

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

A. Ikan Betok

1. Klasifikasi dan Morfologi Ikan Betok (*Anabas testudineus* Bloch)

a. Klasifikasi

Ikan Betok sebenarnya sudah lama dikenal masyarakat Indonesia di beberapa daerah. Dalam bahasa-bahasa daerah ikan ini juga dinamakan ikan Betik atau Betok (Jawa dan Sunda), Papuyu (Kalimantan Selatan), Puyu (Malaya dan Kalimantan Timur), Puyu-puyu (Padang), Puyo-puyo (Bintan), geteh-geteh (Manado), dan kusang (Danau Matanua). Dalam bahasa Inggris dikenal sebagai *climbing gouramy* atau *climbing perch*, merujuk pada kemampuannya memanjat ke daratan. Nama ilmiahnya adalah *Anabas testudineus* (Bloch, 1792).

Menurut Saanin (1984) dalam Rahayu (2013), Ikan Betok diklasifikasikan sebagai berikut :

Phylum : Chordata
Sub Phylum : Vertebrata
Kelas : Pisces
Sub Kelas : Teleostei
Ordo : Labyrinthici
Famili : Anabantidae
Genus : *Anabas*
Species : *Anabas testudineus* Bloch



Gambar 2.1. Ikan Betok
Sumber : Dokumentasi Pribadi

b. Morfologi

Betok (*Anabas testudineus*) adalah salah satu jenis ikan di perairan umum Indonesia. Bentuk tubuh ikan betok lonjong dengan kepala lebar dan memipih ke belakang. Tubuh betok ditutupi oleh sisik berwarna hijau kehitam-hitaman pada bagian punggung dan putih mengkilat atau putih kehijau-hijauan di bagian perut (Rahayu, 2013).

Betok termasuk ikan berukuran kecil, hanya dapat mencapai panjang sekitar 23 cm dan berat sekitar 200 g/ekor (Kordi, 2010 dalam Rahayu, 2013).

2. Habitat dan Daerah Penyebaran Ikan

Ikan ini menyebar luas, mulai dari India, Cina hingga Asia Tenggara dan Kepulauan Nusantara di sebelah barat Garis Wallace Daerah penyebaran ikan Betok di Indonesia meliputi Sumatera, Nias, Bintan, Sulawesi, Bangka, Sumbawa, Pati, Ambon, Jawa, Bacau, Halmahera, Kalimantan, dan Madura.

Ikan betok di temukan di semua jenis perairan tropis dan subtropis. Ikan betok biasanya hidup diperairan rawa yang menjadi habitatnya. Meskipun ikan betok dapat hidup di perairan tawar, namun ikan betok memiliki toleransi yang tinggi terhadap salinitas (Jacob, 2005 *dalam* Rahayu, 2013). Benih ikan betok berukuran 14,0 mm dapat mentoleransi salinitas hingga 11,5% (Jacob, 2005 *dalam* Rahayu, 2013).

Meskipun suhu optimum ikan berkisar 20-30°C, tapi ikan betok dapat hidup pada suhu yang sangat rendah (Jacob, 2005 *dalam* Rahayu, 2013). Ikan betok dapat bertahan hidup pada kondisi kemarau dengan cara mengubur diri di dalam lumpur seperti African Lungfish (Jacob, 2005 *dalam* Rahayu, 2013).

3. Kebiasaan/Behaviour

Dalam keadaan normal, sebagaimana ikan umumnya, betok bernafas dalam air dengan insang. Akan tetapi seperti ikan gabus dan lele, betok juga memiliki kemampuan untuk mengambil oksigen langsung dari udara. Ikan ini memiliki organ labirin (labyrinth organ) di kepalanya, yang memungkinkan hal itu. Alat ini sangat berguna manakala ikan mengalami kekeringan dan harus berpindah ke tempat lain yang masih berair. Betok mampu merayap naik dan berjalan di daratan dengan menggunakan tutup insang yang dapat dimegarkan, dan berlaku sebagai semacam 'kaki depan'. Namun tentu saja ikan ini tidak dapat terlalu lama bertahan di daratan, dan harus mendapatkan air dalam beberapa jam atau ia akan mati (Djuhandha, 1981).

4. Makanan

Ikan Betok adalah golongan ikan pemakan segala (omnivora), oleh karena itu mudah diberikan makanan tambahan atau buatan. Menurut Mudjiman (1985), jumlah makanan yang dikonsumsi oleh ikan secara umum berkisar antara 3 – 6 % dari total berat ikan. Namun jumlah makanan itu dapat berubah-ubah tergantung pada suhu lingkungannya. Ikan ini memangsa aneka serangga dan hewan-hewan air yang berukuran kecil.

5. Pertumbuhan

Arifin (1991), menyatakan bahwa pertumbuhan dapat dikatakan sebagai pertambahan ukuran panjang atau berat didalam waktu tertentu. Pertambahan ukuran ini karena adanya proses hayati yang terus menerus terjadi didalam tubuh organisme. Kecepatan pertumbuhan sangat tergantung kepada jumlah makanan yang diberikan, ruang, suhu, kedalaman air, kandungan oksigen dalam air, dan parameter kualitas air lainnya. Makanan yang didapat oleh ikan terutama di manfaatkan untuk pergerakan, memulihkan organ tubuh yang rusak, setelah itu kelebihan makanan yang didapatkan digunakan untuk pertumbuhan (Asmawi, 1986). Pertumbuhan ikan Betok di alam dapat mencapai ukuran >200 gram per ekor dalam 1 tahun, sedangkan pertumbuhan dalam lingkungan budidaya (kolam, fishpen/jaring tancap) mencapai kisaran 70 - 100 gram per ekor selama 1 tahun.

6. Manfaat Ikan Betok (*Anabas testudineus* Bloch)

Ikan betok mempunyai nilai ekonomis dan harga jualnya pun cukup tinggi. Selain itu, ikan ini juga dimanfaatkan sebagai target pancingan dan ikan hias di Eropa (Kuncoro, 2009 dalam Ernawati *dkk*, 2009). Potensi betok menjadi ikan konsumsi dan ikan hias yang diiringi dengan meningkatnya permintaan konsumen (Ernawati *dkk*, 2009).

B. Kemunduran Mutu pada Ikan Segar

Kemunduran mutu pada ikan segar dapat dijelaskan sebagai berikut (Ilyas, 1983 dalam Suharna, 2006) :

1. Rigor Mortis

Rigor mortis (sering disingkat rigor) pada ikan adalah terjadinya pengejangkan otot ikan setelah beberapa saat ikan mati. Segera setelah ikan mati, otot ikan menjadi lemah terkulai (fase pre rigor). Setelah beberapa saat, otot ikan mulai mengejang (fase rigor). Kejang pada ikan biasanya bermula dari ekor, berangsur-angsur menjalar sepanjang tubuh ke arah kepala. Sehabis itu, jaringan otot ikan mulai terkulai lagi (fase post rigor).

Penyebab kejang pada ikan belum sepenuhnya dimengerti, masih terus diteliti. Sejauh ini, adanya senyawa glikogen dalam otot ikan diduga sebagai penyebabnya. Glikogen adalah sejenis karbohidrat majemuk yang berfungsi sebagai cadangan tenaga. Segera setelah ikan mati, tidak lagi terjadi proses pembentukan senyawa glikogen dalam otot ikan. Beberapa saat kemudian, karena aksi enzim terjadi proses glikolisis yaitu senyawa glikogen terurai secara terus-menerus menjadi asam laktat (menyebabkan

pH daging ikan menurun) dan akhirnya senyawa glikogen tersebut habis. Pada saat proses glikolisis inilah terjadi pengejangan otot ikan, dan otot ikan kembali terkulai setelah persediaan glikogen dalam otot ikan habis.

