PENGUJIAN *Salmonella* sp PADA DAGING IKAN TUNA (*Thunnus albacore*) LOIN BEKU SEGAR (*FRESH FROZEN LOIN*)

TUGAS AKHIR

ANDI ANGGA SALI HIDAYAT

1622030389

PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PENGOLAHAN HASIL PERIKANAN
JURUSAN TEKNOLOGI PENGOLAHAN HASIL PERIKANAN
POLITEKNIK PERTANIAN NEGERI PANGKAJENE KEPULAUAN

2019

HALAMAN PENGESAHAN

Pengujian *Salmonella* sp pada Daging Ikan Tuna (*Thunnus albacore*) Loin Beku Segar (*Fresh Frozen Loin*)

TUGAS AKHIR

ANDI ANGGA SALI HIDAYAT

1622030389

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Menyelesaikan Studi pada Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan

Telah Diperiksa dan Disetujui Oleh :

PEMBIMBING I	PEMBIMBING II
Dr. Muh Ali Arsyad S.Pi., M.Si	**Ir. Mursida M.Si**
NIP.19790404 200801 1 017	**NIP.19640312 199903 1 003**

Diketahuioleh:

Direktur	Ketua Jurusan
Dr. Ir. Darmawan M.Pi	**Dr. Andi Ridwan Makkulau ST., M.Si**
NIP. 19670202 199803 1 002	**NIP. 19750626 200112 1 003**

Tanggal Lulus : 5 Agustus 2019

HALAMAN PERSETUJUAN PENGUJI

Judul Tugas Akhir : **Pengujian *Salmonella* sp pada Daging Ikan Tuna (*Thunnus albacore*) Loin Beku *(Fresh Frozen Loin)***

Nama : **ANDI ANGGA SALI HIDAYAT**

Nim : **1622030389**

Jurusan : **Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan**

Telah Diperiksa dan Disetujui Oleh :

TIM PENGUJI

1. **Dr. Muh Ali Arsyad S.Pi., M.Si** (.....)
2. **Ir. Mursida M.Si** (.....)
3. **Dr. Rosmaladewi S.Pd., M.Ed** (.....)
4. **Rahmawati Saleh S.Si., M.Si** (.....)

KATA PENGANTAR



Puji syukur penyusun panjatkan kehadirat ALLAH SWT. Yang selalum memberikan rahmat dan hidayah serta nikmat terhadap hamba-hambanya, dan tak lupa pula kita kirimkan salam dan shalawat kepada nabi Muhammad SAW. Nabi sebagai suritauladan, petunjuk untuk para pengikutnya, serta Kedua orang tua, saudara, yang selalu memberi do'a, motivasi, material dalam penyusunan laporan kegiatan ini. Sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan laporan Tugas Akhir yang berjudul "Pengujian Bakteri *Salmonella* sp Pada Daging Tuna (*Thunnus albacore*) Loin Beku (Fresh Frozen Loin)" di Balai Besar Karatina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Makassar, Sulawesi Selatan.

Dalam penyusunan Tugas Akhir ini, berbagai kesulitan dihadapi, namun kesulitan tersebut dapat teratasi berkat bantuan dan doa dari kedua orang tua, ibu tercinta Nurhaedah dan Bapak Andi Sutri begitu pula bimbingan Bapak Dr. Muh Ali Arsyad, S.Pi , M.Si selaku pembimbing pertama dan Bapak Ir. Mursida, M.Si selaku pembimbing kedua yang telah memberi arahan selama proses penyusunan laporan tugas akhir hingga selesai. Pada kesempatan ini penulis menghaturkan terimakasih kepada :

1. Dr. Ir. H. Darmawan, M.P selakuDirekturPoliteknikPertanianNegeriPangkep.
2. Ir. Nurlaeli Fattah, M. Si selaku ketua jurusanTeknologi Pengolan Hasil Perikanan Periode 2016 -2019
3. Dr. Andi Ridwan Makkulau ST., M.Si selaku ketua jurusan Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan Periode 2019-2023
4. Suriati, S.Pi., MM selaku penanggung jawab di Balai Besar Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan keamanan Hasil Hasil Perikanan Makassar, Sulawesi Selatan.
5. Dr. Rosmaladewi S.Pd., M.Ed selaku penguji pertama, dan Rahmawati Saleh, S.Si., M.Si selaku penguji kedua

6. Masagena S.Pi selaku pembimbing lapangan yang telah memberi arahan dan informasi teknis pengujian bakteri di Balai Besar Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Makassar, Sulawei Selatan.
7. Teman – teman mahasiswa seperjuangan Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan Politeknik Pertanian Negeri Pangkep dan rekan-rekan praktik di lapangan mahasiswa dari UNHAS.

Dalam penulisan tugas akhir ini penulis menyadari mungkin masih ada kekurangan ,sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang sifatnya membangun demi kesempurnaan tugas akhir ini.

Pangkep, Juni 2019

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL..... i

HALAMAN PENGESAHAN..... ii

HALAMAN PERSETUJUAN iii

KATA PENGANTAR iv

DAFTAR ISI vi

DAFTAR TABEL ix

DAFTAR GAMBAR..... x

DAFTAR LAMPIRAN xi

RINGKASAN xii

I. PENDAHULUAN

1.1. LatarBelakang 1

1.2. TujuandanKegunaan..... 2

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.2 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Tuna (*Thunnus albacore*).....3

2.3 Komposisi Kimia dan Nilai Gizi Ikan Tuna.....4

2.3 Kemunduran Mutu Ikan Tuna

2.3.1. Kemunduran Mutu Secara Kimiawi 5

2.3.2. Kemunduran Mutu Secara Autolisis.....5

2.3.3. Kemunduran Mutu Secara Oksidas.....6

2.3.4. Kemunduran Mutu Akibat Histidin dan Histamin 6

2.3.5. Kemunduran Mutu Secara Fisik 7

2.3.6. Kemunduran Mutu Secara Bakteriologis 8

2.4 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Penurunan Mutu Ikan Tuna

2.4.1 Suhu.....9

2.4.2 Lama Proses Penanganan 10

2.4.3 Kebersihan.....11

2.4.4 Cara Kerja 11

2.5 *Salmonella*sp.....13

2.6 Klasifikasi dan Morfologi *Salmonella* sp.....13

2.7 Media Tumbuh *Salmonella* sp 14

2.8 Uji Kualitatif *Salmonella* sp

2.8.1 Tahap Prapengkayaan 16
2.8.2 Tahap Pengkayaan 16
2.8.3 Tahap Media Selektif Agar 17
2.8.4 Tahap UjiBiokimia 19
2.8.5 Tahap UjiSerlogi 21
2.9 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroorganisme
2.9.1 Air (a_w) 22
2.9.2 Suhu 22
2.9.3 Atmosfer Gas 23
2.9.4 Asam dan Basa (pH) 24
2.9.5 Kondisi Lain-lain 24
2.10 Pertumbuhan Bakteri 24
2.11 Persyaratan Mutu dan Keamanan Pangan Ikan Beku 25
III. METODOLOGI
3.1 Waktu dan Tempat 27
3.2 Metode Penulisan 27
3.3 Alat dan Bahan 27
3.4 Prosedur Kerja 29
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN
4.1 Hasil 38
4.2 Pembahasan 39
V. KESIMPULAN DAN SARAN
5.1 Kesimpulan 43
5.2 Saran 43
DAFTAR PUSTAKA 45
LAMPIRAN 40
RIWAYAT HIDUP 41

DAFTAR TABEL

No. Teks Halaman

1. Komposisi Kimia Ikan Tuna 5

2. Tahap- tahap Kerusakan Ikan 11
3. Fase Pertumbuhan Bakteri 22
4. Persyaratan mutu dan keamanan pangan ikan beku 23
5. Reaksi TSI dan LIA 29
6. Hasil pengujian *Salmonella* sp 33

DAFTAR GAMBAR

No. Teks Halaman

1. Jenis-jenis Ikan Tuna 3
2. Mikroskopis Bakteri *Salmonella* sp 13
3. Kurva Pertumbuhan Bakteri.....22

DAFTAR LAMPIRAN

No. Teks Halaman

1. Skema Alur Pengujian *Salmonella* sp 39
2. Media Selektif yang Terduga Positif *Salmonella* sp..... 40
3. Pengujian *Salmonella* sp 41
4. Reaksi Biokimia dan serologi untuk *Salmonella* sp 43

RINGKASAN

ANDI ANGGA SALI HIDAYAT, 1622030389. **Pengujian Bakteri *Salmonella* sp Pada Daging Ikan Tuna (*Thunnus albacore*) Loin Beku (*Fresh Frozen Loin*)** dibawah bimbingan Muh Ali Arsyad dan Mursida.

