

FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA

**BERITA ACARA BIMBINGAN SKRIPSI**

1. NAMA MAHASISWA : Wahid Hasyim
2. NIM : 20131113032
3. PROGRAM STUDI : Pendidikan Biologi
4. JUDUL SKRIPSI : Analisis Urea Betok (*Atabas testudineus* Blonch) Di  
Kali Kepiting Sutorejo Kota Surabaya Berdasarkan Total Bakteri dan Coliform  
Sebagai Implementasi Bahan Ajar Pada Mata kuliah Mikrobiologi.
5. TANGGAL PENGAJUAN SKRIPSI : 21 Desember 2014

TANGGAL	MATERI BIMBINGAN	PARAF	
		PEMBIMBING.I	PEMBIMBING.II
Desember 2014	Pengajuan Judul		
Desember 2014	Bab I		
Desember 2014	Revisi Bab I		
Januari 2015	Bab III		
Januari 2015	Revisi Bab III		
Februari 2015	Revisi Bab I dan III		
April 2015	Bab II		
Mei 2015	Revisi Bab II		
Mei 2015	Bab IV		
Mei 2015	Revisi Bab IV		
Juni 2015	Revisi Bab I, II, III, IV		
Juni 2015	Bab V, Abstrak		
Juni 2015	Revisi Bab I, II, III, IV, V, Abstrak		

6. TANGGAL SELESAI MENULIS SKRIPSI : 10 Juni 2015
7. TANGGAL RENCANA UJIAN SKRIPSI : 26 Juni 2015

**KETERANGAN :**

Mahasiswa tersebut diatas telah menyelesaikan bimbingan penulisan skripsi dan sudah dapat diajukan dalam siding ujian skripsi.

Dosen Pembimbing. I

Dra. Perri Suharti, M.Kes

Surabaya, ..... 10 Juni 2015 .....

Dosen Pembimbing. II

Drs. Abdul Ghoni, M.Kes



## UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN

Program Studi : Pendidikan Bahasa Inggris - Pendidikan Bahasa Indonesia  
Pendidikan Matematika - Pendidikan Biologi

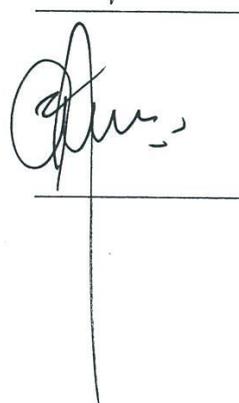
Jln. Sutorejo No. 59 Surabaya 60113 Telp. (031) 3811966 Fax. (031) 3813096

### PERSETUJUAN REVISI

Setelah kami teliti hasil perbaikan revisi skripsi :

Nama : Wahid Hasyim  
 NIM : 20131113032  
 Program Studi : Pendidikan Biologi  
 Judul Skripsi : Analisis Ikan Betok (*Anabas testudineus* Bloch) Di Kali  
 Kepiting Sutorejo Kota Surabaya Berdasarkan Total Bakteri  
 dan Coliform Sebagai Implementasi Bahan Ajar Pada  
 Mata Kuliah Mikrobiologi

Kami penguji menyetujui perbaikan revisi skripsi tersebut.

Nama Penguji	Tanda Tangan	Tanggal
1. <u>Dra. Abdul Ghoni, M.Kes</u>		<u>2/7 2015</u>
2. <u>Dra. Yuni Gayatri, M.Pd</u>		<u>2 Juli 2015</u>
3. <u>Dra. Anjisman, M.Pd</u>		<u>5 - Juli - 2015</u>



**KEMENTERIAN KESEHATAN RI**  
**DIREKTORAT JENDERAL BINA UPAYA KESEHATAN**  
**BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA**

Jalan Karangmenjangan No, 18 Surabaya - 60286  
 Telepon Pelayanan : (031) 5020306, TU : (031) 5021451 Faksimili : (031) 5020388  
 Website : bblksurabaya.com : Surat elektronik : bblksub@yahoo.co.id

Nomor : DM 03.02/III/1028.1/2015

9 Maret 2015

Hal : Persetujuan Penelitian

Yang terhormat,  
 Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan  
 Universitas Muhammadiyah Surabaya  
 Jl. Sutorejo No. 59  
 Surabaya

Sehubungan dengan surat Saudara nomor 578/KET/II.3-FKIP/F/III/2015 tanggal 5 Maret 2015, perihal permohonan ijin penelitian skripsi, pada prinsipnya kami tidak keberatan memberikan ijin kepada :

Nama : Wahid Hasyim  
 NIM : 2013 111 3032  
 Program studi : Pendidikan Biologi (S1)  
 Judul penelitian : Analisis Ikan Betok (*Arabas Testudineus Bloch*) Di Aliran Air Sungai Sutorejo Di Surabaya Berdasarkan Total Bakteri Dan Coliform

Untuk keterangan lebih lanjut, mohon menghubungi **dr. Adi Pramono,H,SpPK** selaku Kasi Diklat dan Litbang / **Wargianti,SSi** selaku Kepala Instalasi Diklat Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya.

Demikian yang dapat kami sampaikan, atas perhatian Saudara diucapkan terima kasih.

