

**PENGUJIAN TOTAL PLATE COUNT (TPC) DAN CEMARAN
Salmonella sp. PADA IKAN LAYUR (*Trichiurus lepturus*) DI
PASAR TRADISIONAL DAN MODERN SURABAYA.**

SKRIPSI



**UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A**

Disusun oleh

ADIFA PUTRI RAMADHANI

NIM. H74219021

**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL
SURABAYA**

2023

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Adifa Putri Ramadhani
NIM : H74219021
Program Studi : Ilmu Kelautan
Angkatan : 2019

Menyatakan bahwa tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul : “PENGUJIAN TOTAL PLATE COUNT (TPC) DAN CEMARAN *Salmonella* sp. PADA IKAN LAYUR (*Trichiurus lepturus*) DI PASAR TRADISIONAL DAN MODERN SURABAYA”. Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, Agustus 2023

Yang Menyatakan,



Adifa Putri Ramadhani

NIM. H74219021

LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi oleh

Nama : Adifa Putri Ramadhani

NIM : H74219021

Judul : Pengujian Total Plate Count (TPC) Dan Cernaran *Salmonella* Sp. Pada Ikan Layur *Trichiurus lepturus* Di Pasar Tradisional Dan Supermarket Surabaya.

Ini telah diperiksa dan disetujui untuk diujikan

Surabaya, 23 Februari 2023

Dosen Pembimbing I



Misbakhul Munir, S.Si., M.Kes.

NIP 198107252014031002

Dosen Pembimbing II



Dian Sari Maisaroh, S.Kel., M.Si.

NIP 198908242018012001

PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Adifa Putri Ramadhani ini telah dipertahankan
di depan tim penguji skripsi
di Surabaya, 11 Juli 2023

Mengesahkan,
Dewan Penguji

Penguji I


Misbakhul Munir, S.Si., M.Kes.
NIP.198107252014031002

Penguji II


Dian Sari Maisaroh, S.Kel., M.Si.
NIP.198908242018012001

Penguji III


Fajar Setiawan, M.T
NIP.198405062014031001

Penguji IV


Muhammad Yunan Fahmi, ST..M.T
NUP. 201409004

Mengetahui,
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Ampel Surabaya


Saepul Hamdani, M.Pd
NIP. 196507312000031002

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI



**KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA
PERPUSTAKAAN**

Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300
E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Adifa Putri Ramadhani
NIM : H74219021
Fakultas/Jurusan : SAINTEK / Ilmu Kekuatan
E-mail address : adifapr1212@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :

Skripsi Tesis Desertasi Lain-lain (.....)

yang berjudul :

PENGEJIAN TOTAL PLATE COUNT (TPC) DAN CEMARAN *Salmonella sp.*
PADA IKAN LAYUR (*Trichiurus lepturus*) DI PASAR TRADISIONAL DAN
MODERN SURABAYA .

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara *fulltext* untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 13 Juli 2023

Penulis

(Adifa Putri Ramadhani)
nama terang dan tanda tangan

ABSTRAK

PENGUJIAN TOTAL PLATE COUNT (TPC) DAN CEMARAN *Salmonella* sp. PADA IKAN LAYUR (*Trichiurus lepturus*) DI PASAR TRADISIONAL DAN MODERN SURABAYA.

Ikan Layur (*Trichiurus lepturus*) termasuk ke dalam ikan perairan laut, pada pola musim persebaran adanya ikan layur terdapat pada bulan April, Juni, Agustus, September, Oktober, dan November. Antusias yang tinggi dari masyarakat menjadikan ikan layur (*Trichiurus lepturus*) tidak selalu ada di pasaran karena keterbatasan ikan layur (*Trichiurus lepturus*). Bakteri *Salmonella* sp. merupakan parameter adanya kontaminasi terhadap produk perikanan maka pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai TPC (*Total Plate Count*) dan untuk mendeskripsikan ada atau tidaknya cemaran bakteri *Salmonella* sp. pada ikan layur (*Trichiurus lepturus*). Penelitian ini bersifat deskriptif kualitatif, untuk pengujian TPC (*Total Plate Count*) mengikuti standart SNI 2332-3-2015 menggunakan metode pour plate dengan teknik duplo. Pada cemaran *Salmonella* sp. SNI ISO 6579.2015 menggunakan media XLD yang dilanjutkan pada uji TSIA/LIA dan uji biokimia. Hasil penelitian menunjukkan nilai TPC tertinggi sebesar $6,8 \times 10^6$ CFU/ml dan TPC terendah dengan nilai $1,1 \times 10^5$ CFU/ml. Pada penelitian ini terdapat dua sampel yang tidak memenuhi syarat TPC dan enam sampel memenuhi syarat, nilai TPC maksimum sesuai standart SNI 2332-3-2015 mengenai ambang batas maksimum produk ikan *fresh* dan beku sebesar $5,0 \times 10^5$ CFU/ml. Pada uji cemaran bakteri dari delapan sampel terdapat satu sampel yang positif tercemar oleh *Salmonella* sp.

Kata kunci: TPC (*Total Plate Count*), *Salmonella* sp., Ikan Layur (*Trichiurus lepturus*)

ABSTRACT

TESTING OF TOTAL PLATE COUNT (TPC) AND CONTAMINATION OF *Salmonella* sp. IN LAYUR FISH (*Trichiurus lepturus*) IN TRADITIONAL AND MODERN MARKETS IN SURABAYA.

Layur fish (*Trichiurus lepturus*) belongs to marine fish, in the distribution pattern of the distribution of layur fish there are in April, June, August, September, October and November. The high enthusiasm from the community made the whitefish (*Trichiurus lepturus*) not always available in the market due to the limitations of the whitefish (*Trichiurus lepturus*). *Salmonella* sp. bacteria is a parameter of the presence of contamination of fishery products, so this study aims to determine the value of TPC (*Total Plate Count*) and to describe the presence or absence of *Salmonella* sp. in layur fish (*Trichiurus lepturus*). This research is descriptive qualitative, for TPC (*Total Plate Count*) testing following the SNI 2332-3-2015 standard using the pour plate method with the duplo technique. On contamination of *Salmonella* sp. SNI ISO 6579.2015 uses XLD media followed by TSIA/LIA tests and biochemical tests. The results showed that the highest TPC value was $6,8 \times 10^6$ CFU/ml and the lowest TPC was $1,1 \times 10^5$ CFU/ml. In this study, there were two samples that did not meet the TPC requirements and six samples met the requirements. The maximum TPC value according to SNI 2332-3-2015 standards regarding the maximum threshold for fresh and frozen fish products is $5,0 \times 10^5$ CFU/ml. In the bacterial contamination test, out of eight samples, one sample was positively contaminated by *Salmonella* sp.

Keywords: TPC (*Total Plate Count*), *Salmonella* sp., Layur fish (*Trichiurus lepturus*)

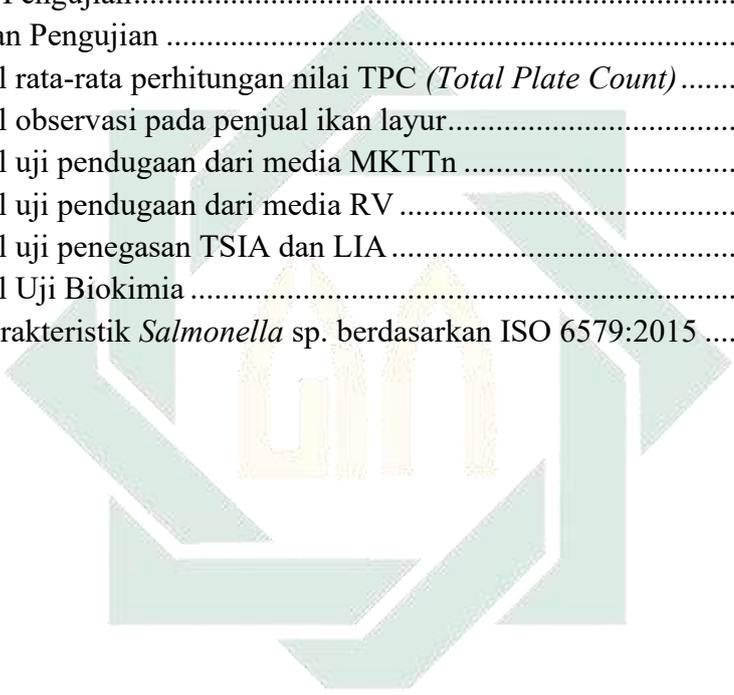
UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING	ii
PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Batasan Masalah.....	4
BAB II TINJUAN PUSTAKA	5
2.1 Klasifikasi Ikan Layur (<i>Trichiurus lepturus</i>)	5
2.2 Bakteri	6
2.3 Klasifikasi Bakteri <i>Salmonella</i> sp.	7
2.4 Morfologi Bakteri <i>Salmonella</i> sp.	8
2.5 Media Pengujian.....	9
2.6 Tahap Pengujian Bakteri <i>Salmonella</i> sp.	10
2.7 Pengujian <i>Total Plate Count</i> (TPC)	11
2.8 Integrasi keilmuan	12
2.9 Penelitian Terdahulu	13
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	17
3.1 Metodologi Penelitiann	17
3.2 Penentuan Penelitian	17
3.2.1 Lokasi dan Waktu	17

DAFTAR TABEL

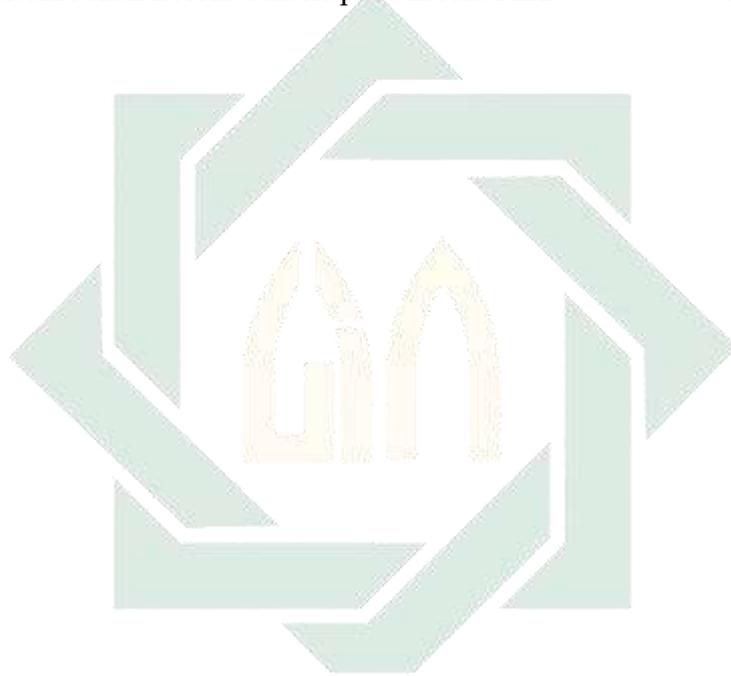
Tabel 2. 1 Jurnal Terdahulu 1	13
Tabel 2. 2 Jurnal Terdahulu 2	13
Tabel 2. 3 Jurnal Terdahulu 3	14
Tabel 2. 4 Jurnal Terdahulu 4	15
Tabel 2. 5 Jurnal Terdahulu 5	15
Tabel 2. 6 Jurnal Terdahulu 6	16
Tabel 3. 1 Alat Pengujian.....	23
Tabel 3. 2 Bahan Pengujian	24
Tabel 4. 1 Hasil rata-rata perhitungan nilai TPC (<i>Total Plate Count</i>).....	36
Tabel 4. 2 Hasil observasi pada penjual ikan layur.....	37
Tabel 4. 3 Hasil uji pendugaan dari media MKTTn	40
Tabel 4. 4 Hasil uji pendugaan dari media RV	40
Tabel 4. 5 Hasil uji penegasan TSIA dan LIA	41
Tabel 4. 6 Hasil Uji Biokimia	43
Tabel 4. 7 Katarakteristik <i>Salmonella</i> sp. berdasarkan ISO 6579:2015	44



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Ikan Layur (<i>Trichiurus lepturus</i>).....	5
Gambar 2. 2 Bakteri <i>Salmonella</i> sp.....	7
Gambar 3. 1 Peta lokasi pengujian.....	18
Gambar 3. 2 Diagram alir.....	20
Gambar 4. 1 pertumbuhan koloni bakteri TPC	35
Gambar 4. 2 pertumbuhan koloni bakteri pada media XLD.....	39



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan Layur (*Trichiurus lepturus*) termasuk ke dalam ikan perairan laut yang mudah dikenal dari bentuknya yang panjang, pipih dan ramping. Ikan layur ini tersebar di perairan tropis maupun sedang dalam kisaran 60°LU dan 45°LS, pada pola musim persebaran adanya ikan layur terdapat pada bulan April, Juni, Agustus, September, Oktober, dan November (Zulkarnain, dkk 2023). Layur sendiri dapat dijumpai di tempat penjualan ikan yang ada di pasar sekitar kita baik di pasar tradisional maupun modern seperti supermarket. Bentuk sajian pengolahan ikan layur biasanya disajikan dengan cara digoreng, dipanggang dan bisa diolah sebagai ikan asin, ikan layur juga dapat dijadikan sebagai umpan pancing untuk ikan lain. Ikan layur banyak disukai karena daging yang kenyal, tidak berminyak, tidak terlalu amis, mudah dilepas tulangnya dan antusias tinggi dari masyarakat menjadikan ikan layur (*Trichiurus lepturus*) tidak selalu ada di pasaran, jika tiba musimnya ketersediaan ikan layur (*Trichiurus lepturus*) tidak banyak dan sering cepat habis.

