

CEMARAN BAKTERI *ESCHERICIA COLI* DALAM BEBERAPA MAKANAN LAUT YANG BEREDAR DI PASAR TRADISIONAL KOTA PONTIANAK

Rafika Sari, Pratiwi Apridamayanti

Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura
Email : rafikasari.untan@gmail.com

ABSTRAK

Makanan laut merupakan salah satu jenis makanan yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat selain sebagai komoditi ekspor. Tingginya kandungan protein dan air serta pH-nya yang mendekati netral menjadikannya media yang cocok untuk pertumbuhan bakteri sehingga menyebabkan makanan laut cepat mengalami proses pembusukan. Mengonsumsi makanan laut yang telah terkontaminasi bakteri hidup atau toksin yang dihasilkannya dapat menyebabkan keracunan makanan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya kontaminasi bakteri koliform *E.coli* sebagai indikator pencemaran pada makanan laut dan memberikan informasi kelayakan dan keamanan konsumsi dari makanan laut di dua pasar tradisional terbesar di daerah Pontianak. Sampel yang digunakan adalah ikan, sotong dan udang. Penelitian terhadap sampel dilakukan menggunakan uji Most Probable Number (MPN) yang dilengkapi dengan uji biokimia untuk mengidentifikasi jenis bakteri pada sampel melalui penanaman bakteri pada media agar Lactose Broth (LB) dan Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB). Hasil penelitian menunjukkan bakteri koliform *E.coli* terdeteksi pada 100% sampel dengan nilai MPN yang tidak memenuhi kriteria kelayakan konsumsi, yakni $>3/g$, dengan nilai paling terbesar dimiliki oleh sampel sotong yang dijual di kedua pasar tradisional, yakni 220/g. Hasil uji biokimia menunjukkan sampel positif mengandung *E.coli* dengan terbentuknya cincin berwarna merah pada media uji.

Kata kunci : Koliform, Uji MPN, Makanan Laut

ABSTRACT

Marine food is one of the most consumed food by people besides as an export commodity. They contained high of protein and water, and its pH is near neutral making it is as suitable medium for growth of bacteria causing marine food experiencing rapid decay process. Consuming marine food that contaminated by bacteria or its toxins can cause food poisoning. The purpose of this study was to determine the presence of coliform bacteria *E.coli* contamination as an indicator of pollution in marine food and provide information on the feasibility and safety of seafood consumption in the two largest traditional market in the area of Pontianak. The samples used are fish, shrimp and cuttlefish. A study of the test sample using the Most Probable Number (MPN) method which is equipped with biochemical test to identify the type of bacteria in the samples through cultivation of bacteria on an agar medium Lactose Broth (LB) and Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB) and biochemical tests. The results showed coliform bacteria *E. coli* was detected in 100% of samples had MPN values $> 3 / g$. It means that the value do not meet the eligibility criteria consumption. The largest value owned by cuttlefish samples is 220/g that sold in both traditional markets. Biochemical test results showed a positive sample containing *E. coli* with the formation of a red ring color on the test medium.

Keywords : Coliform, MPN Test, Marine Food

PENDAHULUAN

Makanan laut merupakan makanan yang tinggi nutrient mengandung protein kualitas

tinggi, omega 3 dan sejumlah vitamin dan mineral yang penting bagi tubuh. Makanan laut merupakan sumber diet utama EPA dan DHA yang banyak dikonsumsi oleh

masyarakat Indonesia, khususnya masyarakat daerah Pontianak. Tingginya konsumsi makanan laut di Indonesia, termasuk di Pontianak disebabkan bahwa Indonesia merupakan negara maritim yang dikelilingi oleh perairan, sehingga sebagian besar masyarakatnya menjadikan makanan laut merupakan lauk utama.

