

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tinjauan Tentang Angka Lempeng Total (ALT)**

##### **2.1.1 Definisi Angka Lempeng Total (ALT)**

Angka Lempeng Total (ALT) adalah pengukuran dengan Planting Technique Metode ini merupakan metode penghitungan jumlah sel tampak (visible) dan didasarkan pada asumsi bahwa bakteri hidup akan tumbuh, membelah, dan memproduksi satu koloni tunggal. Satuan penghitungan yang dipakai adalah CFU (Colony Forming Unit) dengan cara membuat seri pengenceran sampel dan menumbuhkan sampel pada media padat. Pengukuran dilakukan pada plate dengan jumlah koloni berkisar 25-250 atau 30-300. Keuntungan metode ini adalah sederhana, mudah, dan sensitif karena menggunakan colony counter sebagai alat hitung dan dapat digunakan untuk menghitung mikroorganisme pada sampel makanan, air, ataupun tanah. Kerugiannya adalah kurang akurat karena satu koloni tidak selalu berasal dari satu individu sel (Pratiwi, 2008).

Uji Angka Lempeng Total (ALT) dilakukan untuk menentukan jumlah atau angka bakteri mesofil aerob yang mungkin mencemari suatu produk, baik itu makanan-minuman, obat tradisional ataupun kosmetika (Kusuma, 2009).

Pada prinsipnya angka lempeng total (ALT) yaitu pertumbuhan bakteri mesofil aerob setelah sampel diinkubasikan dalam perbenihan yang cocok selama 24-48 jam pada suhu  $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$  (SNI, 1992). Cara inokulasi yang dipilih adalah cara tuang, dimana hal ini dimaksudkan untuk melihat pertumbuhan bakteri

mesofil aerob, yang membutuhkan oksigen dalam pertumbuhannya, sehingga akan teramati bahwa pertumbuhan bakteri mesofil aerob tersebut akan berada dipermukaan lempeng agar, karena pertumbuhannya yang mencari oksigen. Oleh karena itu, pada pengamatan angka lempeng total ini, dicari hanya koloni bakteri yang tumbuh di permukaan lempeng agar. Masa inkubasi dilakukan dengan membalik cawan petri yang berisi biakan. Hal ini dimaksudkan untuk menghindari jatuhnya butir air hasil pengembunan disebabkan suhu inkubator. Apabila sampai terdapat air yang jatuh maka akan merusak pembacaan angka lempeng total dari sampel yang diuji (Kusuma, 2009).

## **2.2 Tinjauan Tentang Pengawetan dan Pengolahan Ikan**

### **2.2.1. Tinjauan Tentang Pengolahan Ikan**

Pengawetan merupakan usaha penanggulangan kemunduran mutu ikan yang lebih cepat, sehingga ikan lebih tahan lama dan dapat memperluas daerah pemasaran. Usahanya pengawetan timbul karena adanya faktor kurangnya konsumen yang disebabkan oleh kurang sempurnanya sarana pengangkutan atau adanya produksi yang berlebihan (Irawan, 1995).

Pengolahan ikan merupakan salah satu cara untuk mempertahankan agar keadaan ikan tetap dalam kondisi baik. Artinya proses pembusukan yang umumnya berjalan dengan cepat, dapat dihambat selama mungkin sampai tiba waktunya ikan-ikan itu dimasak sebagai bahan konsumsi. Seperti ketahui bahwa ikan merupakan bahan pangan yang mudah rusak (membusuk). Hanya dalam waktu 8 jam sejak ikan ditangkap dan didaratkan sudah akan timbul proses perubahan yang mengarah pada kerusakan. Karena itu agar ikan dan hasil perikanan lainnya dapat dimanfaatkan semaksimal mungkin, perlu dijaga

kondisinya (Rahardjo, 2000), melakukan penelitian yang dilakukan dalam waktu yang berbeda-beda selama penangkapan dan penjualan ikan, sebagai upaya untuk menemukan penyebab pembusukan ikan dan dampaknya terhadap kerugian ekonomi.

Kandungan bakteri selama musim menangkap ikan sebesar 50 bakteri/ml. Belum merupakan penyebab infeksi, sebab di perairan dekat pantai yang tercemar memiliki kandungan bakteri sampai jutaan/ml. Keberadaan histamin pada otot ikan yang telah mati sebagai akibat kegiatan bakteri (Rahardjo, 2000).

Proses pengolahan yang bertujuan untuk menghambat atau menghentikan aktivitas zat-zat dan mikroorganisme perusak atau enzim-enzim yang menyebabkan kemunduran mutu atau kerusakan, dari berbagai cara pengolahan yang umumnya dilakukan, pada dasarnya dibagi menjadi empat golongan, yaitu pengolahan yang memanfaatkan faktor fisika, pengolahan dengan bahan pengawet, pengolahan dengan cara fermentasi. Pengolahan dengan cara fisika tidak lain merupakan pengolahan yang memanfaatkan suhu tinggi atau suhu rendah. Suhu tinggi dalam hal ini untuk membunuh mikroba kontaminasi yang terdapat pada ikan sekaligus menghentikan aktivitas enzim dalam daging ikan (Irawan).