Ikan layur (*Trichiurus lepturus*) tersebar luas dipenjuru perairan tropis dan subtropis yang ada di dunia. Di Indonesia ikan layur dapat ditemukan pada perairan pantai selatan pulau Jawa, ikan layur biasa disebut dengan “*ribbon fish*” yang mana ikan ini terdapat ciri khas yakni memiliki badan yang ramping, pipih dan panjang seperti pita. Warna tubuh ikan layur keperak-perakan saat masih segar dan saat dalam keadaan mati atau tidak layak konsumsi ikan layur berubah warna menjadi perak keabuan dan sedikit berwarna ungu (Swastawati, dkk 2015).

Yang dijelaskan dalam Al-Qur'an surah Al-Maidah ayat 96 berbunyi:

أَحِلَّ لَكُمْ صَيْدُ الْبَحْرِ وَطَعَامُهُ مَتَاعًا لَكُمْ وَلِلسَّيْرَةِ ۖ وَحُرْمَ عَلَيْكُمْ صَيْدُ الْبَرِّ
مَا دُمْتُمْ حُرْمًا ۗ وَاتَّقُوا اللَّهَ الَّذِي إِلَيْهِ تُحْشَرُونَ

Artinya: Dihalalkan bagimu binatang buruan laut dan makanan (yang berasal) dari laut sebagai makanan yang lezat bagimu, dan bagi orang-orang yang dalam perjalanan dan diharamkan atasmu (menangkap) binatang buruan darat, selama kamu dalam ihram. Dan bertakwalah kepada Allah yang kepada-Nya-lah kamu akan dikumpulkan.

Pada potongan ayat di atas dapat diketahui bahwa ikan merupakan komoditas yang layak untuk dikonsumsi dan diharamkan bagi yang mengkonsumsi. Akan tetapi tidak dapat dipungkiri dalam ikan bisa terkontaminasi oleh bakteri yang dapat menurunkan mutu kualitas dan membahayakan bagi yang mengkonsuminya. Banyak penyebab yang menjadikan ikan tercemar dari kegiatan secara sengaja maupun tidak sengaja dalam ikan yang berasal dari lingkungan, zat radioaktif, cemaran kimia, atau residu obat hewan peptisida maupun benda lainnya. Persyaratan sanitasi menjadi standar kebersihan dan kesehatan yang harus dipenuhi untuk menjamin dan mencegah terjadinya pembusukan dan kerusakan, membebaskan Pangan dari jasad renik patogen, serta mencegah pertumbuhan tunas.

Seperti yang dijelaskan dalam Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 86 Tahun 2019 Tentang Keamanan Pangan pada saat memproduksi pangan maupun ikan diharapkan dalam menggunakan alat dan bahan yang steril dan higienis untuk mengurangi kontaminasi dan penyakit menular. Kondisi dan upaya yang dibutuhkan untuk mencegah ikan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia dan benda lain yang dapat merugikan dan membahayakan, yakni tentang produksi ikan, masa penyimpanan ikan, menyiapkan alat dan bahan, kemasan pangan yang digunakan untuk mewadahi atau membungkus ikan ketika melakukan penjualan diharapkan menjaga higienitasnya (Peraturan Pemerintah 2019).

Pada penelitian ini diharapkan dapat melakukan pengujian cemaran terhadap bakteri *Salmonella* sp. yang dapat dilakukan secara konvensional dari tahap pra pengkayaan, pengkayaan, isolasi, uji praduga, terakhir uji konfirmasi melalui Uji Biokimia dengan menggunakan metode SNI ISO 6579:2015. Uji *Total Plate Count* (TPC) dilakukan perhitungan jumlah mikroorganisme produk perikanan yang disesuaikan *standart plate count* di

dasari bahwa setiap sel mikroba yang hidup sesuai dengan suhu suspensi yang telah ditentukan nantinya yang akan dihitung dan menjadi dugaan dari tiap-tiap jumlah minimum mikroba yang tumbuh.

Pada penelitian ini pengambilan sampel menggunakan metode *purposive sampling* yang mana disesuaikan dengan kebutuhan peneliti, dibeli ikan layur dari pasar tradisional dan pasar modern (supermarket), pemilihan ikan layur diambil dari wilayah tertentu yang ada di Surabaya pemilihan ini yang adanya penjualan ikan layur dan menjadi kriteria lokasi pemilihan peneliti untuk kebutuhan pengujian, masing-masing sampel dibeli sebanyak 1kg ikan layur (*Trichiurus lepturus*). Terdapat 8 lokasi pengambilan sampel yakni 4 pasar tradisional dan 4 supermarket hal ini ditujukan untuk perbandingan yang menjadi kemungkinan ikan tercemar oleh *Salmonella* sp. selanjutnya akan di uji pada laboratorium Instalasi KIPM Surabaya II.

Pasar merupakan tempat bertemu antara penjual dan pembeli dalam melakukan transaksi jual beli demi keuntungan atau penemuan kebutuhan secara individual. Toko Modern adalah toko dengan sistem pelayanan mandiri, menjual berbagai jenis barang secara eceran yang berbentuk Minimarket, Supermarket, Department Store, Hypermarket ataupun grosir yang berbentuk Perkulakan pada kelompok Supermarket, terdapat Hero, Carrefour, Superindo, Foodmart, Ramayana, dan Supermarket (Pandini, 2009) dalam (Utomo 2011). Berdasarkan cara transaksinya, pasar tradisional para penjual dan pembeli dapat melakukan tawar-menawar secara langsung. Barang yang diperjual belikan adalah barang berupa bahan makanan berupa ikan, buah, sayur-sayuran, telur, daging, dan jasa lainnya. Pasar modern merupakan pasar yang bersifat modern dengan keadaan yang lebih bersih, tertata, sehingga menimbulkan transaksi yang lebih nyaman, dirancang untuk memenuhi kebutuhan konsumen, seperti daging, hasil produk olahan, makanan kering, makanan basah, serta item-item produk non-food. (Ariyani dan Nurcahyono 2018).

1.2 Rumusan Masalah

- 1) Berapakah nilai *Total Plate Count* (TPC) pada ikan Layur (*Trichiurus lepturus*) di pasar tradisional dan pasar modern (supermarket) Surabaya?
- 2) Apakah terdapat cemaran bakteri *Salmonella* sp. pada sampel ikan Layur (*Trichiurus lepturus*) di pasar tradisional dan pasar modern (supermarket) Surabaya?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1) Untuk mengetahui perhitungan nilai *Total Plate Count* (TPC) pada ikan Layur (*Trichiurus lepturus*) di pasar tradisional dan pasar modern (supermarket) yang ada di Surabaya.
- 2) Untuk mendeskripsikan adanya cemaran bakteri *Salmonella* sp. pada sampel ikan Layur (*Trichiurus lepturus*) di pasar tradisional dan pasar modern (supermarket) yang ada di Surabaya.

1.4 Manfaat Penelitian

- 1) Manfaat bagi peneliti

Pengujian penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dalam bidang laboratorium mikrobiologi bagi peneliti dan mampu memberikan data yang valid mengenai nilai *Total Plate Count* (TPC) dan cemaran bakteri *Salmonella* sp. pada ikan Layur (*Trichiurus lepturus*) di pasar tradisional dan pasar modern (supermarket) Surabaya.

- 2) Manfaat untuk masyarakat

Pada penelitian pengujian *Total Plate Count* (TPC) dan cemaran bakteri *Salmonella* sp. pada ikan Layur (*Trichiurus lepturus*) ini diharapkan bermanfaat bagi masyarakat baik yang menjual ataupun yang mengkonsumsi ikan supaya lebih menjaga higienitas agar ikan yang dijual layak dikonsumsi dengan aman tanpa mengurangi mutu ikan dan tidak menimbulkan cemaran bakteri dan penyakit bagi yang mengkonsumsinya.

1.5 Batasan Masalah

- 1) Penelitian sampel ikan layur (*Trichiurus lepturus*) didapatkan di pasar tradisional dan pasar modern (supermarket) Surabaya.
- 2) Pengujian dilakukan di Laboratorium Instalasi KIPM Surabaya II.

BAB II

TINJUAN PUSTAKA

2.1 Klasifikasi Ikan Layur (*Trichiurus lepturus*)



Gambar 2. 1 Ikan Layur (*Trichiurus lepturus*)

Sumber: <https://img2.pngdownload.id/20180511/agw/kisspng-largehead-hairtail-fishing-sea-cutlassfish-5af61019313d57.9608801015260754172017.jpg>

Klasifikasi ikan layur menurut Nakamura dan Parin (1993) dalam (Nur Irwan, 2008) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Sub filum : Pisces
Kelas : Teleostei
Ordo : Percomorphi
Subordo : Scombroidea
Superfamili : Trichiuroidea
Famili : Trichiuridae
Genus : Trichiurus
Spesies : *Trichiurus lepturus*

Ikan Layur (*Trichiurus lepturus*) merupakan ikan demersal yang hidup di dasar atau dekat dengan dasar perairan, kelompok ikan layur memiliki aktivitas rendah, hidupnya bergerombol namun tidak terlalu besar sehingga persebaran adanya ikan layurini relatif lebih merata jika dibandingkan dengan ikan pelagis. Ciri-ciri morfologi pada ikan layur badannya ramping, pipih dan panjang menyerupai pita terletak pada bagian tubuh ujung belakang tepat pada ekornya (*hairtail*). Ikan layur mempunyai mulut yang lebar serta gigi rangkap, kuat serta tajam sehingga ikan layur

termasuk pada jenis ikan karnivora. Pada bagian rahang bawahnya lebih besar daripada rahang bagian atas, pada bagian sirip punggungnya bentuk memanjang mulai dari kepala sampai pada pangkal ekornya, sirip dorsal memiliki panjang dan tinggi dengan jumlah sebanyak 130-135 buah, ikan layur tidak memiliki sirip caudal dan pelvic, dan sirip analnya tereduksi menjadi duri terpisah (slit) akan tetapi bagian ini tidak tertutup pada kulit (Rachmawati 2014).

Ikan Layur (*Trichiurus lepturus*) pada umumnya sering dijumpai adanya parasit pada bagian tubuhnya maka dari itu perlu adanya pengujian bakteri lain untuk mengetahui apakah ikan layur (*Trichiurus lepturus*) pada keadaan segar tercemar adanya *Salmonella* sp., dalam mencari makan ikan layur (*Trichiurus lepturus*) ini akan naik dekat pada permukaan perairan di siang hari dan migrasi ke dasar perairan saat malam hari. Juvenil membentuk kelompok pada 100m dari atas dasar perairan di siang hari dan membentuk kelompok untuk mencari makannya pada saat malam hari di permukaan air (Vianita, dkk, 2014).

2.2 Bakteri

Bakteri merupakan mikroorganisme yang dapat berkembang biak dengan cara membelah diri yang sifatnya micron dan memiliki bentuk sangat kecil sehingga hanya dapat dilihat menggunakan mikroskop saja. Bakteri adalah mikroorganisme bersel satu dan memiliki tubuh yang terdiri dari sel yang tidak memiliki pembungkus inti.

Salmonella sp. adalah bakteri pendek panjangnya sekitar (1-2 μm), bakteri ini termasuk dalam bakteri gram negatif dari ciri-ciri batang yang tidak membentuk spora, biasanya motil dengan flagella peritrisous. *Salmonella* sp. sendiri termasuk kedalam anaerob fakultatif yang mana secara biokimia karakterisasinya dan kemampuannya memfermentasi glukosa yang mampu memproduksi asam dan gas, dan ketidakmampuannya ialah memfermentasikan laktosa dan sukrosa namun dapat memfermentasikan glukosa. Temperatur pertumbuhan optimum pada suhu 38°C, *Salmonella* aktif tumbuh pada kisaran pH 3,6 – 9,5 dan optimalnya pada nilai pH mendekati normal (Isyana 2012).