Penelitian yang dilakukan lebih dari 20 tahun yang lalu menyatakan bahwa mengkonsumsi makanan laut dapat meningkatkan kesehatan, seperti peningkatan kesehatan jantung bagi orang dewasa dan meningkatkan aspek kognitif dan pengembangan visual terhadap bayi dan anak-anak. Akan tetapi, makanan laut dapat menyebabkan resiko bagi kesehatan apabila telah terpapar patogen. Makanan laut merupakan bahan pangan yang mudah rusak dan busuk bila tidak langsung dikonsumsi, dalam waktu 6-7 jam setelah penangkapan. Pembusukan yang terjadi dapat diakibatkan oleh bakteri yang menyerang jaringan hewan laut atau autolisis. Daging yang tercemar bakteri patogen akan berbahaya bila dikonsumsi karena akan menimbulkan penyakit. Menjamin keamanan pengonsumsi makanan laut dapat dilakukan dengan uji mikrobiologi dengan indikator adanya bakteri koliform pada makanan laut tersebut (Anonim, 2014)

Koliform merupakan suatu grup bakteri yang digunakan sebagai indikator adanya polusi, kotoran dan kondisi sanitasi yang tidak baik terhadap air, makanan, susu dan produk-produk susu (Buckle, 1987). Keberadaan bakteri koliform ini dapat dideteksi dengan uji mikrobiologi menggunakan metode MPN. MPN adalah suatu metode enumerasi mikroorganisme yang menggunakan data dari hasil pertumbuhan mikroorganisme pada medium cair spesifik dalam seri tabung yang ditanam dari sampel padat atau cair yang ditanam berdasarkan jumlah sampel atau diencerkan menurut tingkat seri tabungnya sehingga dihasilkan kisaran jumlah mikroorganisme yang diuji dalam nilai MPN/satuan volume atau massa sampel (Aryanta, 2001). Hal inilah yang melatarbelakangi penelitian ini dilakukan, yakni untuk mengetahui kualitas makanan laut yang berderas di Pasar tradisional di Pontianak dengan indikator

nilai MPN cemaran bakteri *E.coli* dan memberikan informasi kelayakan konsumsi makanan laut kepada masyarakat Kota Pontianak.

METODE

Bahan. Bahan-bahan yang akan digunakan di dalam penelitian ini antara lain adalah sampel makanan laut berupa ikan gembung, sotong dan udang segar yang diperoleh dari pasar tradisional Flamboyan dan Dahlia di Kota Pontianak, aquadest, medium *Lactose Broth* (LB), medium *Briliant Green Lactose Broth* (BGLB), Endo agar, *Nutrient Agar* (NA), larutan kristal violet, larutan lugol, safranin, alkohol 95%, minyak imersi, alkohol 70%, aluminium foil, kertas payung, karet tahan panas dan kertas wrapping.

Alat. Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah tabung reaksi, tabung durham, inkubator, cawan petri, erlenmeyer, gelas beker dan gelas ukur, pipet volume, mortir dan stamper, rak tabung reaksi, lampu spiritus, autoklaf, *object glass*, cover glass, mikroskop, mikro pipet, magnetik stirer, batang pengaduk, *yellow tip*, karet hisap, *hot plate* dan pipet tetes.

Metode Sampling. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif kualitatif, sedangkan penentuan lokasi dan sampel adalah secara *purposive sampling*. Sampel berupa makanan laut yang diambil dari dua pasar berbeda yang memiliki kriteria banyak dikunjungi oleh masyarakat pontianak yaitu pasar Flamboyan dan pasar Dahlia. Sampel berupa ikan gembung segar, sotong segar dan udang segar.

Sterilisasi Alat. Alat-alat yang akan digunakan dicuci dengan detergen lalu dibilas dengan aquades, kemudian dikeringkan. Alat-alat tersebut dibungkus dengan kertas payung dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit. Ose disterilkan dengan cara dipijarkan pada nyala api lampu spiritus.

Pembuatan dan Sterilisasi Medium

1. Medium Nutrient Agar (NA)
Sebanyak 2,3 gram medium NA kedalam 100 mL aquadest, kemudian dipanaskan sampai mendidih dan diaduk sampai homogen. Medium kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit.
2. Medium *Lactose Broth* (LB)
Sebanyak 13 gram medium LB dilarutkan dalam 1000 mL akuades, selanjutnya dipanaskan semua sampai homogen sambil diaduk. Medium disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit.
3. Medium Endo Agar
Sebanyak 5 gram medium *Mac Conkey* dilarutkan dalam 100 mL akuades, dipanaskan sampai mendidih dan larut semua. Medium kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit.
4. Medium *Briliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB)
Sebanyak 20 gram medium BGLB ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 500 mL akuades. Medium dipanaskan sampai mendidih kemudian diaduk sampai homogen. Medium kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit.

