ISOLASI DAN INDENTIFIKASI BAKTERI DARI IKAN ASIN JAMBAL ROTI (*Arius thalassinus*) SERTA EVALUASI KARAKTERISTIKNYA TERHADAP KONSENTRASI GARAM DALAM MEDIA FISH BROTH

Oleh:

Ir. Joko Santoso, Ir. Ruddy Suwandi, M.Phil., Ir. Iriani Setyaningsih, MS.[1]
dan Santoso[2]

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri dari ikan asin jambal roti (Arius thalassinus) serta mempelajari karakteristiknya terhadap konsentrasi garam dalam media "fish broth".

Hasil isolasi dan indentifikasi menunjukkan bahwa keempat isolat (A, B, C, D) mempunyai genus yang sama yaitu Staphylococcus. Berdasarkan perbedaan sifat-sifat fisiologisnya, maka Staphylococcus tersebut dapat dibedakan menjadi dua jenis, yaitu Staphylococcus sp I (Isolat A) yang tidak dapat menghidrolisa lemak dan Staphylococcus sp II (Isolat B, C, D) yang mempunyai kemampuan menghidrolisa lemak.

Evaluasi karakteristik terhadap konsentrasi garam dalam media "fish broth" menunjukkan bahwa Staphylococcus hasil isolasi mampu tumbuh pada konsentrasi garam sampai dengan 20 % (b/v), meskipun laju pertumbuhannya dapat dihambat sejalan dengan kenaikan kosentrasi garam. Berdasarkan kebutuhannya terhadap garam, maka Staphylococcus tersebut digolongkan kedalam kelompok bakteri halotoleran.

1 *Staf Pengajar Jurusan Pengolahan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan, IPB.*
2 *Staf. Peneliti Balai Bimbingan dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (BBPMHP) Muara Baru, Jakarta*

PENDAHULUAN

Proses pengolahan ikan secara tradisional bagi rakyat Indonesia memegang peranan yang sangat penting. Hal ini dikarenakan 50 % dari hasil penangkapan ikan diolah secara tradisional. Salah satu produk olahan tradisional yang banyak dikonsumsi rakyat Indonesia adalah ikan asin.

Salah satu permasalahan yang menyebabkan terjadinya kerusakan pada ikan asin adalah terdapatnya bakteri pembusuk. Ada dua kelompok bakteri yang mampu hidup dan merusak ikan asin, yaitu kelompok bakteri halofilik dan kelompok bakteri halotoleran. Kelompok bakteri halofilik mutlak membutuhkan konsentrasi garam tertentu untuk pertumbuhannya, sedangkan kelompok bakteri halotoleran untuk pertumbuhannya tidak memerlukan garam tetapi masih mampu hidup dalam media yang mengandung garam (Fardiaz, 1987).

Sanderson et al. (1988) telah melakukan penelitian tentang bakteri halofilik dan halotoleran yang menyebabkan kerusakan pada ikan asin di Indonesia. Dari hasil penelitiannya diperoleh bahwa jenis-jenis bakteri yang merusak ikan asin di Indonesia adalah : *Halobacterium salinarum, Halococcus morhuae, Halomonas* sp, *Staphylococcus xylosus, Staphylococcus sp, dan Planococcus halophylus.*

Bentuk-bentuk kerusakan produk ikan asin yang disebabkan oleh bakteri adalah : "pink spoilage" (permukaan produk terbentuk pigmen berwarna kuning kemerahan); "tanning" (terdapatnya bercak- bercak merah sepanjang tulang punggung ikan asin dan berbau busuk), "saponifikasi" (terbentuknya lendir yang sifatnya seperti sabun pada permukaan ikan asin yang berwarna kuning-abu dan berbau busuk) (Zaitsev, et al., 1969).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri yang terdapat pada ikan asin jambal roti (Arius thalassinus) serta mengevaluasi karakteristiknya terhadap konsentrasi garam dalam media "fish broth".

METODOLOGI

Media "fish broth" dibuat dari ikan manyung (Arius sp.) segar yang diperoleh dari Tempat Pelelangan Ikan (TPI) Pelabuhan Perikanan Samudra Jakarta. Sedangkan ikan asin jambal roti (Arius thalassinus) diperoleh dari Pasar Lawang Seketeng, Bogor.

