar, Ir. Jamal Basmal, MSc, Yudi, Ir. Iwan Sutanto
Sekretariat: Agus Triyanto, Nova Riana B, Dinardani Ratrisari,
Reni Pratiwi, Desniar, MSi, Dr. Agoes M. Jacobeb, Dwiwitno,
Kartika Winta
Komisariat Sumatera: Rinto, SPI, MP
Kom Jawa Bag Barat (Jabar, DKI, Banten): Ir. Evi Liviawaty,
MS
Kom Jawa Bag Tengah (Jateng & DIY): Dr. Latif Sahubawa
Kom Jawa Bag Timur (Jatim & Bali): Dr. Hepy Nur Syam
Kom Kalimantan: Dr. Yusfiahana Fitriah
Kom Sulawesi: Dr. Metu Salach, MSc
Kom Maluku & Papua: Dr. Petrus Wennu

**KARAKTERISTIK *Bacillus* sp. YANG DIISOLASI DARI RAJUNGAN
(*Portunus pelagicus*) SEGAR DAN PRODUK KALENG DI PERUSAHAAN X**

*Characteristics of Bacillus sp. Isolated from Small Crab (Portunus pelagicus)
Fresh and Canned Products in Company X.*

Dwi Indah Widya Yanti^{*1}, Faiza A. Dali²

¹Program Studi Perikanan

Fakultas Pertanian, Universitas Kristen Papua Sorong

²Program Studi Teknologi Hasil Perikanan

Fakultas Ilmu-Ilmu Pertanian, Universitas Negeri Gorontalo

Diterima 30 Maret 2010/Disetujui 30 Juni 2010

Abstract

Bacillus sp. is one bacterial genus causing spoilage of fishery products. The aim of the research was to find out the characteristics of *Bacillus* sp. from small crab (*Portunus pelagicus*) fresh and canned products in Company X. Five of 20 stocks or isolate fresh swimming crab and 12 stocks of bacteria cans swimming crab products namely HRN 3, NTG 3, CAD, Claw Meat 2 and Lump 1 were identified as *Bacillus*. Their optimal growth were at 37 °C, pH 7 and salinity 3%. One strain namely Lump 1 can survive on two hours of heating at ±100 °C.

Keywords: *Bacillus* sp., flat sour, swimming crab

PENDAHULUAN

Kerusakan makanan akibat adanya aktivitas mikroba merupakan hal yang sangat diperhatikan oleh industri pengalengan makanan. Beberapa hal yang menyebabkan ini terjadi adalah perlakuan sebelum proses pengalengan atau *preprocessing*, proses pengalengan yang tidak sempurna (suhu pemanasan tidak cukup tinggi) dan adanya kebocoran kaleng yang memungkinkan mikroba yang ada lingkungan masuk ke dalam kaleng. *Bacillus* sp. merupakan salah satu jenis mikroba yang dapat menyebabkan kerusakan pada produk perikanan, terutama karena endosporanya tahan terhadap pemanasan. Spora bersifat resistan terhadap bahan kimia, panas, pengeringan dan radiasi (Jong *et al.* 2004). Kerusakan pada produk yang dikalengkan akibat adanya aktivitas *Bacillus* sp. diantaranya “flat sour” yaitu

* Korespondensi: Dwi Indah Widya Yanti, Jln F. Kalasuat, Malanu, Kota Sorong, Papua Barat 98417, e-mail: indah_coral@yahoo.co.id

kerusakan terbentuknya asam tanpa gas atau busuk asam tanpa gas (Lucas *et al.* 2006). Salah satu spesies *Bacillus* yang paling berbahaya adalah *Bacillus anthracis*. Bakteri ini dapat membentuk spora dan merupakan penyebab penyakit *anthrax*.