Metode Pengujian Mikrobiologi

1. Uji Penduga
Satu mL sampel air diinokulasi kedalam 5 mL tabung yang berisi medium LB, kemudian diinokulasi 0,1 mL air kedalam 1 tabung medium LB, setelah itu diinokulasi 0,01 mL sampel air 1 tabung medium LB. Semua tabung diinkubasi dalam inkubator dalam suhu 37°C selama 24 jam. Hasil pengamatan dicatat jika pada tabung durham terbentuk gas atau medium berwarna kuning keruh berarti positif.
2. Uji penegas
Pada uji penegas dilakukan 2 tahap pengujian yaitu:
 - a. Tahap I
Satu ose biakan dari setiap tabung uji penduga yang positif masing-masing diinokulasi kedalam 7 tabung yang berisi media BGLB, selanjutnya

diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian diamati adanya asam dan gas yang terbentuk. Hasil pengamatan yang terjadi dicatat, jika pada tabung durham berbentuk gas atau medium berwarna menjadi hijau keruh berarti hasil positif.

- b. Tahap II
Medium endo agar dicairkan, selanjutnya dituang kedalam cawan petri steril, dan didiamkan sampai membeku. Satu ose biakan dari tabung BGLB yang menunjukkan reaksi positif diinokulasi kedalam medium endo agar dengan cara menggoreskannya diatas permukaan medium. Medium diinkubasi pada 37°C selama 24 jam, kemudian diamati adanya koloni bakteri spesifik yang berwarna hijau metalik
3. Pengujian Biokimia (Uji IMVIC)
 - a. Uji Indol
Dari biakan NA Miring ditanam 1 sengkeli biakan kedalam *tryptone broth*. Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C, ditambahkan 0,2-0,3 ml pereaksi indol ke dalam masing-masing tabung, kocok dan didiamkan selama beberapa menit. Warna merah *cherry* pada permukaan membentuk cincin menandakan reaksi indol positif, warna jingga menunjukkan reaksi indol negatif.
 - b. Uji Merah Metil
Dari biakan NA miring ditanam 1 sengkeli biakan ke dalam pembenihan MR-VP. Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Setelah diinkubasi ditambahkan 5 tetes merah metil, dikocok dan didiamkan selama beberapa menit. warna kuning menunjukkan reaksi negatif dan warna merah menunjukkan reaksi positif.
 - c. Uji VP (*Voges Proskauer*)
Dari biakan NA miring ditanam 1 sengkeli biakan ke dalam pembenihan MR-VP. Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Setelah diinkubasi tambahkan 3 tetes larutan *alfa naftol* dan 2 tetes larutan KOH 40%, dikocok dan didiamkan selama beberapa menit. Warna merah muda sampai merah tua menunjukkan hasil positif, dan jika

tidak berubah warna maka menunjukkan hasil negatif.

d. Uji Sitrat

Dari biakan NA miring ditanam 1 sengkeli biakan ke dalam pembenihan *Simmons Citrat*, lalu diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Warna biru menunjukkan hasil positif, warna hijau menunjukkan hasil negatif (Irianto, 2006).

flamboyan. Adapun pasar tersebut dipilih berdasarkan lokasi yang strategis yaitu berada dipusat kota serta terdapat fasilitas-fasilitas publik yang menunjang seperti terminal sehingga diharapkan masyarakat dapat dengan mudah mengakses lokasi tersebut.

Berdasarkan hasil uji menunjukkan bahwa hasil tes penduga dinyatakan positif dengan terjadi kekeruhan dalam media dan adanya gas sebanyak >10% dari volume di dalam tabung Durham. Terbentuknya gas menunjukkan terjadinya proses fermentasi laktosa yang menghasilkan CO₂.

Tabung-tabung yang positif pada tes penduga untuk bakteri Koliform *E. coli* dibandingkan dengan tabel MPN, sehingga didapat nilai MPN *E. coli* seperti pada Tabel 1.