Pendapat lain mengatakan bahwa protein miofibrillar daging ikan berperan dalam terjadinya pengejangan otot ikan (fenomena rigor mortis) setelah beberapa saat ikan mati, sementara proses glikolisis hanya berperan dalam penurunan pH daging ikan, sebagaimana dijelaskan berikut ini.

Protein daging ikan terdiri dari protein sarkoplasma (miogen), protein miofibrillar dan protein stroma. Rata-rata komposisi protein daging ikan adalah 65 – 75 % miofibrillar, 20 –30 % sarkoplasma dan 5 – 8 % stroma. Protein miofibrillar terdiri dari miosin dan aktin. Model molekul miosin terdiri dari bagian kepala dan ekor. Pada bagian kepala molekul miosin terdapat H-meromiosin (HMM), sedangkan pada bagian ekornya terdapat L-meromiosin (LMM). HMM cepat mengendap, sedangkan LMM lambat mengendap. HMM mempunyai aktivitas *ATP-ase* dan kemampuan mengikat aktin, sedangkan LMM tidak mempunyai fungsi-fungsi biologis. Segera setelah ikan mati terjadi fase pre rigor yang ditandai dengan; pH daging ikan sekitar 7, ikatan antara aktin dengan miosin putus, dan otot ikan mengalami relaksasi sehingga menjadi kenyal-lunak. Beberapa saat kemudian terjadi fase rigor mortis yang ditandai dengan; pH daging ikan menurun sampai sekitar 6, dan terjadi penguraian senyawa *ATP (Adenosine Triphosphate)* dalam otot ikan menjadi *ADP (Adenosine Diphosphate)* oleh aktivitas *ATP-ase* dari H-meromiosin (HMM), yang menyebabkan otot ikan

mengalami kontraksi sehingga menjadi kaku (Suzuki, 1981; Rahayu *et. al.*, 1992 *dalam* Suharna, 2006).

Lamanya fase rigor (masa kejang) pada ikan berlangsung beberapa jam sampai beberapa hari, tergantung pada sejumlah faktor antara lain:

a. Jenis dan Ukuran Ikan

Pada jenis ikan yang sama, ikan yang berukuran kecil biasanya lebih cepat fase rigornya dibanding ikan besar.

b. Kondisi Fisik Ikan

Ikan yang kondisi fisiknya lemah sebelum ditangkap, misalnya karena kurang bergizi makanannya, baru bertelur dan lain-lain, memiliki fase rigor lebih cepat dibanding ikan yang kondisi fisiknya kuat.

c. Tingkat Kelelahan Ikan

Jenis alat tangkap yang digunakan (trawl, seine, pancing dan lain-lain) umumnya sangat berpengaruh terhadap tingkat kelelahan ikan. Ikan yang lama berjuang keras menghadapi kematiannya dalam jaring sebelum ditarik ke kapal akan kehabisan banyak cadangan tenaga sehingga fase rigornya lebih cepat.

d. Suhu Penyimpanan Sesudah Ikan Ditangkap

Semakin rendah suhu penanganan ikan segera setelah ditangkap, semakin lama fase rigornya. Ikan tenggiri dan tongkol yang segera di-es setelah ditangkap dengan payang di perairan Pelabuhan Ratu, masih dalam keadaan kejang (fase rigor) sampai hari ke tiga di dalam peti es berinsulasi.

2. Kemunduran Mutu Secara Autolisis

Autolisis berarti *self digestion*, yaitu setelah mencapai fase post-rigor, enzim proteolisis (pengurai protein) dan enzim lipolisis (pengurai lemak) yang terdapat dalam tubuh ikan segera melancarkan aksinya, menguraikan protein dan lemak menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti asam amino dan asam lemak.

Autolisis pada ikan lebih didominasi oleh enzim proteolisis karena kadar protein dalam daging ikan jauh lebih banyak dibanding dengan kadar lemaknya. Dalam perut ikan ditemukan enzim proteolisis pepsin dan tripsin. Sedangkan dalam daging ikan ditemukan enzim proteolisis katepsin.

Suhu optimum untuk autolisis adalah 400 C dan berhenti pada suhu 650 C. Sedangkan pada suhu –140 C autolisis terhambat.

Telah terjadinya kemunduran mutu secara autolisis pada ikan dapat ditandai dengan bola mata ikan agak cekung dan korneanya agak keruh, warna insang merah coklat dan sedikit berlendir, lapisan lendir permukaan badan agak keruh, tekstur daging agak lunak dan belum tercium bau amoniak.

3. Kemunduran Mutu Secara Kimiawi

Khusus pada jenis ikan yang berkadar lemak tinggi, pada umumnya ikan pelagis, segera setelah terjadi kemunduran mutu secara autolisis selanjutnya diikuti dengan kemunduran mutu secara kimiawi, yaitu timbulnya bau tengik (ketengikan oksidatif) pada ikan sebagai akibat dari

bereaksinya asam lemak dengan oksigen yang berasal dari udara di sekitarnya.

4. Kemunduran Mutu Secara Bakteriologis

Pada ikan yang masih hidup, terdapat jutaan bakteri yang terpusat pada tiga tempat yaitu pada selaput lendir permukaan tubuh ikan, insang dan isi perut.

Menurut Rahayu *et. al.*, (1992) dalam Suharna (2006), menyatakan bahwa beberapa peneliti melaporkan jumlah bakteri pada ikan yaitu berkisar antara 10² sampai 10⁶ per cm² pada kulit, 10³ sampai 10⁵ per gram di dalam insang dan sampai 10⁷ per gram di dalam usus. Pada permukaan tubuh ikan ditemukan jenis bakteri *Pseudomonas* sp., *Sarcina* sp., *Serratia* sp., *Achromobacter* sp., *Flavobacterium* sp., *Micrococcus* sp., *Vibrio* sp. dan *Bacillus* sp. Sedangkan pada isi perut ikan ditemukan jenis bakteri *Achromobacter* sp., *Acinetobacter* sp., *Aeromonas* sp., *Alcaligenes* sp., *Enterobacter* sp., *Flavobacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Xanthomonas* sp., *Vibrio* sp., *Clostridium* sp. dan *Escherichia coli*. Adapun pada insang ikan ditemukan jenis bakteri *Pseudomonas* sp., *Achromobacter* sp., *Corynebacterium* sp., *Flavobacterium* sp., *Micrococcus* sp., *Alcaligenes* sp. dan *Bacillus* sp. Ikan segar pada umumnya tidak terkontaminasi oleh bakteri *Salmonellae* sp. Dan *Staphylococcus* sp., kecuali jika ikan tersebut ditangkap dari perairan yang terpolusi berat, atau terkontaminasi pada saat penanganan dan pengolahan.

Secara alamiah, tubuh ikan yang masih hidup memiliki *barrier* pertahanan terhadap serangan bakteri, sehingga bakteri dari ketiga tempat tersebut di atas tidak mampu menyebar ke seluruh bagian tubuh ikan.