Perusahaan X merupakan salah satu perusahaan ekspor hasil perikanan terbesar khususnya rajungan kaleng. Proses pengolahan yang dilakukan mulai dari membersihkan rajungan, perebusan, pengupasan, penyortiran bentuk, pencucian, pemasukan dalam kaleng dan sterilisasi. Pada koleksi data analisis mikrobiologi dan kimia perusahaan X memperlihatkan nilai total bakteri bahan baku berkisar antara $2,2 \times 10^4$ sampai $3,5 \times 10^4$ CFU/mL (*colony forming unit*/mL). Berdasarkan data tersebut, maka rajungan segar dan produk kaleng perusahaan X perlu mendapat perhatian karena kerusakan yang diakibatkan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri genus *Bacillus* dan mengetahui karakteristik isolat bakteri yang diisolasi dari rajungan segar dan produk kaleng di Perusahaan X. Identifikasi dan karakterisasi yang dilakukan meliputi pengujian morfologi, biokimia dan fisiologi.

METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari-Mei 2005, di Laboratorium Mikrobiologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi, Manado.

Bahan dan Alat

Media dan reagen yang digunakan yaitu *Nutrient Broth* (NB), *Nutrient Agar* (NA), larutan kristal ungu, larutan safranin, larutan lugol, malasit hijau, *Purple Broth Base* (PBB), kaldu karbohidrat (glukosa, fruktosa, maltosa, laktosa dan sukrosa), *Simmon Citrate Agar*, *Motility Test Medium*, *Triple Sugar Iron Agar*, reagen Methyl Red-Voges Proskauer, reagen Tetramethyl, reagen Kovacs dan larutan H_2O_2 . Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur murni dan merupakan stok bakteri. Bakteri kultur berasal dari hasil isolasi dari Perusahaan X dan terdiri atas 20 stok bakteri rajungan segar dan 12 stok bakteri produk rajungan kaleng (Tabel 1).

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu jarum ose, sendok (spatula),

Tabel 1 Kode stok bakteri yang diuji

No.	Kode untuk produk rajungan segar	Kode untuk produk rajungan yang dikalengkan
1.	JUMBO LUMP 1	CLAW MEAT 1
2.	JUMBO LUMP 2	CLAW MEAT 2
3.	JUMBO LUMP 3	CLAW MEAT 3
4.	CLAW MEAT 1	JUMBO LUMP 1
5.	CLAW MEAT 2	JUMBO LUMP 2
6.	CLAW MEAT 3	JUMBO LUMP 3
7.	SPESIAL 1	SPESIAL 1
8.	SPESIAL 2	SPESIAL 2
9.	SPESIAL 3	SPESIAL 3
10.	DMK 1	LUMP 1
11.	DMK 2	LUMP 2
12.	DMK 3	LUMP 3
13.	NTG 1	
14.	NTG 2	
15.	NTG 3	
16.	HRN 1	
17.	HRN 2	
18.	HRN 3	
19.	CAD	

Sumber : Perusahaan X

pH meter, erlenmeyer, inkubator, tabung Hach, autoklaf, cawan petri, pipet volume 10 mL, oven, lampu spiritus, inkubator dan mikroskop.

Lingkup Penelitian

Analisis mikrobiologis yang dilakukan mengacu pada pedoman analisis di laboratorium (Cappucino dan Sherman 1992). Pengujian meliputi morfologi (pewarnaan Gram, pewarnaan spora, motilitas), uji biokimia (fermentasi karbohidrat, MR-VP, indol, H₂S, oksidase, katalase) dan uji fisiologi berupa karakteristik pertumbuhan genus *Bacillus* melalui pengaruh suhu, pH dan kadar garam (NaCl), dan ketahanan panas. Hasil uji yang dilakukan terhadap masing-masing isolat bakteri dilakukan dengan sistem *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.* 1994).

Pemurnian Biakan

Stok bakteri yang digunakan terlebih dahulu dimurnikan dengan cara mengambil dari stok yang ada pada agar miring. Kemudian dipindahkan ke dalam tabung yang berisi 6-7 mL NB (pH 7) dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Selanjutnya satu mata ose bakteri pada NB yang mengandung suspensi bakteri digores pada agar lempengan dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah diperoleh koloni terpisah bakteri uji digores pada agar miring dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam untuk kemudian menjadi kultur sediaan yang akan diuji.

