

IDENTIFIKASI *Bacillus* sp. PADA BEBERAPA TAHAPAN PENGOLAHAN *FROZEN TASTELESS SMOKED TUNA*

(*Identification of Bacillus sp. on Some Points of Frozen Tasteless Smoked Tuna Process*)

Hens Onibala¹

¹Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado Sulawesi Utara.

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan *Bacillus* sp. pada produk *frozen tasteless smoked tuna* dan menganalisa karakteristik *Bacillus* sp dengan uji mikrobiologi yang berhubungan dengan spesies-spesies yang potensial sebagai pembusuk dan patogen. Sampel yang digunakan berupa ikan tuna yang diambil dari PT. Sari Tuna Makmur Bitung pada tahapan proses pengolahan yaitu bahan baku, daging tuna yang telah diberi Karbon monoksida (CO) dan produk akhir. Pengambilan sampel dilakukan sebanyak 3 kali. Pengujian mikrobiologi meliputi pewarnaan Gram, pewarnaan spora, motility, fermentasi karbohidrat, katalase, indol, methyl red, *vogues proskauer*, sitrat, oksidase, H₂S dan gelatin. Uji karakteristik pertumbuhan yaitu suhu, pH dan NaCl. Uji karakteristik patogenitas yaitu aglutinasi dan hemolisis. Hasil analisa total *Bacillus* pada beberapa tahapan proses pengolahan *frozen tasteless smoked tuna* yang tertinggi ditemukan pada daging tuna yang diberi CO yaitu $1,1 \times 10^5$ cfu/gr, yang diikuti oleh bahan baku $2,5 \times 10^4$ cfu/gr dan terendah pada produk akhir $1,9 \times 10^4$ cfu/gr. Berdasarkan hasil uji biokimia telah teridentifikasi 2 spesies yang diduga *Bacillus* yaitu *B. cereus* yang bersifat patogen bagi manusia dan *B. coagulans* yang potensial sebagai pembusuk.

Kata kunci: *Bacillus*, Tuna, Karbon monoksida (CO).

This study aimed to identify the occurrence of *Bacillus* sp. on the products of frozen tasteless smoked tuna and to analyze the microbiological characteristics of *Bacillus* sp. including its pathogenic characteristics. Samples were tuna taken from PT. Sari Tuna Makmur Bitung, on processing phases, raw material, tuna meat treated with Carbon monoxide (CO) and final product. All Samples were taken on three times. Microbiological analyses, such as Gram-staining, spore staining, fermentation of carbohydrates, catalase, indol, methyl red, *Vogues Proskauer*, citrate, oxidase, H₂S and gelatin were done. The growth characteristics of isolated *Bacillus* were also done on some ranges of temperature, pH and NaCl, while the pathogenic analysis was done with agglutination and hemolysis test. Total analysis of *Bacillus* on all samples of frozen tasteless smoked tuna showed that the highest in tuna meat treated with CO, approximately 1.1×10^5 cfu/gr, followed by raw material, 2.5×10^4 cfu/gr, and then final product, 1.9×10^4 cfu/gr, respectively. According to biochemical test, two 2 species of *Bacillus* were identified, *B. cereus* which is potensial as human pathogen and *B. coagulans* as spoilage bacteria.

Keywords: *Bacillus*, Tuna, Carbon monoxide (CO).

PENDAHULUAN

Frozen tasteless smoked tuna merupakan salah satu bentuk produk dari olahan ikan tuna segar yang diberi perlakuan suhu rendah serta penambahan gas CO. Pada tahapan proses pengolahannya mulai dari penerimaan bahan baku sampai pada produk akhir masih memungkinkan adanya kontaminasi mikroba khususnya mikroba patogen. Kontaminasi yang terjadi selama tahapan proses pengolahan di pabrik berlangsung dapat diakibatkan karena lingkungan pengolahan yang tidak saniter dan higienis baik peralatan dan air yang digunakan maupun pekerja itu sendiri (Ross *et al.*, 2009; Junianto, 2003; Salasa, 2002).

Bacillus merupakan salah satu jenis mikroba patogen yang dapat menyebabkan penyakit dan intoksikasi pada manusia dan juga menyebabkan kerusakan produk. Bakteri ini terdapat di se-

gala tempat yaitu di air, tanah dan udara dan dapat mengkontaminasi produk perikanan seperti ikan tuna. Mengingat akibat yang ditimbulkan maka keberadaan bakteri ini pada produk perlu dihindari (Anonimous, 2009a; Darmayasa, 2008; Jawetz *et al.*, 1982; Wewengkang, 2006; Downes and Ho, 2001; Ijong, 2003; Ijong, 2004; Todar, 2008).

