KETAHANAN BAKTERI GRAM POSITIF TERHADAP PURO FRESH

Oleh:

Iriani Setyaningsih, Abu Nairn Assik[1], Herlina Sulistyorini dan Santoso[2].

1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Udang merupakan salah satu hasil perikanan yang terdapat di Indonesia. Disamping sebagai sumber protein, udang juga merupakan komoditi eksporyang merupakan sumber devisa bagi negara. Seperti hasil perikanan lainnya, udang juga mudah mengalami kemunduran mutu. Oleh karena itu harus dijaga kesegarannya, agar tetap bermutu tinggi.

Penggunaan bahan pengawet untuk produk-produk perikanan telah banyak dilakukan. Salah satu jenis bahan pengawet atau desinfektan yang dapat digunakan adalah Puro Fresh. Puro Fresh (ClO_2) adalah salah satu desinfektan yang termasuk golongan klorin yang bersifat antiseptik. Efektifitas bahan pengawat terhadap setiap jenis produk tidak sama. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang ketahanan suatu bakteri terhadap Puro Fresh.

1.2. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri gram positif yang terdapat pada udang segar dan ketahanan bakteri tersebut terhadap Puro Fresh.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah udang windu (*Penaeus Monodon*) yang diperoleh dari tambak di daerah Muara Kamal, Jakarta Utara.

Medium identifikasi yang digunakan sudah tersedia di BBPMHP yang terdiri dari; Plate Count Agar (PCA) dan pengenceran Buter Field Phosphate (BFP), H2O2, Trypticase Soy Agar (TSA), Triple Sugar Iron Agar (TSIA), Nitrat Broth, Baird- Parker Agar, Glucosa Broth, Laktosa Broth,dan Medium Skim Milk Agar. Sedangkan bahan pengawet yang digunakan adalah Puro Fresh diproduksi oleh Bio-Cide Chemical Co. Inc. Norman, Oklahoma, Amerika Serikat.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: Refrigrator, spektrofotometer, timbangan digital, otoklaf, cawan petri, colony counter, inkubator, water bath, erlenmeyer, gelas ukur, hot plate, dan homogenizer dan sebagainya.

Penelitian ini meliputi tahap pengujian ketahanan bakteri terhadap Puro Fresh sebagai bio assay dan tahap pengujian ketahanan bakteri terhadap Puro Fres pada udang segar.