Pengujian Morfologi

Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara kultur bakteri pada agar miring dioleskan pada kaca preparat secara aseptik. Selanjutnya olesan difiksasi dan ditetesi kristal violet, lalu dibilas (dekolorisasi) menggunakan akuades, kemudian ditetesi larutan lugol, lalu dibilas dengan air. Alkohol (larutan pemucat) 70% ditetesi di atas olesan bakteri hingga warna ungu hampir tidak tampak. Larutan safranin ditambahkan pada olesan, lalu dibilas dengan akuades dan dikeringkan. Pewarnaan Gram diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x. Bakteri Gram positif selnya berwarna ungu sedangkan bakteri Gram negatif selnya berwarna merah muda.

Pewarnaan spora dilakukan dengan cara olesan bakteri pada kaca objek dibasahi dengan malasit hijau dan ditempatkan pada lempengan panas, kemudian didinginkan dan dibersihkan dengan air. Olesan bakteri ditambahkan safranin, lalu dibilas dengan air. Selanjutnya olesan dikeringkan dan diamati menggunakan mikroskop pembesaran 1000x. Dinding sel bakteri akan menyerap respon warna merah muda karena menyerap safranin, sedangkan spora akan nampak berwarna hijau karena menyerap malasit hijau.

Pengujian Biokimia

Fermentasi Karbohidrat

Uji fermentasi karbohidrat dilakukan dengan menginokulasi isolat bakteri pada 5 macam media yaitu *Purple Broth Base-Glukosa*, *Purple Broth Base-Fruktosa*, *Purple Broth Base-Maltosa*, *Purple Broth Base-Sukrosa* dan *Purple Broth Base-Laktosa* lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Fermentasi karbohidrat positif ditandai dengan terbentuknya asam yang terlihat melalui perubahan warna media karbohidrat

dari warna ungu menjadi kuning. Pembentukan gas terlihat dalam tabung Durham.

Indol

Biakan bakteri yang digunakan untuk uji motility jika terjadi pertumbuhan, juga digunakan untuk uji indol dengan cara ke dalam media ditambahkan reagen Kovac's. Uji akan bersifat positif jika terbentuk warna merah sebagai akibat pembentukan indol.

Methyl Red

Bakteri uji diinokulasi ke dalam tabung yang berisi media MR-VP lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Selanjutnya ditambahkan reagen *methyl red* ke dalam tabung. Jika setelah penambahan indikator *methyl red* kaldu berwarna merah maka uji bersifat positif sedangkan jika kaldu berwarna kuning/jingga maka uji bersifat negatif.

Voges Proskauer

Bakteri uji diinokulasi ke dalam tabung yang berisi media MR-VP lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Pada setiap kultur ditambahkan 10 tetes reagen barrit A (larutan *alpha-naptol*). Media tersebut digoyang lalu ditambahkan 10 tetes barrit B (KOH 40%). Jika dalam waktu 20 menit setelah penambahan reagen, uji berwarna merah maka uji bersifat positif sedangkan jika uji tidak menunjukkan perubahan warna maka uji bersifat negatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Morfologi

Pewarnaan Gram dilakukan untuk menentukan karakteristik mikroskopik setiap galur uji, baik reaksinya terhadap pewarnaan Gram, bentuk sel dan ukurannya (Cappucino dan Sherman 1992). Hasil pewarnaan Gram pada Tabel 2 menunjukkan stok bakteri rajungan segar lebih banyak Gram negatif batang, diduga karena kontaminasi bakteri enterik selama penanganan.