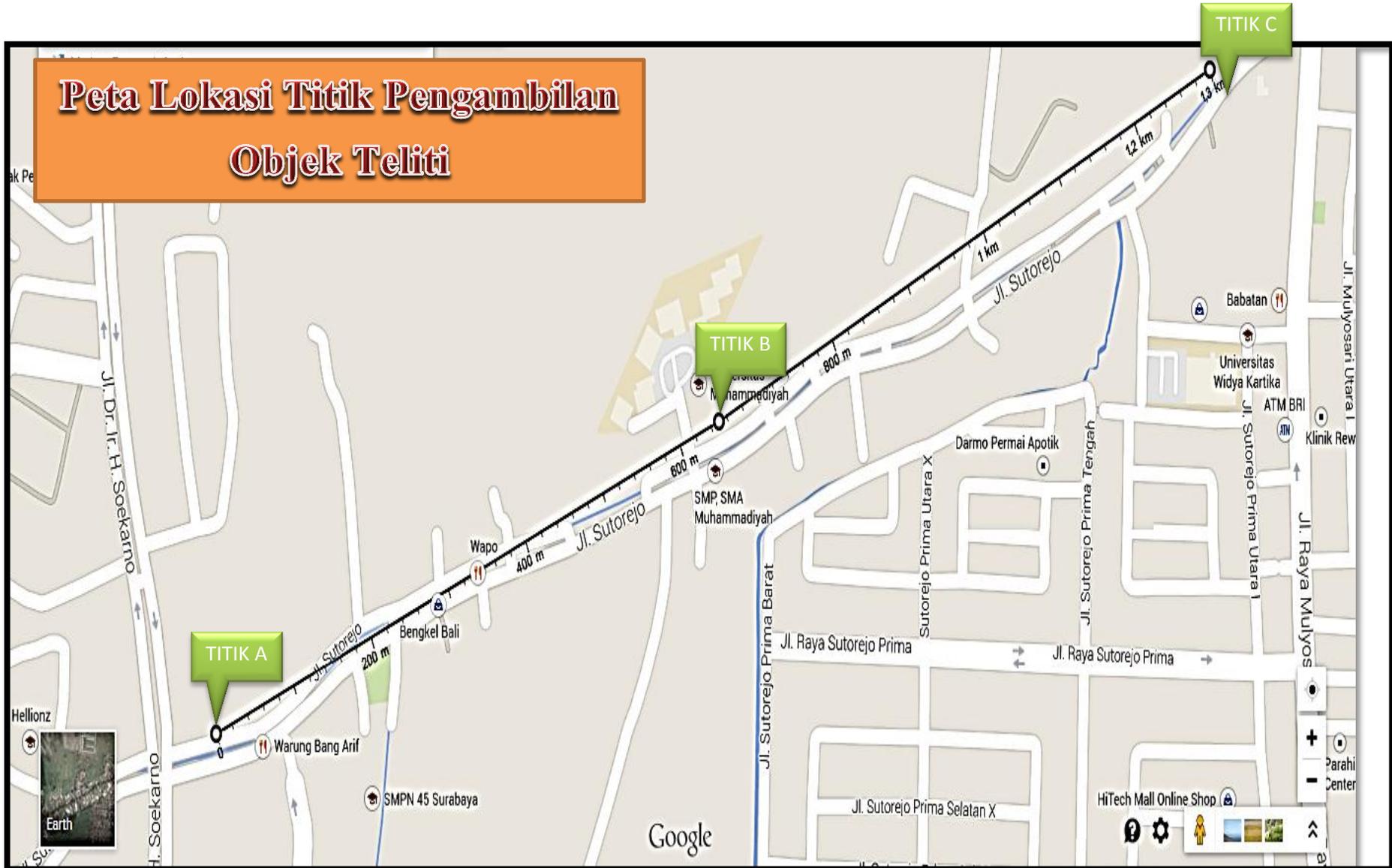
  
 dr Endriana Soeryat, SpPK  
 NIP. 6608191987032002



Cert No. 01 100 106413



## Peta Lokasi Titik Pengambilan Objek Teliti





**KEMENTERIAN KESEHATAN RI**  
**DIREKTORAT JENDERAL BINA UPAYA KESEHATAN**  
**BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA**

Jalan Karangmenjangan No, 18 Surabaya - 60286  
 Telepon Pelayanan : (031) 5020306, TU : (031) 5021451 Faksimili : (031) 5020388  
 Website : bblksurabaya.com : Surat elektronik : bblksub@yahoo.co.id

**HASIL PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI**

Nomor Lab. : L15004101 / 578 – 580 M / Bakt. Snt / III / 2015  
 Dikirim oleh : **WAHID HASYIM**  
 Alamat : **Jl. Gebang Lor No. 37 Sukolilo , Surabaya**  
 Jenis contoh : 3 (tiga) contoh **IKAN SEGAR**  
 Contoh diambil oleh : Pengirim sendiri  
 Contoh diterima di Lab : 30 Maret 2015  
 Contoh dikerjakan tanggal : 30 Maret 2015 – 06 April 2015

NO	JENIS CONTOH	JENIS PEMERIKSAAN	SATUAN	HASIL PEMERIKSAAN	METODE
1.	IKAN SEGAR (A)	-Total Plate Count (TPC) - APM <i>Coliform</i>	Juml.kol/g Juml/g	12.10 <sup>7</sup> > 1.100	Pour Plate Tabung Ganda
2.	IKAN SEGAR (B)	-Total Plate Count (TPC) - APM <i>Coliform</i>	Juml.kol/g Juml/g	9.10 <sup>7</sup> > 1.100	Pour Plate Tabung Ganda
3.	IKAN SEGAR (C)	-Total Plate Count (TPC) - APM <i>Coliform</i>	Juml.kol/g Juml/g	70.10 <sup>7</sup> > 1.100	Pour Plate Tabung Ganda

06 April 2015

Kepala Instalasi Bakteriologi Sanitasi,



Sorta Pardede, A MdK

NIP 196605051989022001

**Perhatian**

- Hasil pemeriksaan hanya untuk contoh diatas
- Hasil pemeriksaan ini tidak dapat dipergunakan sebagai iklan / reklame
- Dilarang menggandakan dokumen ini tanpa seijin pihak BBLK Surabaya



**PEMERINTAH KOTA SURABAYA**  
**DINAS KESEHATAN**  
**LABORATORIUM KESEHATAN**  
 JL.PUCANG JAJAR 31 TELP. 031-5024180 , 5057047  
**SURABAYA**

**HASIL PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI**

Jenis contoh : 9 Sampel Makanan  
 Dikirim oleh : Wahid Hasyim  
 Diambil dari : Jl. Gebang Kidul 37 Surabaya.