Salah satumasalah di bidang pangan adalah masih tingginya tingkat kontaminasi mikroba pada produk hasil perikanan yang diproduksi oleh berbagai industri pengolahan atau unit pengumpulan ikan. Produk ikan serta olahannya merupakan jenis makanan yang berisiko tinggi terhadap bahaya kontaminasi. Dengan demikian perlu dilakukan pengamanan produk terhadap pencemaran mikroba, khususnya yang berasal dari produk perikanan mentah terkait dengan rantai produk perikanan mulai dari proses produksi sampai sebelum dikonsumsi. Salah satupersyaratan yang harus dipenuhi oleh negara pengimpor khususnya dalam bidang perikananya itu produk hasil perikanan harus terbebas dari bakteri patogen.

Tujuan penulisan tugas akhir ini untuk mengidentifikasi bakteri *Salmonella* sp pada Daging Ikan Tuna (*Thunnus albacore*) Loin Beku Segar (*Fresh Frozen Loin*), sehingga produk tersebut dinyatakan aman untuk dikonsumsi dan memenuhui persyaratan untuk diekspor.

Penyusunan tugas akhir ini menggunakan metode praktek langsung dan hasil wawancara dengan pihak yang terkait diLabratorium Balai Besar Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Makassar. yang dimulai tanggal 15Januari – 25 April 2019.

Prinsip pengujian *Salmonella* sp dimulai daritahap prapengkayaan,; tahap pengkayaan; tahap media selektif agar beberapa media agar yang direkomendasikan sebagai media selektif antara lain adalah *Bhismut Sulfit Agar* (BSA), *xylase lysine Desoxycholate* (XLD) dan *Hektoen enteric* (HE); Tahap Uji Biokimia, Tahap UjiSerlogi,

Hasil pengujian *Salmonella* sp yang telah dilakukan pada Daging Tuna (*Thunnus albacore*) negatif mengandung *Salmonella* sp dan layak untuk diekspor dan dikonsumsi.

Kata kunci : Salmonella sp, Ikan Tuna Beku (*Fresh Frozen Loin*),

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakakang

Salah satu masalah di bidang pangan adalah masih tingginya tingkat kontaminasi mikroba pada makanan yang disajikan oleh berbagai industri makanan. Produk ikan serta olahannya merupakan jenis makanan yang berisiko tinggi terhadap bahaya kontaminasi. Dengan demikian perlu dilakukan pengamanan makanan terhadap pencemaran mikroba, khususnya yang berasal dari bahan makanan mentah terkait dengan rantai makanan mulai dari proses produksi sampai sebelum dikonsumsi. Pengujian sampel produk pangan selalu mengacu kepada persyaratan makanan yang sudah ditetapkan.

Metode yang digunakan untuk pengujian mikrobiologis sesuai dengan persyaratan yang diminta oleh konsumen atau buyer. Identifikasi mikroba dilakukan dengan cara pengujian antara lain uji *Salmonella,* E. *coli*, –Saat ini permintaan konsumen untuk kebutuhan ekspor produk perikanan terus mengalami peningkatan, hal itu juga diikuti dengan permintaan para konsumen yang menghendaki makanan terbebas dari cemaran mikroba. Salah satu persyaratan yang harus dipenuhi oleh negara pengimpor khususnya dalam bidang perikanan yaitu produk hasil perikanan harus terbebas dari bakteri patogen. Eropa mempersyaratkan produk hasil perikanan harus terbebas dari bakteri yaitu *Escherichia coli* dan *Salmonella.* Penyebab timbulnya bakteri tersebut adalah kurangnya penerapan sanitasi dan higiene saat budidaya dan pada waktu pengolahannya (Purnawijayanti, 2001). Perhatikan setelah . (titik) spasi baru dilanjutkan

Bakteri *Salmonella* sp adalah penyebab utama dari penyakit yang disebarkan melalui makanan (*foodborne diseases*). Pada umumnya, serotipe *Salmonella* sp menyebabkan penyakit pada organ pencernaan. Infeksi Salmonella dapat berakibat fatal kepada bayi, balita, ibu hamil dan kandungannya serta orang lanjut usia. Hal ini disebabkan karena kekebalan tubuh mereka yang menurun. Kontaminasi *Salmonella* sp dapat dicegah dengan mencuci tangan dan menjaga kebersihan makanan yang dikonsumsi.

Beberapa produk perikanan khsusnya daging Tuna (*Thunnus* sp) beku, –besar kemungkinan mengandung bakteri *Salmonella* sp sehingga pihak konsumen meminta untuk dilakukan uji *Salmonella* sp. Berdasarkan latar belakang di atas maka penulis mengangkat sebuah judul penyelesaian tugas akhir yaitu“Pengujian Salmonella sp pada Ikan Tuna (*Thunnus albacore*) Beku”

1.2. Tujuan dan Kegunaan

Tujuan penulisan tugas akhir ini adalah untuk mengidentifikasi bakteri *Salmonella* sp pada daging Tuna (*Thunnus albacore*) loin beku segar (*fresh frozen loin*)

Kegunaan tugas akhir ini sebagai untuk memperluas wawasan, kompotensi keahlian mahasiswa dalam melakukan pengamatan dan pengujian khususnya mengenai pengujian *Salmonella* sp pada daging Tuna (*Thunnus albacore*).

II. TINJAUAN PUSTAKA

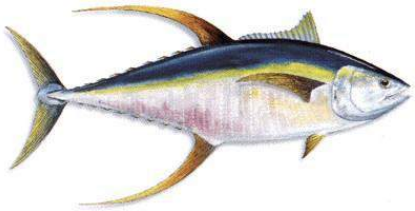
2.1 . Klasifikasi dan Morfologi Ikan Tuna (*Thunnus albacore*)

Menurut (Saanin 1984), ikan tuna berdasarkan taksonominya dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

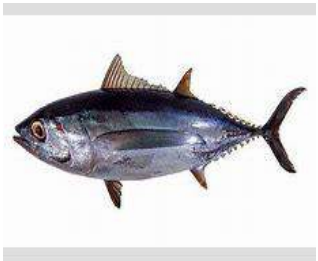
Filum : Chordata
Subfilum :Vertebrata
Kelas : Teleostei
Subkelas : Actinopterygii
Ordo : Perciformes
Subordo : Scombridei
Family : Scombridae
Genus : Thunnus
Spesies : *Thunnus* sp

Berdasarkan ukuran tuna, di Indonesia terdapat dua kelompok tuna yaitu tuna besar dan tuna kecil. Ikan tuna besar yang hidup di perairan laut Indonesia yaitu tuna madidihang (*Thunnus albacares*), tuna mata besar (*Thunnus obesus*), tuna albakora (*Thunnus alalunga*) dan tuna sirip biru (*Thunnus maccoyii*). Beberapa jenis ikan tuna besar dapat dilihat seperti pada Gambar 1

Ikan tuna madidihang dan tuna mata besar terdapat di seluruh wilayah perairan laut Indonesia. Tuna albakora hidup di perairan sebelah Barat Sumatera, Selatan Bali sampai dengan Nusa Tenggara Timur. Ikan tuna sirip biru hanya hidup di perairan sebelah Selatan Jawa sampai ke perairan Samudera Hindia bagian Selatan yang bersuhu rendah (Widiastuti, -2008).