Pewarnaan Gram yang dilanjutkan pada tahap kedua (48 jam keatas) diperoleh bahwa galur (HRN 3, NTG 3, dan CAD) pada stok bakteri rajungan segar dan galur (Claw Meat 2 dan Lump 1) pada stok bakteri produk rajungan kaleng menunjukkan Gram positif. Variasi pada pewarnaan ini terjadi karena dinding sel *Bacillus* yang merupakan Gram positif memiliki peptidoglikan yang mengandung asam meso-diaminopimelat (DAP) yang merupakan polimer yang sama yang ditemukan pada

Tabel 2 Hasil uji morfologi

Kode stok bakteri	Pewarnaan	Bentuk	Motilitas
(Jumbo Lump 1, Jumbo Lump 2, Spesial 1, Spesial 2, Spesial 3, Claw Meat 1, Claw Meat 2, Claw Meat 3, DMK 1, DMK 2, DMK 3, HRN 2, HRN 3, NTG 2, NTG 3, CAD)* (Claw Meat 2, Jumbo Lump 1, Lump 1, Lump 2, Lump 3)**	Gram negatif	Batang	Motil
NTG 1*	Gram negatif	Kokus	Motil
Jumbo Lump 3*	Gram negatif	Batang Kokus	Motil
Claw Meat 3**	Gram positif	Batang	Motil
(HRN 1)*, (Claw Meat 1, Jumbo Lump 2, Jumbo Lump 3, Spesial 1, Spesial 2 dan Spesial 3)**	Gram positif	Kokus	Motil

Keterangan : * : Rajungan segar, ** : Rajungan kaleng

dinding sel bakteri Gram negatif (Uehara *et al.* 2006). Pembentukan endospora juga menyebabkan penurunan pH karena selama pembentukan spora terjadi kenaikan absorpsi ion kalsium dan DAP.

Pewarnaan spora bertujuan untuk mengenal struktur dasar dari spora yang membedakan antara spora dan bentuk sel vegetatif (Cappucino dan Sherman 1992). Lima galur yang diperoleh pada pewarnaan Gram diuji lanjut lewat pewarnaan spora untuk membuktikan bahwa galur tersebut adalah genus *Bacillus*. Hasil diperoleh pada galur Claw Meat 2, Lump 1, HRN 3, NTG 3, dan CAD diketahui bahwa spora yang diamati berbentuk oval dan berada di tengah. Spora berwarna hijau karena menyerap malasit hijau sedangkan sel vegetatif berwarna merah. Panas mengembangkan lapisan luar spora, sehingga zat warna malasit hijau dapat masuk ke dalam spora. Setelah dingin warna hijau ini terperangkap di dalam spora.

Uji motility yang dilakukan diperoleh hasil yang positif (Tabel 2). Ini menunjukkan bahwa bakteri dapat melakukan pergerakan. *Bacillus* kebanyakan motil dengan flagela peritrikous (Holt *et al.* 1994).

Uji Biokimia

Fermentasi Karbohidrat

Hasil uji biokimia bakteri ditunjukkan pada Tabel 3. Kemampuan isolat uji

Tabel 3 Karakteristik biokimia stok bakteri yang diuji

Kode Isolat	Fementasi Karbohidrat										Indol	MR	VP	Sitrat	H ₂ S	Oksidase	Katalase
	Glu		Mal		Fru		Suk		Lak								
	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G							
Lump 1	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+
Claw Meat 2	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+
HRN 3	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+
NTG 3	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+
CAD	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+

Keterangan: (+) positif, (-) negatif, A: Asam, G: Gas, Glu: Glukosa, Mal: Maltosa, Fru: Fruktosa, Suk: Sukrosa, Lak: Laktosa, MR: Methyl Red, VP: Voges Proskauer

dalam mendegradasi dan menfermentasikan karbohidrat tertentu dengan produksi suatu asam atau asam dan gas ditentukan melalui uji fermentasi karbohidrat. Uji fermentasi karbohidrat menunjukkan terbentuknya asam laktat atau asam lainnya yang diekspresikan sebagai adanya perubahan warna dari ungu menjadi kuning, hal ini dikenal dengan tipe fermentasi homofermentatif. Bakteri yang termasuk dalam tipe ini hanya menghasilkan asam laktat atau asam lainnya tanpa diikuti dengan pembentukan gas CO₂. Bakteri yang memfermentasi karbohidrat menghasilkan asam, gas CO₂, alkohol dan senyawa-senyawa menguap lainnya termasuk dalam bakteri tipe fermentasi heterofermentatif (Zaunmüller *et al.* 2006).