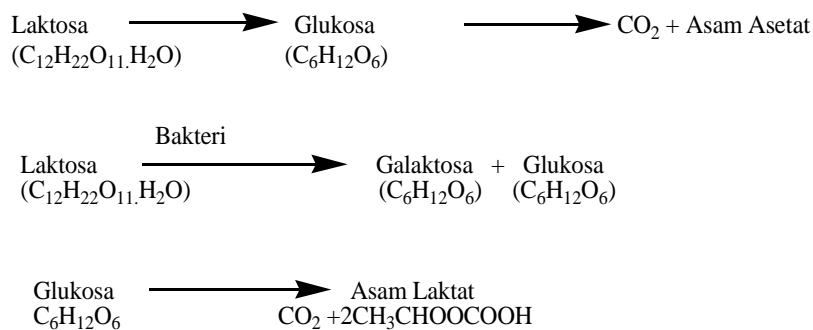
HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji penduga (*Presumptive Test*). Uji penduga dilakukan terhadap 6 sampel makanan laut meliputi ikan gembung, sotong serta udang. Uji penduga dilakukan untuk menduga adanya kandungan cemaran koliform dalam tiap sampel. Sampel yang digunakan berasal dari tiga jenis pasar yang berbeda yaitu pasar dahlia dan pasar

Tabel 1. Hasil Uji Penduga

Lokasi	Sampel	Total Koliform (Jumlah mL/g)	Interpretasi
Pasar Flamboyan	Ikan gembung	21	Tidak memenuhi syarat
Pasar flamboyan	Sotong	220	Tidak memenuhi syarat
Pasar Flamboyan	Udang	30	Tidak memenuhi syarat
Pasar Dahlia	Ikan gembung	25	Tidak memenuhi syarat
Pasar Dahlia	Sotong	220	Tidak memenuhi syarat
Pasar Dahlia	Udang	35	Tidak memenuhi syarat

Berikut reaksi yang terjadi pada uji penduga:



Gambar 1. Reaksi uji penduga

Batas maksimum cemaran *E. coli* untuk ikan segar, udang segar (*crustase*) dan sotong segar (*mollusca*) berdasarkan tabel Standardisasi Nasional adalah <3/g. Berdasarkan tabel nilai MPN yang dikeluarkan oleh USDA (United States Department of Agriculture), yang

mempunyai nilai MPN 0-0-1 menggunakan kuantitas inokulum sebesar

0,1, 0,01 dan 0,001 adalah sebesar 3/g. Nilai indeks MPN pada tabel menunjukkan bahwa semua sampel uji tidak memenuhi syarat standar mutu cemaran *E. coli*.

Menurut info BPOM (2008) *E.coli* merupakan indikator dari kontaminasi dengan sumber/ bahan fekal. Cemaran bakteri koliform pada makanan laut dapat disebabkan beberapa hal seperti kandungan protein yang tinggi pada makanan laut dan kondisi lingkungan yang sangat sesuai untuk pertumbuhan mikrobia pembusuk. Adapun kondisi lingkungan tersebut seperti suhu, pH, oksigen, waktu simpan, dan kondisi kebersihan sarana prasarana. Koliform merupakan bakteri heterogen dari famili *Enterobacteriaceae*, dimana pada perlakuan tanpa penyiangan dengan suhu penyimpanan 0°C hari ke 0 telah terjadi pertumbuhan bakteri Koliform sebesar 8x10¹ koloni/g dan pertumbuhan terus meningkat sampai hari ke 10 sebesar 2x10⁸ koloni/g (Arannilewa dkk, 2005). Uji penduga yang positif ditandai dengan terbentuknya gas tetapi hal ini belum dapat dipastikan adanya koliform didalam sampel, hal ini dikarenakan *lactosa broth* dapat juga difermentasi oleh bakteri lain selain koliform. Namun, terbentuknya gas tersebut dapat digunakan untuk dasar pengujian berikutnya, yaitu uji penegas.