### **2.2.2 Proses Pembuatan Ikan Pindang**

Dalam pembuatan ikan pindang kurang memperhatikan faktor sanitasi maupun higienis, sehingga mutu dan daya awet ikan pindang yang di hasilkan akan berpengaruh (Afianto dan Evi, 1991).

Keberhasilan proses pemindangan sangat dipengaruhi oleh mutu bahan-bahan yang digunakan dan kondisi lingkungan. Syarat-syarat yang harus dipenuhi adalah:

a. Ikan harus segar

Meskipun ikan dengan tingkat kesegaran yang berbeda-beda dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan ikan pindang ikan yang telah busuk sebaiknya tidak digunakan.

Adapun ciri-ciri ikan segar itu adalah sebagai berikut:

1. Mata: pupil hitam menonjol dengan kornea jernih, bola mata cembung dan cemerlang atau cerah.
2. Insang: warna merah cemerlang atau merah tua tempoa adanya lendir, tidak tercium adanya bau yang menimpang.
3. Tekstur daging : elistis dan jika ditekan tidak ada bekas jari, serta padat atau kompak.
4. Keadaan kulit dan lendir: warnanya sesuai dengan aslinya dan baunya sesuai khas menurut jenisnya.
5. Keadaan perut dan sayatnya daging: perut tidak pecah masih utuh dan sayatnya ikan jika dibelah daging melekat kuat pada tulang terutama rusuknya.
6. Bau: spsesifik menurut jenisnya dan segar seperti rumput laut.

Penggunaan ikan dengan tingkat kesegaran rendah akan menghasilkan produk akhir yang kurang baik (hancur), sehingga harga jual rendah. Selain itu, penggunaan ikan dengan tingkat kesegaran rendah akan menghasilkan ikan

pindang yang terlalu asin. Hal ini terjadi karena proses penetrasi garam kedalam daging ikan yang kurang segar berlangsung terlalu cepat.

Sebelum dimulai proses pemindangan, sebaiknya sisik, insang, dan isi perut ikan dibersihkan agar jumlah bakteri yang terdapat didalam tubuh ikan berkurang,. Setelah dibersihkan, ikan dicuci dengan air bersih yang mengalir agar semua kotoran yang melekat dapat dihilangkan. Ikan yang telah dibersihkan dapat segera diolah menjadi ikan pindang. Bila tidak segera diolah ikan harus ditaburi dengan es batu agar tetap segar.

b. Mutu garam harus baik

Mutu garam akan mempengaruhi kecepatan penetrasi garam kedalam tubuh ikan. Kecepatan penetrasi kedalam tubuh ikan sngat tergantung pada kadar *Nacl* yang dikandungnya. Semakin tinggi kadar *Nacl* yang dikandungnya semakin cepat pula penetrasi berlangsung.

Selain ditentukan oleh kadar *Nacl*, kecepatan penetrasi garam kedalam tubuh ikan juga di pengaruhi oleh ukuran partikel (butiran) garam. Semakin halus butiran garam yang digunakan, semakin cepat pula penetrasi. Bila digunakan garam berukuran besar, proses penetrasi garam kedalam tubuh ikan menjadi lambat sehingga sering timbul kerusakan tubuh ikan yang dipindang.

c. Kondisi lingkungan harus sehat

Kondisi lingkungan harus benar-benar diperhatikan karena dapat mempengaruhi produk ikan pindang. Agar ikan pindang yang dihasilkan bermutu baik dan mempunyai daya awet yang tinggi, faktor-faktor sanitasi harus diperhatikan. Alat dan bahan yang digunakan harus bersih demikian

pula halnya tempat penyimpanan ikan hasil pemindangan (Avianto dan Evi,1991).

Pembuatan ikan pindang menurut Wardani, (2001) bisa dilakukan dengan berbagai cara, tergantung jenis ikan dan wadah yang digunakan. Namun bila dilihat dari pembutannya, semuanya memiliki prinsip yang sama yaitu:

- a. Pemilihan bahan baku. Ikan yang akan diproses sebaiknya dipisahkan berdasarkan jenis, tingkat kesegaran dan ukuran ikannya.
- b. Persiapan peralatan dan bahan. Wadah yang digunakan untuk pembuatan ikan pindang bisa terbuat dari besi atau seng atau tanah liat. Selain wadah, pisau, saringan, talenan, dan pisang kering atau daun bambu kering , garam.
- c. Penyiangan dan pencucian
  1. Untuk memepermudah proes penanganan, tempatkan ikan diwadah terpisah sesuai ukuran, jenis dan tingkat kesegaran. Pada ikan berukuran besar, perlu dilakukan penyi dan sisik. Kemudian tubuh ikan dibelah atau dipotong-potong sesuai dengan ukuran yang diinginkan untuk mempermudah proses pemindangan.
  2. Pada ikan yang berukuran sedang cukup dibersihkan insang, sisik dan isi perut. Pembuangan isi perut dilakukan dengan cara menariknya dari lubang over culum (tutup insang) sehingga dinding perut tidak rusak (sobek).
  3. proses pencucian dilakaukan dengan air bersih dalam wadah keranjang plastik yang telah disediakan. Pada proses penirisan ini, ikan disusun rapi dengan perut menghadap ke bawah agar tidak ada air yang menggenang dirongga perutnya.