Jenis Pemeriksaan : Bakteriologi  
 Diterima Tanggal : 21 April 2015

No	Makanan/Minuman	Kode Lab	Hasil Pemeriksaan	Standart	Pertimbangan
1	Daging Ikan Betik Segar				
	1. A1	1/Mak/IV/2015	E. Coli : Negatif	Negatif	Baik
	2. A2	2/Mak/IV/2015	E. Coli : Negatif	Negatif	Baik
	3. A3	3/Mak/IV/2015	E. Coli : Negatif	Negatif	Baik
	4. B1	4/Mak/IV/2015	E. Coli : Negatif	Negatif	Baik
	5. B2	5/Mak/IV/2015	E. Coli : Negatif	Negatif	Baik
	6. B3	6/Mak/IV/2015	E. Coli : Negatif	Negatif	Baik
	7. C1	7/Mak/IV/2015	E. Coli : Negatif	Negatif	Baik
	8. C2	8/Mak/IV/2015	E. Coli : Negatif	Negatif	Baik
	9. C3	9/Mak/IV/2015	E. Coli : Negatif	Negatif	Baik

Perhatian : Hasil pemeriksaan hanya untuk contoh diatas

Surabaya , 28 April 2015

Mengetahui  
 Kepala Laboratorium Kesehatan



**Siti Azzahra, S.Si.MM.**  
 NIP.196110211986032008

Pemeriksa



**Ali Yahya, Amd.AK.**  
 NIP.196506181994031010



**P E M E R I N T A H K O T A S U R A B A Y A**  
**D I N A S K E S E H A T A N**  
**L A B O R A T O R I U M K E S E H A T A N**  
 J L . P U C A N G J A J A R 3 1 T E L P . 0 3 1 - 5 0 2 4 1 8 0 , 5 0 5 7 0 4 7  
**S U R A B A Y A**

**HASIL PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI**

Jenis contoh : 6 Sampel Air  
 Dikirim oleh : Wahid Hasyim  
 Diambil dari : Jl. Gebang Kidul 37 Surabaya.

Jenis Pemeriksaan : Bakteriologi  
 Diterima Tanggal : 19 Mei 2015

No	Makanan/Minuman	Kode Lab	Hasil Pemeriksaan	Standart	Pertimbangan
A	Tepi Sungai				
1.	A1	1/Min/V/2015	E. Coli : <b>Positif</b>	Negatif	Tidak Baik
2.	A2	2/Min/V/2015	E. Coli : <b>Positif</b>	Negatif	Tidak Baik
3.	A3	3/Min/V/2015	E. Coli : <b>Positif</b>	Negatif	Tidak Baik
B	Tengah Sungai				
4.	B1	4/Min/V/2015	E. Coli : <b>Positif</b>	Negatif	Tidak Baik
5.	B2	5/Min/V/2015	E. Coli : <b>Positif</b>	Negatif	Tidak Baik
6.	B3	6/Min/V/2015	E. Coli : <b>Positif</b>	Negatif	Tidak Baik

Perhatian : Hasil pemeriksaan hanya untuk contoh diatas

Surabaya , 26 Mei 2015

Mengetahui  
 Kepala Laboratorium Kesehatan



Sri Astutik, S.Si.MM.  
 NIP.196110211986032008

Pemeriksa

Ali Yahya, Amd.AK.  
 NIP.196506181994031010



**PEMERINTAH KOTA SURABAYA**  
**DINAS KESEHATAN**  
**LABORATORIUM KESEHATAN**  
 JL.PUCANG JAJAR 31 TELP. 031-5024180 , 5057047  
**SURABAYA**

**LAPORAN HASIL PENGUJIAN**

JENIS CONTOH AIR : AIR BERSIH  
 LOKASI CONTOH : Jl. Gebang Kidul 37 Surabaya.  
 DITERIMA TANGGAL : 19 Mei 2015  
 PETUGAS / PEMILIK : Wahid Hasyim  
 NO. LAB / JAM : 7/AB/N/2015 / 12.00 WIB  
 NAMA CONTOH : Air Tepi Sungai

PARAMETER	SATUAN	METODE	BATAS MAKSIMUM	HASIL
			AB - NP	UJI
Total Coliform ( Total Bakteri coliform )	MPN /100 ml	Multiple Tube APHA 9221.B.Ed.21.2012	50 / 100 ml Sampel	>2400

\* ) AB : PER MEN KES RI NO.416 / MENKES / PER / IX / 1990

Keterangan :

AB : Air Bersih  
 MPN : Most Probable Number  
 P : Perpipaan  
 NP : Non Perpipaan