Infeksi dari *Salmonella* sp. disebut juga dengan Salmonellosis yang dapat menyerang masuk kedalam saluran gastrointestinal yakni mencakup bagian

Berdasarkan klasifikasi diatas dapat diketahui bahwa bakteri *Salmonella* sp. tergolong Phylum Protophyta yaitu organisme yang sangat sederhana dibanding organisme lainnya seperti manusia, hewan dan tumbuhan. Phylum Protophyta terbagi menjadi 3 kelas antara lain Schizophyceae, Schimycetes dan Mikrotatobioetes, pembagian kelas tersebut dilihat dari ada dan tidaknya klorofil sebagai proses fotosintesisnya, oleh karena itu bakteri *Salmonella* sp. termasuk dalam kelas Schizophyceae karena tidak memiliki klorofil untuk fotosintesisnya.

2.4 Morfologi Bakteri *Salmonella* sp.

Salmonella sp. merupakan bakteri berbahaya yang dikeluarkan dari saluran pencernaan hewan dan manusia bersama dengan feses (Sarati, 1999).

1. Morfologi koloni

- koloni besar
- bentuk bulat
- permukaan agak cembung
- licin dan jernih
- koloni tidak berwarna
- terjadi pembentukan H₂S

2. Morfologi mikroskopik

- gram negatif
- batang pendek
- susunan tidak teratur

Sifat dari *Salmonella* sp. dapat tumbuh secara suasana aerob dan anerob fakultatif, dapat bergerak, pada uji biokimia *Salmonella* sp. dapat mengkonfirmasi hasil positif yang ditandai pada reaksi fermentasi sorbitol, manitol dan dapat memberikan hasil negatif yang ditandai pada reaksi indol kovacs dengan ciri (cincin merah), Urease, Voges Proskauer (VP), serta reaksi fermentasi dari sukrosa dan laktosa. Pada perkembangan bakteri *Salmonella* sp. ini bisa dikatakan sangat cepat pertumbuhannya karena di setiap selnya dapat membelah diri setiap 20 menit dengan keadaan suhu yang hangat dan dapat tumbuh pada media yang mengandung protein tinggi disekitarnya.

2.5 Media Pengujian

Media pengujian merupakan kumpulan dari banyak zat organik maupun non organik sehingga dapat digunakan untuk pertumbuhan mikroba jamur, virus, parasit dan bakteri yang mana mereka termasuk dalam binatang ber-sel satu dan untuk mikroba dengan catatan syarat tertentu. Diketahui antara derajat keasaman dan inkubasi tertentu, media pertumbuhan mikroba dari bahan yang terdiri dari zat makanan yang diperuntukkan pertumbuhan mikroba tersebut. Mikroorganisme mempunyai kemampuan memanfaatkan nutrisi dari media molekul kecil yang dapat menyusun komponen sel, dan media tumbuh dapat dilakukan secara isolat ke mikroorganisme sebagai kultur murni (Pratiwi, 2011 dalam Hasrawati, 2017). Berdasarkan kemampuan dan sifatnya, media dibedakan menjadi beberapa jenis sebagai berikut:

1) Media Dasar

Media dasar merupakan media yang sederhana di dalamnya mengandung zat yang diperlukan untuk sebagian besar mikroorganisme dapat juga digunakan sebagai komponen dasar untuk membuat media pembiakan yang lainnya.

2) Media Diperkaya

Media diperkaya merupakan media dasar yang ditambahkan zat atau bahan nutrisi lain untuk mempersubur pertumbuhan mikroba tertentu yang akan diidentifikasi. Penambahan nutrisi pengkaya diharapkan dapat menyokong pertumbuhan mikroba yang dituju.

3) Media Diferensial

Media diferensial merupakan media yang digunakan untuk membedakan pada bagian bentuk dan karakter koloni mikroba yang tumbuh. Beberapa jenis mikroba dapat tumbuh pada media ini dan ada beberapa jenis mikroba tertentu yang memiliki penampilan khas, media diferensial biasanya digunakan untuk isolasi atau identifikasi bakteri.

4) Media Selektif

Dinamakan media selektif karena media ini digunakan untuk menyeleksi pertumbuhan mikroba *Salmonella* sp. yang diperlukan dalam pengujian terkait dari campuran mikroba lain yang ada di dalam bahan yang akan diuji. dengan penambahan zat tertentu maka mikroba yang dicari dapat dipisahkan dengan mudah dan lebih efektif sehingga media ini sangat berguna untuk identifikasi (Hasrawati 2017).

2.6 Tahap Pengujian Bakteri *Salmonella* sp.

Tahap melakukan identifikasi terhadap mikroba dapat dilakukan dengan beberapa tahap antara lain pemeriksaan morfologi, pewarnaan gram dan uji biokimia (Kismiyati et al. 2009) adapun tahapan pengujian keberadaan bakteri pada ikan, yakni :

1.) Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri memiliki tujuan untuk mendapatkan bakteri yang menyerang pada sampel yang diduga terinfeksi bakteri yang dituju. Sumber dilakukannya isolasi pada ikan yakni semua bagian tubuh yang mengalami kelainan patologi yang terdapat dugaan sebab oleh penyakit bakterial dari bagian tubuh luar maupun di dalamnya (Kismiyati et al. 2009). Isolasi bakteri ini dilakukan dengan memindahkan mikroba dari inangnya kemudian ditumbuhkan sebagai biakan murni pada media buatan ataupun substrat, biakan murni ini bertujuan sebagai pemisah antara suatu mikroba yang dibutuhkan dengan jenis mikroba lain, adapun beberapa metode yang dilakukan dalam melakukan isolasi bakteri antara lain metode pengenceran (Dilusi), metode cawan gores (*Streak Plate*), dan metode cawan sebar atau *spread plate*.

2.) Pemurnian Bakteri

Kegiatan pemurniaan atau *purification* bakteri merupakan lanjutan dari tahap isolasi bakteri, yang bertujuan agar memperoleh biakan murni yang diinginkan tanpa adanya kontaminan dari jenis mikroba lain.

3.) Analisis Karakteristik Bakteri

Tahap analisis ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik bakteri dalam mereaksi senyawa kimia sehingga menghasilkan senyawa kimia lainnya, adapun uji biokimia yang dilakukan meliputi:

a) Uji VP (*Voges-Proskauer*)

Uji VP (*Voges-Proskauer*) digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mengoksidasi glukosa dengan menghasilkan asam sebagai produk akhir dan berkonsentrasi tinggi (Sunatmo, 2007 dalam Antriana, 2014).

b) Uji TB (Indol)

Uji indol dilakukan dengan menggunakan isolate TB (*Tryptone Broth*) yang diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C dengan penambahan reagen kovac sebanyak 3 tetes. Uji ini bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri dalam memecah senyawa triptopan asam amino dan membentuk indol. Senyawa triptopan akan dihidrolisis oleh triptonase sehingga menghasilkan indol, untuk mendeteksi adanya indol kovac yang dapat bereaksi dengan indol dan menghasilkan senyawa berwarna merah.

c) Uji Urease

Uji urease dilakukan dengan menggunakan media *Urea Base Agar*, uji urea dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mengubah urea menjadi senyawa amoniak. Hasil uji urea yang positif ditandai dengan adanya perubahan warna media semulanya berwarna kuning menjadi warna merah muda dan hasil negatif ditandai dengan tidak adanya perubahan warna pada media urea.

2.7 Pengujian *Total Plate Count* (TPC)

Pengujian TPC (*Total Plate Count*) adalah uji yang dilakukan untuk menghitung keseluruhan jumlah koloni bakteri hidup dan mati yang terdapat di media agar uji. Tahapan awal sebelum dilakukan pengujian ialah melakukan pengenceran pada tabung reaksi sampel dan pembuatan media agar. Media yang digunakan dalam uji ini yaitu media PCA (*Plate Count Agar*) yang diinokulasi pada sampel dengan cara spread plate dan diinkubasi selama 2 hari pada suhu 35°C.

Perhitungan bakteri TPC (*Total Plate Count*) dapat dihitungkan secara tidak langsung maupun langsung. Perhitungan langsung menggunakan alat yakni *cell counter* dilakukan dengan cara menghitung keseluruhan mikroba yang berada di media baik mikroba yang mati maupun mikroba yang hidup.

Prinsip TPC berawal dengan melakukan penanaman sel mikroba hidup ke suatu media sehingga mikroba yang ditujukan dapat berkembang biak dan juga dapat membentuk koloni yang dapat dilihat dengan mata telanjang tanpa menggunakan bantuan mikroskop. Faktor yang dapat mempengaruhi hasil TPC ialah dari pemilihan waktu yang tepat untuk pengujian, cara perlakuan, kualitas dari sampel, residu disinfektan, cara inkubasi sampel suhu dan waktu yang sesuai (Standard 2015).

2.8 Integrasi keilmuan

إِنَّ اللَّهَ لَا يَهْدِي الْقَوْمَ الْفَاسِقِينَ
لَا حَقَّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ فَتَنَّا فَمَا لَكُمْ بِهِمْ
بِالَّذِينَ لَا يَرْجُونَ

Artinya: “Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka. Dan adapun mereka yang kafir mengatakan: "Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?." dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik.” (QS.Al-Baqarah : 26).

Bakteri yang dijelaskan dalam bahasa Al-Qur'an disebut dengan dzarrah. Istilah dari zarah ialah sebagai wujud zat atau substansi materi yang paling kecil yang disebutkan dalam Al-Qur'an merupakan petunjuk untuk mempelajari mikroorganisme dan mikromos lainnya.

Peranan bakteri dalam kehidupan antara lain:

- Bakteri sendiri dapat digunakan untuk pembuatan makanan keju dari fermentasi susu. Bakteri mengubah gula susu menjadi asam laktat. Asam inilah yang menyebabkan susu mengental untuk membentuk keju.
- Di dalam tubuh kita bakteri juga membantu untuk mencerna makanan. Beberapa spesies bakteri, seperti *E.coli*, *Salmonella* sp. ditemukan dalam saluran pencernaan. Bahkan, dalam usus, sel-sel bakteri melebihi jumlah sel-sel diri sendiri.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Metodologi Penelitian

Penelitian pengujian ini menggunakan deskriptif kualitatif yang dipilih untuk menghitung nilai mikroba TPC (*Total Plate Count*) tujuannya untuk melihat dan menghitung adanya mikroba total sehingga dapat menjabarkan dalam bentuk narasi suatu data seperti tahap isolasi sampai hasil pengujian ada tidaknya cemaran bakteri *Salmonella* sp.

Pada pengambilan sampel ikan layur (*Trichiurus lepturus*) dilakukan secara *purposive sampling* sesuai kebutuhan peneliti yakni dengan cara membeli ikan layur (*Trichiurus lepturus*) di pasar tradisional dan pasar modern (supermarket) berbeda yang ada di wilayah Surabaya, masing-masing ikan dibeli sebanyak 1kg dari 8 titik lokasi yang ditentukan untuk menyamakan dalam pembelian sampel ikan diharapkan lokasi tersebut dapat mewakili dari setiap bagian Surabaya karena pada bulan persebaran dan pasokan penjualan ikan layur (*Trichiurus lepturus*) ditemukan pada 8 lokasi yang terdapat transaksi penjualan ikan layur (*Trichiurus lepturus*) untuk kebutuhan penelitian.

3.2 Penentuan Penelitian

3.2.1 Lokasi dan Waktu

Lokasi pengambilan sampel ikan layur didapatkan pada 4 pasar tradisional dan 4 pasar modern (supermarket) wilayah Surabaya yang menjadi salah satu pasokan pengiriman dan penjualan ikan layur (*Trichiurus lepturus*). Sampel ikan layur setelah itu diujikan pada Instalasi KIPM Surabaya II waktu dilaksanakan pengambilan data dan pengujian selama 2 bulan pada bulan Maret-Mei 2023. Pengambilan sampel ikan layur (*Trichiurus lepturus*) dilakukan pembelian di beberapa pasar tradisional dan modern (supermarket) di 7 kelurahan diantaranya :

Kelurahan Nyamplungan pasar tradisional 1, Kelurahan Petemon pasar tradisional 2, Kelurahan Kupang krajan pasar tradisional 3, Kelurahan Dupak pasar tradisional 4, Kelurahan

2017). Pengambilan data primer dilakukan dengan cara mencatat hasil dari kegiatan observasi, wawancara, serta partisipasi aktif, antara lain:

a. Observasi

Menurut (Ratiabriani,dkk. 2016), observasi yaitu kegiatan pengamatan yang dilakukan secara langsung terhadap obyek yang diteliti dengan tujuan untuk melengkapi data yang kurang pada penelitian. Kegiatan observasi ini dilakukan agar dapat menjelaskan tahap-tahap pada kegiatan pengujian TPC (*Total Plate Count*) dan cemaran bakteri dari *Salmonella* sp. secara runtut dan detail serta dapat menyimpulkan kekurangan ataupun kelebihan dari suatu tindakan yang dilakukan.