4. Setelah ikan agak kering, timbanglah ikan agar dapat mengetahui jumlah garam dan bumbu yang diperlukan dalam prose pemindangan.

d. Penyusunan ikan

Setelah ditiriskan ikan disusun rapi dan teratur didalam wadah yang telah disediakan. Usahakan ukuran ikan seragam dalam setiap tempat (wadah) pemindangan, agar ikan pindang yang dihasilkan mempunyai mutu dan rasa yang seragam. Bagian bawah wadah biasanya dilapisi anyaman bambu atau pisang kering agar ikan tidak melekat didasar wadah dan tidak hangus.

e. Pemberian garam

Dalam proses pemindangan, garam berfungsi untuk memberikan rasa gurih pada ikan, menurunkan kadar air dalam tubuh ikan serta menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk. Garam yang digunakan berbentuk kristal dan ditaburkan pada setiap lapisan ikan secara merata. Garam yang digunakan berkisar antara 5- 25% dari berat total ikan yang di pindang. Makin banyak garam yang dipakai, maka rasa ikan pindang makin asin sedangkan bila garam terlalau sedikit maka daya awet ikan pindang menjadi berkurang. Setelah semua ikan dan garam tersusun dalam wadah, maka tambahkan air secukupnya.

Selain menggunakan garam kristal, bisa juga menggunakan larutan garam yang dituangkan ke dalam wadah yang sudah berisi ikan. Kepekatan larutan disesuaikan selera. Semua ikan harus terendam agar rasa dan mutu ikan pindang yang dihasilkan seragam.

f. Perebusan ikan.

Setelah penyusunan ikan, pemberian garam dan bumbu selesai. Tutuplah wadah dengan rapat, biasanya diatas tutup diberi pemberat. Proses perebusan berlangsung selama 0,5 - 1 jam tergantung ukuran ikan yang dipindang.

Selama perebusan, lakukan pengecekan berkala, bila perlu tambahkan air secukupnya untuk mempercepat perebusan. Apabila ikan sudah matang air sisa perebusan dibuang dengan membuka tutup lubang dinding bagian bawah wadah. Air sisa ini ditampung untuk digunakan sebagai bahan baku pembuatan kecap atau petis ikan. Biarkan ikan pindng tetap didalam wadah pemindangan sampai dingin dan ikan pindang siap dipasarkan. Selama proses pemasaran, ikan pindang tetap berada didalam wadah pemindangan.

g. Penyimpanan.

Pengemasan dan penyimpanan ikan pindang harus benar-benar diperhatikan agar mutu ikan pindang tidak menurun wadah ikan pindang harus tertutup rapat agar tidak terkontaminasi oleh kotoran dari luar dan disimpan ditempat yang kering dan sejuk. Jangan sampai wadah ditempat panas atau lembab, karena akan menyebabkan aktifitas bakteri dan enzim pembusuk kembali meningkat (Wardani, 2001).

### **2.2.3 Umur Simpan Ikan Pindang**

Salah satu dari tujuan pemindangan ikan adalah supaya daya tahan simpan menjadi lebih lama. Daya tahan simpan ikan pindang sangat bervariasi tergantung jenisnya, yaitu dari 2-3 hari untuk proses pindang cue, sedangkan

pemindangan gaya baru hingga 1-3 minggu. Mutu pindang dapat dinilai dari rupa dan warna, bau, rasa, serta teksturnya (Anonim, 2008).

Menurut Suwamba, (2008), beberapa sifat atau keadaan yang dipakai untuk menetapkan kualitas atau mutu pindng yang baik adalah:

1. Warna pindang putih keabu-abuan
2. Permukaan kulit menjadi keset
3. Ikan tidak patah-patah
4. Tidak terlihat adanya lendir bakteri maupun kapang
5. Flavour yang menunjukkan keseragaman pindang

Daya awet ikan pindang bisa disimpan di udara terbuka tanpa dilakukan penanganan yang baik kurang lebih 2-3 hari. Selain dikarenakan pindang disimpan di udara terbuka tanpa penanganan khusus, hasil produksi pindang (terutama pindang air garam) kandungan airnya cukup banyak. Ikan yang mempunyai ukuran yang lebih besar (seperti tongkol) mempunyai daya awet yang lebih singkat bila dibandingkan dengan ikan yang berukuran kecil (ikan layang atau lemuru) (Moedjiharto, 2002).