**Kesimpulan : Tidak Memenuhi Batas Syarat air Bersih**

Surabaya , 26 Mei 2015

Mengetahui  
Kepala Laboratorium Kesehatan



Sri Astutik, S.Si.MM.  
NIP.196110211986032008

Pemeriksa



Ali Yahya, Amd.AK.  
NIP.196506181994031010

Perhatian : Hasil Pengujian hanya berlaku untuk contoh di atas

Catatan : Air Bersih



**P E M E R I N T A H   K O T A   S U R A B A Y A**  
**D I N A S   K E S E H A T A N**  
**L A B O R A T O R I U M   K E S E H A T A N**  
 J L . P U C A N G   J A J A R   3 1   T E L P .   0 3 1 - 5 0 2 4 1 8 0 ,   5 0 5 7 0 4 7  
**S U R A B A Y A**

**LAPORAN HASIL PENGUJIAN**

JENIS CONTOH AIR : AIR BERSIH  
 LOKASI CONTOH : Jl. Gebang Kidul 37 Surabaya.  
 DITERIMA TANGGAL : 19 Mei 2015  
 PETUGAS / PEMILIK : Wahid Hasyim  
 NO. LAB / JAM : 8/ABV/2015 / 12.00 WIB  
 NAMA CONTOH : Air Tengah Sungai

PARAMETER	SATUAN	METODE	BATAS MAKSIMUM	HASIL UJI
			AB - NP	
Total Coliform ( Total Bakteri coliform )	MPN /100 ml	Multiple Tube APHA 9221.B.Ed.21.2012	50 / 100 ml Sampel	>2400

\* ) AB : PER MEN KES RI NO.416 / MENKES / PER / IX / 1990

Keterangan :

AB : Air Bersih  
 MPN : Most Probable Number  
 P : Perpipaan  
 NP : Non Perpipaan

**Kesimpulan : Tidak Memenuhi Batas Syarat air Bersih**

Surabaya , 26 Mei 2015

Mengetahui  
 Kepala Laboratorium Kesehatan



Sri Astutik, S.Si.MM.  
 NIP.196110211986032008

Pemeriksa



Ali Yahya, Amd.AK.  
 NIP.196506181994031010

Perhatian : Hasil Pengujian hanya berlaku untuk  
 contoh di atas

Catatan : Air Bersih

## Lampiran 10. Foto – Foto Penelitian

Lampiran : Foto alat dan bahan penelitian



1. Lumpang Alu



2. Timbangan Digital dan Cawan Petri



3. Aquadest dan gelas ukur



4. Inkubator



5. Tabung reaksi, kapas, BHI



6. Media EMB



7. Lampu Bunsen



8. Ikan Betok

Lampiran : Foto kegiatan di laboratorium



1. Memotong ikan



2. Menghaluskan daging ikan



3. Menimbang daging ikan



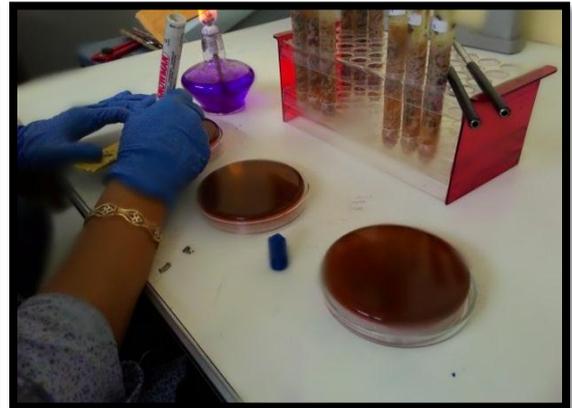
4. Memasukkan BHI ke tabung reaksi



5. Memasukkan media biakan yang sudah ditanam ke inkubator



6. Memblender daging



7. Menyiapkan penanaman bakteri



8. Fiksasi



9. Penanaman Bakteri ke EMB

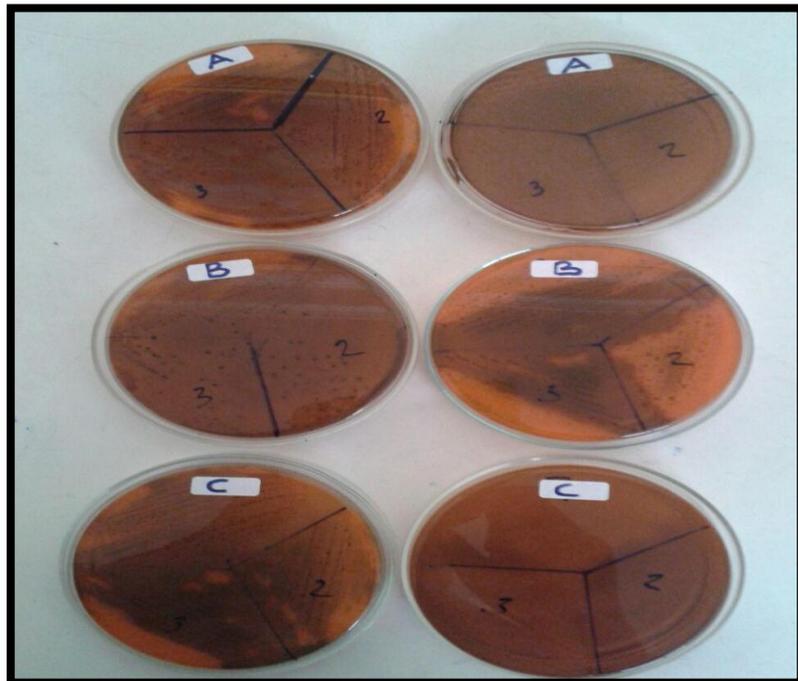


10. Memblender ikan

Lampiran : hasil uji *E.coli*



1. Salah satu Hasil Uji MPN *E.coli*



2. Seluruh Hasil Uji MPN *E.coli*

Lampiran : kondisi Kali Kepiting Sutorejo Kota Surabaya



1. (A) titik 0 meter (lampu merah mulyorejo)