Indol

Hasil uji indol yang dilakukan diperoleh respon yang negatif. Ini menunjukkan bahwa bakteri tidak dapat menghasilkan enzim triptofanase sebagai pengurai triptofan menjadi gugus indol. *Bacillus* menunjukkan respon negatif terhadap uji indol (Yoon *et al.* 2001; Yoon *et al.* 2005).

Methyl Red

Kemampuan isolat uji dalam mengoksidasi glukosa dengan produksi dan stabilisasi asam yang tinggi sebagai hasil produk akhir ditentukan dengan uji *Methyl red* (Cappucino dan Sherman 1992). Berdasarkan uji *Methyl Red* diperoleh respon

yang positif, ini menunjukkan bahwa semua galur mampu mengoksidasi glukosa dengan produksi asam sebagai produk akhir. *Bacillus* sp. menunjukkan umumnya memberikan respon yang positif (Goudswaard *et al.* 1995).

Voges Proskauer

Kemampuan isolat uji dalam melakukan fermentasi lanjutan terhadap asam yang dihasilkan sehingga menghasilkan *Acetylmethylcarbonil* dan etanol dilakukan uji Voges Proskauer. Uji Voges Proskauer untuk hasil yang positif menunjukkan bahwa bakteri dapat memfermentasikan karbohidrat menghasilkan *Acetylmethylcarbinol* sedangkan galur yang negatif tidak menghasilkan *Acethylmethylcarbinol*.

Sitrat

Uji sitrat bertujuan menentukan kemampuan isolat uji dalam menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Hasil uji sitrat menunjukkan kelima galur memberikan hasil yang negatif. Hasil ini menunjukkan bahwa bakteri tidak menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon. *B. coagulans*, *B. firmus*, *B. lentus*, *B. cereus* memberikan hasil yang negatif terhadap uji sitrat (Tay *et al.* 1984).

H₂S

Uji H₂S dilakukan untuk menentukan kemampuan isolat uji dalam memproduksi H₂S melalui reduksi thiosulfat. Adanya endapan hitam menunjukkan terjadinya produksi H₂S (Cappucino dan Sherman 1992). Berdasarkan uji H₂S menunjukkan bahwa bakteri memfermentasikan glukosa, laktosa dan sukrosa serta menghasilkan gas yang terlihat pada media yang berwarna kuning serta pembentukan rongga-rongga di bagian bawah agar. Namun, bakteri tidak membentuk H₂S ini terlihat dari tidak terbentuknya endapan hitam. Ini menunjukkan bahwa bakteri tidak bereaksi dengan FeSO₄ dalam media biakan dengan katalis enzim desulfurase yang menghasilkan senyawa FeS yang berwarna hitam. Menurut Caccamo *et al.* (2000) *Bacillus* sp. tidak memproduksi H₂S.

Menentukan adanya enzim sitokrom oksidase yang ditemukan pada mikroorganisme tertentu dilakukan uji oksidase. Hasil uji oksidase yang memberikan respon positif menunjukkan bahwa bakteri menggunakan enzim sitokrom oksidase sedangkan respon yang negatif menunjukkan bahwa bakteri tidak menggunakan enzim

sitokrom oksidase. *Bacillus* sp. umumnya bersifat oksidase positif (Holt *et al.* 1994).