Faktor yang mempengaruhi pembusukan ikan pindang lamanya waktu penyimpanan ikan pindang sampai batas layak dikonsumsi tergantung pada kondisi penyimpanan dan pengemasan. Selama penyimpanan, mutu ikan pindang dapat menurun (Ridwansyah, 2002). Hal ini disebabkan adanya proses oksidasi lemak ikan yang mengandung berbagai asam lemak tidak jenuh. Kandungan mineral pada garam seperti zat besi dan magnesium juga ikut berperan dalam mempercepat proses oksidasi lemak. Akibatnya muncul bau busuk, rasa yang tidak enak dan tekstur rusak. Selain itu kerusakan pada ikan

pindang juga disebabkan karena timbulnya bakteri yaitu bakteri halofilik eksterm yang mampu tumbuh pada kadar garam 20-30%. Yang termasuk bakteri halofilik eksterm adalah *Mikrococcus*, *seratia* dan *sarcina*. Selain itu kerusakan ikan pindang dapat disebabkan oleh jenis khamir, seperti cendana, penampilannya bulukan, yang tahan terhadap kadar garam tinggi. Jenis khamir ini antara lain, *Saccharomyces*, *Debaryomyces*, dan *Torulopsis* (Supardi Imam dan Sukanto 1999).

#### **2.2.4 Jenis - Jenis Ikan Pindang**

##### **a. Pindang ikan tongkol (*Euthynus affinis*)**

Ikan tongkol (*Euthynus affinis*) merupakan famili *scombroidae* merupakan salah satu jenis ikan yang sering diolah menjadi ikan pindang. Ciri – cirinya adalah badan memanjang, kaku dan bulat seperti torpedo. Termasuk tuna kecil. Mempunyai dua sirip punggung ( pertama berjari keras 10, kedua berjari lemah 12, diikuti 6 – 9 jari sirip tambahan). Sirip Dubur berjari lemah 13, diikuti 6 – 9 sirip tambahan. ( Dirjen Perikanan 1979 ).

Protein yang terkandung dalam ikan mempunyai mutu yang baik, sebab mengandung sedikit kolesterol dan sedikit lemak. Selain itu terdapat berbagai unsur mineral, vitamin A dan asam lemak omega-3 yang sangat bermanfaat yang dapat menangkal berbagai penyakit degeneratif ( Astawan, 2004 ).

Ikan tongkol jika dibiarkan pada suhu kamar, maka akan segera terjadi proses penurunan mutu, menjadi tidak segar lagi dan jika ikan tongkol ini dikonsumsi akan menimbulkan keracunan. Keracunan dapat disebabkan oleh kontaminasi bakteri patogen *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Vibro*

*cholera* *Enterobacteriaceae* (Pandit *et al*, 2011) dan bakteri penghasil *histamine* (toksin) antara lain *vibrio parahaemolyticus*, *Bacillus cereus*, *pseudomonas aeruginosa* *Proteus merabilis* yang ditemukan pada ikan tongkol di *Mhuthupettai lagon* (Paramasivam *et al*, 2007)

#### b. Pindang Ikan Layang



**Gambar 2.1 Ikan Pindang**

Ikan Layang merupakan salah satu hasil perikanan lepas pantai yang terdapat di Indonesia. Ikan ini termasuk jenis ikan pemakan zooplankton, hidup di dekat permukaan laut (pelagis), berkadar garam tinggi dan membentuk gerombolan besar, Panjang tubuhnya dapat mencapai 30cm, umumnya 20-30cm, bentuk badan panjang dan agak gepeng, warna punggungnya biru tua, perut berwarna putih (Ditjen Perikanan 1979).

#### C. Pindang Ikan salem (*Scomber australasicus*)

Ikan Pindang salem merupakan jenis ikan olahan yang digemari Masyarakat Indonesia. Selain mudah diperoleh di pasar-pasar tradisional, harga ikan salem juga terjangkau masyarakat.

Ikan salem merupakan jenis ikan yang hidup di perairan pantai. Ikan salem selain dikenal dengan ikan yang unik ikan salem juga terkenal sebagai ikan dengan kandungan gizi yang tinggi dan memiliki berbagai macam khasiat bagi

tubuh. Salah satu kandungan yang ada pada ikan salem adalah omega-3 yang sangat tinggi. (Sunu,2001).