2. (B) 650 meter berikutnya (depan kampus UM Surabaya)



3. (C) 1300 meter berikutnya (depan pasar kalisari)

# Lembar Kerja Mahasiswa (LKM) Mata Kuliah Mikrobiologi

Analisis Ikan Betok Di Kali Kepiting Sutorejo Kota Surabaya Berdasarkan  
Total Bakteri dan Coliform



Pendidikan Biologi

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH

SURABAYA

## A. Pendahuluan

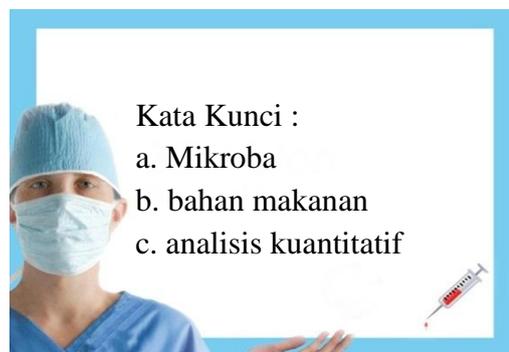
Berbagai mikroba patogen seringkali ditularkan melalui air yang tercemar sehingga menimbulkan penyakit bawaan manusia maupun hewan. Bahan makanan terdiri dari protein, karbohidrat, lemak, vitamin dan mineral. Bahan makanan merupakan medium pertumbuhan yang baik bagi berbagai macam mikroorganisme.

Mikroorganisme dapat membusukkan protein, memfermentasikan karbohidrat dan menjadikan lemak dan minyak berbau tengik. Meskipun banyak mikroorganisme tidak berbahaya bagi manusia, beberapa mikroorganisme pencemar dapat mengakibatkan kerusakan, dan yang lain menimbulkan penyakit atau menghasilkan racun yang menyebabkan peracunan makanan.

Oleh karena itu untuk mengetahui bahwa bahan baku dan bahan tambahan tidak mengalami perubahan sifat serta bebas dari kontaminasi mikroba, maka diperlukan uji mikrobiologis, yang meliputi pengujian Angka Lempeng Total bakteri dan uji cemaran bakteri/ kapang.

Analisis kuantitatif mikrobiologi pada bahan pangan penting dilakukan untuk mengetahui mutu bahan pangan dan menghitung proses pengawetan yang akan diterapkan pada bahan pangan tersebut. Ada beberapa cara yang dapat digunakan untuk menghitung atau mengukur jumlah jasad renik dalam suatu suspensi, salah satunya adalah pemeriksaan adanya bakteri *Coliform* pada makanan dan minuman dengan metode MPN (*Most Probable Number*).

Masih banyak masyarakat yang memanfaatkan ikan Betok yang hidup di Kali Kepiting Sutorejo untuk dikonsumsi. Tidak hanya itu, kondisi Kali Kepiting Sutorejo pada tingkat kekeruhan airnya terlihat 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. Selain itu, kali tersebut memiliki aroma yang tidak enak.



Kata Kunci :

- a. Mikroba
- b. bahan makanan
- c. analisis kuantitatif

## B. Panduan Praktikum

1. **Judul Praktikum** : Analisis Ikan Betok (*Anabas testudineus* Bloch)  
Di Kali Kepiting Setorejo berdasarkan total bakteri dan *coliform*
2. **Waktu** : Selama Perkuliahan Mikrobiologi
3. **Petunjuk Praktikum** :
  - a) Praktikum ini dilakukan saat perkuliahan mata kuliah mikrobiologi
  - b) Termasuk kegiatan pembelajaran berproyek bagi mahasiswa
  - c) Mahasiswa didampingi oleh peneliti serta dosen mata kuliah dalam melakukan praktikum ini.
4. **Alat dan Bahan** :
  - A. Uji ALT
    - a. Alat
      - Erlenmeyer
      - Petridish – Inkubator
      - Pipet Ukur 10 mL – Alat Penghitung Koloni (Colony Counter)
      - Tabung Reaksi – Alat Penghomogen (Vortex)
      - Rak Tabung Reaksi – Tissue
      - Bunsen
    - b. Bahan
      - Aquades
      - Potatoes Dextrose Agar ( PDA )
      - Sampel Daging Ikan Betok
      - Alkohol 70 %

**B. Uji MPN**

## a. Alat

- Tabung reaksi
- Tabung durham
- Neraca
- Autoklaf
- Pipet mohr 10 mL
- Erlenmeyer
- Labu takar
- Inkubator (37,5 C)
- Botol contoh
- Kapas
- Pembakar spirtus
- Cawan petri

## b. Bahan

- Sampel air yang telah diklorinasi
- Lactose Broth
- Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLBB)
- Aquades
- DPD Free Chlorin
- EMB Agar (Eosin Metylen Blue)

**5. Langkah-Langkah Praktikum :****A. Persiapan uji ALT dan MPN**

## 1) Pengambilan objek teliti ikan betok.

Objek teliti ikan betok diambil dari Kali Kepiting Sutorejo Surabaya dengan masing-masing titik lokasi sampling 5 ekor dengan total 15 ekor ikan.