---

1 StafPengajarJurusanPHP,FakultasPerikananIPB

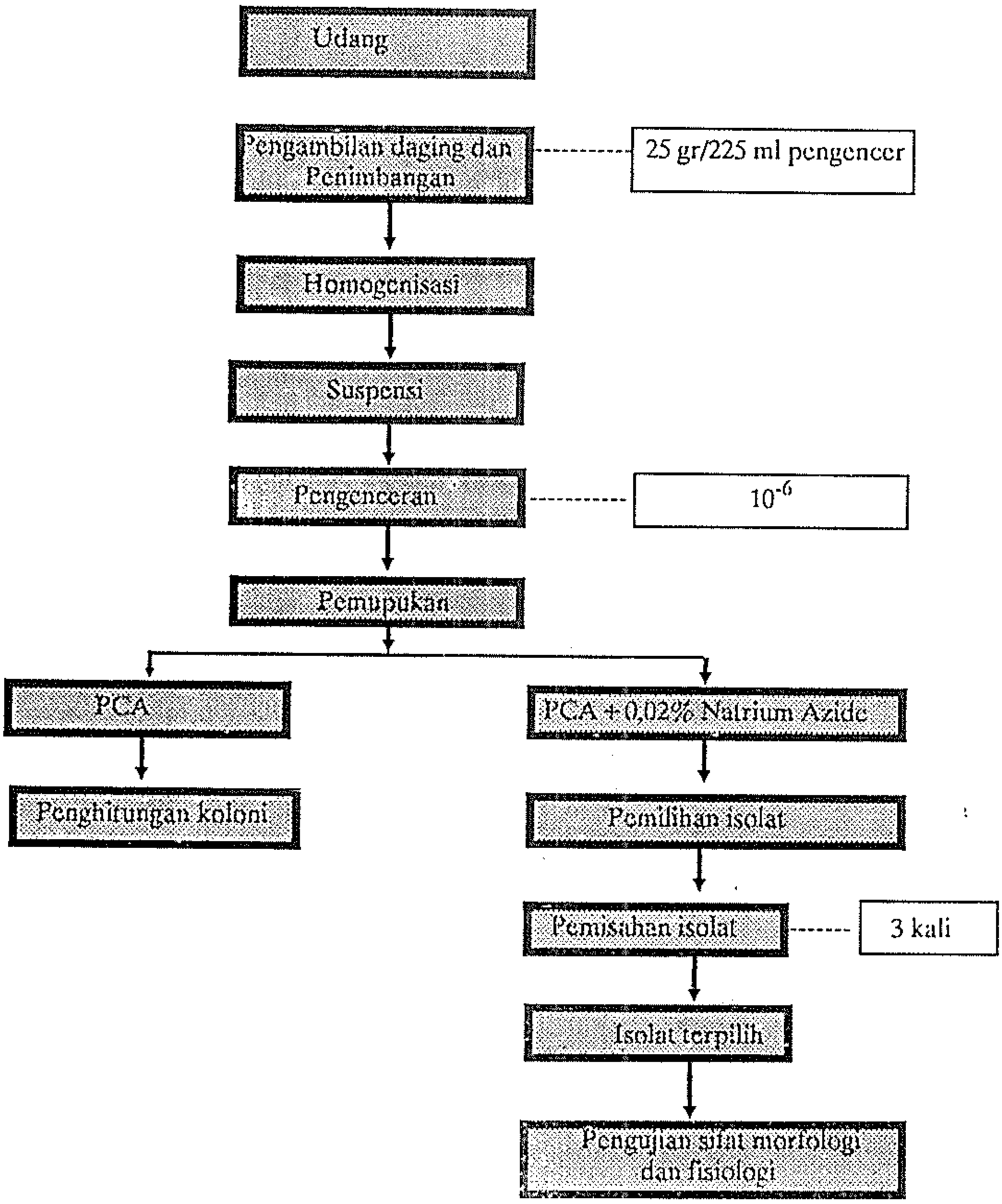
2 StafDirektoratJenderalPerikanan

2.2. Metode Pengujian Ketahanan Bakteri terhadap Puro Fresh sebagai bio-assay.

Tahap-tahap yang dilakukan untuk pengujian ini meliputi isolasi dan identifikasi bakteri.

2.2.1. Isolasi dan identifikasi bakteri

Isolasi untuk pemisahan bakteri dilakukan dengan pemilihan isolat yang berbeda dan diambil dari koloni bakteri gram positif yang tumbuh dimedia PCA yang ditambah 0,02% Natrium Azide. Jumlah isolat yang diambil berasal dari pengenceran 10^1 dan 10^2. Dari pengenceran 10^1 dan 10^2 berturut-turut diambil 8 dan 2 koloni. Pemisahan isolat ini berdasarkan perbedaan warna, elevasi, bentuk, tepian dan konsistensi. Pemisahan isolat bakteri dilakukan 3 kali, dengan tehnik cawan gores kuadran dan dilakukan 3 kali penggoresan. Pengulangan penggoresan bertujuan untuk mendapatkan isolat yang benar-benar murni yang berasal dari satu jenis. Isolat terakhir yang diperoleh ada dua yang berbeda. Kedua isolat ini kemudian diuji berdasarkan ciri- ciri morfologi dan fisiologi. Tahap-tahap isolasi bakteri secara lengkap disajikan pada Gambar 1. Identifikasi dilakukan berdasarkan ciri-ciri morfologi dan sifat-sifat fisiologis bakteri yang ditemukan.