### **2.2.5 Nilai gizi Ikan Pindang**

Ikan merupakan salah satu sumber zat gizi penting bagi kelangsungan hidup manusia. Manusia telah memanfaatkan ikan sebagai bahan pangan sejak beberapa abad yang lalu. Sebagai bahan pangan, ikan mengandung zat gizi utama berupa protein, lemak, vitamin dan mineral. Protein ikan menyediakan kurang lebih ( $\pm$ ) 2/3 dari kebutuhan protein hewani yang diperlukan oleh tubuh manusia. Kandungan protein ikan relatif besar yaitu antara 15-25% 100 g daging ikan. Kandungan lemak daging merah ikan lebih tinggi dibandingkan daging putih ikan. Jumlah mineral pada daging ikan hanya sedikit, ikan juga dipandang sebagai sumber kalsium, besi, tembaga, dan yodium (Junianto,2003).

Pada umumnya ikan laut mempunyai daging yang padat, enak rasanya dan tidak berduri diantara daging. Manakala ikan darat mempunyai daging tidak terlalu padat, lebih banyak mengandung air dan mudah hancur kalau dimasak. Daging ikan merupakan sumber protein dan lemak, bagaimanapun komposisinya sangat bervariasi tergantung pada musim, umur dan faktor lainnya. Pada umumnya daging ikan mengandung lemak 0,2-20%, protein 18-20% dan abu 1-1,8% protein pada ikan mudah dicerna dan bermutu tinggi karena kandungan asam aminonya (Rahmiatirahman, 2013).

### 2.2.6 Syarat Ikan Pindang Menurut Standart Nasional Indonesia

Syarat mutu dan keamanan pangan Ikan Pindang menurut Standart Nasional Indonesia 2717.2:2009

**Tabel 2.1 Persyaratan Mutu dan Keamanan Pangan Ikan Pindang**

| No | Jenis Uji                       | Persyaratan mutu |                 |
|----|---------------------------------|------------------|-----------------|
|    |                                 | Pindang Cue      | Pindang Garam   |
| a. | Organoleptik:                   |                  |                 |
|    | Nilai minimum                   | 7                | 6               |
|    | Kapang                          | Negatif          | Negatif         |
| b. | Mikrobiologi:                   |                  |                 |
|    | TPC per gr. Maks                | $1 \times 10^5$  | $1 \times 10^5$ |
|    | ALT per gr. Maks                | $1 \times 10^5$  | $1 \times 10^5$ |
|    | <i>E. Coli</i> MPN per gr. Maks | 3                | 3               |
|    | <i>Salmonella</i> *)            | Negatif          | Negatif         |
|    | <i>Vibrio cholera</i> *)        | Negatif          | Negatif         |
|    | <i>Staphylococcus aureus</i> *) | $1 \times 10^3$  | $1 \times 10^3$ |

|    |                            |    |    |
|----|----------------------------|----|----|
| c. | Kimia:                     |    |    |
|    | Air, % bobot/bobot, maks   | 70 | 70 |
|    | Garam, % bobot/bobot, maks | 10 | 10 |

### 2.3. Bakteri Pada Ikan

#### 2.3.1 *Salmonella spesies (sp)*

Merupakan bakteri batang yang bisa hidup dengan atau tanpa oksigen, genus *Salmonella* lebih dari 1600 spesies, tidak membentuk spora, serta tumbuh baik pada suhu kamar dengan suhu optimum 37° C. Sumber kontaminasi *Salmonella sp* adalah manusia dan hewan. *Salmonella sp* pada makanan yang di kaitkan dengan infeksi yang ditimbulkan, diantaranya adalah telur, susu, daging ikan dan sandwich.

Penyakit yang disebabkan *Salmonella sp* diantaranya dimulai dengan gejala rasa mual, muntah-muntah, sakit perut, sakit kepala, rasa kedinginan, hilang kekuatan, buang air berbau dan sering ingin buang air, otot terasa lemas, rasa mengantuk, haus, serta pingsan. Semua itu dapat menjadi demam dan keracunan atau pembusukan darah yang disebut septi kimia.

Cara untuk mencegah terjadinya infeksi yang disebabkan oleh *Salmonella sp* adalah:

1. Memeberikan pemanasan pada suhu 66 °C, selam paling sedikit 20 menit

2. Mencegah kontaminasi silang, baik antara makanan masak dengan makanan mentah.
3. Menggunakan peralatan dan menerapkan pengolahan secara higienis.

### **2.3.2 *Shigella (sp)***

Serangan bakteri *Shigella sp* antara lain menyebabkan sakit perut, diare, demam sampai suhu tubuh mencapai 40 °C, sakit kepala, terdapat darah dalam feses, dehidrasi dan lemah. Jenis olahan ikan yang biasa terkontaminasi antara lain ikan, udang, tuna, dan salad.

Pengendalian infeksi *Shigella sp* dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. Memasak atau mendinginkan makanan dengan baik.
2. Menerapkan higienitas pada personil dan alat pengolahan.
3. Menggunakan kebersihan penggunaan air.