## 2) Mensterilasi alat yang digunakan yaitu blender dan cawan petri dengan menyemprotkan alkohol 70%.

3) Memblender ikan betok hingga halus 2-3 menit, masing-masing 10 ekor dengan mengambil dagingnya hingga 20 gr dan ditambahkan aquadest 200 ml sehingga diperoleh pengenceran (Homogenant)  $10^{-1}$ .**B. Uji ALT (Angka Lempeng Total)**

## 1) Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.

## 2) Menyemprot meja kerja dan tangan praktikan dengan alcohol 70%

- 3) Membungkus cawan petri, tabung reaksi, pipet ukur dengan kertas buram, (tabung reaksi masing – masing diisi 9 mL *Buffered Peptone Water* (BPW) dan lubang tabung reaksi ditutup dengan kapas).
- 4) Membuat media Potatoes Dextrose Agar ( PDA ).
- 5) Mensterilisasi semua alat yang telah dibungkus kertas buram pada autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C.
- 6) Mendinginkan alat dan bahan yang telah disterilisasi.
- 7) Melakukan pengestrakan, sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL Aquades yang telah steril ( $10^{-1}$ ) dilakukan secara aseptis, mengocok 25 kali dengan vortex.
- 8) Melakukan pengenceran berikutnya yaitu memipet 1 mL dari tabung reaksi  $10^{-1}$  dimasukkan ke tabung reaksi dan diencerkan, pengenceran  $10^{-2}$ , memvortex dan memipet 1 mL lagi di masukan ke cawan petri dilakukan secara aseptis.
- 9) Melakukan pengenceran berikutnya hingga pengenceran  $10^{-3}$
- 10) Cawan petri yang telah terisi digoyang-goyangkan.
- 11) Menuangkan media ke masing-masing cawan, tunggu hingga media padat lalu balikkan posisi cawan.
- 12) Memasukkan cawan petri ke dalam incubator dengan posisi terbalik pada suhu  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  selama 24-48 jam.
- 13) Mencatat pertumbuhan koloni pada masing-masing cawan yang mengandung 25-250 koloni dan melihat bentuknya dengan *colony counter*.

Jika cawan yang mengandung jumlah 25 koloni – 250 koloni dan bebas *spreader*, maka catat pengenceran yang digunakan dan hitung jumlah total koloni. Perhitungan Angka Lempeng Total sebagai berikut :

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times (d)}$$

Keterangan :

N = jumlah koloni produk, dinyatakan dalam koloni per ml atau koloni per gr;

$\sum C$  = jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung;

- $n_1$  = jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung;  
 $n_2$  = jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung;  
 $d$  = pengenceran pertama yang dihitung.

### C. Uji MPN

- Pembuatan Media

#### a) Pembuatan Media Total coliform

1. Ditimbang 1,3 gram Lactose Broth dimasukkan dalam wadah gelas piala dilarutkan dengan 100 mL aquades. Dipipet masing-masing 10 mL ke dalam 10 tabung reaksi.
2. Ditimbang 0.65 gram media Lactose Broth dimasukkan ke dalam wadah gelas piala dilarutkan dengan 25 mL aquades. Dipipet masing-masing 5 mL ke dalam 5 tabung reaksi.
3. Ditimbang 6 gram media BGLBB (Brilliant Green Lactose Bile Broth) dimasukkan dalam gelas piala yang dilarutkan dengan 150 mL aquades. Dipipet masing-masing 10 mL ke dalam 15 tabung reaksi.
4. Dimasukkan 1 tabung Durham secara terbalik ke dalam tiap tabung.
5. Ditutup mulut tabung reaksi dengan disumbat kapas, dan sumbat tersebut harus sedemikian kuat sehingga dapat dicabut dari tabungnya dengan menggunakan kelingking.
6. Dimasukkan tabung-tabung tersebut ke dalam beaker glass, ditutup bagian atasnya dengan kertas kemudian diikat erat-erat dengan karet.
7. Media siap untuk disterilisasi.

#### b) Pembuatan Media *E. coli*

1. Ditimbang 3,75 gram media agar EMB (Eosin Metylen Blue) dimasukkan dalam wadah Erlenmeyer dilarutkan dengan 100 mL aquades.
2. Ditutup mulut Erlenmeyer dengan disumbat kapas, dan sumbat tersebut harus sedemikian kuat sehingga dapat dicabut dari tabungnya dengan menggunakan kelingking.
3. Ditutup bagian atas erlenmeyer dengan kertas kemudian diikat erat-erat dengan karet.

4. Media siap untuk disterilisasi.

- Srelisasi

a) **Sterisasi Alat**

1. Alat-alat yang akan disterisasi dibersihkan dan dikeringkan
2. Lalu dibungkus dengan kertas (untuk pipet dan piringan petri)
3. Dimasukan dalam autoklaf dan diatur suhunya sampai mencapai 121°C selama 20 menit

b) **Sterelisasi Media**

1. Media yang akan disterelisasi dimasukan kedalam autoklaf
2. Suhu diatur hingga 121°Cselam 60 menit
3. Autoklaf dimatikan dan dibiarkan manometer sampai menunjukkan angka nol, autoklaf dibuka dan dibiarkan hingga dingin.

- Pemeriksaan Total coliform dan E. coli

Berikut ini adalah cara kerja pemeriksaan Total coliform dan E. coli. Untuk Total coliform dengan beberapa tahap pengujian yaitu : uji pedugaan dan uji penegasan.

a) **Uji Pendugaan**

1. Pengerjaan contoh dilakukan secara aseptik, dengan cara didekatkan dengan api.
2. Dipipet contoh masing-masing 10 mL ke dalam tabung medium.
3. Dipipet contoh masing-masing 1 mL ke dalam tabung medium.
4. Dipipet contoh masing-masing 0,1 mL ke dalam tabung medium.
5. Tabung digoyang-goyangkan sehingga contoh tercampur dengan medium secara merata.
6. Diinkubasi semua tabung pada suhu 35°C selama 24 jam.
7. Dicatat tabung-tabung yang menunjukkan reaksi positif , yaitu terbentuk asam dan gelembung gas.
8. Tabung-tabung yang belum menunjukkan adanya gelembung gas diinkubasikan kembali pada suhu 35°C selama 24 jam.