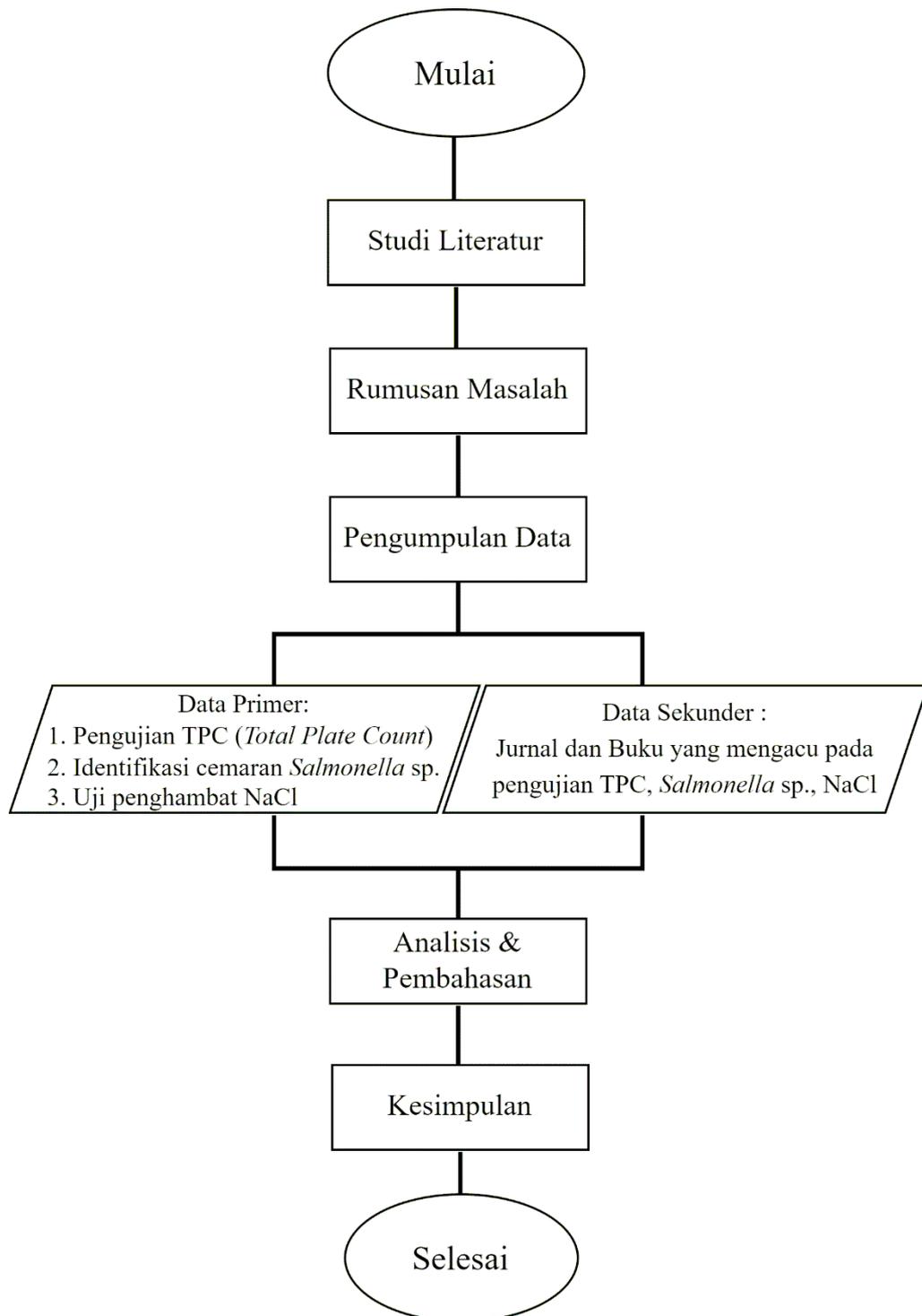
b. Wawancara

Suatu usaha yang bertujuan untuk mendapatkan data atau informasi yang dibutuhkan untuk kegiatan penelitian yang dilakukan melalui tanya jawab langsung antara peneliti dengan responden merupakan pengertian dari wawancara (Ratiabriani dan Purbadharmaja 2016). Wawancara yang dilakukan pada pengujian skripsi di Instalasi KIPM Surabaya II dengan cara melakukan tanya jawab mengenai pengujian TPC (*Total Plate Count*) dan identifikasi bakteri *Salmonella* sp. mulai dari persiapan sampel hingga proses pengujian serta kendala yang terdapat pada kegiatan pengujian.

c. Partisipasi Aktif

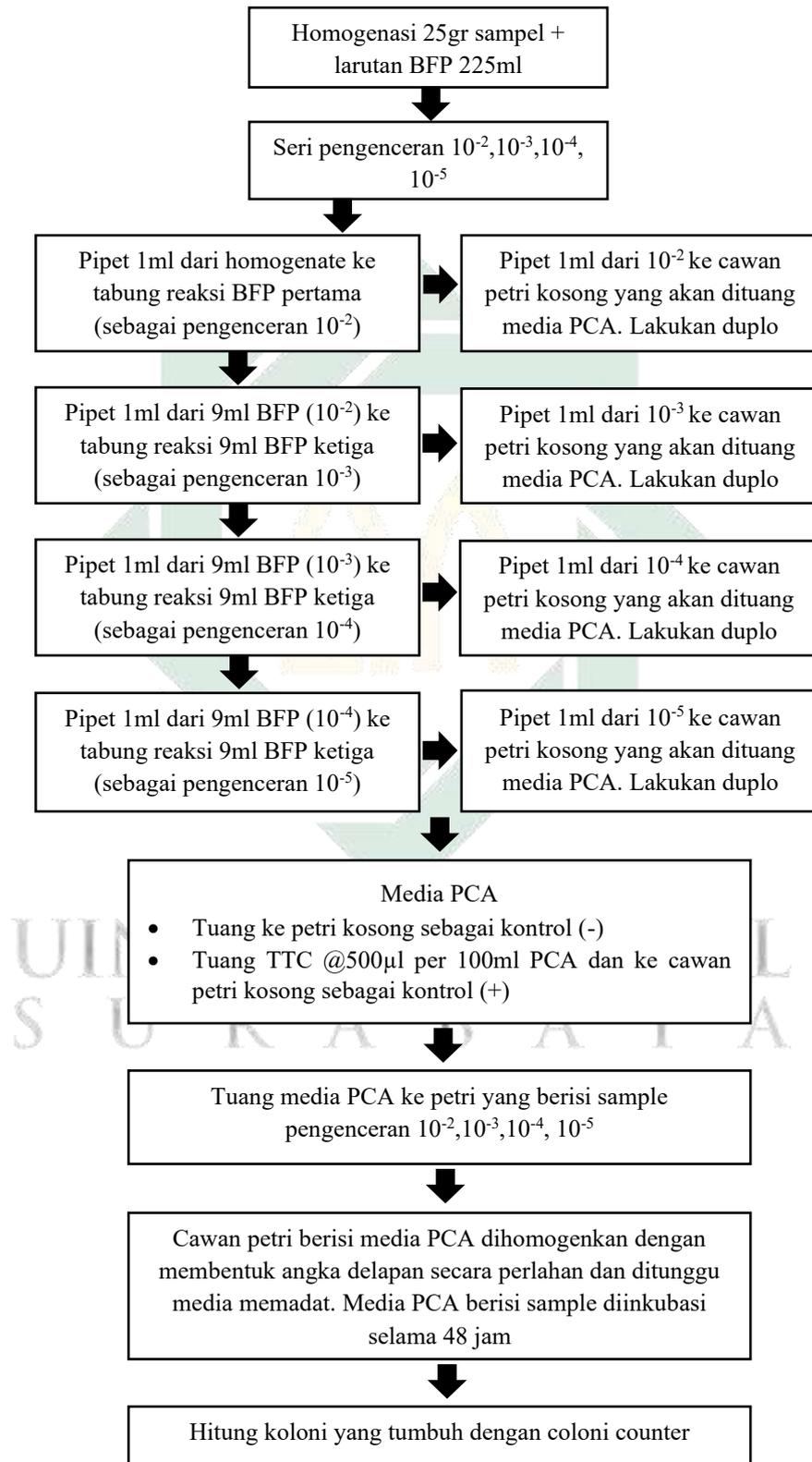
Keterlibatan atau keikutsertaan mahasiswa secara aktif baik pikiran maupun tenaga dalam kegiatan pengujian guna pengembangan daya pikir serta dapat menyampaikan hasil pikirannya secara komunikatif untuk mencapai keoptimalan dalam pengujian (Yanuarto 2015) Partisipasi aktif ini adalah mahasiswa langsung terjun dan andil dalam setiap rangkaian kegiatan dalam kegiatan pengujian terkait judul skripsi yang meliputi pengambilan sampel, eksekusi sampel, pembuatan media bahan sampai masuk pada laboratorium mikrobiologi.

d. Diagram alir

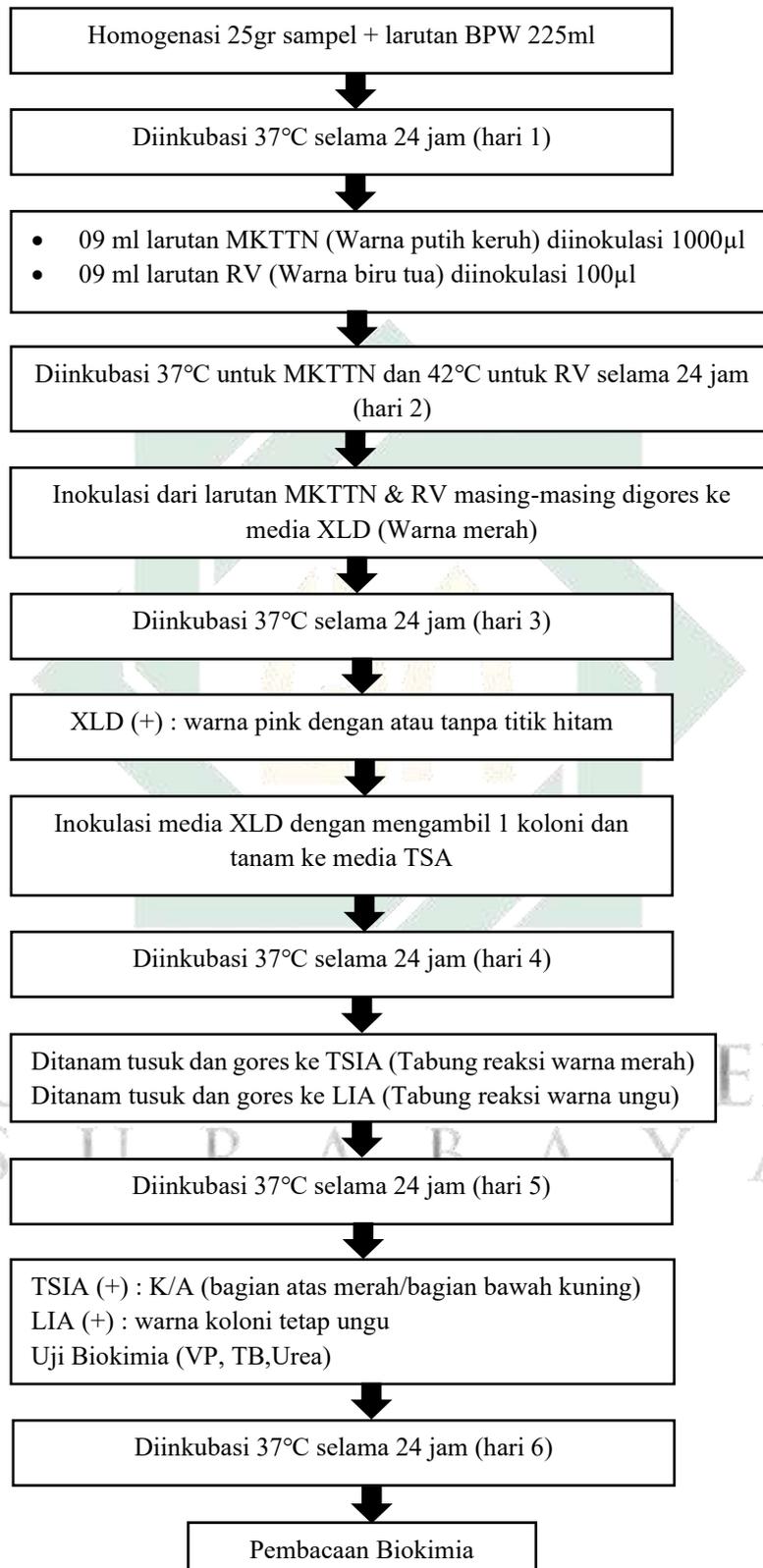


Gambar 3. 2 Diagram alir

PENENTUAN TOTAL PLATE COUNT (TPC) / ANGKA LEMPENG TOTAL (ALT) DENGAN METODE SNI 2332-3-2015



PENENTUAN *Salmonella* sp. DENGAN METODE ISO 6579.2015



3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam pengujian ikan layur meliputi:

Tabel 3. 1 Alat Pengujian

NO	NAMA ALAT	FUNGSI	KEBUTUHAN
1.	Refrigerator	Untuk tempat menyimpan media	1
2.	<i>Laminary Air Flow</i> (LAF)	Untuk melindungi media dari kontaminasi	1
3.	<i>Autoclave</i>	Untuk mensterilkan alat dan bahan	1
4.	<i>Frezeer</i>	Untuk tempat menyimpan sampel	1
5.	Tabung reaksi	Untuk tempat larutan dan media	48 tabung
6.	Rak tabung reaksi	Untuk tempat tabung reaksi	8 biji
7.	<i>Hot plate</i>	Untuk memanaskan dan menghomogenkan larutan	1
8.	<i>Magnet stirrer</i>	Untuk menghomogenkan larutan	4
9.	Timbangan analitik	Untuk menimbang bahan yang digunakan dengan ketelitian 0,01g	1
10.	<i>Erlenmeyer</i>	Untuk tempat larutan dan media	2 (500ml)
11.	<i>Beaker glass</i>	Untuk tempat pembuatan larutan dan media	3 biji
12.	Gelas ukur	Untuk mengukur larutan yang dibutuhkan	2 biji
13.	Botol scoot	Untuk tempat larutan homogenat	16 botol
14.	Sectio set nekropsis	Untuk membedah sampel	1 set (8 biji)
15.	Bunsen	Untuk pengkondisian aseptis	1
16.	Cawan petri	Untuk tempat media sampel	72
17.	Inkubator	Untuk menginkubasi bakteri dengan suhu 35°C dan suhu 42°C	1
18.	Oven	Untuk mensterilkan alat	1
19.	Jarum inokulasi (<i>Ose</i>)	Untuk mengambil isolat bakteri	8
20.	Mikro pipet	Alat untuk membantu mengambil larutan dengan volume 1-1000µl	2
21.	<i>Blue tip</i>	Untuk mengambil larutan dengan volume 1-1000µl	60 biji
22.	<i>Stomacher</i>	Untuk menghomogenkan larutan	1
23.	Timbangan digital	Untuk menimbang sampel	1
24.	<i>Water bath</i>	Untuk menghangatkan sampel	1

dibeli secara langsung, masing-masing dibeli sebanyak 1kg per sampel dan dimasukkan ke dalam plastik sampel yang higienis setelah itu di bawah ke laboratorium guna dilakukan pengujian.

Prosedur kerja dilakukan secara steril dimana alat dan bahan dipersiapkan lalu disterilkan, setelah itu dilakukan pengujian *Total Plate Count* dengan cara pengenceran pada sampel dari pengenceran 10^{-2} sampai 10^{-5} yang mana setiap 1 tabung pengenceran terdapat 2 cawan petri. Kemudian tahap pembuatan media agar menggunakan *Plate Count Agar* (PCA) yang dilarutkan menggunakan aquades lalu di *autoclave* selama 15 menit 121°C (Standard 2015).

Tahap kedua ialah identifikasi cemaran *Salmonella* sp. pada ikan layur sesuai ketentuan dilakukan tahap pra pengkayaan, pengkayaan, isolasi, uji praduga, dan uji biokimia.

3.4.3 Pembuatan Media Pengujian

Untuk melakukan pengujian TPC dan bakteri diperlukan persiapan dan pembuatan media terlebih dahulu. Adapun media yang digunakan dan cara membuatnya sebagai berikut.

1. Media PCA (*Plate Count Agar*)

Pembuatan media PCA (*Plate Count Agar*) dilakukan dengan mencampurkan PCA powder sebanyak 22,5g dilarutkan dengan aquades sebanyak 1000ml masukkan di erlenmeyer yang diberikan *stirrer magnetik*, dihomogenkan dan dipanaskan sampai mendidih selama 1 menit lalu sterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu media dipindahkan dalam *water bath* yang bertujuan untuk menetapkan konsentrasi suhu sebelum media dituang kedalam cawan petri (Djamhur, dkk 2020).

2. Media BFP (*Butterfield's buffered phosphate*)

Pembuatan media BFP (*Butterfield's buffered phosphate*) dengan pengambilan sebanyak 10ml pipet ditambahkan 550 larutan stok lalu tambahkan sebanyak 1000ml larutan aquades lalu sterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

Selanjutnya media dapat dimasukkan pada tabung reaksi dan digunakan sesuai kebutuhan (Sulistiani dan Hafiludin 2022).

3. BPW (*Buffered Pepton Water*)

Pembuatan media BPW (*Buffered Pepton Water*) dilakukan dengan mencampurkan BPW powder sebanyak 25,5g dan aquades sebanyak 1000ml di dalam *beaker glass*. Media diapankan terlebih dahulu diatas *hotplate* dan dihomogenkan dengan *stirrer magnetik*. Setelah itu media diangkat dari *hotplate*, diamkan sejenak dan tuang BPW (*Buffered Pepton Water*) pada botol scott dengan volume 225ml perbotol scott dan pada tahap selanjutnya sterilisasi media BPW menggunakan *autoclave*.

4. RV (*Rappaport Vassiliadis Medium*)

Pembuatan media RV (*Rappaport Vassiliadis Medium*) dilakukan dengan mencampurkan *Rappaport Vassiliadis powder* yang telah ditimbang sebanyak 21g dan aquades 500ml di dalam tabung erlenmeyer, setelah itu media dihomogenkan menggunakan *stirrer magnetik* dan dipanaskan diatas *hotplate*, selanjutnya tutup lubang tabung erlenmeyer menggunakan aluminium foil lalu disterilisasi menggunakan *autoclave*. Setelah itu dituang media RV pada tabung reaksi steril dengan volume 10ml dan tutup lubang dengan kapas, penuangan dilakukan di dalam LAF (*Laminar air flow*).

5. MKTTn (*Muller-Kauffmann Tetrarhionate-Novobiocin Broth*)

Pembuatan media MKTTn dilakukan dengan mencampurkan MKTTn powder yang ditimbang sebanyak 21g dan aquades sebanyak 500ml dalam tabung erlenmeyer dengan ditambahkan novobiocin yang telah dilarutkan, setelah itu media dihomogenkan dan dipanaskan dengan *hotplate* dan *stirrer magnetik*. Setelah media panas diangkat dan tutup lubang erlenmeyer dengan aluminium foil dan dilanjutkan dengan sterilisasi basah menggunakan *autoclave*. Setelah itu dituang media MKTTn pada tabung reaksi dengan volume 10ml dan tutup

menggunakan kapas dan alumunium foil. Penuangan dilakukan di dalam LAF (*Laminar air flow*).

6. XLD (*Xylose Lysine Desoxycholate*)

Pembuatan media XLD dilakukan dengan mencampurkan bubuk *Xylose Lysine Desoxycholate* dengan aquades di dalam tabung erlenmeyer, setelah itu media dihomogenkan dan dipanaskan di atas *hotplate*. Setelah media panas diangkat sebelum mendidih diangkat dari *hotplate* lalu tutup erlenmeyer dengan alumunium foil. Sterilkan terlebih dahulu media pada *autoclave* setelah itu masukkan dalam cawan petri di bawah LAF (*Laminar air flow*) hingga media memadat (Sulistiani dan Hafiludin 2022).

7. TSA (*Tryptic Soy Agar*)

Pembuatan media TSA dilakukan dengan mencampurkan bubuk *Tryptic Soy Agar* dengan aquades di dalam tabung erlenmeyer, setelah itu media dihomogenkan dan dipanaskan di atas *hotplate*. Setelah media panas diangkat sebelum mendidih diangkat dari *hotplate* lalu tutup erlenmeyer dengan alumunium foil. Sterilkan terlebih dahulu media pada *autoclave* setelah itu masukkan dalam cawan petri di bawah LAF (*Laminar air flow*) hingga media memadat.

8. TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Pembuatan media awal dengan cara mencampurkan bubuk *Triple Sugar Iron Agar* yang telah ditimbang sebanyak 65g dilarutkan dengan aquades 1000ml dimasukkan dalam tabung erlenmeyer, selanjutnya media dihomogenkan dan dipanaskan di atas *hotplate*. Setelah media panas tutup tabung erlenmeyer dengan alumunium foil dan dilanjutkan dengan sterilisasi menggunakan *autoclave*. Setelah itu tuang media pada tabung reaksi saat sudah hangat. Media dituang pada tabung reaksi dan diletakkan pada penangas miring hingga mengeras dibawah LAF (*Laminar air flow*) yang telah disinari dengan UV, lalu media disimpan dalam refrigerator.

9. LIA (*Lysie Iron Agar*)

Pembuatan media LIA dilakukan dengan menggunakan bahan *Lysie Iron Agar Powder* yang telah ditimbang sebanyak 32g dilarutkan dengan aquades 1000ml dimasukkan dalam tabung erlenmeyer, selanjutnya media dihomogenkan dan dipanaskan di atas *hotplate*. Setelah media panas tutup tabung erlenmeyer dengan aluminium foil dan dilanjutkan dengan sterilisasi menggunakan *autoclave*. Setelah itu tuang media pada tabung reaksi saat sudah hangat. Media dituang pada tabung reaksi dan diletakkan pada penangas miring hingga mengeras dibawah LAF (*Laminar air flow*) yang telah disinari dengan UV, lalu media disimpan dalam refrigerator.

10. VP (*Voges Proskauer*)

Bahan pembuatan media VP untuk pengujian Biokimia awal mula dengan menimbang sebanyak 3,4g kemudian ditambahkan aquades sebanyak 200ml ke dalam beaker glass dan dihomogenkan dengan menggunakan *stirrer magnetik*. Pembuatan VP dilakukan tanpa menggunakan pemanasan, setelah dihomogenkan media dimasukkan kedalam tabung reaksi. Setelah dimasukkan tabung reaksi media VP diautoklaf dengan suhu 121°C selama 15menit kemudian disimpan di dalam LAF (*Laminar air flow*) selama 24 jam, lalu dimasukkan kedalam refrigerator.

11. TB (*Tryptone Broth*)

Bahan dasar TB berbentuk serbuk yang tidak berwarna atau bening walaupun telah larut dalam aquades. Dalam pembuatan media TB ini awal dengan menimbang sebanyak 10g kemudian diberi aquades sebanyak 1000ml ke dalam *beaker glass* yang diberi *stirrer magnetik*. Panaskan TB di atas *hotplate* sampai mendidih, setelah mendidih kemudian tunggu hingga suhu media tidak terlalu panas. Setelah itu di distribusikan ke dalam tabung reaksi, lalu *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit

kemudian disimpan di dalam LAF (*Laminar air flow*) selama 24 jam, lalu dimasukkan ke dalam refrigerator.

12. Urea

Pembuatan media urea dengan menimbang bahan dasar *Urea Agar Base* sebanyak 21,45g dan urea sebanyak 20,4g. Pada *Urea Agar Base* dimasukkan kedalam erlenmeyer yang diberi *magnetic stirrer* dan ditambahkan aquades sebanyak 1000ml. diletakkan urea di atas *hotplate* sampai mendidih, setelah mendidih erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil dan dimasukkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15menit diamkan sampai suhu tidak terlalu panas lalu dimasukkan urea dan dihomogenkan. Setelah itu didistribusikan kedalam tabung reaksi, lalu disimpan di dalam LAF (*Laminar air flow*) selama 24 jam, lalu dimasukkan ke dalam refrigerator.

13. Pereaksi Kovacs

Pada pembuatan pereaksi kovacs pertama timbang media *Dimethyl amino benzaldehyde* sebanyak 5g kemudian larutkan menggunakan *stirrer magnetik* ke dalam *beaker glass* yang berisi 75ml alkohol dan perlahan ditambahkan 25ml HCl setelah itu simpan pada suhu 4°C.

14. Pereaksi Alphanaphthol

Pada pembuatan pereaksi *Alphanaphthol* pertama timbang *Alphanaphthol* sebanyak 5g kemudian larutkan menggunakan *stirrer magnetik* ke dalam beaker glass yang berisi 100ml alkohol setelah itu pindahkan pereaksi dalam botol.