Penelitian ini dibagi dalam beberapa tahap, yaitu : tahap pembuatan media "fish broth", tahap isolasi dan identifikasi bakteri, tahap evaluasi karakteristik bakteri hasil isolasi dalam media "fish borth" dengan menggunakan alat Spektrofotometer UV-VIS.

Identifikasi bakteri meliputi ciri-ciri kultur/koloni (warna koloni, elevasi, tepian, bentuk dan konsistensi); ciri-ciri morfologi (pewarnaan Gram, pemeriksaan mikroskop, uji motilitas); dan ciri-ciri fisiologis (uji katalase, oksidase, OF-Baird Parker, fermentasi karbohidrat, indol, tripel sugar iron agar, hidrolisa urease, reduksi nitrat, aktifitas proteolitik, hidrolisa lemak, hidrolisa pati). Kunci identifikasi menggunakan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Buchanan dan Gibbons, 1974) ; Shewan et al. (1970) dalam Sumanti (1988) ; Baird-Parker (1966); Baird-Parker (1979).

HASIL DAN PEMBAHASAN

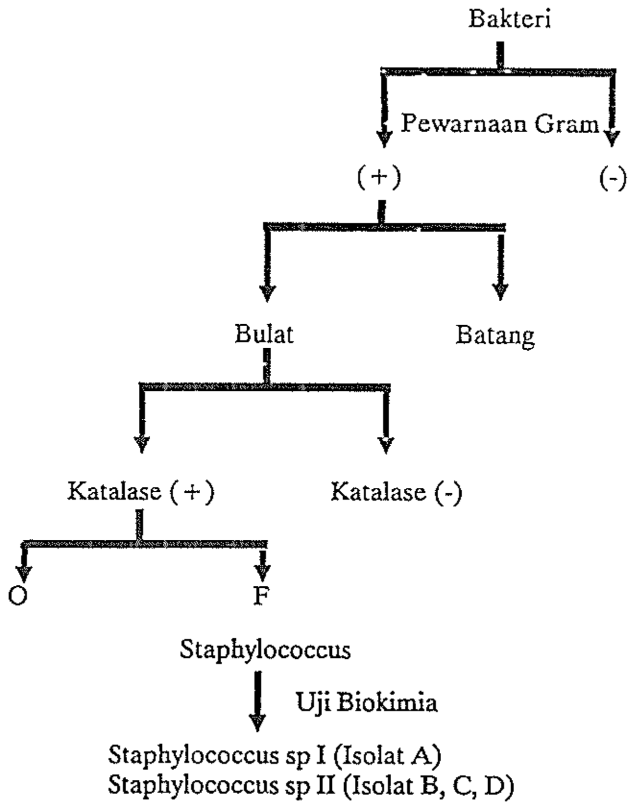
Isolasi dan Identifikasi

Hasil analisa mikrobiologi ikan asin jambal roti dengan metode hitungan cawan total (TPC) diperoleh nilai 1.8×10^4 koloni/gram. Kemudian diambil 15 koloni sebagai isolat untuk dibiakkan murni. Pembuatan biakan murni dilakukan dengan teknik cawan gores kuadran dan dilakukan sebanyak dua kali penggoresan. Pengulangan penggoresan bertujuan untuk mendapatkan koloni yang benar-benar murni yang berasal dari satu spesies. Ternyata koloni yang tumbuh dari ke 15 isolat mempunyai ciri-ciri yang sama, yaitu warna koloni kuning mengkilat, elevasi cembung, tepian licin, bentuk dan konsistensi lengket. Berdasarkan ciri- ciri tersebut maka hanya diambil 4 isolat yang berbeda diameter koloninya untuk diidentifikasi. Untuk memudahkan pengerjaan, keempat isolat diberi kode A, B, C dan D. Keempat isolat tersebut sebagai stok kultur biakan murni.