### b) Uji Penegasan

1. Pengerjaan inokulasi dilakukan secara aseptis, dengan cara di dekatkan dengan api.
2. Digoyang-goyangkan tabung dari hasil uji pendugaan yang menunjukkan reaksi positif.
3. Dari tabung-tabung tersebut, diinokulasikan sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi medium BGLBB (*Brilliant Green Lactose Bile Broth*) untuk uji Total coliform.
4. Tabung-tabung tersebut diinkubasikan pada suhu 35°C selama 48 jam.
5. Adanya gelembung gas menunjukkan Total coliform positif.
6. Dihitung jumlah Total coliform per 100 mL contoh dengan menggunakan daftar Pumlah Perkiraan Terdekat (JPT)
7. Apabila hasil tabung tidak terdapat pada kombinasi tabung yang positif pada tabel JPT, maka jumlah bakteri per 100 mL harus dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Jumlah bakteri (JPT/100 mL)} = \frac{A \times 100}{\sqrt{B \times C}}$$

Keterangan : A : jumlah tabung yang positif

B : jumlah (mL) contoh dalam tabung negatif

C : Volume (mL) contoh dalam semua tabung

8. Apabila volume semua contoh tidak sesuai dngan ketentuan tabel JPT, maka jumlah bakteri per 100 mL dihitung dengan rumus :

$$\text{Jumlah bakteri (JPT/100 mL)} = \frac{Z \times 100}{Y}$$

Keterangan : Z : jumlah bakteri dari tabel JPT

Y : Volume (mL) contoh terbesar

### c) Uji *E. coli*

1. Menyiapkan alat dan bahan yang akan di gunakan.
2. Menimbang media EMB dan agar sesuai dengan kebutuhan.
3. Melakukan pemanasan untuk sterilisasi media EMB dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121<sup>0</sup>C dan waktu 50 menit.

4. Melakukan penyemprotan tangan dengan menggunakan alkohol dan menyalakan lampu spirtus.
5. Melakukan inokulasi dengan memasukan sampel ke dalam cawan petri dengan teknik penanaman goresan (Streak).
6. Dituangkan media EMB ke dalam cawan petri yang sudah terdapat sampel.
7. Melakukan inkubasi selama 24-48 jam dengan suhu 35<sup>0</sup>C.
8. Melakukan pengamatan yaitu dengan cara melihat warna yang di timbulkan oleh bakteri tersebut.jika berwarna hijau metalik berarti positif keberadaan bakteri *E. coli* terdapat dalam sampel air.

### C. Bahan Diskusi

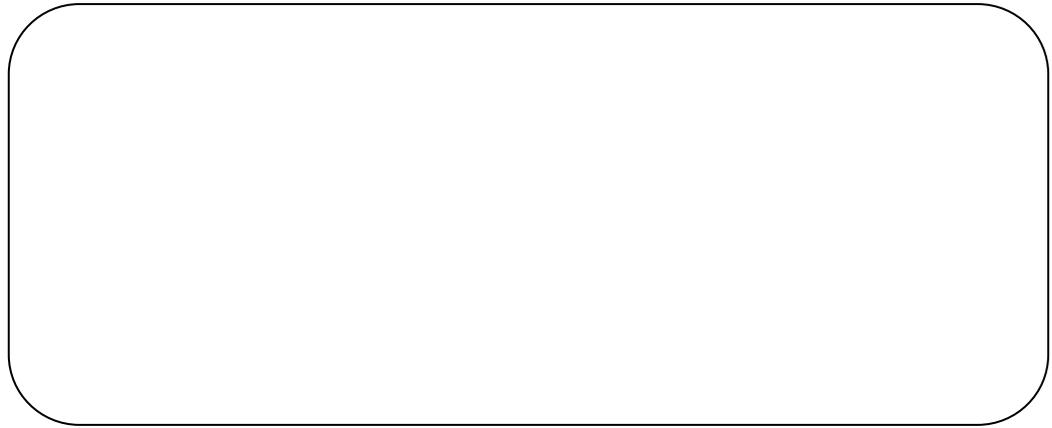
1. Berdasarkan hasil praktikum yang anda lakukan, berapa jumlah bakteri pada ikan betok yang berasal dari Kali Kepiting Setorejo dengan Standar baku ikan segar berdasarkan SNI (7388:2009) ?



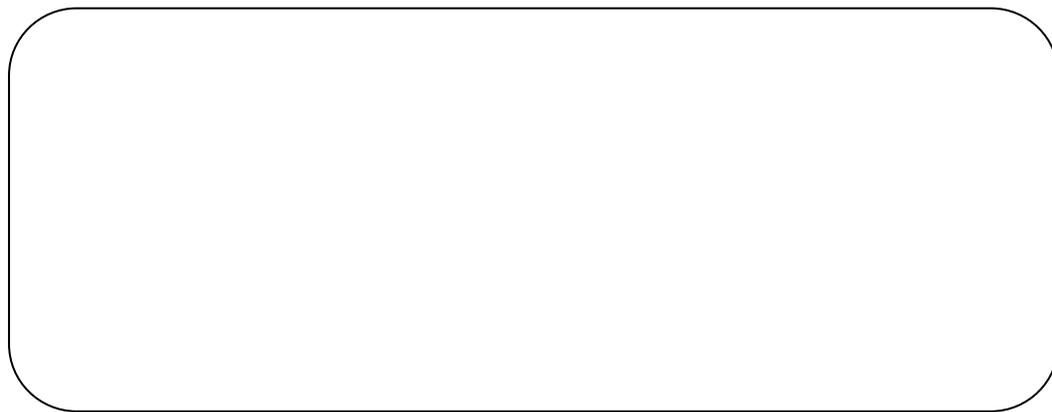
2. Coba kalian amati apakah terdapat bakteri *Escherchia coli* pada ikan betok yang berasal dari Kali Kepiting Setorejo? Berikan ulasan!