15. Pereaksi Potassium hydroxide 40%

Pada pembuatan pereaksi Potassium hydroxide 40% atau KOH 50% ini diperlukan penimbangan KOH sebanyak 40g kemudian larutkan menggunakan *stirrer magnetik* dalam *beaker glass* yang berisikan 100ml aquades lalu dimasukkan ke dalam botol steril.

3.4.4 Pengujian *Total Plate Count* (TPC)

Metode pengujian TPC (*Total Plate Count*) sesuai SNI (Standard 2015) umumnya menggunakan cara *spread plate* yang mana sebelumnya dilakukan pengenceran terlebih dahulu yang dimasukkan kedalam tabung cairan BFP (*Butterfield's buffered phosphate*) dan sampel diambil sebanyak 1ml. setelah itu sampel dimasukkan kedalam cawan diberi cairan media PCA (*Plate Count Agar*) dan diputar membentuk angka delapan dan ditunggu hingga memadat dan diinkubasi selama 48 jam lalu diamati dengan menggunakan *colony counter*.

Cara menentukan hasil pengujian TPC (*Total Plate Count*) berdasarkan SNI 2332-3-2015 sebagai berikut:

1. Cawan yang dipilih dan dihitung adalah kumpulan antara jumlah koloni 25 sampai 250.
2. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan suatu kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya dapat dihitung sebagai satu koloni.
3. Suatu deretan (membentuk rantai) koloni yang terlihat sebagai suatu garis tebal dihitung sebagai satu koloni.
4. Tidak ada permukaan spreader (koloni yang menutup lebih dari setengah luas cawan petri)

Data yang dilaporkan sebagai nilai TPC (*Total Plate Count*) mengikuti aturan yang ada, sebagai berikut:

1. Hasil angka yang dilaporkan terdiri dari dua angka, yaitu angka pertama dan angka kedua. Jika angka ketiga sama dengan atau lebih besar dari 5, maka dibulatkan satu angka lebih tinggi pada angka yang kedua.
2. Jika digunakan dua cawan petri (*duplo*) per pengenceran, data yang diambil harus dari kedua cawan tersebut, tidak boleh diambil salah satu.
3. Pada perhitungan jumlah koloni di cawan petri jika koloni kurang dari 25 maka dianggap tidak ada dan jika koloni lebih dari 250 maka dikatakan TBUD (Standard 2015).

3.4.5 Pengujian Cemaran *Salmonella* sp.

1. *Pre Enrichment* (Pra Pengkayaan)

Pre Enrichment merupakan tahap sebelum pengkayaan bakteri yang dilakukan pada sampel yang telah dinekropsi dan dimasukkan dalam plastik sampel sebanyak 25g yang diberi larutan BPW (*Buffered Pepton Water*) sebanyak 225ml, kemudian dihomogenkan dalam mesin *stomacher* selama 10 detik, selanjutnya homogenat diinkubasi dalam inkubator selama 24jam pada suhu 35°C (Azizah dan Soesetyaningsih 2020).

2. *Enrichment* (Pengkayaan)

Pada tahap pengkayaan bakteri *Salmonella* sp. dilakukan di dalam LAF (*Laminar air flow*) dan dilakukan di dekat bunsen untuk menghindari kontaminasi. Tahap pengkayaan ini dilakukan pada media RV (*Rappaport Vassiliadis Medium*) dan MKTTn (*Muller-Kauffmann Tetrarhionate-Novobiocin Broth*) yang telah disiapkan pada tabung reaksi, dengan cara meletakkan tabung reaksi media ke rak tabung sesuai jumlah sampel yang diuji, ambil homogenat yang telah diinkubasi selama 24jam, selanjutnya input homogenat menggunakan mikropipet dan mikrotip (*bluetip*). Untuk media RV homogenat sampel diambil sebanyak 0,1ml (100µl) mikropipet, sedangkan untuk MKTTn diambil sebanyak 1ml (1000µl) mikropipet setelah itu di inkubasi pada suhu 42°C pada sample media RV dan pada sample MKTTn di inkubasi pada suhu 35°C selama 24jam pada masing-masing tabung (Andrews et al. 2018).

3. *Presumptive Test* (Uji Pendugaan)

Tahap ketiga yaitu uji pendugaan, dilakukan pada sampel RV dan MKKTn yang sebelumnya telah diinkubasi selama 24jam. Media yang digunakan pada uji pendugaan ini adalah media XLD (*Xylose Lysin Desoxycholate*) yang telah tersedia dalam cawan petri, lalu pada media RV dan MKTTn di inokulasi (*streak*) zig-zag menggunakan jarum ose steril pada media XLD, setelah itu inkubasi XLD dengan posisi cawan terbalik selama 24jam pada

suhu 35°C. Dengan begitu nantinya akan tumbuh beberapa koloni pada media XLD, berdasarkan standart ISO (*International Organization for Standardization*) 6579:2015 koloni terduga *Salmonella* sp. pada media XLD yakni memiliki ciri berwarna merah muda dengan atau tanpa titik hitam (H₂S) (Warsiki, dkk. 2016).

4. *Confirmation Test* (Uji Penegasan/Konfirmasi)

Confirmation test merupakan tahap uji penegasan atau uji lanjutan yang dilakukan pada sampel yang memiliki koloni merah muda pada media XLD, uji ini dilakukan menggunakan media TSA (*Tryptic Soy Agar*) untuk memurnikan kembali koloni pada media selektif XLD sebelum ditanam pada media miring TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) dan LIA (*Lysie Iron Agar*). Uji ini dilakukan dengan cara menginokulasi sampel dari media XLD ke TSA plate menggunakan jarum ose steril dengan teknik inokulasi (*streak*) zig-zag lalu inkubasi selama 24jam pada suhu 35°C, setelah diinkubasi koloni yang tumbuh di tanam pada media miring TSIA dan LIA menggunakan jarum ose steril dengan teknik tusuk dan zig-zag, teknik tusuk dilakukan pada media bagian bawah dan teknik gores dilakukan pada bagian miring media TSIA dan LIA lalu inkubasi selama 24jam pada suhu 35°C. Setelah melalui tahap inkubasi reaksi *Salmonella* sp. pada media TSIA dan LIA dapat diidentifikasi (Antriana 2014).

5. *Biochemical Test* (Uji Biokimia)

Uji biokimia merupakan uji lanjut yang dilakukan setelah identifikasi pada media TSIA. Uji biokimia dilakukan dengan beberapa media antara lain VP (*Voges Proskauer*), TB (*Tryptone Broth*) dan Urea uji biokimia dilakukan dengan perlakuan celup pada media cair dan perlakuan gores pada media padat miring. Setelah semua media mendapat perlakuan dari koloni terduga, dilanjutkan dengan inkubasi selama 24jam pada suhu 35°C ±1 atm.

Setelah diinkubasi selanjutnya dilakukan pembacaan uji biokimia dengan perlakuan media VP berikan larutan VP1 (*alpha*

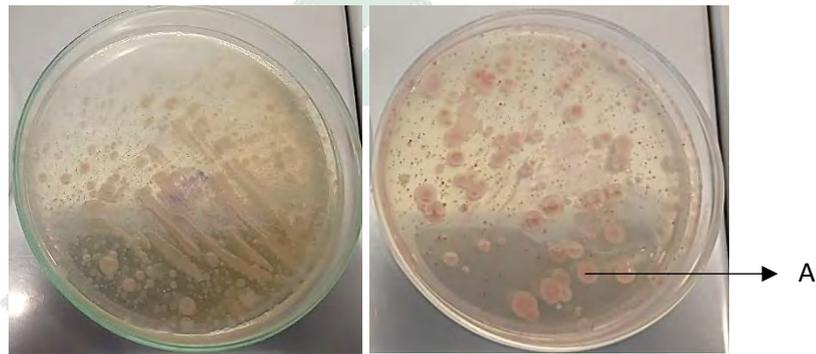
BAB VI

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Nilai Uji TPC (*Total Plate Count*)

Hasil data yang diperoleh dari perhitungan jumlah koloni pada uji TPC (*Total Plate Count*) pada ikan layur (*Trichiurus lepturus*) dianalisis secara penjabaran deskriptif dalam bentuk tabel dan disertai narasi.



Gambar 4. 1 pertumbuhan koloni bakteri TPC
Keterangan: A, koloni bakteri ikan layur (*Trichiurus lepturus*)
(Sumber: Dokumentasi pribadi, 2023)

Pada Gambar 4.1 merupakan hasil pertumbuhan koloni bakteri pada ikan layur (*Trichiurus lepturus*) menggunakan media pengkayaan BFP (*Butterfield's buffered phosphate*) dan media TSA (*Tryptic Soy Agar*) sebagai agarnya pada saat penuangan media ditambahkan adanya cairan TTC (*Tryphenil-Tetrazolium Chloride*) sebagai warna tambahan yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba di media PCA. TTC tidak berwarna jika direduksi, TTC direduksi menjadi formazan yang tidak larut dalam sel mikroba sehingga menghasilkan koloni berwarna merah. Konsentrasi TTC ditambahkan ke media kultur sangat penting karena pada tingkat tinggi dapat memiliki efek merusak. Konsentrasi TTC yang digunakan dalam media kultur harus cukup rendah untuk menghambat pertumbuhan (Dewi et al. 2022). TTC merupakan pewarna yang sering digunakan untuk perhitungan koloni mikroba pada media kultur padat, seperti pada perhitungan TPC (*Total Plate Count*) pada ikan layur (*Trichiurus lepturus*). Berikut hasil perhitungan jumlah mikroba pada 8 sampel ikan layur dapat dilihat pada tabel 4.1

6)	Modern 2	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Ikan layur disajikan dengan menggunakan air ice saja ❖ Tempat penjualan higienis ❖ Pembeli mengambil ikan dengan sarung tangan di tempat plastik ikan yang baru ❖ Ikan dimasukkan ke dalam 2 plastik (<i>double</i>)
7)	Modern 3	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Ikan layur disajikan dengan menggunakan parutan ice yang beku ❖ Ikan tertutup dengan ice beku ❖ Tempat penjualan tergolong higienis ❖ Pembeli mengambil ikan dengan sarung tangan dan capit di tempat plastik ikan yang baru ❖ Ikan dimasukkan ke dalam 2 plastik (<i>double</i>) ❖ Tempat ikan berada dipojok dekat dengan pintu stock barang
8)	Modern 4	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Ikan layur disajikan dengan menggunakan ice ❖ Tempat penjualan higienis ❖ Penjual mengambil ikan dengan sarung tangan ❖ Ikan dimasukkan ke dalam 1 plastik

Dihasilkan pada sampel Tradisional 1, penjual ikan layur di tempat tertutup yang dilalu lalangi oleh penjual dan pembeli saja serta tidak ada kendaraan lain yang bisa masuk ke dalam area pasar, penjualan ikan layur tergolong cepat karena menjadi tempat distribusi untuk dijual kembali sehingga nilai TPC (*Total Plate Count*) dihasilkan sebesar $1,1 \times 10^5$ CFU/ml dapat dikatakan tidak melebihi ambang batas standart SNI 2332-3-2015. Pada sampel Tradisional 2, penjualan ikan layur di pinggir jalan yang menjadi akses lalu lalang kendaraan dan ikan tidak disajikan menggunakan batu ice sebagai perantara pengawet kesegaran ikan sehingga nilai TPC (*Total Plate Count*) dihasilkan sebesar $2,4 \times 10^7$ CFU/ml dapat dikatakan tidak melebihi ambang batas standart SNI 2332-3-2015. Pada sampel Tradisional 3, penjualan ikan layur di dalam kios dengan sajian ice dan tempat ikan tergolong higienis, tidak banyak lalu lalang kendaraan sehingga nilai TPC (*Total Plate Count*) dihasilkan sebesar $1,7 \times 10^7$ CFU/ml dapat dikatakan tidak melebihi ambang batas standart SNI 2332-3-2015. Pada sampel Tradisional 4, akses penjualan yang cenderung padat, penjualan ikan yang mencapai 1 hari menghasilkan nilai TPC (*Total Plate Count*) dihasilkan sebesar $6,8 \times 10^6$ CFU/ml dapat dikatakan melebihi ambang batas standart SNI 2332-3-2015. Pada sampel Modern 1, penjualan ikan di dalam ruangan suhu dingin dan bersih, penyajian ikan yang baik menggunakan parutan ice, pengambilan ikan menggunakan sarung tangan disertai capit sehingga menghasilkan nilai TPC (*Total Plate Count*) dihasilkan sebesar 1,7

$\times 10^7$ CFU/ml dapat dikatakan tidak melebihi ambang batas standart SNI 2332-3-2015. Pada sampel Modern 2, penjualan ikan di dalam ruangan suhu dingin, penyajian ikan menggunakan air ice saja sehingga menghasilkan nilai TPC (*Total Plate Count*) dihasilkan sebesar $1,8 \times 10^6$ CFU/ml dapat dikatakan tidak melebihi ambang batas standart SNI 2332-3-2015. Pada sampel Modern 3, penjualan ikan di dalam ruangan suhu dingin, penyajian ikan menggunakan parutan ice menutupi lapisan tubuh ikan layur, pengambilan ikan menggunakan sarung tangan dan capit, letak pembelian ikan terdapat di bagian belakang dekat dengan pintu stock barang sehingga menghasilkan nilai TPC (*Total Plate Count*) dihasilkan sebesar $5,3 \times 10^4$ CFU/ml dapat dikatakan melebihi ambang batas standart SNI 2332-3-2015. Pada sampel Modern 4, penjualan ikan di dalam ruangan suhu dingin, ikan disajikan menggunakan batu ice bercampur dengan ikan lainnya, pengambilan ikan layur dilakukan oleh penjual menghasilkan nilai TPC (*Total Plate Count*) dihasilkan sebesar $3,0 \times 10^6$ CFU/ml dapat dikatakan tidak melebihi ambang batas standart SNI 2332-3-2015. Pada hasil TPC (*Total Plate Count*) mengikuti standart SNI 2332-3-2015 untuk acuan penelitian pertumbuhan koloni bakteri dan ketetapan nilai pada produk ikan segar (Standard 2015).