A. Tuna madidihang
(*Thunnus albacares*)
Sumber : (M Arman Ahmad, 2012)



B. Tuna mata besar
(*Thunnus obesus*)
Sumber : (Taufik Dafian, 2014)



C. Tuna albakora
(*Thunnus alalunga*)
Sumber : (Rudianto, Didik, 2017)



D. Tuna sirip biru
(*Thunnus maccoyii*)
Sumber : (Dewi, 2011)

Menurut Widiastuti (2008), ikan tuna memiliki warna biru kehitaman pada bagian punggung dan berwarna keputih-putihan pada bagian perut. Tubuh ikan tuna berbentuk cerutu menyerupai torpedo serta tertutup oleh sisik sisik kecil. Ikan tuna pada umumnya mempunyai panjang antara 40–200 cm dengan berat antara 3-130 kg .Daging yang dimiliki berwarna merah muda sampai merah tua.Hal ini karena otot tuna lebih banyak mengandung myoglobin dari pada ikan lainnya.

2.2. Komposisi Kimia dan Nilai Gizi Ikan Tuna

Ikan tuna merupakan jenis ikan yang mengandung lemak rendah (kurang dari 5%) dan protein yang sangat tinggi (lebih dari 20%).Komposisi kimia ikan tuna ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Kimia Ikan Tuna *(SNI; 01-2332.2006)*

Komponen	**Komposisi Kimia g/100 gram**		
	Madidihang	**Tuna ekor biru**	**Cakalang**
Air	74,0±0,28	70,1±1,98	69,9±0,71
Protein	23,2±1,34	25,5±4,03	26,0±0,28
Lemak	2,4±1,41	2,1±0,92	2,0±0,07
Karbohidrat	1,0±1,27	0,9±1,13	0,7±0,42
Abu	1,3±0,4	1,4±0,21	1,4±0,07

2.3. Kemunduran Mutu Ikan Tuna

Ikan tuna yang mati setelah ditangkap akan mengalami serangkaian perubahan yang mengarah pada proses penurunan mutu yang disebabkan oleh tiga kegiatan utama yaitu penurunan secara bakteriologis, kimia, dan fisik. Seluruh proses perubahan ini pada akhirnya dapat mengarah pada pembusukan (Murniyati dan Sunarman, 2000).

2.3.1. Kemunduran Mutu Secara Kimiawi

Menurut Hadiwiyoto (1993) penurunan mutu secara kimia adalah penurunan mutu yang berhubungan dengan komposisi kimia dan susunan tubuhnya.Penurunan mutu secara kimia terdiri dari penurunan mutu secara autolisis, oksidasi dan akibat histidin.

2.3.2. Kemunduran Mutu Secara Autolisis

Autolisis adalah penguraian protein dan lemak menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti asam amino dan asam lemak. Menurut Ilyas (1983) enzim yang berperan dalam autolisis yaitu enzim proteolysis (pengurai protein) dan enzim liposis (pengurai lemak). Penurunan mutu ditandai dengan rasa, warna, tekstur, dan kenampakan yang berubah. Penurunan mutu secara autolisis berlangsung sebagai aksi kegiatan enzim yang merupakan proses penguraian pertama setelah ikan tuna mati.

Kecepatan autolisis sangat tergantung pada suhu, semakin rendah suhu semakin lambat kecepatan autolisis. Kecepatan autolisis tidak dapat dihentikan namun hanya dapat memperlambat laju proses autolisis. Kegiatan enzim dapat direduksi dan dikontrol dengan cara pendinginan, penggaraman, pengeringan, dan pengasaman atau dapat dihentikan dengan cara pemasakan ikan (Ilyas, 1983).

2.3.3 Kemunduran Mutu Secara Oksidasi

Menurut Faustman dan Cassens (1990), oksidasi adalah reaksi antara suatu senyawa kimia dengan oksigen. Salah satu kemunduran mutu ikan tuna yang disebabkan oleh proses oksidasi yaitu terjadinya penambahan kation Fe^{2+} (*ferrous*) dalam mioglobin menjadi bentuk Fe^{3+} (*ferric*) yang dapat mengakibatkan perubahan warna daging ikan tuna dari merah segar menjadi coklat.

Penyuntikan karbonmonoksida pada daging ikan tuna dapat mempertahankan warna merah daging ikan tuna pada saat penyimpanan dan pengangkutan. Senyawa karbonmonoksida dapat bereaksi dengan myoglobin menjadi karboksimioglobin yang merupakan bentuk stabil dari pigmen merah dalam daging ikan tuna. Karboksimioglobin dapat mencegah terjadinya proses oksidasi dibanding oksimioglobin karena senyawa

karbonmonoksida memiliki daya ikat yang lebih kuat terhadap mioglobin dibanding oksigen (Livingston dan Brown, 1981).

2.3.4 Kemunduran Mutu Akibat Histidin dan Histamin

Menurut Hadiwiyoto (1993), histamin terbentuk dari degradasi histidin yang dikatalis oleh enzim *histidine dekarboksilase*. Senyawa histamin tidak berbau busuk, tetapi keberadaannya dalam daging ikan menjadi berbahaya.Senyawa histamin bersifat racun dan dapat menimbulkan keracunan yang disebut *"Scromboid Food Poisoning"*.

Kandungan histidin pada protein daging antara 3% dan 5%, tetapi ikan jenis *Horse mackerel*, *Japanese pilchard*, *mackerel*, dan *Pacific saury* mengandung antara 4% dan 6% histidin, bahkan cakalang, *yellowtail*, madidihang, daging *bluefin* tuna mengandung histidin antara 8% dan 9% (Alasalvar *et al.*, 2011). Kandungan histidin bebas pada jaringan ikan tuna lebih tinggi dari spesies ikan lainnya, sehingga kadar histamin dapat meningkat jika dilakukan penyimpanan dan penanganan yang salah (Wahyuni, 2011).

Penyimpanan ikan pada kondisi suhu rendah sejak ikan ditangkap hingga dikonsumsi merupakan hal yang sangat penting untuk mengurangi kerusakan ikan dan menghindari terjadinya keracunan histamin.Suhu rendah mengontrol bakteri penghasil histamin selama ikan ditangani dan diolah (Widiastuti, 2008).

2.3.5 Kemunduran Mutu Secara Fisik

Penurunan mutu secara fisik adalah kerusakan pada bagian luar tubuh ikan tuna yang terjadi akibat penanganan dan perlakuan yang kurang baik sehingga dapat mempengaruhi mutu. Penanganan lebih awal akan sangat berpengaruh terhadap kualitas mutu yang dihasilkan.perubahan fisik ikan yang terjadi pada proses kematian ikan karena diangkat dari air adalah:

1) Lendir yang berada dipermukaan ikan akan keluar secara berlebih saat ikan mati dan ikan akan menggelepar mengenai benda disekelilingnya. Ikan yang terkena benturan benda yang keras, kemungkinan besar tubuh ikan akan menjadi memar dan luka-luka.
2) Ikan mati akan mengalami kekakuan tubuh (rigormortis) yang diawali dari ujung ekor menjalar ke arah bagian kepalanya. Lama kekakuan tergantung dari tingkat kelelahan ikan pada saat kematiannya. Kerusakan ikan akan mulai terlihat yaitu berupa perubahan-perubahan seperti berkurangnya kekenyalan perut dan daging ikan, berubahnya warna insang, berubahnya kecembungan dan warna mata ikan,

sisik lebih mudah lepas dan kehilangan kecemerlangan warna ikan, berubahnya bau dari segar menjadi asam.

3) Perubahan tersebut akan meningkat intensitasnya sesuai dengan bertambahnya tingkat penurunan mutu ikan, sehingga ikan menjadi tidak layak untuk dikonsumsi atau busuk.

Kesegaran ikan dapat dinilai menggunakan metode inderawi atau organoleptik dengan mengamati bagian tubuh ikan yang sensitif terhadap perubahan mutu dagingnya.Perubahan mutu tersebut seperti warna, rasa, kekenyalan dan kekompakan daging, kondisi mata, kondisi insang, dinding perut, bau atau aroma.