Katalase

Uji katalase dilakukan untuk menentukan kemampuan bakteri mendegradasi hidrogen peroksida (H_2O_2) melalui produksi enzim katalase atau peroksidase menjadi H_2O dan O_2 . Hasil uji katalase memberikan reaksi yang positif ditunjukkan dengan kemampuan bakteri mendegradasikan H_2O_2 yang bersifat toksik terhadapnya menjadi molekul-molekul nontoksik yaitu H_2O dan O_2 dengan memproduksi enzim katalase pada saat melakukan respirasi secara aerobik. *Bacillus* sp. umumnya memberikan reaksi katalase positif (Holt *et al.* 1994).

Uji Fisiologi

Karakteristik Pertumbuhan

Karakteristik pertumbuhan dianalisis pertumbuhannya pada kelima galur *Bacillus* sp. yang telah diketahui genusnya berdasarkan hasil uji morfologi dan uji biokimia. Berikut hasil yang diperoleh untuk karakteristik pertumbuhan :

Suhu

Pertumbuhan optimum *Bacillus* sp. pada suhu 37 °C (Tabel 4). Beberapa galur dapat tumbuh pada suhu 60 °C dan 80 °C. *Bacillus* sp. merupakan golongan bakteri termofilik yang dapat bertahan hidup pada suhu 80 °C, misalnya *B. Stearothermophilus* (Caccamo *et al.* 2000).

Tabel 4 Suhu pertumbuhan *Bacillus* sp.

Galur	Waktu (Jam)	Suhu (°C)										K
		37		40		50		60		80		
		P	I	P	I	P	I	P	I	P	I	
Claw Meat 2	24	+++++	50	++++	40	+++	30	++	20	+	10	-
Lump 1	24	+++++	50	++++	40	++	20	++	20	+	10	-
NTG 3	24	+++++	50	++++	40	+++	20	++	10	-	-	-
HRN 3	24	+++++	50	++++	40	++	20	+	10	-	-	-
CAD	24	+++++	50	++++	40	++	20	+	10	-	-	-

Keterangan: P : Pertumbuhan, I : Indeks pertumbuhan, K : Tabung Kontrol yang tidak diinokulasi, (+): buruk, (++) : agak buruk, (+++): agak baik, (++++): Pertumbuhan baik, (+++++): sangat baik

pH

Hasil analisis menunjukkan pertumbuhan *Bacillus* sp. optimum pada pH netral (Tabel 5). Beberapa galur dapat hidup pada pH 4-9. *B. cereus* dapat hidup pada pH 4 sampai 9 dengan pH optimum 7 (Carlin *et al.* 2006; Purwani dan Muwakhidah 2008; Shivareddy *et al.* 2010).

NaCl

Berdasarkan Tabel 6, *Bacillus* sp. dapat tumbuh optimum pada kadar garam 3%. Pada kadar garam 10% tidak ada pertumbuhan, ini menunjukkan bahwa adanya NaCl dalam medium memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan *Bacillus* sp. Umumnya genus ini tumbuh baik pada garam 1-3% (Feliatra *et al.* 2004).

Ketahanan Panas

Berdasarkan hasil yang diperoleh *Bacillus* sp. dapat bertumbuh baik pada media NB dibandingkan dengan media akuades dan yang mengandung NaCl (Tabel 7). Ini menunjukkan bahwa bakteri bersifat heterotropik yaitu membutuhkan zat organik untuk pertumbuhannya. Berdasarkan penelitian Santoso *et al* (1995), NaCl dapat menghambat laju pertumbuhan bakteri.

Pengamatan ketahanan panas bakteri yang bertahan hidup pada media NB selama 2 jam dengan asumsi jumlah populasi sel 10^8 CFU/mL memiliki tingkat ketahanan

Tabel 5 pH pertumbuhan *Bacillus* sp.