Isolat bakteri A, B, C dan D mempunyai sifat-sifat morfologi yang sama, yaitu : bentuk sel bulat (coccus); penataan sel tunggal, berpasangan, tetrad dan kelompok; pewarnaan Gram positif; motilitas negatif. Ciri-ciri fisiologis keempat isolat, selain digunakan kunci identifikasi Shewan et al. (1970) juga digunakan kunci identifikasi Baird-Parker (1966), Buchanan dan Gibbons (1974) dan Baird-Parker (1979). Berdasarkan bagan identifikasi Shewan et al. (1970) pada Gambar 1, maka isolat tersebut dikelompokkan kedalam *Staphylococcus* sp I dan *Staphylococcus* sp II. Sedangkan karakteristik keempat isolat secara lengkap disajikan pada Tabel 1.

Hasil uji fisiologis keempat isolat menunjukkan sifat- sifat yang sama, kecuali dalam hal hidrolisis lemak. Berdasarkan perbedaan dalam kemampuan menghidrolisa lemak, maka isolat A ditetapkan kedalam genus *Staphylococcus* sp I; dan isolat B, C, D kedalam genus *Staphylococcus* sp II.

Perbedaan kemampuan dalam menghidrolisa lemak disebabkan ada tidaknya enzim lipase yang mampu mendegradasi lemak menjadi komponen-komponen turunannya. Isolat A (*Staphylococcus* sp I) tidak dapat menghidrolisa lemak dan diduga enzim lipase tidak disentesa oleh bakteri ini. Sedangkan isolat B, C, D (*Staphylococcus* sp II) dapat menghidrolisa lemak, karena bakteri ni diduga mampu mensintesa enzim lipase. Menurut Baird-Parker (1979) spesies *Staphylococcus* aureus pasti mensintesa enzim lipase, sedangkan spesies *Staphylococcus epidermidis* ada yang dapat mensintesa enzim lipase dan ada yang tidak.



Gambar 1. Bagan Identifikasi Jenis Bakteri Menurut Shewan et al. (1970) dalam Sumanti (1988).

Uji koagulase tidak dilakukan dalam penelitian ini, sehingga tidak dapat menentukan apakah *Staphylococcus* sp I dan *Staphylococcus* sp II bersifat patogen atau tidak. Sifat patogen genus Staphylococcus dapat dilihat dari hasil uji koagulase. Bila hasil uji koagulase positif maka bersifat patogen dan spesiesnya Staphylococcus aureus, sedangkan bila uji koagulase negatif maka bersifat non patogen dan spesiesnya selaian *Staphylococcus aureus*, mungkin *Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus saprophyticus* (Jawetz, et al., 1982), atau *Staphylococcus xylosus* (Sanderson, et al., 1988).

Adanya Staphylococcus pada produk ikan asin diduga karena adanya kontaminasi selama proses pengolahan, dimana bakteri ini merupakan mikroflora normal yang terdapat pada sebagian anggota tubuh manusia seperti tangan, hidung, mulut, kulit dan juga terdapat dalam debu (Fardiaz, 1987).

Tabel 1. Hasil Identifikasi Keempat Isolat Bakteri dari Ikan Asin Jambal Roti (*Arius thalassinus*)