Setelah ikan mati, setelah mencapai fase post-rigor, terjadilah kemunduran mutu pada ikan secara bakteriologis bersamaan dengan terjadinya kemunduran mutu secara autolisis. Bakteri dapat mendobrak *barrier* pertahanan tubuh ikan sehingga bakteri dapat menyerang ke seluruh bagian tubuh ikan. Enzim proteolisis dan lipolisis yang berasal dari bakteri pembusuk menguraikan senyawa kompleks protein dan lemak dalam daging ikan menjadi senyawa-senyawa sederhana yaitu asam amino dan asam lemak, lalu diuraikan lagi menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana, yang menimbulkan bau busuk dan tengik (ketengikan bakteriologis). Senyawa-senyawa yang dimaksud antara lain; amoniak, hidrogen sulfida, berbagai macam asam dan lain-lain. Selain itu, dari bakteri juga dihasilkan jenis enzim lainnya misalnya enzim TMAO-reduktase, yaitu enzim yang menguraikan senyawa sederhana trimethylamin oksida TMAO dalam daging ikan (salah satu contoh senyawa nitrogen non-protein) menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu trimethylamin (TMA).

Mulai terjadinya pembusukan pada ikan dapat ditandai dengan bola mata ikan cekung dan korneanya keruh, warna insang kelabu dan lendirnya agak tebal, lapisan lendir permukaan badan keruh menggumpal, tekstur daging lunak dan mulai tercium bau amoniak.

C. Mikroorganismen Patogen pada Bahan Makanan

Menurut Pelczar dan Chan (1988) *dalam* Mawarni (2015), menyatakan bahwa bahan makanan terdiri dari protein, karbohidrat, lemak, vitamin, dan mineral. Bahan makanan merupakan medium pertumbuhan yang baik bagi berbagai macam mikroorganismen. Mikroorganismen dapat membusukkan protein. Memfermentasikan karbohidrat dan menjadikan lemak dan minyak berbau tengik. Meskipun banyak mikroorganismen yang tidak berbahaya bagi manusia, beberapa mikroorganismen pencemar dapat mengakibatkan kerusakan, dan yang lain menimbulkan penyakit atau menghasilkan racun yang menyebabkan peracunan makanan.

Pertumbuhan mikroorganismen dalam makanan memegang peran penting dalam pembentukan senyawa yang memproduksi bau tidak enak dan menyebabkan makanan menjadi tak layak makan. Beberapa mikroorganismen yang mengontaminasi makanan dapat menimbulkan bahaya bagi yang mengkonsumsinya. Kondisi tersebut dinamakan keracunan makanan (Astawan, 2010 *dalam* Mawarni, 2015).

Kandungan mikroorganismen pangan memberikan keterangan yang mencerminkan mutu bahan mentahnya, keadaan sanitasi pada pengolahan pangan tersebut, serta keefektifan metode pengawetnya (Pelczar dan Chan, 1988 *dalam* Mawarni, 2015).

1. Kontaminasi Bahan Makanan oleh Mikroorganismen

Pangan dapat menjadi beracun karena telah terkontaminasi oleh bakteri patogen yang kemudian dapat tumbuh dan berkembang biak selama

penyimpanan, sehingga mampu memproduksi toksin yang dapat membahayakan manusia. Selain itu, ada juga makanan yang secara alami sudah bersifat racun seperti beberapa jamur/tumbuhan dan hewan (BPOM, 2008).

Kejadian Luar Biasa (KLB) keracunan makanan oleh bakteri bergantung pada beberapa atau semua faktor, seperti:

- a. Jasad renik penyebab yang terdapat pada penjamah makanan, bahan pangan, dan binatang.
- b. Tangan penjamah memindahkan jasad renik dari bahan pangan mentah ke makanan masak dan wadah makanan, pakaian, perkakas dapur selain wadah, atau dari tangan penjamah ke makanan yang sudah masak.
- c. Permukaan tempat mengolah makanan yang tercemar oleh bahan mentah.
- d. Makanan yang cocok untuk pertumbuhan jasad renik.
- e. Kondisi yang sesuai untuk penyimpanan hangat selama lebih dari dua jam.
- f. Órang yang peka.

2. *Coliform* pada Bahan Pangan

Coliform merupakan suatu bakteri yang digunakan sebagai indikator adanya polusi kotoran atau kondisi sanitasi yang tidak baik terhadap air, makanan, susu dan produk-produk susu. Adanya bakteri coliform menunjukkan kemungkinan adanya mikroorganisme yang bersifat enteropatogenik atau toksikogenik yang berbahaya bagi kesehatan. Bakteri coliform dibedakan menjadi dua grup yaitu coliform fekal misalnya

Escherchia coli yaitu bakteri yang berasal dari kotoran hewan maupun manusia dan coliform non fekal misalnya *Enterobacter aerogenes* (Fardiaz, 1993 dalam Mawarni, 2015).

Kelompok coliform sebagai suatu kelompok dicirikan sebagai bakteri berbentuk gram negatif, tidak membentuk spora, aerobik dan anaerobik fakultatif yang memfermentasikan laktosa dengan dihasilkan asam dan gas dalam waktu 48 jam pada suhu 35⁰ C (Pelczar & Chan, 1988 dalam Mawarni, 2015).

3. Beberapa Bakteri Yang Sering Ada Terdapat Ikan Konsumsi.

a. Vibrio

- 1) Merupakan bakteri Gram Negatif
- 2) Berbentuk batang yang melengkung
- 3) Bersifat Fakultatif an-aerob
- 4) Menghasilkan entero-toksin
- 5) Sensitif terhadap panas
- 6) Dapat hidup pada kisaran suhu 10^o C sampai 37^o C
- 7) pH idealnya 7,6

(sumber : Mortimore & Carrol W, 1998 dalam Adji, 2008).

b. Staphylococcus

- 1) Merupakan bakteri Gram Positif
- 2) Bentuk bulat (mirip buah beri)
- 3) Bersifat Aerobic atau An-aerobic.

- 4) Dapat memproduksi toksin
- 5) Memiliki kemampuan toleransi yang tinggi terhadap perubahan lingkungan
- 6) Dapat hidup pada suhu 7° C sampai 48° C.
- 7) pH ideal 6,5

(sumber : Mortimore & Carrol W, 1998 *dalam* Adji, 2008).

c. *Salmonella*

- 1) Merupakan bakteri Gram Negatif.
- 2) Berbentuk tangkai & tidak berspora serta memiliki *motil*
- 3) Bersifat Fakultatif An-aerob.
- 4) Dapat hidup pada pencernaan manusia & hewan.
- 5) Dapat hidup pada suhu 5,2° C sampai 43° C
- 6) pH ideal 7

(sumber : Mortimore & Carrol W, 1998 *dalam* Adji, 2008).

d. *Escherichia coli*

- 1) Bakteri ini merupakan strain dari coliform yaitu Gram Negatif
- 2) Berbentuk batang & tidak berspora
- 3) Bersifat Aerob sampai Fakultatif An-aerob
- 4) Hidup pada pencernaan manusia
- 5) Dapat memfermentasi laktosa yang menghasilkan gas dan asam
- 6) Dapat hidup pada suhu 35° C.

(sumber : Mortimore & Carrol W, 1998 *dalam* Adji, 2008).