Galur	Waktu (Jam)	pH												K
		4		5		6		7		8		9		
		P	I	P	I	P	I	P	I	P	I	P	I	
Claw Meat 2	24	+	10	+	10	++	20	+++++	50	+++	30	++	20	-
Lump 1	24	+	10	++	20	+++	30	+++++	50	+++	30	++	20	-
NTG 3	24	+	10	++	20	+++	30	+++++	50	+++	30	++	20	-
HRN 3	24	++	20	+++	30	++++	40	+++++	50	+++	30	++	20	-
CAD	24	+	10	++	20	+++	30	+++++	50	+++	30	++	20	-

Keterangan: P : Pertumbuhan, I : Indeks pertumbuhan, K : Tabung Kontrol yang tidak diinokulasi, (+): buruk, (++) : agak buruk, (+++) : agak baik, (++++): baik, (+++++): sangat baik

Tabel 6 Kadar garam (NaCl) *Bacillus* sp.

Galur	Waktu (Jam)	NaCl (%)								K
		3		5		7		10		
		P	I	P	I	P	I	P	I	
Claw Meat 2	24	++++	40	+++	30	++	20	-	-	-
Lump 1	24	++++	40	+++	30	+	10	-	-	-
NTG 3	24	+++	30	+	10	-	-	-	-	-
HRN 3	24	++++	40	++	20	-	-	-	-	-
CAD	24	++++	40	++	20	-	-	-	-	-

Keterangan: P : Pertumbuhan, I : Indeks pertumbuhan, K : Tabung Kontrol yang tidak diinokulasi, (+) : buruk, (++) : agak buruk, (+++) : agak baik, (++++) : baik, (+++++) : sangat baik

panas lebih tinggi dibandingkan media yang mengandung 10^3 CFU/mL populasi bakteri. Resistensi spora terhadap panas dari suatu suspensi bakteri berhubungan dengan jumlah mikroorganisme yang ada. Makin besar jumlah spora per mL suspensi, makin tinggi resistensinya terhadap panas. Penelitian menunjukkan biasanya 10^5 - 10^8 spora mempunyai sifat tahan panas (Rusmana dan Hadioetomo 1994). Ketahanan panas bakteri selama 2 jam pada suhu ± 100 °C tidak cukup efektif untuk memusnahkan spora jika terjadi kontaminasi pada bahan baku sebelum diolah lebih lanjut. Hal ini

Tabel 7 Ketahanan panas *Bacillus* sp.

Galur	Waktu Perebusan	Media						Kontrol
		Nutrient broth		Akuades		NaCl		
		P	I	P	I	P	I	
Lump 1	30 detik	+++++++	70	+++	30	++	20	-
	60 detik	+++++++	60	++	20	+	10	-
	90 detik	+++++++	60	+	10	-	-	-
	5 menit	+++++	50	-	-	-	-	-
	10 menit	++++	40	-	-	-	-	-
	30 menit	+++	30	-	-	-	-	-
	60 menit	++	20	-	-	-	-	-
	90 menit	++	20	-	-	-	-	-
	2 jam	+	10	-	-	-	-	-

Keterangan: P : Pertumbuhan, I : Indeks pertumbuhan, K : Tabung Kontrol yang tidak diinokulasi, (+) : buruk, (++) : agak buruk, (+++) : agak baik, (++++) : lebih baik dari (+++), (+++++) : baik, (++++++) : lebih baik dari (+++++), (++++++) : sangat baik

dapat menyebabkan terjadinya pembusukan produk yang dikenal dengan istilah “flat sour” bahkan dapat mengarah kepada keracunan.

KESIMPULAN

Lima galur (HRN 3, NTG 3, CAD, Claw Meat 2 dan Lump 1) pada stok bakteri rajungan segar dan produk rajungan kaleng menunjukkan genus *Bacillus* dengan kemampuan tumbuh pada suhu optimum 37 °C, pH optimum pada pH 7, kadar garam optimum 3% dan ketahanan panas selama 2 jam pada media NB.