Gambar 1. Tahap-tahap isolasi bakteri

ISSN 0854-9230

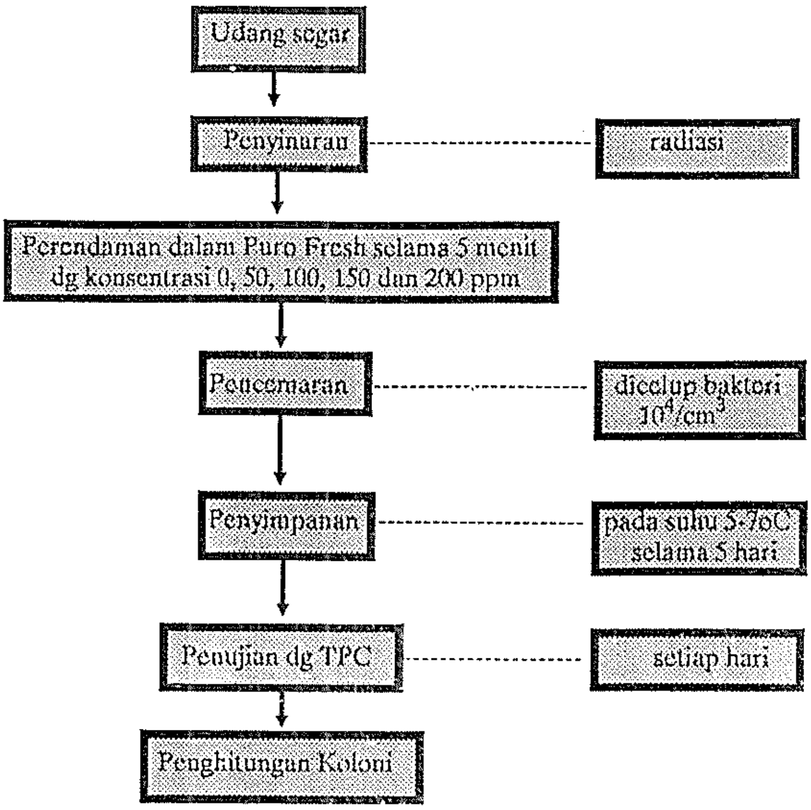
Untuk mengetahui sifat-sifat morfologi bakteri dilakukan pengujian pewarnaan gram, pemeriksaan mikroskop dan pengujian motilitas.

Ciri-ciri fisiologi bakteri ditunjukkan dengan pengujian katalase, oksidase, Triple Sugar Iron Agar (TSIA), reduksi nitrat, oksidatif-fermentatif Baird-Parker, fermentasi karbohidrat dan pengujian aktifitas proteolitik.

Hasil identifikasi bakteri ini selanjutnya dicocokkan dengan kunci identifikasi jenis bakteri menurut Faddin (1980), Shewan et al. (1970) yang dikutip Sumanti (1988), Baird-Parker (1966), Buchanan dan Gibbon (1974) dan Kiss (1954).

2.3.3. Tahap Penggunaan Puro Fresh pada udang segar.

Udang segar yang diperoleh dari tambak, ditimbang dengan berat masing-masing 150 gram dan ditempatkan pada kantong plastik, setelah itu udang tersebut diradiasi dengan dosis 25 kgrey untuk membunuh semua bakteri yang ada pada udang. Udang yang telah diradiasi kemudian direndam kedalam Puro Fresh dengan dosis 0, 50, 100, 150 dan 200 ppm selama 5 menit. Bakteri Staphylococcus ditambahkan pada udang tersebut. Tahap-tahap pengujian secara lengkap disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Tahap pengujian ketahanan bekteri terhadap puro fresh pada udang segar

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Total Plate Count (TPC)

Hasil analisis hitungan cawan total dan total bakteri gram positif pada udang segar, total bakteri yang terhitung adalah 3.0×10^4 unit koloni/gram dan jumlah bakteri gram positif adalah 6.5×10^1 unit koloni/gram.

Udang ini masih termasuk kategori segar karena jumlah TPC yang ada masih dibawah batas dari jumlah TPC segar yang ditetapkan oleh Departemen Pertanian yaitu 5×10^5 unit koloni/gram. Penampakan udang berwarna bening keabuan, bau masih segar dan daging bening cemerlang. Ini juga menunjukan bahwa udang ini secara organoleptik masuk kategori segar seperti yang dinyatakan oleh Ilyas (1993) bahwa udang segar mempunyai tanda warna bening keabuan dan cemerlang, bau segar dan daging bening, kompak dan elastis.

Mikroba yang diperoleh dari perhitungan cawan total ini diduga terdiri dari bakteri gram positif, bakteri gram negatif dan khamir. Hal ini sesuai dengan pernyataan Fardiaz (1989) bahwa hitungan cawan dengan menggunakan medium Plate Count Agar memungkinkan semua mikroba termasuk bakteri, kapang dan jamur tumbuh. Kelompok utama bakteri yang banyak dijumpai pada udang segar adalah *Achromobacter, Bacillus, Micrococcus* dan *Pseudomonas* (Tressler, 1982). Sedangkan Shewan (1962) mengatakan bakteri-bakteri Coliform, *Proteus, Bacillus, Aerobacter, Staphylococcus, Salmonella* dan *Clostridium* terdapat pada ikan dan produk perikanan lainnya yang ditimbulkan oleh perairan yang tercemar, kemudian akan bertambah jumlahnya karena proses pengolahan dan penanganan yang tidak baik. Pada ikan segar yang baru ditangkap, jenis bakteri yang unggul adalah *Micrococcus* dan *Flavobacterium*, kemudian selama pembusukan bakteri yang unggul adalah bakteri pembusuk seperti *Pseudomonas* dan *Achromobacter* (Ilyas 1993).