D. Standar Mutu Ikan Segar

Menurut Soekarto (1990) *dalam* Suharna (2006), menyatakan bahwa mutu adalah kelompok sifat atau faktor pada komoditas yang membedakan tingkat pemuas atau akseptabilitas dari komoditi tersebut bagi pembeli atau konsumen. Mutu ikan segar identik dengan tingkat kesegarannya. Persyaratan Standar Mutu Ikan Segar berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Persyaratan Standar Mutu Ikan Segar Berdasarkan SNI 7388 : 2009

No. Kat Pangan	Kategori Pangan	Jenis cemaran mikroba	Batas maksimum
09.1.1	Ikan segar	ALT (30 ⁰ C, 72 jam)	5 x 10 ⁵ koloni/g
		APM <i>Escherichia coli</i>	< 3/g
		<i>Salmonella</i> sp	Negatif/ 25 g
		<i>Vibrio cholerae</i>	Negatif/ 25 g
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Negatif/ 25 g

Sumber: Badan Standar Nasional Indonesia

E. Daerah Aliran Sungai (DAS)

Daerah aliran kali dapat dipandang sebagai sistem alami yang menjadi tempat berlangsungnya proses-proses biofisik hidrologis maupun kegiatan sosial ekonomi dan budaya masyarakat yang kompleks. Proses-proses biofisik hidrologis DAS merupakan proses alami sebagai bagian dari suatu daur hidrologi atau yang dikenal sebagai siklus air. Kegiatan sosial-ekonomi dan budaya masyarakat merupakan bentuk intervensi manusia terhadap sistem alami DAS, seperti pengembangan lahan kawasan budidaya. Hal ini tidak lepas dari semakin meningkatnya tuntutan atas sumberdaya alam (air, tanah, dan

hutan) yang disebabkan meningkatnya pertumbuhan penduduk yang membawa akibat pada perubahan kondisi tata air DAS (Setiari, 2012).

Perubahan kondisi hidrologi DAS sebagai dampak perluasan lahan kawasan budidaya yang tidak terkendali tanpa memperhatikan kaidah-kaidah konservasi tanah dan air seringkali mengarah pada kondisi yang kurang diinginkan, yaitu peningkatan erosi dan sedimentasi, penurunan produktivitas lahan, dan percepatan degradasi lahan. Hasil akhir perubahan ini tidak hanya berdampak nyata secara biofisik berupa peningkatan luas lahan kritis dan penurunan daya dukung lahan, namun juga secara sosial ekonomi menyebabkan masyarakat menjadi semakin kehilangan kemampuan untuk berusaha di lahannya. Oleh karena itu ekosistem DAS perlu ditata pemanfaatannya agar dapat digunakan untuk berbagai keperluan antara lain pertanian, kehutanan, perkebunan, perikanan, peternakan, industri, pertambangan, pariwisata dan pemukiman (Bappedal Jateng, 2002 *dalam* Setiari, 2012).

Sungai merupakan perairan mengalir (lotik) yang dicirikan oleh arus yang searah dan relatif kencang, dengan kecepatan berkisar 0,1 – 1,0 m/detik, serta sangat dipengaruhi oleh waktu, iklim, bentang alam (topografi dan kemiringan), jenis batuan dasar dan curah hujan. Semakin tinggi tingkat kemiringan, semakin besar ukuran batuan dasar dan semakin banyak curah hujan, pergerakan air semakin kuat dan kecepatan arus semakin cepat. Sungai bagian hulu dicirikan dengan badan sungai yang dangkal dan sempit, tebing curam dan tinggi, berair jernih dan mengalir cepat. Badan sungai bagian hilir umumnya lebih lebar, tebingnya curam atau landai badan air dalam, keruh dan

aliran air lambat (Mulyanto, 2007 *dalam* Setiari, 2012). Menurut Newson (1997) *dalam* Setiari (2012), menyatakan bahwa kali merupakan bagian lingkungan yang paling cepat mengalami perubahan jika terdapat aktifitas manusia di sekitarnya. Sungai sebagai penampung dan penyalur air yang datang dari daerah hulu atas, akan sangat terpengaruh oleh tata guna lahan dan luasnya daerah aliran sungai, sehingga pengaruhnya akan terlihat pada kualitas air sungai (Odum, 1996 *dalam* Setiari, 2012).

Sungai yang menerima bahan pencemar mampu memulihkan diri (*self purification*) dengan cepat, terutama terhadap limbah penyebab penurunan kadar oksigen (*oxygen demanding wastes*) dan limbah panas. Kemampuan sungai dalam memulihkan diri dari pencemaran tergantung pada ukuran sungai dan laju aliran air sungai dan volume serta frekuensi limbah yang masuk (Lehler, 1975 *dalam* Setiari, 2012).

Kemampuan sungai untuk memulihkan diri sendiri dari pencemaran dipengaruhi oleh (1) laju aliran air sungai, (2) berkaitan dengan jenis bahan pencemar yang masuk ke dalam badan air. Senyawa *nonbiodegradable* yang dapat merusak kehidupan di dasar sungai, menyebabkan kematian ikan-ikan secara masif, atau terjadi magnifikasi biologis pada rantai makanan (Lehler, 1975 *dalam* Setiari, 2012).

F. Pencemaran

Pencemaran lingkungan adalah perubahan lingkungan yang tidak menguntungkan, sebagian karena tindakan-tindakan manusia yang disebabkan oleh perubahan pola pembentukan energi dan materi, tingkatan radiasi,

bahanbahan fisika, kimia dan jumlah organisme. Perubahan ini dapat mempengaruhi manusia secara langsung atau tidak langsung melalui hasil pertanian, peternakan, benda-benda, perilaku dalam apresiasi dan rekreasi di alam bebas (Fardiaz. 1992 *dalam* Setiari, 2012)

Menurut Hidayat (1981) *dalam* Setiari (2012), menyatakan bahwa pada dasarnya pencemaran lingkungan dapat dibagi dalam tiga tingkatan yaitu: (1) gangguan, merupakan bentuk pencemaran yang paling ringan, (2) pencemaran temporer, berjangka pendek karena alam mampu mencernakannya sehingga lingkungan dapat kembali seperti semula, dan (3) pencemaran permanen, bersifat tetap karena alam tidak mampu kembali mencernakannya (dikenal sebagai perubahan sumberdaya alam).

Pencemaran lingkungan hidup menurut Undang-Undang Nomor 32 Tahun 2009 (Kementerian Negara Lingkungan Hidup, 2009) adalah masuk atau dimasukkannya makhluk hidup, zat, energi dan/atau komponen lain ke dalam lingkungan hidup oleh kegiatan manusia sehingga melampaui baku mutu lingkungan hidup yang telah ditetapkan.

1. Pencemaran Air

Pencemaran adalah suatu penyimpangan dari keadaan normalnya. Jadi pencemaran air adalah suatu keadaan air tersebut telah mengalami penyimpangan dari keadaan normalnya. Keadaan normal air masih tergantung pada faktor penentu, yaitu kegunaan air itu sendiri dan asal sumber air (Wardhana, 2004 *dalam* Setiari, 2012).

Cottam (1969) *dalam* Setiari (2012), mengemukakan bahwa pencemaran air adalah bertambahnya suatu material atau bahan dan setiap

tindakan manusia yang mempengaruhi kondisi perairan sehingga mengurangi atau merusak daya guna perairan. Industri pertambangan dan energi mempunyai pengaruh besar terhadap perubahan lingkungan karena mengubah sumber daya alam menjadi produk baru dan menghasilkan limbah yang mencemari lingkungan (Darsono, 1992 *dalam* Setiari, 2012).

Kumar (1977) *dalam* Setiari (2012) berpendapat bahwa air dapat tercemar jika kualitas atau komposisinya baik secara langsung atau tidak langsung berubah oleh aktivitas manusia sehingga tidak lagi berfungsi sebagai air minum, keperluan rumah tangga, pertanian, rekreasi atau maksud lain seperti sebelum terkena pencemaran. Polusi air merupakan penyimpangan sifat-sifat air dari keadaan normal. Ciri-ciri yang mengalami polusi sangat bervariasi tergantung dari jenis dan polutannya atau komponen yang mengakibatkan polusi (Sumengen, 1987 *dalam* Setiari, 2012).