### **2.3.3 *Clostridium (sp)***

*Clostridium perfringens* termasuk jenis bakteri yang tidak membutuhkan oksigen dalam hidupnya dan membentuk spora. Pembentukan spora dan ketahanan panas spora dapat berubah-ubah terkait dengan berbagai jenis dan faktor. Beberapa bakteri ini merupakan mikroorganisme yang menyebabkan keracunan makanan. Gejalanya berupa rasa mual atau mabuk, muntah-muntah, kejang pada usus, dehidrasi, lemah dan mencret. Gejala lain seperti demam, menggigil, dan sakit kepala jarang terjadi. Sakit yang diderita dengan satu pengecualian, tidak sampai menimbulkan kematian.

Pencegahan infeksi bakteri ini dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. Membuat makanan tetap dalam keadaan panas di atas suhu 60 °C dan melakukan pemanasan kembali makanan yang telah lama pada suhu kamar, pemanasan suhu hingga mencapai 71 °C.
2. Pendinginan yang cepat dan memadai dari daging, ikan, atau makanan lain.
3. Penerapan higienis perorangan pada personil yang terlibat dalam pengolahan makanan.

#### **2.3.4 *Staphylococcus (sp)***

Keracunan toksin *Staphylococcus sp* antara lain dimulai dengan kejang perut, mual, muntah, pusing, diare berdarah dan mengandung lendir, kejang otot, berkeringat dingin, lemas, nafas pendek, dan suhu tubuh di bawah normal. Gejala keracunan akan hilang setelah 1 atau 2 hari, dan jarang menyebabkan kematian.

Makanan dapat terkontaminasi *Staphylococcus sp* setelah proses pemasakan, dari pekerja yang terinfeksi, jenis makanan olahan perikanan dapat menjadi sumber infeksi. *Staphylococcus sp* sebenarnya tidak tahan panas, meski demikian toksin atau racun yang diproduksinya sangat tahan panas sehingga tidak dapat dihancurkan dengan pemanasan yang biasa digunakan untuk pemasakan. Racun hasil dari *Staphylococcus sp* tidak terdeteksi secara inderawi karena tidak menyebabkan perubahan tekstur, warna, bau, tampilan maupun rasa makan.

Pengendalian keracunan *Staphylococcus sp* pada makanan dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut :

1. Melakukan sanitasi pada pekerja dan tempat pengolahan.

2. Mendinginkan dengan segera semua bahan makan baik mentah maupun masak.
3. Memberikan pemanasan yang memadai, apabila racun *Staphylococcus* sp belum terbentuk.

### **2.3.5 *Escherichia coli***

*Escherichia coli* adalah mikroorganisme yang umumnya menghuni daerah usus manusia dan binatang berdarah panas. Bakteri ini ada yang memproduksi racun pada usus dan menimbulkan penyakit seperti kolera, dengan waktu inkubasi 8-12 jam. Dapat pula menyebabkan penyakit colitis seperti disentri dengan gejala demam, dingin, sakit kepala, kejang perut, dan mencret.

Pengendalian infeksi bakteri ini dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. Memasak atau mendinginkan makan dengan baik.
2. Menerapkan higienitas pada personil dan alat pengolahan
3. Menggunakan air yang bersih

### **2.3.6 *Vibrio (sp)***

Merupakan bakteri yang tahan terhadap lingkungan yang kurang oksigen dan mengandung garam hingga 7%. Makanan yang sering menjadi sumber infeksi adalah ikan, kerang, kepiting, udang, serta pada produk olahan. Gejala sakit dimulai dari sakit atau kram perut, buang kotoran mengandung darah, mual, muntah, demam ringan, dingin, sakit kepala, dan lemah. Penderita akan membaik setelah 2-5 hari.

Untuk mencegah serangan penyakit ni, gunakan cara sebagai berikut:

1. Memasak atau mendinginkan bahan makanan.

2. Memisahkan makanan yang mentah dengan yang masak (Saparinto, 2011).

## **2.4 Pengujian Cemar Bakteri**

### **2.4.1 Uji Angka Lempeng Total (ALT)**

Metode kuantitatif digunakan untuk mengetahui jumlah mikroba yang ada pada suatu sampel, umumnya dikenal dengan Angka Lempeng Total (ALT). Uji Angka Lempeng Total (ALT) dan lebih tepatnya ALT aerob mesofil atau anaerob mesofil menggunakan media padat dengan hasil akhir berupa koloni yang dapat diamati secara visual berupa angka dalam koloni (cfu) per ml/g atau koloni/100ml. Cara yang digunakan antara lain dengan cara tuang, cara tetes dan cara sebar (BPOM, 2008).

Prinsip pengujian Angka Lempeng Total menurut Metode Analisis Mikrobiologi (MA PPOM 61/MIK/06) yaitu pertumbuhan koloni bakteri aerob mesofil setelah cuplikan diinokulasikan pada media lempeng agar dengan cara tuang dan diinkubasi pada suhu yang sesuai. Pada pengujian Angka Lempeng Total digunakan PDF (*Pepton Dilution Fluid*) sebagai pengencer sampel dan menggunakan PCA (*Plate Count Agar*) sebagai media padatnya. Digunakan juga pereaksi khusus *Triphenyl Tetrazalim Chlotide* 0,5% (TTC).