2.3.6 Kemunduran Mutu Secara Bakteriologis

Penurunan mutu secara bakteriologis yaitu suatu proses penurunan mutu yang terjadi karena adanya kegiatan bakteri yang berasal dari lingkungan dan dalam tubuh ikan . ikan hidup memiliki kemampuan untuk mengatasi aktivitas bakteri yang terdapat dalam tubuh ikan. Bakteri yang hidup dalam saluran pencernaan, insang, saluran darah, serta permukaan kulit tidak dapat menyerang bagian-bagian tubuh ikan karena masih memiliki daya tahan terhadap serangan bakteri.

Menurut Murniyati dan Sunarman (2000), ikan yang telah mati tidak dapat mempertahankan aktivitas bakteri karena kemampuan daya tahan tubuh ikan telah hilang, sehingga bakteri mulai berkembang biak dengan sangat pesat dan menyerang tubuh ikan. Bakteri menjadikan daging ikan sebagai makanan dan tempat hidupnya. Sasaran utamanya adalah protein ataupun hasil-hasil penguraiannya dalam proses autolisis, dan substansi-substansi non-nitrogen. Penguraian yang dilakukan oleh bakteri ini (disebut *bacterial decomposition*) menghasilkan pecahan-pecahan protein yang sederhana dan berbau busuk, seperti ~~C_O2~~C_O2, H_2S, amoniak, indol, skatol, dan lain-lain.

Menurut Murniyati dan Sunarman (2000), setiap jenis bakteri memerlukan suhu tertentu untuk dapat hidup dengan baik..Pencegahan yang dilakukan untuk menghambat aktivitas bakteri yaitu dengan menurunkan suhu hingga di bawah 0^0C atau menaikkan hingga di atas 100^{o}C.

2.4 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Penurunan Mutu IkanTuna

Menurut Ilyas (1983), faktor-faktor yang mempengaruhi mutu produk perikanan adalah suhu, lama proses penanganan, kebersihan, serta cara kerja.

2.4.1 Suhu

Suhu memiliki peranan penting dalam upaya mempertahankan mutu produk beku. Faktor suhu berperan dalam keseluruhan usaha produk, baik sejak awal ditangkap hingga menjadi produk akhir. Suhu ikan tuna di atas 0^0C akan mengalami kemunduran mutu yang terjadi secara kimia maupun mikrobiologi (Hadiwiyoto, 1993). Proses pembusukan pada ikan tuna yang disimpan pada suhu 3^0C-5^0C terjadi pada hari ke 12. Bakteri pembusuk hidup pada suhu antara 0^0C-30^0C dengan suhu optimal 15^0C. Suhu yang diturunkan dengan cepat hingga di bawah 0^0C atau pada kisaran suhu -1^0C-5^0C maka proses pembusukan akan terhambat, pada suhu ini kegiatan enzim perusak akan terhambat, sedangkan kegiatan bakteri patogen akan terhenti (Moelyanto, 1992). Dasar inilah yang digunakan untuk proses penanganan pada tuna loin beku, yakni penggunaan suhu rendah dengan teknik pendinginan dan pembekuan.

Pendinginan merupakan proses pengawetan dengan suhu rendah (-1^0C-5^0C) yang bertujuan untuk menghambat aktivitas mikroorganisme, proses kimia, dan proses fisik lainnya yang dapat mempengaruhi kesegaran mutu. Pembekuan tuna loin merupakan salah satu cara menghentikan terjadinya proses penurunan mutu dengan suhu yang digunakan yaitu -18^0C sampai -30^0C (Ilyas, 1983). Menurut BSN (2006), proses penanganan tuna loin beku harus mempertahankan suhu produk maksimal 4,4^0C dan proses pembekuan maksimal -18^0C. Suhu tuna loin yang tidak diperhatikan akan berpengaruh terhadap mutu produk akhir tersebut. Keberhasilan penanganan tergantung pada stabilitas suhu selama penanganan. Semakin rendah suhu yang dapat diturunkan dan semakin stabil suhu tersebut dipertahankan selama penanganan, maka mutu atau kualitas yang didapat akan semakin baik.

2.4.2 Lama Proses Penanganan

Lama proses berkaitan dengan lamanya waktu suatu proses penanganan, perlakuan dan waktu penyimpanan yang dialami oleh produk beku. Tertundanya waktu proses penanganan dapat mempengaruhi mutu dari produk tersebut, maka dari itu proses penanganan harus dilakukan sesegera mungkin dengan menggunakan suhu rendah antara -1^0C – 5^0C. Semakin panjang waktu penyimpanan produk pada suhu rendah, maka semakin besar pengaruhnya terhadap produk beku tersebut (Ilyas, 1983). Produk yang

disimpan dalam waktu lama sebaiknya digunakan suhu penyimpanan yang rendah yaitu berkisar pada -18oC untuk mencegah terjadinya dehidrasi pada produk.

2.4.3 Kebersihan

Faktor kebersihan memiliki peranan yang sangat penting dalam pemantapan mutu produk.Faktor kesehatan dan higienis selalu ditunjukkan oleh keadaan bakteri dari kesegaran produk dan faktor suhu produk. Indikator yang digunakan yaitu jumlah bakteri yang terdapat pada produk beku, kondisi tempat penanganan, peralatan, dan bahan yang terlihat dalam proses produksi (Nasution, 2009).

Sanitasi perlu diperhatikan baik bagi produknya maupun yang berhubungan selama proses penanganan. Sarana dan peralatan yang digunakan serta kebersihan para pekerja diusahakan agar terhindar dari kontaminasi silang dengan produk (Ilyas, 1983). Faktor kebersihan ini harus diperhatikan karena akan mempengaruhi mutu produk akhir yang dihasilkan.

2.4.4 Cara Kerja

Kecermatan dalam penanganan harus dilakukan agar tuna loin tidak rusak, maka dari itu digunakan prosedur penanganan tiap jenis, ukuran dan tujuan pemanfaatan serta pemasarannya. Semua kerusakan tuna loin akan menyebabkan tuna loin tidak terjual, masa simpan yang singkat, berkurang mutunya, dan terjadi penolakan dari negara ekspor (Ilyas, 1983). Proses penanganan diperlukan tenaga kerja yang cermat, cepat dan teliti agar didapatkan produk yang memiliki mutu baik dan sesuai standar.

Tabel 2. Tahap-tahap kerusakan ikan

Tingkat	**Perubahan jaringan**	**Perubahan organoleptik**	**Total bakteri**	**Perubahan kimia****
Tahap I(0-5 hari dalam es)	Rigor mortis ATP → inosin sedikit naik, TMA perubahan jenis bakteri	Mata cerah Daging segar Warna baik Insang cerah bau segar	10^2-10^3/cm^2	TMA ≤ 1-1,5 mg% VRS ≤ 2-8 unit
Tahap II (5-10 hari dalam es)	Perubahan bakteri jadi nyata inosin → hipoxantin TMAO→ TMA NH_3 meningkat	Mata mulai redup Warna insang pucat Warna kulit pucat Bau netral sampai bau anyir Tekstur melunak	10^3-10^6/cm^2	TMA <5 mg% VRSCA 5-10 unit TBV ≤15 mg%
Tahap III (10-14 hari dalam es)	Bakteri tumbuh cepat Penetrasi jaringan Hipoxantin → xanthin Asam urat dan lain-lain TMA meningkat cepat TVB dan TVA naik	Mata tenggelam Insang berubah warna dan berlendir Bau asam dan hanyir Tekstur lunak	10^6-10^8/cm^2	TMA ~ 10 mg% VRS ~10-15 unit TVB 20-30 mg% TVA 15-20 mg%
Tahap IV (lebih dari 14 hari dalam es)	Jumlah bakteri tetap Beberapa perubahan spesies Kerusakang umum daging TVB dan TVA naik Proteolisis mulai H_2S dan produk lain terbentuk	Mata opak dan tenggelam Insang memuutih dan berlendir Kulit sangat berlendir Tekstur sangat lunak Bau menyengat	10^8/cm^2	TMA >10 mg% VRS > 20 unit TVB > 30 mg% TVB ≥ 60 mg% H_2S indol dan lain-lain Nyata

**)TMA : Trimetilamin dinyatakan sebagai mg/100 g ikan; TVB : Total Basa Volatil dinyatakan sebagai mg/100 g ikan; TVA : Total Asam Volatil dinyatakan sebagai mg/100 g ikan; VRS: senyawa produksi volatil, dinyatakan sebagai mg/100 g ikan.