2. Hal-hal yang Umumnya Menjadi Penyebab Pencemaran di dalam Perairan.

Perkembangan penduduk dan kegiatan manusia telah meningkatkan pencemaran kali-kali, terutama kali – kali yang melintasi daerah perkotaan dimana sebagian air bekas kegiatan manusia dibuang ke sistem perairan yang sedikit atau tanpa pengolahan sama sekali terlebih dahulu. Hal ini menyebabkan penurunan kualitas air kali (Darsono, 1992 *dalam* Setiari, 2012).

Penyebab pencemaran air berdasarkan sumbernya secara umum dapat dikategorikan sebagai sumber kontaminan langsung dan tidak

langsung. Sumber langsung meliputi *effluent* yang keluar dari industri, TPA (Tempat Pemrosesan Akhir Sampah), dan sebagainya. Sumber tidak langsung yaitu kontaminan yang memasuki badan air dari tanah, air tanah, atau atmosfer berupa hujan. Tanah dan air tanah mengandung mengandung sisa dari aktivitas pertanian seperti pupuk dan pestisida. Kontaminan dari atmosfer juga berasal dari aktivitas manusia yaitu pencemaran udara yang menghasilkan hujan asam. Penyebab pencemaran air dapat juga digolongkan berdasarkan aktivitas manusia dalam memenuhi kebutuhan hidupnya, yaitu limbah yang berasal dari industri, rumah tangga, dan pertanian (Suriawiria, 1996 *dalam* Setiari, 2012).

Kualitas air harus memenuhi 3 persyaratan, yaitu kualitas fisik, kimia, dan biologis. Kualitas fisik berdasarkan pada kekeruhan, temperatur, warna, bau, dan rasa. Kualitas kimia adanya senyawa-senyawa kimia yang beracun, perubahan rupa, warna, dan rasa air, serta reaksi-reaksi yang tidak diharapkan menyebabkan diadakannya standar kualitas air minum. Standar kualitas air memberikan batas konsentrasi maksimum yang dianjurkan dan yang diperkenankan bagi berbagai parameter kimia, karena pada konsentrasi yang berlebihan kehadiran unsur-unsur tersebut dalam air akan memberikan pengaruh negatif, baik bagi kesehatan maupun dari segi pemakaian lainnya.

Menurut Dwidjoseputro (1998), air tanah mengandung zat-zat anorganik maupun zat-zat organik yang merupakan tempat yang baik bagi pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme (kehidupan mikroorganisme).

Indikator kehadiran bakteri *coliform* merupakan polusi kotoran akibat kondisi sanitasi yang buruk terhadap air dan makanan. Bakteri *coliform* ada 2 jenis :

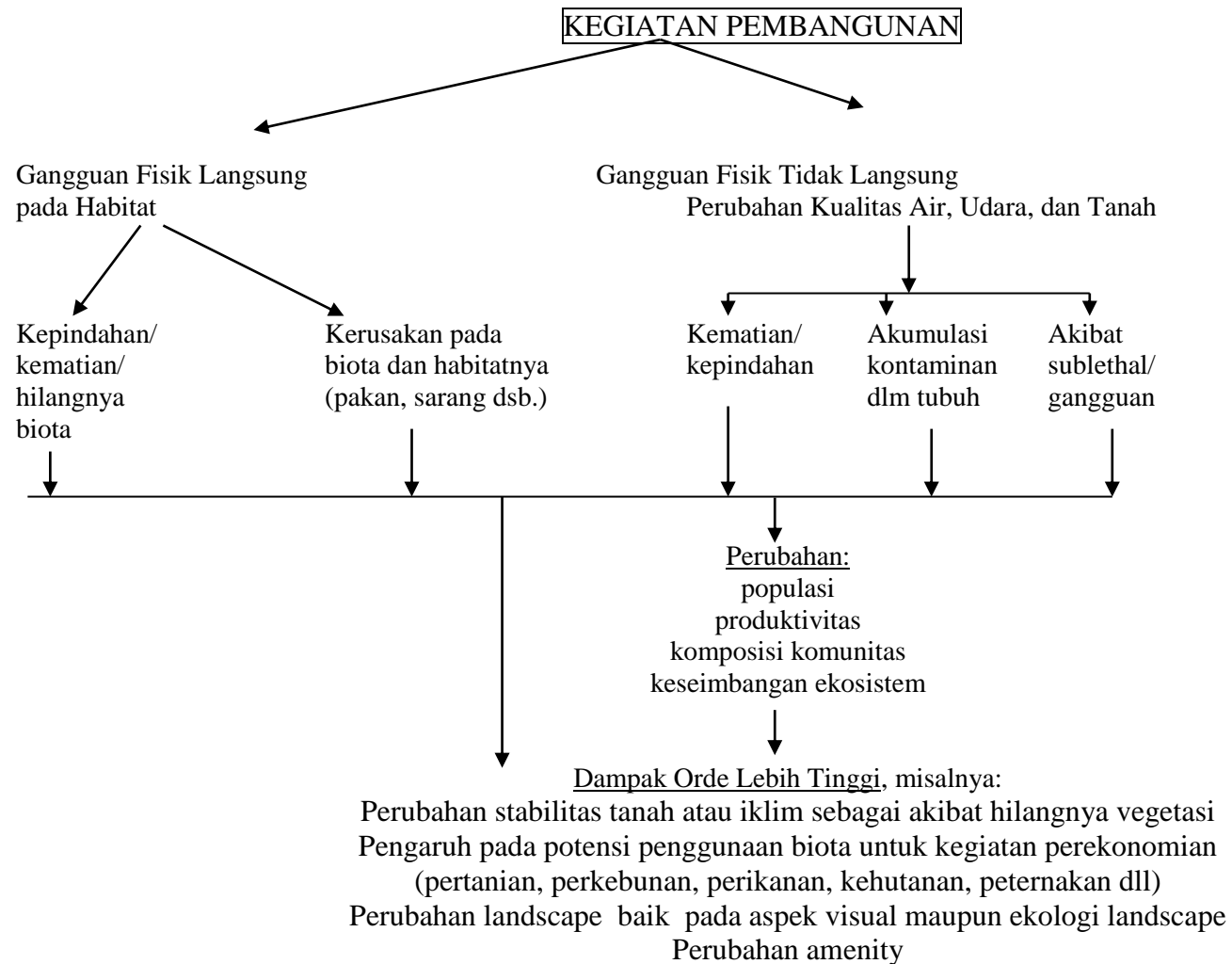
- a. Fekal : berasal dari tinja manusia dan mamalia (misal : *Escherichia coli*)
- b. Nonfekal : berasal dari sumber lain (misal : *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella*)

G. Dampak Pencemaran Air Terhadap Biota Yang Hidup Didalamnya.

Menurut Agus (2009), Tujuan utama pembangunan yang direncanakan adalah untuk meningkatkan kesejahteraan hidup manusia, namun demikian dalam pelaksanaannya kegiatan pembangunan tersebut sering menimbulkan dampak negatif pada komponen lingkungan biotik. Berdasarkan atas dampaknya pada lingkungan kegiatan pembangunan dibagi menjadi dua yaitu pembangunan yang merupakan “point source pollution” dan pembangunan yang merupakan ”non-point source pollution”. Sebagai contoh kegiatan pembangunan eksploitasi migas, panas bumi dan kilang minyak merupakan jenis usaha yang merupakan “point source pollution”, sedangkan kegiatan pembangunan transmisi migas, transmisi listrik dan pengambilan air di bawah tanah merupakan kegiatan “non-point source pollution”. Dampak kegiatan pembangunan pada lingkungan biotik yang dapat terjadi mulai dari tahap konstruksi sampai operasional. Dampaknya dapat bersifat langsung (primer) yaitu gangguan akibat berlangsungnya suatu kegiatan dan bersifat tidak langsung (dampak sekunder, tersier dst.) yang terjadi sebagai akibat dari

perubahan kualitas lingkungan fisik yang selanjutnya berdampak pada komponen biotik.