3. Apakah ikan betok yang berasal dari Kali Kepiting Setorejo layak dikonsumsi berdasarkan parameter biologis ?



4. Buatlah simpulan dari praktikum yang anda lakukan! Kaitakan dengan sifat keEsaan Allah SWT!



## TINJAUAN KEMUNDURAN MUTU IKAN SEGAR

### A. 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 pengejangan 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 cm<sup>2</sup> 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.

## B. 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 1.

Tabel.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 <sup>0</sup> C, 72 jam)	5 x 10 <sup>5</sup> 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

## **SAP (SATUAN ACARA PERKULIAHAN)**

<b>Fakultas</b>	: Keguruan dan Ilmu Pendidikan
<b>Program Studi</b>	: Pendidikan Biologi
<b>Mata Kuliah</b>	: Praktikum Mikrobiologi
<b>Jumlah SKS</b>	: 1 SKS
<b>Semester</b>	: 6
<b>Dosen Pengampu</b>	: Dra. Peni Suharti, M.Kes
<b>Deskripsi matakuliah</b>	: Mata kuliah ini mengenalkan dan mempraktekkan metode/teknik dalam mikrobiologi untuk membekali mahasiswa keterampilan laboratorium dalam hal pengembangbiakan mikroorganisme (jamur, Bakteri), analisis, dan sifat dari mikroorganisme serta aplikasi mikroorganisme.
<b>Standard Kompetensi</b>	: Mahasiswa mampu mengenali dan menerapkan metode-metode dalam mikrobiologi

<b>Pertemuan Ke -</b>	<b>Kompetensi Dasar</b>	<b>Indikator</b>	<b>Pengalaman Belajar</b>	<b>Materi Pokok</b>	<b>Aktifitas Pembelajaran</b>	<b>Referensi</b>
1	-	Agar mahasiswa dapat mengetahui persyaratan perkuliahan	-	Kontrak Perkuliahan	Ceramah	-
2.	Mengetahui dan mendemonstrasikan cara- cara sterilisasi	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Menjelaskan cara-cara sterilisasi dan manfaatnya</li> <li>2. Menyebutkan alat-alat untuk sterilisasi</li> <li>3. Menentukan cara sterilisasi untuk setiap alat/bahan</li> <li>4. Melakukan tahap-tahap sterilisasi dengan tepat</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Mahasiswa mempelajari materi tentang sterilisasi.</li> <li>2. Mahasiswa menjelaskan cara-cara sterilisasi dan manfaatnya, Menyebutkan alat-alat untuk sterilisasi, Menentukan cara sterilisasi untuk setiap alat/bahan.</li> <li>3. Mahasiswa melakukan praktek sterilisasi, meliputi: persiapan sterilisasi, pelaksanaan sterilisasi, dan penanganan setelah sterilisasi sesuai dengan alat atau bahan yang digunakan</li> <li>4. Mahasiswa melaporkan pengalaman praktek sterilisasi dalam bentuk laporan tertulis (individu)</li> </ol>	1. Sterilisasi	Pretest, Praktek	Buku 2, 3 dan 4

3	Mengetahui cara-cara analisis mikrobia dalam bahan pangan	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Menyebutkan dan menjelaskan cara-cara analisis mikrobia dalam daging ikan</li> <li>2. Menjelaskan mekanisme uji/analisis mikrobia dalam daging ikan</li> <li>3. Menentukan kualitas daging ikan dengan cara uji ALT dan uji MPN</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Mahasiswa mengikuti acara asistensi praktikum dengan materi cara-cara analisis mikrobia dalam daging ikan</li> <li>2. Mahasiswa menyebutkan dan menjelaskan cara-cara analisis mikrobia dalam daging ikan</li> <li>3. Mahasiswa menjelaskan mekanisme uji/analisis mikrobia dalam daging ikan</li> <li>4. Mahasiswa melakukan analisis mutu daging ikan dengan cara uji ALT dan uji MPN</li> <li>5. Mahasiswa menentukan kualitas daging ikan yang diuji</li> <li>6. Mahasiswa melaporkan hasil analisis mikrobia daging ikan dalam bentuk laporan tertulis (individu)</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Analisis bahan pangan</li> <li>2. Kualitas daging ikan</li> </ol>	Pretest, praktek	Buku 1, 2, 3, dan 4
---	---	--	---	---	------------------	---------------------

**Referensi :**

1. Pelczar, Michael dan Chan, E.C.S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi I*, 48, 189, 190-205. Diterjemahkan oleh Ratna Sini, H. Jakarta : UI Press.
2. Pelczar, Michael dan Chan, E.C.S. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid II*. Diterjemahkan oleh Ratna Siri Hadioetomo, Teja Imas, Sutarmi, Tjitrosomo, Sri Lestari A. UI Press. Jakarta.
3. Dwidjoseputro, D. 1998. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Djambatan. Surabaya
4. Suharti, Peni, 2015. *Petunjuk Praktikum Mirobiologi*. Surabaya: Lab Biologi FKIP UMS