Prosedur pengujian Angka Lempeng Total (ALT) menurut Metode Analisa Mikrobiologi (MA PPOM 61/MIK/06) yaitu dengan cara aseptik ditimbang 25 gram atau dipipet 25 ml sampel ke dalam kantong stomacher steril. Setelah itu ditambahkan 225 ml *Pepton Dilution Fluid* (PDF), dan dihomogenkan dengan stomacher selama 30 detik sehingga diperoleh suspensi dengan pengenceran 10-1. Disiapkan 5 tabung atau lebih yang masing-masing telah diisi dengan 9 ml *Peptonn Dilitation Fluid* (PDF).

Hasil dari homogenisasi pada penyiapan sampel yang merupakan pengenceran 10-1 dipipet sebanyak 1 ml ke dalam tabung PDF pertama, dikocok homogen hingga diperoleh pengenceran 10-2. Dibuat pengenceran selanjutnya hingga 10-6 atau sesuai dengan pengenceran yang diperlukan. Dari setiap pengenceran dipipet 1 ml ke dalam cawan petri dan dibuat duplo, ke dalam setiap cawan dituangkan 15-20 ml media *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang sudah ditambahkan 1% TTC suhu 45°C. Cawan petri segera digoyang dan diputar sedemikian rupa hingga suspensi tersebar merata. Untuk mengetahui sterilitas media dan pengencer dibuat uji kontrol (blangko). Pada satu cawan diisi 1 ml pengencer dan media agar, pada cawan yang lain diisi media. Setelah media memadat, cawan diinkubasi suhu 35-37°C selama 24-46 jam dengan posisi dibalik. Setelah itu jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung. Hasil pengamatan dan perhitungan yang diperoleh dinyatakan sesuai persyaratan berikut:

1. Dipilih cawan petri dari satu pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni antara 25-250. Jumlah koloni rata-rata dari kedua cawan dihitung lalu dikalikan dengan faktor pengencerannya. Hasil dinyatakan sebagai Angka Lempeng Total (ALT) dari tiap gram atau tiap ml sampel.
2. Bila salah satu dari cawan petri menunjukkan jumlah koloni kurang dari 25 atau lebih dari 250, dihitung jumlah rata-rata koloni, kemudian dikalikan faktor pengencerannya. Hasil dinyatakan sebagai Angka Lempeng Total (ALT) dari tiap gram atau tiap ml sampel.
3. Jika terdapat cawan-cawan dari dua tingkat pengenceran yang berurutan menunjukkan jumlah koloni antara 25-250, maka dihitung jumlah koloni

dari masing-masing tingkat pengenceran, kemudian dikalikan dengan faktor pengencerannya. Apabila hasil perhitungan pada tingkat yang lebih tinggi diperoleh jumlah koloni rata-rata lebih besar dari dua kali jumlah koloni rata-rata pengenceran dibawahnya, maka Angka Lempeng Total (ALT) dipilih dari tingkat pengenceran yang lebih rendah. Bila hasil perhitungan pada tingkat pengenceran lebih tinggi diperoleh jumlah koloni rata-rata kurang dari dua kali jumlah rata-rata pada pengenceran dibawahnya maka Angka Lempeng Total (ALT) dihitung dari rata-rata jumlah koloni kedua tingkat pengenceran tersebut.

4. Bila tidak ada satupun koloni dari cawan maka ALT dinyatakan sebagai < dari 1 dikalikan faktor pengenceran terendah.
5. Jika seluruh cawan menunjukkan jumlah koloni lebih dari 250, dipilih cawan dari tingkat pengenceran tertinggi kemudian dibagi menjadi beberapa sektor (2, 4 dan 8) dan dihitung jumlah koloni dari satu sektor. Angka Lempeng Total (ALT) adalah jumlah koloni dikalikan dengan jumlah sektor, kemudian dihitung rata-rata dari kedua cawan dan dikalikan dengan faktor pengencerannya.
6. Jumlah koloni rata-rata dari 1/8 bagian cawan lebih dari 200, maka Angka Lempeng Total (ALT) dinyatakan lebih besar dari  $200 \times 8$  dikalikan faktor pengenceran.
7. Perhitungan dan pencatatan hasil ALT hanya ditulis dalam dua angka. Angka berikutnya dibulatkan kebawah bila kurang dari 5 dan dibulatkan ke atas apabila lebih dari 5.