Bacteri gram positif yang tumbuh pada medium PCA + 0.02% Natrium Azide yang diperoleh dari udang segar, kemudian diisolasi untuk diidentifikasi sampai pada genius. Isolasi dilakukan berdasarkan perbedaan warna, elevasi, bentuk, tepian dan konsistensi.

3.2. Hasil Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Gram Positif pada Udang Segar.

Berdasarkan pengamatan, 2 isolat yang berbeda diameter koloninya diambil untuk diidentifikasi. Kedua isolat diberi kode A dan B untuk memudahkan dalam analisis selanjutnya. Kedua isolat tersebut dianggap sebagai stok kultur biakan murni dan ditumbuhkan dalam agar miring dengan media PCA ditambah 0,02% Natrium Azide.

Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat bakteri A dan B mempunyai sifat-sifat morfologis yang sama, yaitu bentuk sel bulat (coccus); penataan sel tunggal, berpasangan, tetrat dan kelompok; pewarnaan gram positif; pergerakan (motilitas) negatif. Berdasarkan bagan identifikasi Faddin (1980) yang disajikan pada Gambar 3 maka isolat tersebut termasuk jenis *Staphylococcus* sp. Karakteristik bakteri disajikan pada Tabel 1.

Untuk mengetahui ciri-ciri fisiologis kedua isolat, selain digunakan kedua kunci identifikasi Faddin (1980) juga digunakan kunci identifikasi Shewan et al. (1970) yang dikutip Sumanti (1988), Baird-parker (1966), Buchanan dan Gibbon (1974) dan Kiss (1954). Ciri-ciri fisiologis kedua isolat bakteri tersebut adalah: katalase positif, oksidase negatif, H2S negatif, reduksi nitrat positif, hidrolisis protein positif, bakteri bersifat fermentatif. Hasil pengujian fermentasi gula/pembentukan gas dari gula untuk glukosa : positif/negatif, sedang untuk laktosa negatif/negatif.

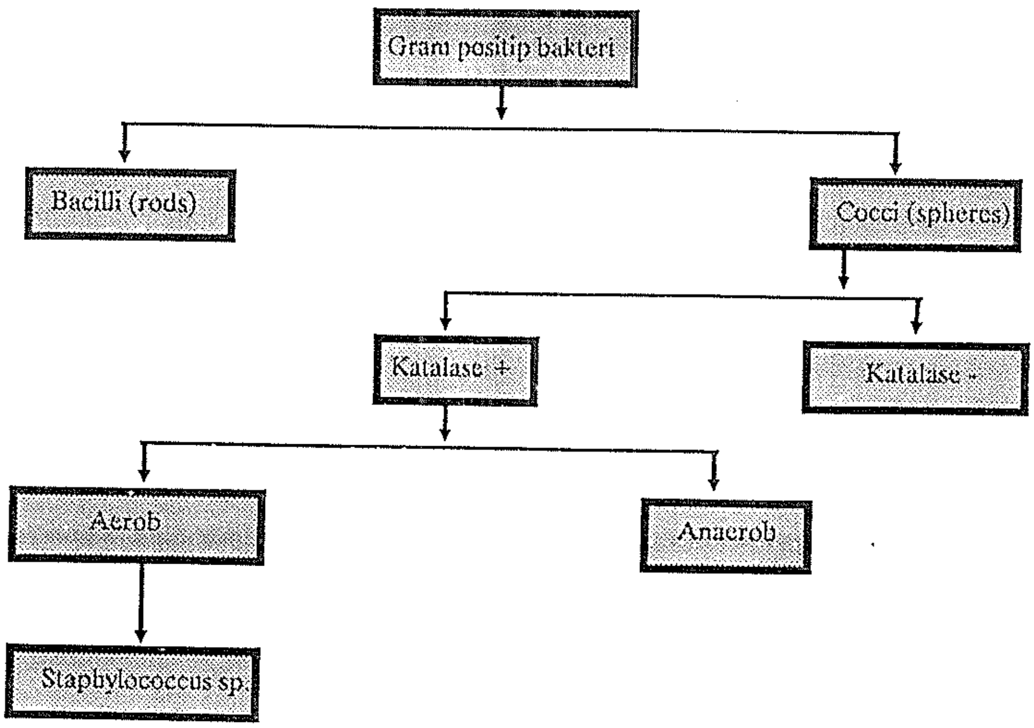
Berdasarkan hubungan terhadap oksigen bebas, Baird-Parker (1966) menyatakan bahwa genus Staphylococcus bersifat fakultatif anaerobik. Hasil analisis menunjukkan bahwa uji oksidasi-fermentatif Baird-Parker adalah fermentatif dimana genus ini mampu merubah warna medium dari ungu menjadi kuning, baik yang aerob (tanpa ditutup prafin) maupun yang anaerob (ditutup parafin). Perubahan warna lebih jelas pada medium yang tidak ditutupi