	Isolat A	Isolat B	Isolat C	Isolat D
A. Ciri-Ciri Koloni				
1. Warna	-kuning mengkilat	-kuning mengkilat	-kuning mengkilat	-kuning mengkilat
2. Elevasi	-cembung	-cembung	-cembung	-cembung
3. Tepian	-licin	-licin	-licin	-licin
4. Bentuk	-bundar	-bundar	-bundar	-bundar
5. Diameter	-0.4 cm	-0.6 cm	-0.3 cm	-0.2 cm
6. Konsistensi	-lengket	-lengket	-lengket	-lengket
B. Morfologi				
1. Bentuk sel	-bulat (coccus)	-bulat (coccus)	-bulat (coccus)	-bulat (coccus)
2. Penataan sel	-tunggal -berpasangan -tetrad -kelompok	-tunggal -berpasangan -tetrad -kelompok	-tunggal -berpasangan -tetrad -kelompok	-tunggal -berpasangan -tetrad -kelompok
3. Pewarnaan Gram	-positif	-positif	-positif	-positif
4. Motilitas	-negatif	-negatif	-negatif	-negatif
C. Fisiologi				
1. Katalase	- negatif	- negatif	- negatif	- negatif
2. Oksidase	- negatif	- negatif	- negatif	- negatif
3. O/F Baird Parker	- fermentatif	- fermentatif	- fermentatif	- fermentatif
4. Urea	- negatif	- negatif	- negatif	- negatif
5. Triple Sugar Iron Agar (TSIA)				
- H2S	- negatif	- negatif	- negatif	- negatif
- Gas	- negatif	- negatif	- negatif	- negatif
- Fermentasi Glukosa	- negatif	- negatif	- negatif	- negatif
6. Indol	- negatif	- negatif	- negatif	- negatif
7. Fermentasi gula/ gas				
- Glukosa	- positif/negatif	- positif/negatif	- positif/negatif	- positif/negatif
- Sukrosa	- positif/negatif	- positif/negatif	- positif/negatif	- positif/negatif
- Laktosa	- negatif/negatif	- negatif/negatif	- negatif/negatif	- negatif/negatif
- Xylosa	- negatif/negatif	- negatif/negatif	- negatif/negatif	- negatif/negatif
- Manitol	- negatif/negatif	- negatif/negatif	- negatif/negatif	- negatif/negatif
- Dulcitol	- negatif/negatif	- negatif/negatif	- negatif/negatif	- negatif/negatif
- Rhamnosa	- negatif/negatif	- negatif/negatif	- negatif/negatif	- negatif/negatif
8. Reduksi Nitrat	- positif	- positif	- positif	- positif
9. Hidrolisis Protein	- positif	- positif	- positif	- positif
10. Hidrolisis Lemak	- negatif	- negatif	- negatif	- negatif
11. Hidrolisis Pati	- negatif	- negatif	- negatif	- negatif
Genus Bakteri	- Staphylococcus I	- Staphylococcus II	- Staphylococcus II	- Staphylococcus II

Dari hasil identifikasi hanya ditemukan bakteri dari genus Staphylococcus, sedangkan genus bakteri yang lain tidak ditemukan. Hal ini dikarenakan bakteri genus Staphylococcus mempunyai sifat-sifat : bentuk morfologi bulat (coccus) dan penataan selnya kebanyakan berkelompok (seperti buah anggur), komposisi dinding selnya sebagian besar peptidoglikan dan sedikit asam teikoat, sehingga bila dibandingkan dengan bakteri genus lain Staphylococcus lebih tahan terhadap perlakuan fisik, seperti pemanasan, penambahan garam dan perlakuan fisik lainnya (Fardiaz, 1987).

Evaluasi Karakteristik *Staphylococcus* sp Terhadap Konsentrasi Garam dalam Media Fish Broth

Evaluasi ketahanan bakteri *Staphylococcus* sp terhadap konsentrasi garam dalam media "fish broth" menggunakan spektrofotometer. Untuk itu diperiukan suatu kurva standar yang menyatakan korelasi antara nilai absorbans dengan log jumah bakteri (log number), karena yang terukur dalam spektrofotometer adalah nilai absorbans.

Untuk menentukan panjang gelombang yang digunakan maka dilakukan "scanning" terlebih dahulu, karena media media "fish broth" yang digunakan tidak berwarna. Scanning dilakukan dengan cara membaca nilai absorbans maksimum dari media "fish broth". Hasil "scanning" menunjukkan bahwa nilai absorbans maksimum "fish broth" terletak pada panjang gelombang 287 nm, sehingga digunakan sumber radiasi sinar ultra violet. Pada panjang gelombnang 287 nm, pembacaan nilai absorbans "fish broth" memberikan ketelitian yang paling tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pomeranz dan Meloan (1978) bahwa panjang gelombang yang memberikan nilai absorbans tinggi atau transmitans rendah memberikan ketelitian yang paling tinggi dalam pembacaan.

Isolat yang diuji ketahanannya terhadap konsentrasi garam dalam media "fish broth" adalah isolat B, karena dari keempat isolat tiga isolat mempunyai sifat-sifat morfologi dan fisiologi yang sama.