8. Jika dijumpai koloni “spreader” meliputi seperempat sampai setengah bagian cawan , maka dihitung koloni yang tumbuh diluar daerah spreader. Jika 75 % dari seluruh cawan mempunyai koloni spreader dengan seperti diatas, maka dicatat sebagai “spr”. Untuk keadaan ini harus dicari penyebabnyadan diperbaiki cara kerjanya (pengujian diulang).
9. Jika dijumpai koloni spreader tipe rantai maka tiap 1 deret koloni yang terpisah dihitung sebagai 1 koloni, dan bila dalam kelompok spreader terdiri dari beberapa rantai, maka tiap rantai dihitung sebagai 1 koloni (BPOM RI, 2006).

#### **2.4.2 Uji kapang**

Kapang adalah kelompok mikroba yang tergolong dalam fungi, ilmu yang mempelajari fungi disebut mikologi.

Prinsip uji angka kapang pada makanan dan minuman sesuai metode analisis mikrobiologo (MA PPOM 62/MIK/06) yaitu pertumbuhan kapang atau khamir setelah dicuplikan diinokulasikan pada media yang sesuai dan di inkubasi pada suhu 20-25<sup>0</sup> C. Pada uji ini digunakan *Pepton Diltion Fluid* (PDF) dan Air Suling Agar 0,05% (ASA) sebagai larutan pengencer, *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang ditambahkan Kloramifenikol (100 mg/l) (0,01%) sebagai media pertumbuhannya.

Prosedure pengujian angka Kapang pada makanan dan minuman sesuai metode analisis mikrobiologi (MA PPOM 62/MIK/06) yaitu dengan cara aseptik di timbang 25 g atau dipipet 25 ml sampel kedalam kantong plastik stomacher steril. Ditambahkan 225 ml PDF, dihomogenkan dengan stomacher selama 30 detik sehingga dieroleh suspensi dengan pengenceran 10<sup>-1</sup> sesuai disiapkan 3

buah tabung masing-masing telah diisi 9 ml ASA. Dari hasil homogenisasi pada penyiapan sampel yang merupakan pengenceran  $10^{-1}$ , dipipet 1 ml kedalam ASA pertama, dikocok homogen hingga diperoleh pengenceran  $10^{-2}$ . Dibuat pengenceran selanjutnya hingga  $10^{-4}$ . Dari masing-masing pengenceran dipipet 0,5 ml, dituangkan pada permukaan *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang sudah ditambahkan kloramifenikol segera di goyang sambil di putar hingga suspensi tersebar merata dan di buan duplo. Untuk menegetahui sterilitas media dan pengencer, dilakukan uji balnko. Pada satu lempeng *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang sudah ditambahkan kloramifenikol diteteskan 0,5 ml penegencer dan disebar ratakan dan untuk uji media digunakan satu lempeng PDA + kloramifenikol. Seluruh cawan petri diinkubasi pada suhu  $20-25^{\circ}\text{C}$  dan diamati pada hari ke tiga dan ke lima. Koloni kapang seperti kapas atau bulat dengan berbagai warna, permukaan kasar dan kolonu khamir memiliki bentuk bulat kecil putih, hampir menyerupai bakteri. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung.

#### **2.4.3 Uji *Escherichia coli***

*Escherichia coli* adalah gram negatif, anaerobik fakultatif dan non spora. Sel-sel biasanya berbentuk batang yang panjangnya sekitar 2 mikrometer dan diberbagai substrat. *Escherechia coli* mengguankan fermentasi asam campuran dalam kondisi anaerobik, menghasilkan laktat, suksinat, etanol, asetat dan karbon dioksida.

Domain : Bakteri

Family : Entrobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Species : *Escherichia coli* (Anonim; 2008)

Prinsip pengujian deteksi *Escherichia coli* menurut metode analisis Mikrobiologi (MA PPOM 73/MIK/06) yaitu pertumuhan koloni *Escherichia coli* pada media lempeng selektif dan dilanjutkan dengan konfirmasi melalui uji biokimia. Pada pengujian deteksi, *Escherichia coli* digunakan *Tryptic Sory Broth* (TSB) sebagai media cair atau pengencer, dan *Eoyn Methylen Blue* (EMB) sebagai media lempeng selektif.

Posedure pengujian deteksi *Escherichia coli* menurut metode analisis Mikrobiologi (MA PPOM 73/MIK/06) yaitu dengan cara aseptik ditimbang 10 gram atau dipipet 10 ml cuplikan sampel kedalam kantong plastik stomacher steril ditambahkan 90 ml TSB. Dihomogenkan menggunakan stomacher selma 30 detik dan diinkubasi  $37 \pm 1^{\circ} \text{C}$  selama  $18 \pm 2$  jam. Setelah itu digoreskan satu sengkelit pada media lempeng selektif EMB dan diinkubasi pada suhu  $35^{\circ} \text{C}$  selama 18-24 jam dengan posisi cawan terbalik. Diamtai koloni spesifik yang tumbuh (Koloni hijau kilap logam dengan bintik biru kehijauan ditengahnya) selanjutnya dilanjutkan uji biokimia untuk identifikasi *Escherichia coli*.