2.5 *Salmonella* sp.

Salmonella sp adalah penyebab utama dari penyakit yang disebarkan melalui makanan (*foodborne diseases*).Pada umumnya, serotipe Salmonella menyebabkan penyakit pada organ pencernaan. Penyakit yang disebabkan oleh Salmonella disebut salmonellosis.

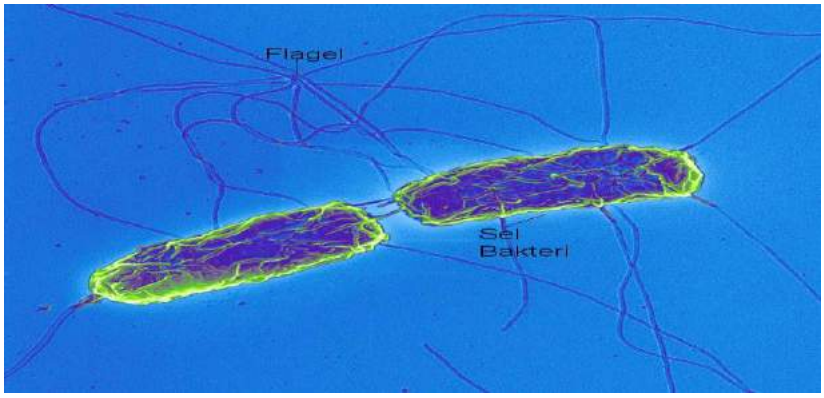
Ciri-ciri orang yang mengalami *salmonellosis* adalah diare, keram perut, dan demam dalam waktu 8-72 jam setelah memakan makanan yang terkontaminasi oleh *Salmonella* sp. Gejala lainnya adalah demam, sakit kepala, mual dan muntah-muntah. Tiga serotipe utama dari jenis *S. enterica* adalah *S. typhi*, *S. typhimurium*, dan *S. enteritidis*. S. typhi menyebabkan penyakit demam tifus (*Typhoid fever*), karena invasi bakteri ke dalam pembuluh darah dan gastroenteritis, yang disebabkan oleh keracunan makanan/intoksikasi. Gejala demam tifus meliputi demam, mual-mual, muntah dan kematian. *S. typhi* memiliki keunikan hanya menyerang manusia, dan tidak ada inang lain. Infeksi Salmonella dapat berakibat fatal kepada bayi, balita, ibu hamil dan kandungannya serta orang lanjut usia. Hal ini disebabkan karena kekebalan tubuh mereka yang menurun. Kontaminasi Salmonella dapat dicegah dengan mencuci tangan dan menjaga kebersihan makanan yang dikonsumsi.

2.6 Klasifikasi dan Morfologi *Salmonella* sp

Klasifikasi bakteri *Salmonella* sp termasuk kedalam:

Kingdom : *Protophyta/protista*
Class : *Scizimycetes*
Ordo : *Eubacteriaceae*
Famili : *Eubacteriaceae*
Genus : *Salmonella*
Species : *Salmonella sp*

Salmonella sp merupakan bakteri bentuk batang denga ukuran 1 µm-3,5 µm × 0,5 µm-0,8 µm, motil kecuali *S. galinarum* dan *S. pullorum* nonmotil, tidak berspora dan bersifat gram negatif, bergerak dengan flagel peritrik, berukuran 2-4 µm x 0.5-0,8 µm. *Salmonella* sp tumbuh cepat dalam media yang sederhana (Jawet'z, et al., 2005), hampir tidak pernah memfermentasi laktosa dan sukrosa, membentuk asam dan kadang gas dari glukosa dan manosa, biasanya memporoduksi hidrogen sulfide atau H_2S, pada biakan agar koloninya besar bergaris tengah 2-8milimeter, bulat agak cembung, jernih, smooth, pada media BAP tidak menyebabkan hemolisis, pada media Mac Concey koloni *Salmonella* sp tidak memfermentasi laktosa (NLF), konsistensinya smooth (*World Health Organization*, 2003), *Salmonella* sp dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Mikroskopis kuman *Salmonella* sp. (http//. www.Mikrobiologi Lab.com)

2.6 Media Tumbuh *Salmonella* sp

Menumbuhkan *Salmonella* sp dapat digunakan berbagai macam media, salah satunya adalah media *Hektoen Enteric Agar* (HEA).Media lain yang dapat digunakan adalah SS agar, bismuth sulfite agar, brilliant green agar, dan xylose-lisine-deoxycholate (XLD) agar. HEA merupakan media selektif-diferensial. Media ini tergolong selektif karena terdiri dari bile salt yang berguna untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan beberapa gram negatif, sehingga diharapkan bakteri yang tumbuh hanya *Salmonella* sp. Media ini digolongkan menjadi media diferensial karena dapat membedakan bakteri *Salmonella* sp dengan bakteri lainnya dengan cara memberikan tiga jenis karbohidrat pada media, yaitu laktosa, glukosa, dan salisin, dengan komposisi laktosa yang paling tinggi. *Salmonella* sp tidak dapat memfermentasi laktosa, sehingga asam yang dihasilkan hanya sedikit karena hanya berasal dari fermentasi glukosa saja. Hal ini menyebabkan koloni *Salmonella* sp akan berwarna hijau-kebiruan karena asam yang dihasilkannya bereaksi dengan indikator yang ada pada media HEA, yaitu fuksin asam dan bromtimol blue.

2.7 Uji Kualitatif *Salmonella* sp

Menurut Fardiaz (1993), *Salmonella* sp tergolong bakteri bakteri enterogenik yang pengujiannya dapat dibedakan menjadi dua yaitu: uji kualitatif dan uji kuantitatif. Bakteri enteropatogenik pada umumnya terdapat dalam jumlah yang kecil didalam makanan atau produk, namun jumlah tersebut sudah cukup untuk dapat menimbulkan gejala sakit bagi yang mengonsumsinya.Bakteri *Salmonella* sp dapat menyebabkan diare yang disertai mual-mual, demam dan muntah-muntah dimana dalam keadaan akut dapat merusak hati, ginjal dan empedu.

Bakteri-bakteri dalam uji kuantitatif tidak dapat terdeteksi, oleh karena pertumbuahan tertutup mikroba-mikroba lainnya yang terdapat dalam makanan, karena alasan inilah maka uji kuantitatif tidak efesien dilakukan terhadap bakteri enteropatogenik dan cukup dilakukan uji kualitatif.

Uji kualitatif terdiri dari beberapa tahap untuk memperbanyak jumlah bakteri-bakteri sehingga memudahkan untuk mendeteksi dan mengisolasinya.Tahap-tahap tersebut terdiri dari.

2.8.1. Tahap Pra pengkayaan

Pendeteksian *Salmonella* sp dengan adanya berbagai media spesifik yang cukup sensitif sangat membantu sensitifikasi dalam pengujian, selain itu sensitfikasi pada pengujian *Salmonella* sp juga dapat dipertinggi dengan memperbanyak jumlah contoh yang diuji (Fardiaz, 1993). Rasio ukuran sampel yang umum untuk volume broth prapengkayaan 1 : 10, sedangkan ukuran sampel yang semakin besar misalnya 10 g/ 90 ml, 25 g/225 ml. Pada tahap ini sampel diperkaya dengan nutrisi media nonselektif yang bertujuan untuk meyimpan kembali *Salmonella* sp yang rusak/terluka pada saat pengolahan produk misalnya pembekuan sampai kondisi stabil.