4.1.2 Hasil Uji *Salmonella* sp. pada ikan layur (*Trichiurus lepturus*)

Uji cemaran *Salmonella* sp. pada ikan layur (*Trichiurus lepturus*) menggunakan media XLD (*Xylose Lysine Desoxycholate*). Uji hasil dugaan positif ditandai dengan pertumbuhan koloni berwarna merah jambu pada media XLD. Hasil uji cemaran *Salmonella* sp. dapat dilihat pada gambar 4.2.



Gambar 4. 2 pertumbuhan koloni bakteri pada media XLD

akses aktif adanya kendaraan maka dari itu faktor pertumbuhan bakteri atau mikroorganisme dalam ikan layur meningkatkan jumlah mikroorganisme yang melebihi batas standart TPC (*Total Plate Count*) SNI 2332-3-2015 (Standard 2015).

Jumlah bakteri mikroorganisme tinggi banyak dipengaruhi oleh fisik akibat proses dari penangkapan ikan itu sendiri seperti terdapatnya luka atau cacat, pengaruh lama masa waktu penjualan, sanitasi yang buruk pada tempat atau lokasi penjualan, terpapar pada suhu ruang dalam jangka waktu yang lama, dan berbagai faktor lainnya (Djamhur, dkk. 2020).

Jumlah bakteri pada ikan meningkat pada pasar modern (supermarket) dipengaruhi oleh waktu penjualan. Apabila penanganan yang diterapkan tidak sesuai standar operasional yang baik dan benar, maka semakin lama waktu penjualan ikan semakin menyebabkan pertumbuhan bakteri berlangsung sangat cepat. Ikan dapat tercemar oleh mikroba sebelum pengolahan atau sesudah pengolahan. Hal tersebut dipengaruhi oleh kebiasaan pribadi para pekerja dan konsumen dalam mengolah bahan pangan yang dapat menjadi sumber pencemaran mikroba. Sumber dari pencemaran mikroba untuk mempertahankan mutu ikan segar yang dikonsumsi harus mendapatkan penanganan secara benar, kebersihan harus selalu dijaga, mengingat bahwa ikan adalah bahan makanan yang lebih cepat membusuk dari pada pangan yang lain. Selain itu perlu memperhatikan alat-alat yang digunakan dalam penanganan harus diperhatikan kebersihannya serta memperhatikan suhu penyimpanan seperti penggunaan es (Sukmawati dkk, 2020).

Penyebab terjadinya tinggi nilai cemaran TPC (*Total Plate Count*) yang dihasilkan pada pengujian di pasar modern dan pasar tradisional karena adanya aktivitas bakteri sangat berkaitan dengan suhu penyimpanan saat setelah ikan ditangkap dan saat edar atau penjualan berlangsung. Suhu dan waktu penyimpanan dapat mempengaruhi peningkatan kadar histamin pada ikan (*Trichiurus lepturus*), semakin rendah suhu penyimpanan yang digunakan saat

penjualan maka semakin lambat pula aktivitas bakteri yang menyebabkan kerusakan pada ikan tersebut (Ilyas, 1983). Menurut (Buckle, dkk. 1987), ikan tidak akan mengalami kerusakan karena bakteri sampai fase rigor mortis selesai. Perlakuan suhu dingin yang diberikan setelah penangkapan akan memperlambat berlangsungnya fase rigor mortis pada ikan, sehingga akan memperlambat kerusakan dan pertumbuhan bakteri (Mechanics 2007).

4.2.2 Hasil Uji *Salmonella* sp. pada ikan layur (*Trichiurus lepturus*)

Identifikasi cemaran *Salmonella* sp. dilakukan secara bertahap, mulai dari pembelian sampel ikan layur (*Trichiurus lepturus*), sterilisasi alat dan bahan yang akan digunakan, pembuatan media, nekropsi sampel, *Pre enrichment* (Pra pengkayaan), *Enrichment* (Pengkayaan), *Presumptive test* (uji pendugaan), *Confirmation test* (Uji penegasan), hingga *Biochemical test* (Uji biokimia) lanjutan pada sampel yang akan diujikan berdasarkan standart ISO (*International Organization for Standardization*). Alat-alat yang digunakan dan diperlukan dalam proses identifikais untuk meminimalisir terjadinya kontaminasi dari luar, selain itu dalam melakukan sterilisasi diperlukan kemasan berupa kertas untuk mencegah kerusakan alat dan melindungi bahan yang akan disterilisasi dari kontaminasi dan gangguan fisik seperti gesekan, benturan, getaran dan sebagainya (Nurminah 2002).

1. *Pre Enrichment* (Pra Pengkayaan)

Tahap pra pengkayaan dilakukan dengan menggunakan media BPW (*Buffered Pepton Water*) yang mengandung pepton dan beef extract sebagai penyedia nutrisi bagi metabolisme *Salmonella* sp., setelah sampel dan larutan BPW dihomogenkan dilanjutkan dengan inkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam untuk menumbuhkan *Salmonella* sp. pertumbuhan dapat ditandai dengan kekeruhan dan bau khas homogenat sampel.

2. *Enrichment* (Pengkayaan)

Tahapan pengkayaan dilakukan setelah sampel diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C, pengkayaan dilakukan pada media RV (*Rappaport Vassiliadis Medium*) dan MKTTn (*Muller-*

Kauffmann Tetrarhionate-Novobiocin Broth) kedua media ini merupakan media selektif tahap awal untuk membantu perkembang biakan *Salmonella* sp.

3. *Presumptive Test* (Uji Pendugaan)

Uji pendugaan dilakukan pada media XLD (*Xylose Lysine Desoxycholate*) uji ini dilakukan untuk mendeteksi ada atau tidaknya bakteri yang memiliki karakteristik serupa dengan *Salmonella* sp. dalam golongan Enterobacteriaceae. Media XLD ini memiliki warna merah pekat didalamnya terdapat kandungan phenol red, media XLD memiliki inhibitors (penghambat) berupa sodium deoxycholate sehingga bakteri Gram positif dapat dihambat pertumbuhannya. Komponen penghambat lain yang dapat digunakan oleh Enterobacteriaceae untuk mencegah mikroorganisme lain tumbuh adalah bilesalts, brilliant green, dan sodium lauryl sulphate. Dari hasil media XLD berpotensi untuk dikembangkan sebagai media pendeteksi *Salmonella* sp. (Warsiki, dkk. 2016).

Kandungan tertinggi pada media XLD adalah sukrosa dan laktosa, kedua kandungan tersebut dapat didegradasi oleh bakteri colliform sehingga mengakibatkan perubahan warna pada media XLD menjadi kuning, sedangkan bakteri yang mampu mendekarbosilasi *lysin* dapat mengubah warna media menjadi merah muda (membentuk koloni merah muda). Selain senyawa yang telah disebutkan, media XLD memiliki kandungan yang digunakan sebagai indikator H₂S yakni kandungan *sodium thisulphate*, *ammonium citrat*, bakteri yang dapat mendekarbosilasi kedua senyawa tersebut akan menghasilkan *hydrogen sulfide* yang menimbulkan adanya titik hitam pada media penduga. Pendektesian pada sample yang terduga tercemar bakteri *Salmonella* sp. berdasarkan Standart ISO 6579:2015 yaitu XLD yang tercemar akan menimbulkan koloni berwarna merah muda dengan atau tanpa adanya H₂S.

4. *Confirmation Test* (Uji Penegasan/Konfirmasi)

Uji penegasan dilakukan menggunakan media TSIA (Triple Sugar Iron Agar) dan LIA (Lysine Iron Agar) miring pada tabung reaksi 9ml, uji ini dilakukan pada sample yang terduga adanya *Salmonella* sp., media TSIA dan LIA yang berbentuk miring tentunya memiliki bentuk sisi yang datar dan miring, pada media yang berbentuk datar inokulasi dilakukan dengan metode tusuk dan bidang yang miring inokulasi dilakukan dengan metode gores. Metode tusuk gores pada media miring ini dilakukan karena adanya perbedaan massa media, uji penegasan bertujuan untuk mengkonfirmasi dan memastikan bahwa bakteri yang terduga *Salmonella* sp. termasuk dalam golongan bakteri enterobacter.

Pada hasil uji penegasan menggunakan TSIA yang telah diinkubasi terlihat perubahan warna pada media TSIA yang semula berwarna kemerahan menjadi warna kuning dengan atau tanpa H₂S pada bidang miring yang berarti bakteri mampu memfermentasikan kandungan ketiga gula yang terkandung pada media TSIA yaitu glukosa, sukrosa dan laktosa. Sedangkan warna merah pada bidang miring dan tegak menandakan dihasilkannya reaksi alkaline yang disebabkan oleh ketidakmampuan bakteri dalam memfermentasikan laktosa dan sukrosa, adanya goresan berwarna hitam mengindikasikan adanya H₂S yang disebabkan adanya fermentasi H₂ dan CO₂ (Anjung, dkk. 2016).

Berdasarkan Standart ISO *Salmonella* sp. pada media TSIA (Triple Sugar Iron Agar) mampu memberikan reaksi acid atau asam, sedangkan pada media LIA (*Lysin Iron Agar*) bereaksi positif yang ditandai dengan tidak adanya perubahan warna atau tetap ungu, pada media ini bakteri mampu mendekarboksilasi kandungan Lysin dan mampu memproduksi amin kadaverin yang dapat mengubah indikator pH (Haryani, dkk 2012 dalam Maritsa et al., 2018).

5. *Biochemical Test* (Uji Biokimia)

Uji biokimia merupakan uji konfirmasi terakhir yang dilakukan dalam mengindikasikan suatu bakteri yang tumbuh pada media penduga ataupun penegas, uji biokimia dilakukan berdasarkan standar ISO menggunakan beberapa media antara lain media VP (*Voges Proskauer*), TB (*Tryptone Broth*) dan Urea.

1) Uji VP (*Voges Proskauer*)

Uji VP (*Voges Proskauer*) dilakukan pada satu lup biakan bakteri diinokulasikan pada media cair VP 5ml (500 μ l) dan diinkubasi selama 24jam pada suhu 35°C, setelah diinkubasi tabung VP diberikan larutan VP1 dan VP2. VP1 (α -naphthol) sebanyak 600 μ l dan VP2 (KOH 40%) 200 μ l dari volume tabung VP, selanjutnya tabung reaksi dikocok kuat-kuat selama 20-30 detik.

Uji VP ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri mengoksidasi glukosa dengan menghasilkan asam menjadi produk akhir dan berkonsentrasi tinggi. Reaksi positif ditandai dengan perubahan warna larutan dari warna kuning menjadi warna merah dan reaksi negatif ditandai dengan warna kuning atau tidak adanya perubahan warna. Pada hasil uji yang dilakukan menunjukkan jika hasil VP negatif dikarenakan *Salmonella* sp. tidak dapat mengfermentasi 2,3-butanadiol (Puspawati, dkk. 2017).

2) Uji TB (*Tryptone Broth*)

Uji indol dilakukan terhadap bakteri yang tumbuh pada media uji penegasan yang diinokulasi pada media TB (*Tryptone Broth*) dan diinkubasi selama 24jam pada suhu 35°C, setelah melalui proses inkubasi selanjutnya ditetesi reagen Kovacs sebanyak 3 tetes untuk mendeteksi indol. Uji indol ini dilakukan untuk mengetahui enzim triptopan menjadi indol dan asam piruvat.