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan *Bacillus* sp. pada *frozen tasteless smoked tuna* yang berhubungan dengan beberapa tahapan perlakuan penanganan dan pengolahan. Serta menganalisa karakteristik *Bacillus* sp. dengan uji mikrobiologi yang berhubungan pada jumlah bakteri yang potensial sebagai pembusuk dan patogen.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi Manado. Waktu penelitian selama 3 bulan.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan baku yang digunakan ialah daging ikan tuna (*Thunnus albacores*). Media dan reagen yang digunakan yaitu *Bacillus Selective Agar*, Nutrient Broth (NB), Nutrient Agar (NA), NaOH, NaCl, minyak imersi, larutan kristal ungu, alkohol 70%, larutan safranin, larutan lugol, malasit hijau, *Phenol Red Broth Base* kaldu karbohidrat (glukosa, fruktosa, laktosa, sukrosa dan manitol), *Simmon's Citrate Agar*, *Motility Test Medium*, Reagen MR-VP, Reagen Oksidase, Reagen Kovacs dan H₂O₂. Sedangkan alat yang akan digunakan adalah *cool box*, autoklaf, inkubator, cawan petri, oven, mortal, pipet, timbangan analitik, gelas ukur, Erlenmeyer, tabung reaksi, tabung Durham, *magnetic stirrer*, mikroskop, kaca objek, pH meter, kuvet, jarum Ose, spatula dan lampu spiritus.

Prosedur Penelitian

Sampel yang digunakan diambil di PT. Sari Tuna Makmur Bitung dengan tahapan proses pengolahan dari penerimaan bahan baku, daging yang telah diberi gas CO, dan daging yang telah dibekukan serta divakum (*frozen tasteless smoked tuna*) yang siap ekspor. Sampel tersebut diambil secara acak dengan berat kira-kira 250–500 g, kemudian dimasukkan ke dalam plastik steril lalu disimpan dalam wadah (*cool box*) yang telah diberi hancuran es dengan perbandingan 1:3. Pengambilan sampel dilakukan sebanyak tiga kali.

Analisa total bakteri menggunakan media Nutrien Agar dan analisa total *Bacillus* menggunakan media *Bacillus Selective Agar* dengan metode tuang. Sebanyak 25 gr sampel ditimbang secara aseptis menggunakan Erlenmeyer steril kemudian sampel dihancurkan dan dimasukkan ke dalam 225 NaCl 0,9%. Buat pengenceran 10⁻¹–10⁻⁴. Masing-masing pengenceran dituang ke dalam cawan petri yang berisi media NA dan *Bacillus Selective Agar*. Inkubasi selama pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh pada media selektif dipindahkan ke NA miring sebagai kultur sediaan. Selanjutnya dilakukan pengujian secara mikrobiologis yang meliputi pewarnaan Gram, pewarnaan spora, *motility*, fermentasi karbohidrat, katalase, indol, methyl red, vogues proskauer, sitrat, oksidase, H₂S dan gelatin. Berdasarkan ha-

sil pengujian maka dilakukan identifikasi berdasarkan *Bergey's Manual of Determenative Bacteriology*. Setelah teridentifikasi, diambil spesies bakteri yang mewakili spesies yang teridentifikasi untuk digunakan pada uji karakteristik pertumbuhan yang meliputi suhu, pH dan NaCl. Selanjutnya dilakukan uji karakteristik patogenitas berupa aglutinasi dan hemolisis (Feliatra dan Suryadi, 2004; Yanti, 2005; Roosdiana, 2007).

Hasil pengujian laboratorium yang diperoleh terdiri dari 2 kategori yaitu hasil pengujian kuantitatif dan kualitatif. Hasil kuantitatif diperoleh dengan menggunakan nilai rata-rata kemudian disajikan dalam bentuk tabel. Sedangkan hasil kualitatif disajikan dalam bentuk gambar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keberadaan *Bacillus* sp. pada *Frozen Tasteless Smoked Tuna*

Hasil analisa total bakteri terhadap sampel daging tuna yang diambil pada beberapa tahapan proses pengolahan diperoleh hasil yang bervariasi.

Tabel 1. Hasil analisa total bakteri.