2.8.2. Tahap Pengkayaan

Broth pengkayaan selekif digunakan dalam analisa makanan dengan tujuan untuk meningkatkan populasi *Salmonella* sp dan menghambat organisme pada sampel makanan. Broth atau media yang digunakan adalah Selenite *Cystine Broth* (SCB) dan *Tetrahionate Broth* (TTB). Maksud daripada penggunaan ini media tersebut adalah bahwa pada media SCB dengan adanya kandungan selenit pada media ini akan dapat menghambat bakteri *coliform* yang *enterecocci* yang terjadi pada inkubasi pertama (6-12 jam). Efek dari adanya *cystin* dapat mengurangi pertumbuhan bakteri hingga serendah mungkin dan selenit menghasilkan racun bagi beberpa jenis mikrooganisme *coliform* yang enterecocci .Media TTB dapat digunakan untuk pengkayaam *Salmonella* sp pada daging dan produk perikanan. Tetraionate dihasilkan dari thio sulfat dengan penambahan iodine pada kultur yang fungsinya dapat mengambat bakteri *coliform*. Sedangkan *Salmonella* sp tidak dihambat dengan adanya tetrahionate, akan tetapi dapat mengiragi kandungan tatrahinate dengan menggunakannya dalam proses metabolisme. Kalsium karbonate sebagai buffer (penyangga) akan membebaskan asam sulfur ketika tetrahinate berkurag. Yang mana saat ini dapat merangsang pertumbuhan *Salmonella* sp dan menghambat jenis bakteri lainnya.

2.8.3. Tahap Media Selektif Agar

Beberapa media agar yang direkomendasikan sebagai media selektif antara lain adalah *Bhismut Sulfit Agar* (BSA), *xylase lysine Desoxycholate* (XLD) dan *Hektoen enteric* (HE).

Pembacaan koloni *Salmonella* sp pada BSA dan koloni berwarna keabu-aban atau kehitaman kadang-kadang metalik, media disekitarkoloni berwarna cokelat kemudian berubah hitam denga semakin lamanya inkubasi (Anonim, 2007).

Media ini berfungsi untuk mengisolasi dan mengidentifikasikan pendugaan *Salmonella* sp dan *Sigella* yang lebih spesifik dari pada menggunakan media SCB.*Salmonella* sp dibedakan dari bakteri yang bukan pathogen dengan mempermentasi *xylose dan lysen* dalam media yang menyebabkan terdapat koloni warna pink dalam media.Bakteri yang bukan patogen tidak dapat mempermentasi *xylose dan lysine* keberadaan *Salmonella* sp ditandai dengan adanya indikaror H_2S yang berwarna hitam.XLD mengandung sodium *desoxycholate* untuk menghambat *coliform* tanpa menurunkan kemampuan pertumbuhan *Salmonella* sp.

Media ini merupakan media selektif yang digunakan untuk mengidentifikasi jenis *Salmonella* sp dan *sigella* dari bakteri patogen yang lainnya. Penambahan karbohidrat (sukrosa dan silisin) akan memberikan perbedaan pada koloni lactosa yang tidak mendapatkan penambahan. Ada dua indikator yaitu bromthymol blue dan asam *puchsyn*akan memberikan warna yang berbeda pada koloni lactosa positif dan negatif. Peningkatan kandungan laktosa lebih cepat membantu organisme fermentasi laktosa. Tiosulfat dan garam besi akan mendeteksi produksi H_2S pada *Salmonella* sp yang akan membentuk koloni positif yang berwarna hitam. Salah satu sifat *Salmonella* sp adalah mampu menghasilkan H_2S yang diindikasikan dengan adanya warna hitam campuran garam bile akan menekan pertumbuhan mikroorganisme lainnya.

Pelaksanaan metode pengujian konfensional, koloni tersangka dari agar selektif dipindahkan ketabung-tabung agar selektif isolasi karakteristik biokimia pendahuluan. Media yang umum digunakan non yaitu *Triple Sugar Iron* (TSI) dan *Lysin Iron Agar* (LIA).

TSI adalah media kultur yang digunakan untuk mengetahui adanya *enterobacteriaceae*. Media ini berfungsi untuk membedakan enterobakter menurut kemampuannya untuk memfermentasi laktosa, sukrosa dan glukosa dengan menghasilkan hidrogen sulfida (H_2S). ~~penurunan~~ Penurunan gula terbentuk dari adanya

produksi oleh adanya phenol red yang akan merubah warna dari orange kemerah-merahan menjadi kuning. Sedangkan pada kondisi alkalin (basa) akanmenjadi merah.

LIA digunakan untuk mendeteksi bersama *dari lysine Decarboxylase* dan produksi H_2S dalam identifikasi *enterebactericeace* khususnya *Salmonella* sp. Pembacaan *Salmonella* sp untuk LIA miring adalah bult bersifat alkalin ditunjukan dengan warna ungu dan slant besifat alkalin ditunjukan dengan warna ungu pula (Anonim, 2007).

2.8.4. Tahap Uji Biokimia

Pada uji biokimia meliputi beberapa tahapan yaitu uji urase, tujuan dari uji urase adalah untuk mengetahui atau mendeteksi mikroorganisme yang mampu memetabolisme urea, dimana mikroorganisme yang memetabolisme urea menyebabkan media berubah warna dari kuning menjadi keruh.Hal ini disebabkan adanya pertumbuhan mikroorganisme tersangka. Inokulasi pada media yamg mengandung *Salmonella* sp ditunjukan tidak terjadinya perubahan warna.Reaksi spesifik *Salmonella* sp untuk uji urase memberikan hasil negatif yaitu tidak terjadi perubahan warna dan terjadi pertumbuhan bakteri, sedangkan untuk hasil positif terjadi perubahan warna media dari merah jingga menjadi ungu sampai merah (Anonim, 2007).

Uji Dulcitol Broth pada hasil pada hasil positif ditujukan dengan perubahan warna dari kuning yang mengbah wananya menjadi ungu karena adanya indikator *bromerssol purple* -hasil negatif ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna media.

Potassium Cyanide Broth (KCN broth) adalah media yang ditujukan untuk megetahui sensitifikasi mikroorganisme terhadap KCN. Cara kerja KCN terhadap mikroorganisme yang diuji yaitu dihambatnya pertumbuhan beberapa dengan konsentrasi yang sangat lambat dari KCN.Sebagian kecil mikroorganisme yang sensitif dapat tumbuh pada media ini dan menyebabkan kekeruhan.*Salmonella* sp menunjukan reaksi negatif terhadap KCN.Reaksi positif ditunjukan dengan adanya pertumbahan (Anonim, 1994).

Uji pada Malonate Broth terhadap mikrorganisme bila reaksi negaitif tidak terjadi perubahan warna media yaitu tetap berwarna hijau, sedangkan bila hasilnya positif akan bersifat alkalin ditunjukan dengan perubahan warna media yang semula berwarna hijau berubah menjadi biru karena reaksi alkalin dar indikator bromethymol blue. Sebagian besar *Salmonella* sp hasilnya negatif.

Media ini digunakan untuk uji indol *yaitu Tryptone Broth.* Media biakan yang kaya akan triptofan. Reaksi positif ditanai dengan terbentuknya cincin kuning.*Salmonella* sp bereaksi negatif terhadap indol (Anonim, 2007).

Uji Methyl Red dan *voges-Proskour* (MR-VP test) adalah uji mengetahui asam campuran.Tujuan uji ini digunakan sebagai pembeda pada kelompok *Coli aerogenes.*Beberapa bakteri menggunakan glukosa untuk membentuk asam dengan menghasilkan penurunan nilai pH mencapai 4,4. Beberapa spesies lain akan memproduksi asam sehingga pHnya akan turun. Perbedaan ini dapat divisualisasikan denan pnggunaan MR (kuning), pH : ,5,1 dan merah pH :4,4. Banyak mikroorganisme akan memetabolisme glukosa (dektosa) untuk memproduksi acetoin.

Vp bertujuan untuk mengetahui mikroorgisme yang dapa memfermentasi glukosa yang ditambahkan 0% KOH dan 5% larutan alfa naftol dalam etanol dapat menentukan adanya acetion, dimana senyawa ini dapat dideteksi dengan adanya reaksi oksidasi dibawah kondisi basa dan kontak dioksidasi dan menjadi *diachethyl* yang berwarna merah. Pada umumnya *Salmonella* sp akan memberikan reaksi negatif ditandai dengan tidak adanya perubahan warna media menjadi pink.