Secara umum dampak primer pada komponen biotik terutama disebabkan karena aktifitas kegiatan fisik pada tahap konstruksi yang berkaitan dengan kegiatan pembersihan lahan, penempatan suatu lahan, dan pembangunan sarana dan prasarana. Sedangkan dampak sekunder (atau dampak orde lebih tinggi lagi) disebabkan oleh aktifitas fisik pada tahap konstruksi dan operasional yang menyebabkan perubahan kualitas lingkungan tanah, air, dan udara (Agus,2009). Kaitan antara suatu rencana kegiatan pembangunan dan perubahan lingkungan biotik dapat diringkas seperti Gambar 2.2.



Gambar 2.2. Bagan Alir Dampak kegiatan pembangunan fisik pada komponen biotik

Sumber : Agus, 2009

Berdasarkan alur pikir tersebut maka dampak kegiatan pembangunan yang direncanakan pada komponen biotik dapat dikelompokkan sebagai berikut:

1. Dampak Orde Pertama (Dampak Primer):

- a. Hilangnya komunitas biota.

2. Dampak Orde Tinggi (Dampak Sekunder dst):

- a. Gangguan pada organ/bagian tubuh dan atau gangguan pada proses fisiologi biota yang terkena polutan.
- b. Perubahan besarnya populasi, produktivitas dan komposisi pada komunitas biota.
- c. Terjadinya akumulasi zat kontaminan pada jaringan tubuh biota.

3. Dampak Orde Lebih Tinggi, misalnya:

- a. Perubahan stabilitas tanah dan iklim sebagai akibat hilangnya vegetasi.
- b. Perubahan nilai ekonomi sebagai akibat perubahan potensi penggunaan biota.
- c. Perubahan landscape sebagai akibat hilangnya biota.

1) Dampak Primer

Seperti yang terlihat pada *Bagan Alir* diatas gangguan langsung pada komunitas biota dapat disebabkan karena kegiatan fisik pada tahap konstruksi misalnya untuk pembangunan fasilitas eksplorasi migas, pembangunan sarana dan prasarana, dan pembangunan transmisi PLN terutama bila rencana kegiatannya berlokasi di suatu lahan yang penutupan lahannya oleh vegetasi masih baik. Kegiatan pada masa konstruksi seperti penyiapan lahan berupa pembersihan lahan pematangan lahan di suatu lahan secara langsung menyebabkan

hilangnya komunitas flora dan fauna yang hidup pada lahan tersebut.

Parameter dampak yang perlu dikaji dapat berupa:

- a) Besarnya populasi berbagai jenis flora dan fauna serta biota lainnya
- b) Luas area dan arti penting komunitas yang akan hilang untuk kehidupan jenis-jenis hewan yang perlu dikonservasi

Data yang diperoleh tersebut kemudian dinilai terhadap, misalnya:

- a) Kebijakan perlindungan spesies flora/fauna dan ekosistem.
- b) Arti penting dan tingkat kelangkaan jenis biota atau habitatnya pada tingkatan lokal, regional, nasional, dan internasional.

2) Dampak Ordo Tinggi

Dampak orde tinggi (misalnya dampak sekunder, tersier dst.) adalah dampak tidak langsung dari suatu kegiatan. Kegiatan konstruksi yang menyebabkan perubahan kualitas udara, perubahan kualitas air, erosi dan sedimentasi. Perubahan kualitas lingkungan fisik tersebut akhirnya berdampak negatif pada biota. Misalnya erosi dan sedimentasi akan menyebabkan terganggunya proses fotosintesa tumbuhan air dan fito-plankton sehingga akan mengurangi produktivitas primer dan selanjutnya mempengaruhi persediaan pangan untuk biota air konsumen dan pada akhirnya mengurangi produktivitas ekosistem perairan secara keseluruhan. Dampak selanjutnya berupa berkurangnya hasil tangkapan ikan yang bernilai ekonomi yang cukup penting bagi kehidupan masyarakat di sekitarnya (Agus, 2009).

Dampak orde tinggi ini juga dapat terjadi pada tahap operasional. Misalnya kegiatan operasional kilang minyak dapat yang menyebabkan pencemaran udara, pencemaran tanah, dan pencemaran air sehingga merubah kualitas udara, tanah dan air yang pada gilirannya akan berdampak negatif pada kehidupan biota di dalamnya. Dibawah ini diperkenalkan beberapa contoh perjalanan dari zat pencemar sebagai hasil samping dari kegiatan pembangunan dan pengaruhnya pada air (Agus, 2009).

a) Dampak pencemaran minyak pada biota air

Pencemaran minyak adalah lepasnya minyak kedalam lingkungan dapat bersifat kronik atau akut. Kronik yaitu situasi dimana minyak terlepas ke lingkungan pada suatu waktu mungkin tidak terlalu banyak, namun jumlah kumulatif yang terlepas pada suatu periode waktu menjadi cukup berarti pengaruhnya. Akut yaitu situasi dimana pada kejadian pencemaran tertentu jumlah minyak yang terlepas ke lingkungan besar pada periode waktu yang pendek. Pencemaran minyak ini dapat diakibatkan oleh kegiatan pada tahap operasional seperti instalasi refineries, pipa, tanki penyimpanan minyak, bengkel, atau fasilitas transportasi seperti kapal tanker minyak atau tanker darat (Agus, 2009).

Pengaruhnya pada biota air: Minyak dapat berdampak pada biota air dengan penyebar luasan minyak dan mengenai tumbuhan dan hewan air, dan dapat mencegah berlangsungnya fungsi biologi perairan secara normal. Pencemaran minyak secara akut seringkali

menyebabkan kematian yang relatif cepat banyak jenis biota air yang hidup diperairan yang tercemar (Agus, 2009).

Pencemaran minyak secara kronik mungkin mempengaruhi biota air secara lebih selektif, dan mungkin hanya berpengaruh pada sebagian kecil biota air yang ada. Walaupun demikian dalam periode waktu yang panjang mungkin dapat berdampak negatif yang serius untuk ekosistem perairan yang tercemar (Agus, 2009).

b) Dampak pencemaran bahan kimia pada biota air

Pencemaran bahan kimia adalah lepasnya bahan kimia (umumnya berupa cairan) kedalam lingkungan dapat bersifat kronik dan atau akut. Kronik yaitu situasi dimana minyak terlepas ke lingkungan pada suatu waktu mungkin tidak terlalu banyak, namun jumlah kumulatif yang terlepas pada suatu periode waktu menjadi cukup berarti pengaruhnya. Akut yaitu situasi dimana pada kejadian pencemaran tertentu jumlah minyak yang terlepas ke lingkungan besar pada periode waktu yang pendek (Agus, 2009).

Pencemaran bahan kimia pada tahap operasional misalnya kegiatan pemrosesan minyak menggunakan zat-zat kimia berupa *demulsifier*, *corrosion inhibitor* dan *scale inhibitor*. Bahan-bahan kimia tersebut bila tidak dikelola penggunaannya dengan baik dapat mencemari perairan bebas yang pada akhirnya akan terakumulasi bahan jaringan tubuh organisme air (Agus, 2009).