Perlakuan kadar garam yang digunakan masing-masing adalah 0 %, 5 %, 10 %, 15 % dan 20 % (b/v), sehingga dibutuhkan lima buah kurva standar. Sedangkan lama inkubasi adalah 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 hari.

Kurva standar untuk masing-masing perlakuan adalah :

$$Y_0 = 3.29 + 5.09\,X \;;\; r = 0.97$$

$$Y_5 = 3.89 + 3.58\,X \;;\; r = 0.96$$

$$Y_{10} = 5.10 + 3.04\,X \;;\; r = 0.95$$

$$Y_{15} = 5.03 + 2.27\,X \;;\; r = 0.95$$

$$Y_{20} = 4.34 + 3.37\,X \;;\; r = 0.94$$

Dari hasil uji regresi linier, kelima kurva standar memberikan hasil yang berbeda nyata, sehingga kurva standar tersebut dapat digunakan untuk menghitung jumlah bakteri Staphylococcus sp dalam media "fish broth".

Hasil uji ketahanan bakteri *Staphylococcus* sp II terhadap kosentrasi garam dalam media "fish broth" disajikan pada Tabel 2.

Dari Tabel 2 terlihat bahwa penggunaan garam dalam media fish broth dapat mempengaruhi laju pertumbuhan *Staphylococcus* sp II. Pada perlakuan 0 %, laju pertumbuhan meningkat dengan cepat pada lama inkubasi 1 sampai 4 hari, sedangkan pada lama inkubasi 0 sampai 1 hari laju pertumbuhannya relatif lambat karena masih dalam kondisi adaptasi dengan lingkungan. Pada hari ke 4 sampai 6 laju pertumbuhannya lambat dan akhirnya konstan, hal ini diduga pada selang hari tersebut zat-zat nutrien sebagai sumber energi dalam media sudah mulai berkurang dan terdapatnya zat-zat hasil metabolisme yang dapat bersifat racun bagi bakteri.

Pada konsentrasi garam 5 %, laju pertumbuhan bakteri meningkat dari hari ke 0 sampai ke 5. Sedangkan pada perlakuan konsentrasi garam 10 %, 15 % dan 20 % laju pertumbuhannya meningkat dari hari ke 0 sampai ke 3. Semakin tinggi konsentrasi garam yang ditambahkan kedalam medium, maka laju pertumbuhan *Staphylococcus* sp II semakin berkurang. Pengaruh garam dalam menghambat laju pertumbuhan bakteri dijelaskan oleh Frazier (1967) sebagai berikut :

1. Garam mempunyai tekanan osmotik yang tinggi sehingga dapat memecahkan membran sel mikroba (plasmolisis).

2. Garam bersifat higroskopis sehingga dapat menyerap air yang terkandung pada bahan pangan, yang dapat mengakibatkan turunnya aktifitas (a_w) bahan pangan tersebut.

3. Ion Cl^- yang terdissosiasi dari NaCl dapat bersifat toksik terhadap mikroba, sehingga dapat membunuh mikroba.

4. Adanya larutan garam dapat mengurangi kelarutan oksigen, sehingga bakteri aerob dapat dihambat pertumbuhannya.

Tabel 2. Data Log Number Hasil Pengukuran Ketahanan Hidup Bakteri *Staphylopcoccus* sp II terhadap Konsentrasi Garam dalam Media Fish Broth.