Menurut (Antriana 2014) uji indol akan bereaksi positif apabila terbentuk cincin berwarna merah pada permukaan media. Pada hasil uji indol yang dilakukan terdapat hasil positif

dan negatif, yang ditandai dengan adanya cincin kuning atau tidak terbentuk cincin berwarna merah. Reaksi negatif tersebut terjadi karena enzim urease tidak memutus ikatan karbon dan nitrogen untuk membentuk ammonia dan merubah pH media.

3) Uji Urea

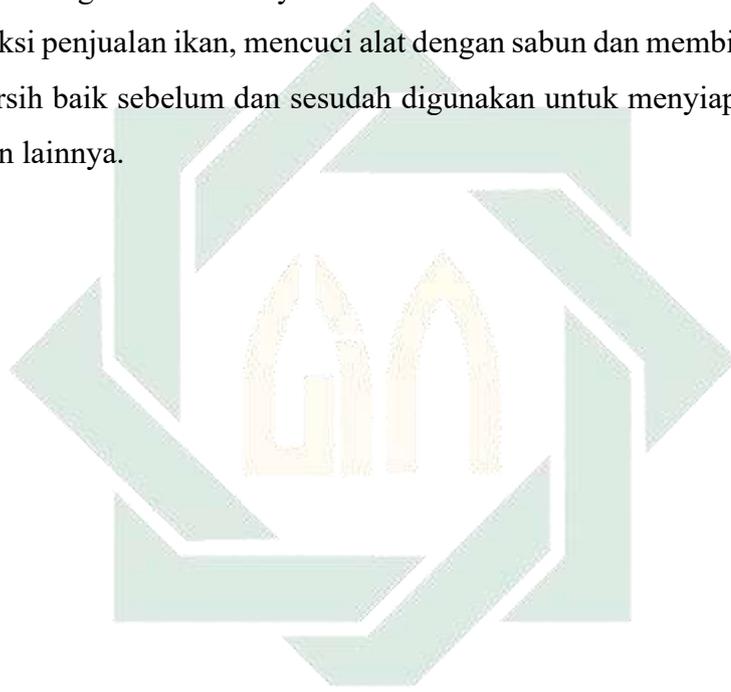
Uji urea dilakukan menggunakan media agar miring urea, setelah diambil 1 ose bakteri kemudian diinokulasi dengan cara digores pada media urea dan inkubasi selama 24jam pada suhu 35°C. Hasil uji urea positif ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi warna merah muda, apabila tidak terjadi perubahan warna menunjukkan hasil uji urea negatif.

Dari hasil uji urea yang dilakukan diperoleh hasil positif yang ditandai dengan perubahan warna dapat terjadi karena enzim urease memutus ikatan karbon dan nitrogen untuk membentuk amoniak. Adanya amoniak menyebabkan keadaan alkali/basa pada media sehingga indikator phenol red yang terkandung akan berubah warna menjadi merah muda pada medium, hal ini mengindikasikan terjadinya reaksi positif atau hasilnya urease (Antriana 2014).

Pada tahapan pengujian *Salmonella* sp. untuk hasil yang dinyatakan positif *Salmonella* sp. pada manusia dapat menyebabkan infeksi sedikitnya berkisar 12 sel sampai 15 sel, tergantung pada kesehatan daya tahan tubuh dan umur inang atau host serta adanya perbedaan strain diantara anggota genus. Penyakit yang disebabkan oleh *Salmonella* sp. dinamakan salmonellosis (Apelabi, dkk. 2015).

Manusia dapat terpapar oleh *Salmonella* sp. jika saat mengolah ikan atau memasak tidak sempurna atau asal-asalan, karena kurang higienitas. Bahaya yang ditimbulkan dari cemaran *Salmonella* sp. ini dapat dicegah dengan cara menerapkan tindakan sanitasi dan hygiene pada saat menangani produk ikan, saat distribusikan ikan, dan cara penjualan yang memberikan kenyamanan serta keamanan baik untuk diri sendiri dan orang lain.

Disarankan pada saat penjualan ikan segar sebaiknya dimasukkan kedalam wadah yang tertutup dan ditempatkan di dalam *cool box* atau menggunakan tempat yang terdapat pendinginnya untuk mencegah kontaminasi dari lingkungan penjualan dan menghambat pertumbuhan *Salmonella* sp. atau bakteri yang mengkontaminasi lainnya, memperhatikan masa penjualan ikan. Tidak lupa juga untuk selalu mencuci tangan secara menyeluruh baik sebelum dan sesudah melakukan transaksi penjualan ikan, mencuci alat dengan sabun dan membilas dengan air bersih baik sebelum dan sesudah digunakan untuk menyiapkan bahan pangan lainnya.



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

- a. Berdasarkan hasil pengujian koloni bakteri TPC (*Total Plate Count*) pada delapan sampel ikan layur (*Trichiurus lepturus*) yang diperoleh dari empat pasar tradisional dan empat pasar modern (supermarket) nilai tertinggi terdapat pada dua sampel yaitu pasar tradisional 4 dengan angka senilai $6,8 \times 10^6$ CFU/ml dan pasar modern 3 (supermarket) dengan angka senilai $5,3 \times 10^4$ CFU/ml. Untuk nilai terendah terdapat di pasar tradisional 1 dengan angka senilai $1,1 \times 10^5$ CFU/ml dan di pasar modern 1 (supermarket) dengan angka senilai $1,7 \times 10^7$ CFU/ml.
- b. Berdasarkan hasil pengujian *Salmonella* sp. dari delapan sampel ikan layur (*Trichiurus lepturus*) terdapat satu sampel yang positif tercemar oleh *Salmonella* sp yakni pada pasar tradisional 2.

5.2 Saran

Adapun saran dalam penelitian ini adalah, sebagai berikut:

- a. Bagi masyarakat
Ditujukan pada penjual ikan layur (*Trichiurus lepturus*) perlu menjaga higienitas agar terhindar dari cemaran bakteri baik untuk diri sendiri maupun orang lain, dalam penyajian penjualan lebih diperhatikan untuk ketahanan masa penyimpanan dan penjualan ikan layur, tidak mencampurkan dengan ikan yang berbeda jenisnya serta membersihkan alat dan juga bahan yang akan digunakan saat melakukan penjualan. Ditujukan kepada masyarakat lebih berhati-hati dalam memilih ikan terutama melihat kesegaran ikan serta kelengkapan pada tubuh ikan.
- b. Bagi peneliti
Pada pengujian bakteri pathogen ini perlu dilakukan pengujian lanjutan dengan menggunakan uji molekular sehingga data yang di dapatkan lebih akurat dan pasti, karena pada pengujian ini dapat melihat kedalam golongan bakteri *Salmonella* type terkait dan uji antibakteri lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrews, Wallace H., Hua Wang, Andrew Jacobson, B Ge, G Zhang, dan Thomas Hammack. 2018. "Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 5: *Salmonella*." *Bacteriological Analytical Manual* 1 (December 2015): 1–33.
- Antriana, Nur. 2014. "Isolasi Bakteri Asal Saluran Pencernaan Rayap (*Macrotermes* spp.)." *Unej* Volume16 (1): hlm. 18 – 28.
- Apelabi, priska clayu, diana agustiani Wuri, dan maxs urias ebenhaizar Sanam. 2015. "Perbandingan Nilai Total Plate Count (TPC) Dan Cemaran *Salmonella* Sp . Pada Ikan Tongkol (*Eutynnus* sp.) Yang Dijual Di Tempat Pelelangan Ikan (TPI), Pasar Tradisional Dan Pedagang Ikan Eceran Di Kota Kupang." *Jurnal Kajian Veteriner* 3 (2): 121–37.
- Ariyani, Nur Indah, dan Okta Nurcahyono. 2018. "Digitalisasi Pasar Tradisional: Perspektif Teori Perubahan Sosial." *Jurnal Analisa Sosiologi* 3 (1): 1–12.
- Azizah, Azizah, dan Endang Soesetyaningsih. 2020. "Akurasi Perhitungan Bakteri pada Daging Sapi Menggunakan Metode Hitung Cawan." *Berkala Sainstek* 8 (3): 75.
- Buckle, K.A., R.A. Edwards., G.H. Fleet., M. Wootton. 1987. Ilmu Pangan. Universitas Indonesia. Jakarta.
- 'Christanti, Santika Dwi', dan Muhammad Hanif 'Azhar. 2019. "Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. Pada Produk Beku Perikanan di Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu, dan Keamanan Hasil Perikanan Surabaya II, Jawa Timur." *Journal of Aquaculture Science* 4 (2): 62–72.
- Dewi, Mubarakah Nuriaini, Wigayanti Wigayanti, Putri Fatmawati, Rinette Visca, Junie Suriawati, dan Siti Rahayu Rahmawati. 2022. "Analisa Cemaran Bakteri Jamu Beras Kencur Sediaan Cair dengan Metode Angka Lempeng Total." *Jurnal Serambi Engineering* 7 (4): 4059–64.
- Djamhur, Martini, M. Djanib Achmad, dan Rian Hidayat. 2020. "Quality Analysis of Microbiological and Organoleptic of Anchovy (*Stolephorus* sp.) with Boiling Treatment in Toniku, West Halmahera." *Agrikan: Jurnal Agribisnis Perikanan* 13 (2): 214–21.
- Esterlina E.E. M. Nanlohy, 2014. Analisa Total Bakteri Pada Ikan Tuna Asap Direndam Dengan Asap Cair Waa Sagu Selama Penyimpanan Pada Suhu Kamar. *Majalah Biam* Vol. 10, No. 2.

- Fatiqin, Awalul, Riri Novita, dan Ike Apriani. 2019. "Pengujian *Salmonella* Dengan Menggunakan Media SSA Dan *E.coli* Menggunakan Media Emba Pada Bahan Pangan." *Indobiosains* 1 (1): 22–29.
- Hasrawati. 2017. "Tingkat Cemaran Bakteri *Salmonella* sp pada Daging Ayam yang Dijual di Pasar Tradisional Makasar."
- Isyana, Fitrah. 2012. "Studi Tingkat Higiene dan Cemaran Bakteri *Salmonella* sp pada Pembuatan Dangka Susu Sapi."
- Kiramang, Khaerani, M N Hidayat, dan Ardiansyah. 2016. "Pertumbuhan *Salmonella* sp. Dengan Variasi Konsentrasi Bawang Putih (*Alium sativum*) Pada Telur Asin." *Jurnal Ilmu dan Industri Peternakan* 3 (1): 1–16.
- Kismiyati, Kismiyati, Sri Subekti, R. Wahid Nur Yusuf, dan Rahayu Kusdarwati. 2009. "Isolasi dan Identifikasi Bakteri Gram Negatif Pada Luka Ikan Maskoki (*Carassius auratus*) Akibat Infestasi Ektoparasit *Argulus* sp. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 1 (2): 129–34.
- Layur, Ikan, Superfamili Trichiuroidea, dan D I Perairan Palabuhanratu. 2008. "Morfometrik-Meristik Beberapa Spesies Kajian Pola Pertumbuhan Dan Ciri Morfometrik-Meristik Beberapa Spesies Ikan Layur (Superfamili Trichiuroidea)," 1–82.
- Maritsa, Hasna Ul, Fitratul Aini, Ardiansyah Saputra, Desri Santi Nurhakim, dan Greace Meisinta Sihombing. 2018. "Isolasi dan Identifikasi Cemaran Bakteri *Salmonella* sp. pada Daging Ayam dan Ikan Mentah." *BIOSITE | BIOLOGI Sains Terapan* 3 (2): 61–64.
- Melawati, Bahagia, Fakhurrizi, dan Mahdi Abrar. 2019. "Deteksi Bakteri *Salmonella* sp. Pada Ikan Asin Talang-Talang (*Scomberoides tala*) Di Kecamatan Leupung Kabupaten Aceh Besar." *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner* 3 (3): 175–80.
- Nanlohy, Esterlina. 2014. "Analisa Total Bakteri Pada Ikan Tuna Asap Yang Direndam Dengan Asap Cair 'Waa Sagu' Selama Penyimpanan Pada Suhu Kamar." *BIOPENDIX: Jurnal Biologi, Pendidikan dan Terapan* 1 (1): 43–48.
- Nurminah, Mimi. 2002. "Penelitian Sifat Berbagai Bahan Kemasan Plastik Dan Kertas Serta Pengaruhnya Terhadap Bahan Yang Dikemas." 1–15.
- Pc, D O E. 1999. "By National Petroleum Technology Office U . S . DEPARTMENT (IF ENERGY ~ Tulsa , Oklahoma." *Energy*.