Pengaruhnya pada biota air: Pencemaran bahan kimia berdampak negatif pada biota air karena dapat gagal fungsi biologi

seperti metabolisme, reproduksi, fotointesis, dan pengikatan nutrient (Agus, 2009).

c) Dampak pencemaran oleh sampah domestik dan sampah kegiatan industri pada biota air

Buangan sampah domestik adalah buangan sampah dari permukiman atau kompleks industri. Umumnya buangan sampah domestik ini terdiri dari bahan padat dengan jumlah yang cukup besar. Pada berbagai aktifitas pada tahap operasional di kompleks industri pemrosesan minyak dan gas selalu menghasilkan sampah industri terutama berupa bahan padat yang cukup besar. Sampah padat ini dihasilkan dari sisa bahan konstruksi atau pemeliharaan fasilitas produksi maupun sampah padat dari keperluan sehari-hari para karyawannya (Agus, 2009).

Pengaruhnya pada biota air: Sampah domestik dapat mempengaruhi biota air di lahan basah secara tidak langsung sebagai akibat perubahan fisik air dan tertimbunnya tumbuhan air oleh sampah padat yang terbawa oleh air. Beberapa bentuk sampah padat dapat menambah input nutrisi dan bahan toksik dalam jumlah besar ke dalam lahan basah. Pembuangan sampah padat dari kegiatan industri dalam jumlah besar mungkin dapat menimbun vegetasi alami, menghalangi gerakan air, sehingga mengurangi suplai air untuk suatu lahan basah, menambah muatan sediment pada lahan basah bagian bawah dan menjadi sumber terlepasnya nutrisi dan bahan toksik yang

pada gilirannya dapat mempengaruhi kehidupan air. Sampah domestik juga mengurangi keindahan lingkungan air (Agus, 2009).

d) Dampak pencemaran panas pada biota air

Pencemaran panas adalah pelepasan air yang suhunya lebih rendah atau lebih tinggi dari suhu air badan air tempat pelepasan air. Pencemaran air dingin biasanya terjadi bila air dari lapisan bawah yang dingin dari suatu bendungan dilepaskan. Sedangkan pencemaran air panas umumnya terjadi berkaitan dengan pelepasan air pendingin pada proses industri, misalnya pada industri pengolahan gas (Agus, 2009).

Pengaruhnya pada biota air: Pencemaran panas menyebabkan kondisi suhu yang tumbuhan maupun hewan tidak mampu mentolerir, sehingga menyebabkan kematian langsung atau pelan-pelan. Misalnya hutan mangrove dan biota air yang bergantung padanya menjadi mati. Pencemaran panas juga dapat menciptakan kondisi yang ideal untuk kehidupan suatu hama atau tumbuh suburnya biota air yang tidak dikehendaki manusia (Agus, 2009).

H. Kondisi Kali Kepiting Sutorejo Kota Surabaya.

Sejalan dengan meningkatnya jumlah penduduk yang diikuti dengan peningkatan aktivitas pembangunan untuk meningkatkan pertumbuhan ekonomi pada akhirnya akan memacu peningkatan aktivitas di segala bidang. Kondisi ini berpotensi menyebabkan besarnya volume limbah yang dihasilkan oleh aktivitas tersebut. Bahan pencemar yang berasal baik dari aktivitas

perkotaan (domestik), industri, pertanian dan sebagainya yang terbawa bersama aliran permukaan (*run off*), langsung ataupun tidak langsung akan menyebabkan terjadinya gangguan dan perubahan kualitas fisik, kimia dan biologi pada perairan kali tersebut yang pada akhirnya menimbulkan pencemaran. Pencemaran pada badan air selalu berarti turunnya kualitas air sampai ke tingkat tertentu akan menyebabkan air tidak dapat berfungsi lagi sesuai dengan peruntukannya serta juga berdampak pada hewan-hewan yang hidup di kali tersebut, salah satunya ikan Betok, yang cukup sering ditangkap oleh warga sekitar Kali Kepiting Sutorejo Kota Surabaya.

Secara objektif, kondisi Kali Kepiting Sutorejo Kota Surabaya termasuk kali yang sudah tercemar, hal ini terlihat pada tingkat kekeruhan airnya yang sangat keruh. Kali tersebut juga dijadikan sebagai tempat pembuangan limbah domestik, seperti sampah rumah tangga, pembuangan air dari kamar mandi serta dijadikan kakus. Sampahpun banyak berserakan, baik itu sampah yang terdapat di pinggir-pinggir kali maupun sampah yang terdapat di kalinya itu sendiri. Jika hujan lebat turun dengan waktu yang cukup lama, akan mengakibatkan lingkungan sekitar kali tersebut terendam banjir. Selain itu, kali tersebut memiliki aroma yang tidak enak.

I. Parameter Pengujian Mutu Ikan Segar

Untuk menentukan mutu ikan diperlukan pengujian. Beberapa cara pengujian mutu dari ikan segar antara lain pengujian mikrobiologis yaitu uji Angka Lempeng Total (ALT) dan uji *Most Probable Number* (MPN).

1. Uji Angka Lempeng Total (ALT)

Menurut Leksono dan Amin (2001) dalam Panai (2014), menyatakan bahwa pada awal penyimpanan total bakteri yang terdapat pada ikan relatif tidak berbeda. Jumlah bakteri semakin meningkat seiring dengan lamanya penyimpanan. Hal ini dikarenakan lingkungan yang optimal untuk pertumbuhan bakteri yang menyebabkan bakteri dapat tumbuh secara maksimal.

Penentuan angka lempeng total (ALT) merupakan uji yang bersifat bakterial. Semakin busuk ikan, akan semakin besar pula jumlah bakterinya. Proses kemunduran mutu secara mikrobiologis diawali dengan terurainya glikogen dan terbentuknya asam laktat yang diikuti oleh penurunan derajat keasaman (pH). Daging ikan yang segar pada umumnya tidak mengandung bakteri (Jaya *dkk*, 2006 dalam Panai, 2014).

Berdasarkan SNI 01-2332-3-2006, bahwa penentuan angka lempeng total dimaksudkan untuk menunjukkan jumlah mikroorganisme dalam suatu produk, yang pada prinsipnya jika sel mikroba yang masih hidup ditumbuhkan pada medium agar, maka sel mikroba tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dengan mata. Penentuan angka lempeng total dapat dilakukan dengan dua cara. Pertama, metode cawan agar tuang (*pour plate*) yaitu dengan menanamkan contoh ke dalam cawan petri terlebih dahulu kemudian ditambahkan media agar. Kedua, metode cawan agar sebar (*spread plate*) yaitu dengan menuangkan terlebih dahulu media agar ke dalam cawan petri

kemudian contoh diratakan pada permukaan agar dengan menggunakan batang gelas bengkok (BSN, 2006).

Teknik perhitungan jumlah koloni berdasarkan SNI 01-2332-3-2006 adalah sebagai berikut ;

- a. Pada penghitungan cawan, jumlah koloni yang dapat dihitung berkisar 25-250 koloni. Kisaran jumlah ini dianggap cukup untuk menghindari kesalahan hitung akibat terlalu banyak koloni dalam cawan sehingga penghitungan dapat dilakukan dengan akurat. Jumlah koloni yang dihitung dan pengenceran yang digunakan harus dicatat untuk mempermudah pengecekan. Jumlah hitungan bakteri dari contoh yang diuji akan memperoleh hasilnya dengan mengalikan faktor pengenceran seperti berikut.

$$\text{Jumlah Koloni} = \text{Jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{Faktor Pengenceran}}$$

- b. Hasil yang dilaporkan hanya terdiri dari dua angka yaitu angka pertama (satuan) dan angka kedua (desimal). Jika angka kedua adalah angka genap dan angka ketiga sama dengan lima, maka angka tersebut dapat dibulatkan menjadi 0. Misalnya 1650 menjadi 1600 dan dilaporkan menjadi $1,6 \times 10^3$ koloni/gram.
- c. Angka dibulatkan menjadi dua angka yang sesuai, bila angka ketiga enam atau di atasnya, maka angka ketiga menjadi 0 dan angka kedua naik satu angka, misalnya 456 menjadi 460.
- d. Bila angka ketiga genap atau di bawahnya, maka angka ketiga menjadi 0 dan angka kedua tetap, misalnya 454 menjadi 450. Bila angka kedua

ganjil dan angka ketiganya sama dengan lima, maka angka tersebut dapat dibulatkan menjadi 0 dan angka kedua naik satu angka, misalnya 455 menjadi 460.