Pengujian sitrat digunakan untuk mengetahui kemampuan mikroorganisme menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi.Simmon's Citrate agar merupakan media sintetik, yang dapat menyebabkan penigkaan pH dan mengubah warna dari hijau menjadi warna biru. Kebanyakan *Salmonella* sp memberikan hasil sitrat positif, reaksi negatif tidak atau sedikit sekali pertumbuhan dan tidak terjadi perubahan warna media (Bibiana, 1994).

2.8.5. Tahap Uji Serlogi

Uji serologi digunakan untuk mengetahui secara kualitatif dan kuantitatif respon tubuh terhap penyakit infeksi.Uji serologi digunakan dalam diagnostik penyakit infeksi karena reaksinya spesifik, selain itu hasil uji memerlukan waktu yang jauh lebih pendek dari pada uji diagnostik yang biasanya dilakukan. Kontrol positif dan negatif diperlukan dalam pengujian, karena untuk memastikan bahwa cara mengerjakan dan antiserum yang digunakan benar. Hasil pengujian absah bila kontrol positif dan negatif menunjukan hasil yang sesuai (Bibiana, 1994)

Antigen didalam reaksi dapat berupa sel atau partikel. Serotipe *Salmonella* sp ditandai dengan adanya antigen somatik (O) dan flagelar (H) sangat monolog dalam

identifikasi.Uji aglutinasi polyvalen somatic (O) dilakukan dengan metode glass obyek yang menggunakan biakan bakteri dari TSI.

2.9 . Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroorganisme

Ada bebrapa faktor (baik faktor fisik maupun faktor fisilogi dan biokoimia) yang mempengaruhi pertumbuhan suatu mikrooganisme, sehingga menyebabkan suatu mikroorganisme dapat tumbuh dan berkembang biak pada suatu bsahan atau sediaan lainnya. Faktor-faktor trsebut atara lain.

2.9.1 Air (a_w)

Mikroorganisme memerlukan air untuk hidup dan berkembang biak, oleh krena itu pertumbuhan mikroorganisme dalam suatu makanan sangat dipengaruhi oleh jumlah air yang dapat digunakan oleh mikroorganisme tersebut. Mikroorganisme mempunyai a_w yang berbeda-beda untuk pertumbuhannya. Dibawah a_w minimal tesebut mikrooganisme tidak akan tumbuh dan berkembang biak dengan baik, meskipun mungkin tidak mati.

Bakteri-bakteri penyebab penyakit seperti *Sataphylococcus aureus*, pada umumnya tidak dapat tumbuh dan berkembng biak dengan baik pada a_w kurang dari 0,90 demikian juga halnya dengan *Pseudomonas* sp yang mepunyai beberapa spesies yang dapat menimbulkan penyakit hanya dapat tumbuh pada a_w minimal 0,97, sedangkan a_w minimal untuk *Escherichia coli* dan *Clostridium botolinum* penyebab intoksikasi yang dapat tumbuh pada a_w yang rendah yaitu kurang dari 0,90 bahkan ada beberapa strain masih dapat tumbuh pada a_w 0,86.

2.9.2 Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor penting di dalam mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Suhu dapat mempengaruhi mikroba dalam dua cara yang berlawanan:

1) Apabila suhu naik maka kecepatan metabolisme naik dan pertumbuhan dipercepat. Sebaliknya apabila suhu turun, maka kecepatan metabolism akan menurun dan pertumbuhan diperlambat.
2) Apabila suhu naik atau turun secara drastis, tingkat pertumbuhan akan terhenti, komponen sel menjadi tidak aktif dan rusak sehingga sel-sel menjadi mati.

Berdasarkan hal diatas, maka suhu yang berkaitan dengan pertumbuhan mikroorganisme digolongkan menjadi tiga, yaitu:

a. Suhu minimum yaitu suhu yang apabila berada di bawahnya maka pertumbuhan terhenti.

b. Suhu optimum yaitu suhu dimana pertumbuhan berlangsung paling cepat dan optimum disebut juga suhu inkubasi.
c. Suhu maksimum yaitu suhu yang apabila berada di atasnya maka pertumbuhannya tidak terjadi.

Semua proses pertumbuhan bergantung pada reaksi kimiawi dan area laju reaksi-reaksi ini dipengaruhi oleh suhu, maka pola pertumbuhan bakteri sangat dipengaruhi oleh suhu. Suhu juga mempengaruhi laju pertumbuhan dan jumlah total pertumbuhan organisme. Keragaman suhu dapat juga mengubah proses-proses metabolik tertentu serta morfologi sel. Setiap spesies bakteri tumbuh pada suhu tertentu, atas dasar ini maka bakteri dapat dilasifikasikan sebagai berikut: psikrofil yang tumbuh pada suhu 0^0C-30^0C; mesofil tumbuh pada suhu 25^0C sampai 40^0C; dan thermofil tumbuh pada suhu 50^0C atau lebih.

2.9.3 Atmosfer Gas

Gas-gas yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah oksigen dan karbon dioksida. Berdasarkan atas keberadaan oksigen tersebut maka mikroorganisme dikelompokkan atas beberapa kelompok yaitu:

1) Mikroorganisme yang bersifat aerobik, yaitu mkroorganisme yang memerlukan oksigen yang cukup untuk pertumbhannya
2) Mikroorganisme yang bersifat anaerobik yaitu mikroorganisme yang hanya dapat tumbuh apabila tidak ada oksigen
3) Mikroorganisme yang bersifat fakultatif anaerobik yaitu mikroorganisme baik ada oksigen atau tidak ada oksigen akan tetap tumbuh. Namun pada umumnya mikroorganisme yang bersifat fakultatif anaerobik akan tumbuh lebih baik pada keadaan anaerobik.

2.9.4 Keasaman atau kebasaan (pH)

pH optimum pertumbuhan bagi kebanyakan bakteri terletak antara 6,5 dan 7,5, namun beberapa spesies dapat tumbu dalam keadaan sangat asam atau sangat alakalin. Kebanyakan spesies nilai pH maksimum dan mnimum ialah antara 4 dan 9.

2.9.5 Kondisi Lain-lain

Beberapa kelompk bakteri mempunyai pesyaratan tumbuh, antara lain: fotoautotrof/fotosintetik (cahaya adalah sumber energinya), bakteri halofilik (hanya tumbuh bila medianya mengandung konsentrasi garam yang tinggi), bakteri yang dipengaruhi tekanan osmotik atau tekanan hidrostatik, halofil obligat tidak akan tumbuh

kecuali bila konsentrasi garamnya tinggi, halofil fakultatif (tumbuh dalam lingkungan berkosentrasi garam rendah atau tingi).

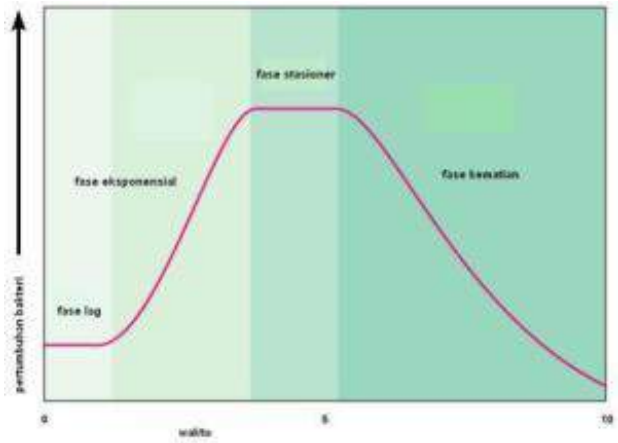
2.10. Pertumbuhan Bakteri

Reproduksi bakteri adalah pembelahan biner melintang; satu sel membelah diri menghasilkan dua sel, bila mulai dengan satu bakteri tunggal maka populasi bertambah secara geometrik:

$2^0 \rightarrow 2^1 \rightarrow 2^2 \rightarrow 2^3 \rightarrow 2^4 \rightarrow 2^n$

Atau dengan perhitungan sederhana,

$1 \rightarrow 2 \rightarrow 4 \rightarrow 8 \rightarrow 16 \rightarrow 32...$



Gambar 3. Kurva pertumbuhan bakteri (*Media unpad.ac.id/thesis*/PDF)