Lama Inkubasi	0 %	5 %	10 %	15 %	20 %
1 hari (1)	4,0430	4,3285	5,3985	5,18704	4,5250
(2)	4,0400	4,3130	5,4060	4,19904	4,5370
(3)	4,0535	4,3220	5,3985	5,19104	4,5065
2 hari (1)	5,9825	5,7240	5,8560	5,48804	4,7895
(2)	5,9925	5,7310	5,8605	5,49754	4,8100
(3)	5,9850	5,7525	5,8695	5,49204	4,7760
3 hari (1)	8,2520	6,5465	6,2805	5,68804	4,9500
(2)	8,2700	6,5590	6,2880	5,69904	4,9920
(3)	8,2525	6,5765	6,2925	5,69404	4,9560
4 hari (1)	10,5215	7,2065	6,3565	5,71505	5,0185
(2)	10,5320	7,5475	6,3905	5,73305	5,0455
(3)	10,1830	7,2510	6,3580	5,72005	5,0200
5 hari (1)	10,5215	7,5635	6,3845	5,72405	5,0240
(2)	10,5320	7,5475	6,3905	5,73405	5,0455
(3)	10,5400	7,5725	6,3845	5,72105	5,0200
6 hari (1)	10,5265	7,5690	6,3875	5,71505	5,0290
(2)	10,5375	7,5510	6,3920	5,73405	5,0455
(3)	10,5450	7,5690	6,3860	5,72205	5,0220

Berdasarkan ketahanannya terhadap kadar garam, maka *Staphylococcus* sp II termasuk kedalam kelompok bakteri halotoleran dan pertumbuhannya dihambat dengan semakin meningkatnya kadar garam dalam media. Hal ini sesuai dengan pendapat Buchanan dan Gibbons (1974) bahwa bakteri Staphylococcus dapat tumbuh pada media yang mengandung konsentrasi garam sampai 15 %, tetapi laju pertumbuhannya berkurang.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan :

1. Keempat isolat bakteri (A, B, C, D) mempunyai genus yang sama, yaitu Staphylococcus. Hal ini menunjukkan bahwa genus Staphylococcus merupakan bakteri dominan pada ikan asin jambal roti.

2. Berdasarkan uji fisiologis, maka genus Staphylococcus dibedakan menjadi dua jenis, yaitu *Staphylococcus* sp I (isolat A) yang tidak dapat menghidrolisa lemak dan *Staphylococcus* sp II (isolat B, C, D) yang mampu menghidrolisa lemak.
3. Hasil evaluasi karakteristik *Staphylococcus* sp II terhadap konsentrasi garam menunjukkan bahwa laju pertumbuhannya dapat dihambat (berkurang) seiring dengan meningkatnya konsentrasi garam yang ditambahkan.
4. Berdasarkkan kebutuhannya terhadap garam, maka *Staphylococcus* sp II tergolong kedalam kelompok bakteri halotoleran.

Saran

1. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengevaluasi karakteristik Staphylococcus terhadap suhu, pH, a_w dan penambahan bahan pengawet seperti natrium sorbat.
2. Karena mikroorganisme yang merusak produk ikan asin tidak hanya bakteri, maka perlu dilakukan penelitian terhadap mikroorganisme lain yaitu kapang yang lebih berpotensi dalam merusak ikan asin.

DAFTAR PUSTAKA

Baird-Parker. 1966. Methods for classifying staphylococci and micrococci. Dalam Identification Methods for Microbiologist. Gibbs, B.M and F.A. Skinner (eds.). Academic Press. New York.

Baird-Parker. 1979. Methods for classifying staphylococci and micrococci. Dalam Identification Methods for Microbiologist. Skinner, F.A. and E.A. Adelberg (eds.). Academic Press. New York.

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

Fardiaz, S. 1987. Mikrobiologi Pangan. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Jawetz, E., J.L. Melnick dan E.A. Adelberg. 1982. Review of Medical Microbiology. Terjemahan G. Bonang. Penerbit EGS, Jakarta.

Pomeranz, Y dan C.E. Meloan. 1978. Food Analysis Theory and Practice. AVI Publishing Company, Westport, Connecticut.

Sanderson, K., Macmeekin, T.A., Indriati, N dan Anggawati, A.M. 1988. Taxonomy of halophylic bacteria and brine sample. ASEAN Food Journal 4 (1) : 31 - 37.

Sumanti, D.M. 1988. Identifikasi dan Sifat-sifat Bakteri Halofilik Yang Diisolasi Dari Produk Fermentasi Jeroan Ikan Cakalang. Fakultas Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Zaitsev, V., I. Kizevetter., L. Lagunov., T. Makarova., L. Minder dan V. Podsevalov. 1969. Fish Curing and Processing. Mir Publishing. Moscow.