2. Uji *Most Probable Number* (MPN)

Metode ini merupakan metode pemeriksaan yang dilakukan untuk menghitung jumlah mikroba di dalam objek teliti berbentuk cair ataupun padat dengan terlebih dahulu membuat suspensi 1:10 dari objek teliti tersebut. Untuk pemeriksaan bakteri *Escherichia coli* dapat dilakukan melalui dua tahap yaitu uji penduga Coliform dan uji penegasan adanya *Escherichia coli* (Fardiaz, 1993 dalam Raza, 2012).

a. Uji Penduga Coliform

Untuk mengerjakan satu objek teliti menurut Fardiaz (1993) dalam Raza (2012), terlebih dahulu dibuat suspensi 1:10 yaitu objek teliti ditimbang 10 gram dan selanjutnya digerus dan ditambahkan 90 ml NaCl fisiologis. Setelah dilakukan pengenceran 10^{-1} , langkah selanjutnya dalam membuat pengenceran 10^{-2} dengan mengambil 1 ml dari pengenceran 10^{-1} lalu dimasukkan pada 9 ml NaCl fisiologis. Dari pengenceran 10^{-2} dibuat pengenceran 10^{-3} dengan mengambil 1 ml dari pengenceran 10^{-2} dan dimasukkan ke dalam 9 ml NaCl fisiologis.

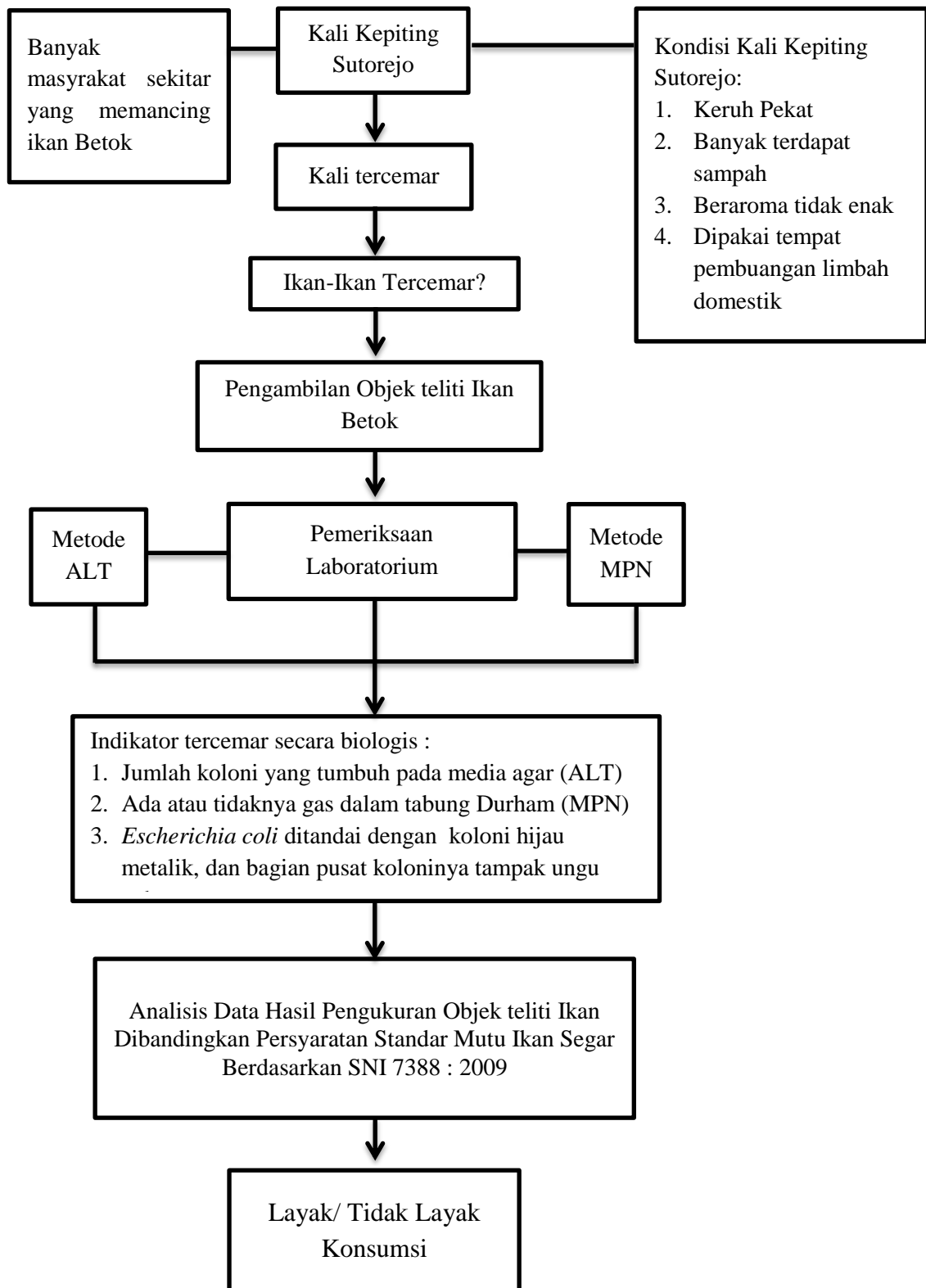
Langkah selanjutnya dilakukan uji pembiakan *Coliform* dengan menggunakan seri sembilan tabung. Setiap tabung reaksi dimasukkan 10 ml BGLB cair dan setiap tabung dimasukkan tabung Durham dengan posisi terbalik. Selanjutnya masukkan 1 ml objek teliti ke dalam 3 tabung

pertama dari pengenceran 10^{-1} , 1 ml objek teliti ke dalam 3 tabung kedua dari pengenceran 10^{-2} dan 1 ml ke dalam tiga tabung ketiga dari pengenceran 10^{-3} . Setelah itu, diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C dan diamati tertangkap atau tidaknya gas dalam tabung Durham. Jika terdapat gas atau keruh, maka diduga terdapat *Coliform* pada tabung.

b. Uji Penegasan *Escherichia coli*

Dari hasil uji penduga *Coliform* yang diperkirakan positif, ditanam ke media EMBA dengan menggunakan jarum ose dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif yang menandakan koloni *Escherichia coli* ditandai dengan diameter koloni 2-3 mm, koloni hijau metalik, dan bagian pusat koloninya tampak ungu gelap. Untuk menegaskan adanya pertumbuhan *Escherichia coli* pada tabung MPN seri sembilan tabung, maka hasil positif pada media EMBA dicocokkan dengan hasil positif pada tabung Durham. Jumlah tabung positif *Escherichia coli*, selanjutnya dicocokkan dengan tabel nilai MPN untuk mendapatkan nilai MPN (Fardiaz, 1993 dalam Raza, 2012).

J. Kerangka Berpikir



Gambar 2.3. Bagan Alir Kerangka Berpikir