Tabel 3. Fase pertumbuhan bakteri

Fase Pertumbuhan	Ciri
Lamban (lag)	Tidak ada pertumbuhan populasi Sel mengalami perubahan dalam komposisi kimiawi dan bertambah ukurannya;substansi interseluler bertambah
Logaritma atau eksponensial	Sel membelah dengan laju yang konstan Massa menjadi dua kali lipat dengan laju yang sama Aktifitas metabolik konstan Keadaan pertumbuhan seimbang
Statis	Penumpukan produk beracun dan/atau kehabisan nutrien Beberapa sel mat, sdangkan yang lain tumbuh dan membelah Jumlah sel hidup menjadi tetap
Penurunan atau kematian	Sel mejadi mati lebih cepat dari pada terbentuknya sel-sel baru Laju kematian mengalami percepatan menjadi eksponesial Bergantung kepadaspesiesnya, semua sel mati waktu beberapa hari atau beberapa bulan

2.11. Persyaratan Mutu dan Keamanan Pangan Ikan Beku

Persyaratan dan keamanan pangan ikan beku dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Persyaratan mutu dan keamanan pangan ikan beku (BSN, 2014)

Parameter yang diuji	Satuan	Persyaratan
a. Sensori	-	Min.7 (Skor 1-9)
b. Kimia[a] - Histamin - TVB	 Mg/kg mgN%	 Maks. 100 Maks. 20
c. Fisika - Suhu pusat	 ºC	 Maks. -18
d. Cemaran mikroba - ALT - *Escherichia coli* - *Salmonella* sp - *Vibrio cholera*[a] - *Vibrio parahaemoliticus*[a] - *Listeria monocytogenes*[a, f]	 Koloni/g APM/g Per 25 g Per 25 g APM/g Per 25 g	 Maks. $5,0 \times 10^5$ < 3 Negatif Negatif < 3 Negatif
e. Cemaran logam[a] - Arsen (As) - Kadmium (Cd)	 Mg/kg Mg/kg Mg/kg Mg/kg	 Maks. 1,0 Maks. 0,1 Maks. 0,5[b] Maks. 0,05[d]
e. Cemaran logam[a] - merkuri (Hg) - Timah (Sn) - Timbal (Pb)	 Mg/kg Mg/kg Mg/kg Mg/kg Mg/kg	 Maks. 0,5 Maks. 1,0[b] Maks. 40,0 Maks. 0,3 Maks. 0,4[b] Maks. 0,2[d]
f. Cemaran fisik[a] - Filth		 0
g. Racun hayati[a] - Ciguatoksin[e]		 Negatif
h. parasit - Parasit cacing	 Ekor	 0

CATATAN:
a.bila diperlukan
b. untuk ikan predator
c. untuk ikan *scomroid, clupedidae, scombresocidae, pomatomidae, coryphaenedae*
d.untuk ikan yang dibudidayakan
e.untuk ikan karang
untuk ikan salmonid.

III. METODOLOGI

3.1 . Waktu dan Tempat

Penulisan tugas akhir berdasarkan pada praktek pengalaman kerja mahasiswa (PKPM) yang dilakukan di Laboratorium Balai Besar Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Makassar, Sulawesi Selatan, yang di mulai tanggal ~~15~~ Januari – ~~15~~ April 2019.

3.2 . Metode Penulisan

Untuk memperoleh data tentang analisis pengujian *Salmonea* sp pada daging tuna (*Thunnus albacore*) beku yaitu belajar dari lapangan dengan berperan aktif dalam setiap tahapan kegiatan pengujian. Adapun data yang dikumpulkan berupa data primer dan data sekunder yaitu:

1) Data primer adalah data yang dikumpulkan dan disatukan secara lansung dari hasil pengujian di Laboratorium Balai Besar Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Makassar, Sulawesi Selatan.
2) Data sekunder adalah data yang dikumpulkan dan disatukan oleh studi-studi sebelumnya dan beberapa literatur yang menyangkut dengan pengujian *Salmonella* sp

3.3 Alat dan Bahan

Semua alat dan media yang digunakan untuk pengujian *Salmonella* sp harus dalam keadaan steril. Adapun alat dan bahan yang digunakan dalam pengujian *Salmonella* sp yaitu sebagai berikut:

Alat yang digunakan yaitu:

- Timbangan
- Blender
- Pipet skala
- Petridish
- Tabung reaksi
- Rak tabung reaksi
- Inkubator
- Waterbath
- Jarum ose
- Autoclave
- Alat pengocok (vortex mixer)
- Bunsen
- pH meter
- spatula
- oven

Hot plate dan stirer

Media dan Pereaksi

- *Bismuth sufite Agar* (BSA)
- *Brain Heart Infusion Broth*
- *Hectoen Enteric* (HE) *Agar*
- *Lactose Broth* (LB)
- *Lysine Iron Agar* (LIA)
- *Malonate Broth*
- *Motility Test Medium*
- *MR-VP broth*
- Phenol red Carbohydrate Broth
- Purple Carbohydrate Broth
- Rapport-Vassiliadis (RV) medium
- Simmon Citrate Agar (SCA)
- Tetrathionate Broth (TTB)
- Triple Sugar Iron Agar (TSIA)
- Tripticase Soy-Triptose Broth
- Tryptone Broth
- Xylose Lysine Desoxycholate (XLD)
- Aquadest
- Ethanol 70%
- Larutan Brilian green dye
- Reagen covacs
- Indikator methyl Red
- Larutan Physiological Saline 0,85%
- Larutan Photasium Hidroxida 40%
- Reagen VP
- Bakteri Kontrol Positif

Bahan yang digunakan dalam pengujian *Salmonella* sp yaitu :

- Fresh Frozen Loin Fish

3.4 . Prosedur Kerja

Uji Identifikasi Bakteri *Salmonella* sp

a. Persiapan Sampel Ikan Tuna

Daging ikan tuna diambil secara acak lalu di timbang 25gr dengan timbangan analitik.

b. Pengkayaan Bakteri pada Media *Lactose Broth* (LB)

1. Sebanyak 25 gram sampel ikan tuna dimasukkan kedalam plastik lalu ditambahkan 225 ml larutan *Lactose Broth* (LB).
2. Sampel dihomogenisasi dengan menggunakan *stomatcher selama* ± 3 menit
3. Sampel diinkubasi pada inkubator kering selama ± 24 jam pada suhu 43ºC

c. Pengkayaan Bakteri Pada Media *Rapaport Vassiliadis* (RV) *dan Tetrahionate Broth* (TTB)

1. Hasil pengayaan bakteri pada media LB di dalam inkubator di-aduk dengan hati - hati menggunakan spatula, lalu di-campurkan ke dalam media RV dan TTB yang ada di dalam tabung reaksi yang telah disapkan sebanyak 1 ml dengan finnpippette.
2. Setiap tabung reaksi diberi label
3. Tabung reaksi lalu diinkubasi kembali ke *Waterbath Incubator* (Inkubasi basah) selama ± 24 jam, pada suhu 43ºC.

d. Uji pada Media Selektif Agar HE, BSA, dan XLD

1. Media TTB dan RV yang telah di inkubasi, kemudian setiap tabung reaksi yang telah diberi label di ambil sampel didalamnya dengan menggunakan Jarum Ose Lingkar
2. Setiap tabung lalu di pindahkan ke media HE, BSA,dan XLD dengan metode penggoresan :



Gambar 7. Formasi goresan untuk metode penggoresan

3. Di-inkubasi pada Inkubator kering selama ± 24 jam dengan suhu 42ºC.
4. Setelah itu dapat ditentukan petridish dengan media dan sampel apa yang positif diduga terdapat bakteri *Salmonella* sp. Dengan cara melihat warna yang di timbulkan masing-masing pada petridish.
5. Pada media HE, koloni akan berwarna hijau kebiruan dengan atau tanpa titik hitam dan H2S.
6. Pada media XLD, koloni akan berwarna pink dengan atau tanpa titik hitam dan H2S, atau terlihat hampir seluruh koloni berwarna hitam.

7. Pada media BSA, koloni akan berwarna keabu-abuan atau kehitaman,kadang-kadang metalik, media sekitar koloni berwarna hitam dengan makin lamanya waktu inkubasi.