ISSN 0854-9230

parafin (kondisi aerobik). Uji oksidasi-fermentatif Baird-Parker ini sekaligus membedakan genius *Staphylococcus* dengan *Micrococcus*, dimana genus *Staphylococcus* bersifat fermentatif dan genus *Micrococcus* bersifat oksidatif.

Pengujian aktifitas proteolitik menunjukkan hasil yang positif, ditandai dengan adanya areal bening di sekeliling koloni. Buchanan dan Gibbon (1974) menyatakan bahwa *Staphylococcus* dapat memproduksi enzim protease sehingga dapat menghidrolisis protein menjadi komponen-komponen turunannya. Untuk bakteri *Staphylococcus*, semua sepesiesnya dapat menggunakan protein sebagai sumber energi karena mempunya enzim pemecah protein, yaitu protease. Enzim katalase dan nitritase juga diproduksi. Hal ini ditunjukkan hasi uji katalase dan reduksi nitrat positif. Sedangkan hasil uji oksidase negatif.

Hasil identifikasi tersebut menunjukkan bahwa bakteri yang ditemukan pada udang windu segar yang diperoleh dari muara kamal adalah bakteri *Staphylococcus* sp. Bakteri ini tergolong mikroba yang tahan terhadap perlakuan fisik seperti pemanasan, pendinginan dan perlakuan fisik lainnya (Fardiaz, 1989).



Gambar 3. Bagan identifikasi jenis bakteri gram positif (Faddin, 1980)

Tabel 1. Hasil identifikasi kedua isolat bakteri gram positif udang windu (Panaeus monodon).

	ISOLAT A	ISOLAT B
1. CIRI-CIRI KOLONI		
1.1 Warna	-kuning	-kuning mengkilat
1.2 Elevasi	-cembung	-cembung
1.3 Tepian	-licin	-licin
1.4 Bentuk	-bundar	-bundar
1.5 Diameter	-0.3 cm	-0.2 cm
1.6 Konsistensi	-lengket	-lengket
2. MORFOLOGI		
2.1 Bentuk sel	-bulat (coccus)	-bulat (coccus)
2.2 Penataan	-tunggal -berpasangan -tettrad -kelompok	-tunggal -berpasangan -tettrad -kelompok
2.3 Pewarnaan Gram	-positif	-positif
2.4 Motilitas	-negatif	-negatif
3. FISIOLOGI		
3.1 Katalase	-positif	-positif
3.2 Oksidase	-negatif	-negatif
3.3 Triple Sugar -Iron Agar (TSIA)		
-H2S	-negatif	-negatif
-Gas	-negatif	-negatif
-Fermentasi glukosa	-positif	-positif
3.4 Fermentasi gula/gas		
- Laktosa	-negatif/negatif	-negatif/negatif
- Glukosa	-positif/negatif	-positif/negatif
3.5 Aktifitas		
-Proteolitik	-positif	-positif
3.6 Reduksi Nitrat	-positif	-positif
3.7 Oksidase-fermentasi Baird-Parker	-fermentatif	-fermentatif
Genus Bakteri	-staphylococcus sp.	-staphylococcus sp.