No.	Jenis Sampel	Pengambilan (cfu/gr)			Rata-rata
		I	II	III	
1.	Bahan baku	2,8x10 ⁴	2,1x10 ⁴	2,6x10 ⁴	2,5x10 ⁴
2.	Daging yang diberi CO	1,5x10 ⁵	2,5x10 ⁴	1,4x10 ⁵	1,1x10 ⁵
3.	Produk akhir	2,1x10 ⁴	2,3x10 ⁴	1,4x10 ⁴	1,9x10 ⁴

Pada sampel bahan baku diperoleh nilai rata-rata 2,5 x 10⁴ cfu/gr dan mengalami peningkatan pada daging tuna yang telah diberi gas CO dengan nilai rata-rata 1,1 x 10⁵ cfu/gr kemudian mengalami penurunan kembali pada produk akhir yaitu 1,9 x 10⁴ cfu/gr. Hal ini disebabkan daging tuna telah mengalami proses pembekuan dan pengemasan vakum. Menurut Ilyas (1983), turunnya suhu sampai 5°C menyebabkan bakteri golongan mesofilik tidak berkembang biak lagi. Pada suhu -1°C, laju perkembangbiakan bakteri penyebab utama pembusukan ikan dapat ditekan. Selanjutnya Buckle *et al.*, (1987) menyatakan bahwa pengeemasan dapat melindungi makanan dari kontaminasi mikroba.

Berdasarkan persyaratan mutu yang dikeluarkan oleh Badan Standarisasi Nasional Indonesia, jumlah bakteri maksimum untuk tuna beku yaitu 5 x 10⁵ cfu/gr. Sedangkan hasil perhitungan total bakteri pada produk akhir dari sampel daging tuna yang diambil yaitu 1,9 x 10⁴ cfu/gr. Hasil ini menunjukkan bahwa produk ini layak dikonsumsi mentah (*Sashimi*).

Seperti pada analisa total bakteri, total *Bacillus* dari sampel daging tuna yang diambil pa-

da beberapa tahapan proses pengolahan *frozen tasteless smoked tuna* menunjukkan hasil yang bervariasi.

Tabel 2. Hasil analisa total *Bacillus*.
Table 2. Results analysis of total *Bacteria*.

No.	Jenis Sampel	Pengambilan (cfu/gr)			Rata-rata
		I	II	III	
1.	Bahan baku	2,4x10 ³	2,1x10 ³	2,4x10 ³	2,3x10 ³
2.	Daging CO	3,9x10 ³	2,8x10 ³	4,1x10 ³	3,6x10 ³
3.	Produk akhir	2,1x10 ³	2,4x10 ³	1,3x10 ³	1,9x10 ³

Total *Bacillus* tertinggi terdapat pada daging tuna yang diberi CO yaitu 3,6 x 10³ cfu/gr yang diikuti oleh bahan baku 2,3 x 10³ cfu/gr dan terendah pada produk akhir 1,9 x 10³ cfu/gr.

Sama seperti pada total bakteri, pada sampel daging tuna yang diberi CO jumlah *Bacillus* yang ditemukan juga mengalami peningkatan. Hasil ini mempertegas bahwa pemberian gas CO tidak menghambat pertumbuhan *Bacillus*. Pemberian gas CO merupakan salah satu upaya menurunkan kandungan oksigen (O₂). Gas CO akan berikatan dengan sisa O₂ yang ada dalam plastik, sehingga gas CO akan berubah menjadi gas CO₂ yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk yang umumnya bersifat aerobik. Sebaliknya bakteri kontaminan khususnya bakteri yang bersifat anaerob fakultatif seperti *Bacillus* masih dapat bertahan pada kondisi tanpa oksigen (Feliatra dan Suryadi, 2004). Menurut Buckle *et al*, (1987), naiknya kandungan CO₂ menghalangi perkembangan bakteri Gram-negatif yang pertumbuhannya cepat dan membiarkan Gram-positif yang pertumbuhannya lambat dan tahan terhadap CO₂. Selanjutnya Ross *et al*, (2004) melaporkan bahwa pemberian gas CO tidak dapat menghambat pertumbuhan mikroba namun hanya mempertahankan warna merah daging tuna dan mencegah terjadinya perubahan oksimioglobin menjadi metmioglobin atau dikenal dengan reaksi pencoklatan/*mailard*. Gas CO bereaksi dengan oksimioglobin membentuk suatu senyawa kompleks yang stabil yaitu karboksimioglobin yang memberikan warna merah pada daging tuna (Anonimous, 2009b).