DAFTAR PUSTAKA

- Caccamo D, Gugliandolo C, Stackebrandt E, Maugeri TL. 2000. *Bacillus vulcani* sp. nov., a novel thermophilic species isolated from a shallow marine hydrothermal vent. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 50:2009-2012.
- Cappucino JG, Sherman, 1992. *Microbiology, A Laboratory Manual*. New York: The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.
- Carlin F, Frickerb M, Pielaatc A, Heisterkampc S, Shaheend R, Salonend MS, Svenssone B, Nguyen-thea C, Ehling-Schulz M. 2006. Emetic toxin-producing strains of *Bacillus cereus* show distinct characteristics within the *Bacillus cereus* group. *International Journal of Food Microbiology* 109:132-138.
- Feliatra, Efendi I, Suryadi E. 2004. Isolasi dan identifikasi bakteri probiotik dari ikan kerapu macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam upaya efisiensi pakan ikan. *Jurnal Natur Indonesia* 6(2):75-80.
- Goudswaard WB, Dammer MH, Hol C. 1995. *Bacillus circulans* infection of a proximal interphalangeal joint after a clenched-fist injury caused by human teeth. *Europ J of Clinical Microbiology* 14(11):1015-1016.
- Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Maryland, USA: Ninth Edition Williams & Wilkins.
- Jong HD, Geiselmann J, Batt G, Hernandez CE, Page M. 2004. Qualitative simulation of the initiation of sporulation in *Bacillus subtilis*. *Bulletin of Mathematical Biology* 66:261-299.
- Lucas R, Grande MJ, Abriouel H, Maqueda M, Ben Omar N, Valdivia E, Martínez-Cañamero M, Gálvez A. 2006. Application of the broad-spectrum bacteriocin enterocin AS-48 to inhibit *Bacillus coagulans* in canned fruit and vegetables foods. *Food and Chemical Toxicology* 44(10):1774-1781.
- Purwani E, Muwakhidah. 2008. Efek berbagai pengawet alami sebagai pengganti formalin terhadap sifat organoleptik dan masa simpan daging dan ikan. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi* 9(1):1-14.

- Rusmana I, Hadioetomo RS. 1994. Isolasi *Bacillus thuringiensis* Berl. dari peternakan ulat sutera dan toksisitasnya terhadap larva *Crociodomia Bionatalis* Zell dan *Spodoptera Litura* F. *Jurnal Hayati* 1(1):21-23.
- Santoso J, Suwandi R, Setyaningsih I. 1995. Isolasi dan identifikasi bakteri dari ikan asin jambal roti (*Arius thalassinus*) serta evaluasi karakteristiknya terhadap konsentrasi garam dalam media *fish broth*. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan* 1(1):70-79.
- Setyaningsih I. 1995. Isolasi dan identifikasi bakteri dari daging bekicot beku. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan* 1(1):19-24.
- Shivareddy DM, Ksheerasagar RL, Abhilash M. 2010. Isolation, optimization, production and molecular characterization of Lipase from *Bacillus* and *Pseudomonas* species and protein profiling. *Research J of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 1(1): 27-38.
- Tay L, Goh KT, Tan SE. 1982. An outbreak of *Bacillus cereus* food poisoning. *Singapore Medical Journal* 23(4):214-216.
- Uehara A, Fujimoto Y, Kawasaki A, Kusumoto S, Fukase K, Takada H. 2006. Meso-diaminopimelic acid and meso-lanthionine, amino acids specific to bacterial peptidoglycans, activate human epithelial cells through NOD1. *The Journal of Immunology* 177:1796-1804.
- Yoon JH, Lee CH, Oh TK. 2005. *Bacillus cibi* sp. Nov., isolated from jeotgal, a traditional Korean fermented seafood. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55:733-736.
- Yoon JH, Kang SS, Lee KC, Kho YH, Choi SH, Kang KH, Park YH. 2001. *Bacillus jeotgali* sp. nov., isolated from jeotgal, Korean traditional fermented seafood. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51:1087-1092.
- Zaunmüller T, Eichert M, Richter H, Uden G. 2006. Variations in the energy metabolism of biotechnologically relevant heterofermentative lactic acid bacteria during growth on sugars and organic acids. *Applied Microbiology and Biotechnology* 72:421-429.