3.3 Pengaruh Konsentrasi Puro Fresh Terhadap Ketahanan Hidup Bakteri Staphylococcus pada Udang Segar.

Hari pertama menunjukkan perkembangan bakteri yang tidak begitu cepat. Sel mulai membelah pada fase ini dengan kecepatan yang masih rendah karena baru selesai tahap penyesuaian diri (Fardiaz, 1989). Puncak perkembangan terjadi pada hari kedua, sel jasad renik mulai membelah dengan cepat dan konstan, dimana pertumbuhan jumlahnya mengikuti kurva logaritmik. Kecepatan pertumbuhan pada fase ini sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrien, juga dibutuhkan enersi lebih banyak dibanding dengan fase lainnya. Selain itu sel paling sensitif terhadap keadaan lingkungan (Fardias, 1989). Mulai hari ke-2 hingga hari ke-5 laju pertumbuhan bakteri mulai mengalami penurunan. Penurunan laju bakteri ini disebabkan karena sebagian populasi jasad renik mulai mengalami kematian karena beberapa sebab, antara lain nutrien didalam tubuh sudah habis, dan enersi cadangan dalam sel habis. Jumlah sel yang mati semakin banyak. Kecepatan kematian juga dipengaruhi oleh kondisi nutrien, lingkungan dan jasad renik (Fardiaz, 1989).

Pada uji yang memakai Puro Fresh dengan kadar 50, 100, 150, dan 200 ppm menunjukkan kenaikan yang sangat lambat, bahkan sampai hari ke-5 belum mencapai puncak pertumbuhan. Pada konsentrasi 50 ppm menunjukkan peningkatan yang agak tajam pada hari

 ISSN 0854-9230

ketiga, sedangkan konsentrasi yang lain peningkatannya tidak tajam. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian Puro Fresh sangat mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Staphylococcus* pada udang segar.

Dari hasil uji coba statistik juga menunjukkan bahwa hubungan antara masing-masing konsentrasi Puro Fresh dengan lama inkubasi ternyata berbeda nyata. Hal ini ditunjukkan oleh nialai p yang lebih kecil dari 0,01. Konsentrasi Puro Fresh 0 ppm berbeda nyata dengan konsentrasi 50,100,150, dan 200 ppm, demikian juga konsentrasi Puro Fresh 50 ppm sengan konsentrasi yang lain masing masing berbeda nyata. Penggunaan Puro Fresh pada konsentrasi 50,100,150, dan 200 ppm memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap perkembangan bakteri. Analisis tambahan uji interaksi antara perlakuan konsentrasi Puro Fresh (G) dan lama inkubasi (H) terhadap ketahanan bakteri *Staphylococcus* pada udang segar menunjukkan bahwa waktu sangat berpengaruh terhadap konsentrasi Puro Fresh. Hasil analisis ini juga menunjukkan bahwa konsentrasi berinteraksi dengan lama inkubasi (1,2,3,4, dan 5 hari). Udara dan air mempengaruhi kondisi pemakaian Puro Fresh pada udang segar, karena udara adalah salah satu media penyebaran bakteri. Karena sebagai media penyebaran bakteri ini, maka udara sekitar dan air yang dipakai percobaan harus benar-benar steril. Suhu sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroba, karena itu suhu harus tetap stabil. Fluktuasi suhu ynag tinggi menyebabkan bakteri lain yang tidak diinginkan akan tumbuh.

DAFTAR PUSTAKA

Baird-Parker. 1966. Methods for clasifying Staphylococcus andMicrococci. Dalam Gibbs, B.M and E.A. Skinner (Eds). Indentification Methods for Microbiologists. Academic Presh. New York.

Buchanan, R. E. dan N. E. Gibbons. 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th Edition. The William and Wilkins Company. Baltimore.

Faddin. 1980. Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria William and Wilkins. Baltimore. USA.

Fardiaz, S. 1983. Keamanan pangan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Fardiaz, s. 1989a. Analisa mikrobiologi pangan. Institut pertanian Bogor, Bogor.

------------ 1989b. Mikrobiologi Pngan I. Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Frazier, W.C. and D.C. Westhoff. 1988. Food Microbiology. Mc Graw-Hill Publising Company Ltd. New Delhi.

Hadioetomo, R.SS. 1985. Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Dan Prosedur Dasar Laboratorium. PT Gramedia, Jakarta.

Ilyas, S.1983. Teknologi Refrigerasi Hasil Perikanan. Teknik Pendinginan, Jilid I. CV Paripurna, Jakarta.

Kiss, I. 1984. Testing Method in Food Microbiology. Journal. Elsevier Scientific Publising Co. New York.

Sumanti, D.M. 1988. Identifikasi dan Sifat-sifat Bakteri Halofilik yang Diisolasi dari Produk Fermentasi Jeroan Ikan Cakalang. Tesis. Fakultas Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Tressler, D.K., W.B. Van Arsdee and M.J. Copley. 1982. The Freezing Preservation of Food. Vol II. Factors Affecting Quality. The AVI Publishing Comp. Inc, USA.