Jumlah *Bacillus* pada produk akhir mengalami penurunan. Ini berarti metode pembekuan dapat menekan pertumbuhan *Bacillus*. Namun keberadaan *Bacillus* pada produk akhir menunjukkan bahwa bakteri ini masih dapat bertahan pada suhu beku walaupun tidak dapat berkembang biak lagi. Menurut Buckle *et al*, (1987), kebanyakan mikroorganisme tahan terhadap suhu rendah sampai suhu pembekuan walaupun pertumbuhan terhambat namun sel-sel bakteri dapat tahan hidup untuk jangka waktu cukup lama.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, jumlah *Bacillus* pada produk akhir yaitu 1,9 x 10³ cfu/gr. Ini menunjukkan bahwa produk ini masih dapat dikonsumsi. Kandungan *B. cereus* dalam bahan pangan yang menyebabkan keracunan berkisar 3 x 10⁵-2 x 10⁹ cfu/gr (Supardi dan Sukamto, 1999).

KESIMPULAN

Hasil analisa total bakteri dan *Bacillus* pada beberapa tahapan proses pengolahan *frozen tasteless smoked tuna* menunjukkan jumlah tertinggi pada tahapan daging yang diberi CO kemudian diikuti bahan baku dan terendah pada produk akhir. Dengan demikian produk tersebut masih dapat dikonsumsi karena masih dibawah standar jumlah bakteri yang menyebabkan keracunan pada manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimous. 2009a. Foodborne Pathogen. www.stop-readymeals.com/phdi/p1.nsf. [20 Maret 2009]
- _____. 2009b. Carbon Monoxide Treated Tuna. www.ava.gov.sg/CarbonMonoxideTreatedTuna1.pdf. [28 Februari 2009].
- Buckle, K.A., R.A. Edwards., G.H. Fleet dan M. Wooton. 1987. Ilmu Pangan. Penerjemah : H. Purnomo dan Adiono. UI-Press. Jakarta.
- Darmayasa, I.B.G. 2008. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Lipid (lemak) Pada Beberapa Tempat Pembuangan Limbah dan Estuari DAM Denpasar. Jurnal Bumi Lestari. Vol. 8 No. 2. Hal. 122-127 Universitas Udayana Denpasar.
- Downes, F.P. dan K. Ho. 2001. Compendium of Methods For The Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association.
- Feliatra, I.E. dan E. Suryadi. 2004. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan. Jurnal Natur Indonesia. Vol. 6 No. 2 Hal. 75-80. ISSN 1410-9379. Universitas Riau Pekanbaru.
- Ilyas, S. 1983. Teknologi Refrigerasi Hasil Perikanan. Jilid I. Teknik Pendinginan Ikan. CV. Paripurna. Jakarta.
- Ijong, F.G. 2003. Penuntun Praktikum Mikrobiologi Pangan Ikani. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi. Manado.
- _____. 2004. Bahan Ajar Mikrobiologi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi. Manado.
- Jawetz, E.J.L., J.L. Melnick dan E.A. Edelberg. 1982. Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan. Editor Gerard Bonang. Edisi 14. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Junianto. 2003. Teknik Penanganan Ikan. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Ross, M.P., R.M. Benner, C.D. Benton, and W.S. Otwell. 2009. The Influence of Exposure to Carbon Monoxide on The Quality Attributes for Yellowfin Tuna Muscle. sst.ifas.ufl.edu/25thAnn/file12.pdf. [28 Februari 2009].

- Roosdiana, A. 2007. Isolasi dan Karakterisasi *Bacillus* sp. Penghasil Protease Dari Kulit Ikan Kakap Merah (*Luganus sanguineus*). library.trunojoyo.ac.id/elib/detil.php?id. [18 Juli 2009].
- Salasa, F.F.A. 2002. Teknologi Pengolahan Ikan dan Rumput Laut. Pusdiklat Perikanan. Departemen Kelautan dan Perikanan. Jakarta.
- Supardi, I. dan Sukamto. 1999. Mikrobiologi Dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan. Penerbit Alumni. Bandung.
- Todar, Kenneth. 2008. *Bacillus cereus* Food Poisoning. www.textbookofbacteriology.net/B.cereus.html. [26 Mei 2009]
- Wewengkang, L.A.J. 2006. Keracunan Makanan Oleh Bakteri. Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia.
- Yanti, D.I.W. 2005. Karakteristik *Bacillus* sp. Yang Diisolasi Dari Rajungan (*Portunus pelagicus*) Segar dan Produk Kaleng di PT. Windika Utama Semarang, Jawa Tengah. Skripsi. FPIK Unsrat Manado.

ejournal.unsrat.ac.id/index.php/JPKT