Uji Penegas (*Confirmative Test*)

Uji Penegas Tahap I. BGLB berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan flora mikroba yang tidak diharapkan. Media BGLB merupakan media yang akan berwarna hijau metalik jika terdapat reaksi fermen dengan media. Warna ini berasal dari adanya koloni koliform yang bereaksi dengan BGLB. *E. coli* merupakan bakteri fermentasi, seringkali menghasilkan warna hijau metalik mengkilap. Bakteri yang menfermentasi dengan lambat akan menghasilkan koloni berwarna merah muda (Depkes,1996). Berdasarkan hasil penelitian, uji penegas tahap I memberikan hasil yang positif.

Uji Penegas Tahap II. Media Endo Agar adalah media kultur selektif dan diferensial untuk mendeteksi keberadaan bakteri koliform fekal dan mikroorganisme lainnya. Selektivitas media endo agar tersusun atas sodium sulfat atau kombinasi *basic fuchsin*, yang menghasilkan suspensi mikroorganisme gram positif. Bakteri koliform memfermentasi laktosa, menghasilkan koloni berwarna merah muda hingga warna merah seperti bunga mawar serta berbagai pewarnaan yang mirip. Koloni organisme yang tidak memfermentasi laktosa tidak berwarna sehingga tampak kontras dengan latar media yang berwarna merah muda (BPOM, 2008). Berdasarkan hasil uji, semua sampel positif mengandung bakteri koliform *E.coli*, ditunjukkan dengan terbentuknya koloni warna merah dengan kilap logam pada media uji.

Pengujian Biokimia (Uji IMVIC). Prinsip dasarnya adalah enzim yang diproduksi mikroba akan mendegradasi karbohidrat dan lemak, dalam hal ini hasil metabolit dapat dilihat secara visual dengan adanya tambahan suatu indikator (BPOM, 2008). Berdasarkan Tabel 2, semua sampel memberikan hasil yang positif pada pengujian Indol, **cincin merah cherry yang terbentuk disebabkan *E.coli*** dapat memproduksi *indole* dari pemecahan asam amino tryptophan dengan menggunakan enzim tryptophanase. Produksi *indole* akan dideteksi dengan menggunakan pereaksi *Erich* atau reagen Kovak. Indol akan bereaksi dengan aldehyde dalam reagen dan memberikan warna merah. Sebuah lapisan alkohol merah akan terbentuk seperti cincin di bagian atas menandakan indol positif. Hal ini berarti semua sampel positif mengandung *E.coli*. Sedangkan, uji Merah Metil, Uji VP dan Uji Sitrat memberikan hasil negatif.

Tabel 2. Hasil Uji Biokimia

Lokasi	Sampel	Uji Indol	Uji MM	Uji VP	Uji Sitrat
Pasar Flamboyan	Ikan gembung	+	-	-	-
Pasar flamboyan	Sotong	+	-	-	-
Pasar Flamboyan	Udang	+	-	-	-
Pasar Dahlia	Ikan gembung	+	-	-	-
Pasar Dahlia	Sotong	+	-	-	-
Pasar Dahlia	Udang	+	-	-	-

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua sampel uji yang digunakan, yakni ikan, sotong dan udang segar yang diperoleh dari Pasar Tradisional Kota Pontianak memiliki hasil yang positif ditandai dengan terjadi kekeruhan dalam media dan adanya gas sebanyak >10% dari volume di dalam tabung Durham pada tes penduga. Berdasarkan nilai MPN yang diperoleh, yakni MPN >3/g yang dibandingkan dengan tabel Standardisasi Nasional Indonesia, nilai ini melebihi standar nilai keamanan konsumsi makanan kelompok, sehingga tidak layak konsumsi. Hal ini diperkuat kembali dengan hasil uji penegas tahap I dan tahap II yang memberikan hasil yang positif cemaran bakteri koliform *E.coli*. Hasil uji biokimia pada uji indol terbentuk cincin berwarna merah *cherry* yang menandakan bahwa semua sampel positif mengandung *E.coli*. Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa makanan laut segar, yakni ikan, sotong dan udang yang diperoleh dari dua Pasar Tradisional terbesar di Kota Pontianak memiliki batas keamanan cemaran bakteri koliform *E.coli* yang tidak memenuhi standar, hal ini dapat disebabkan oleh berbagai macam faktor, salah satu faktor terpentingnya adalah proses penyimpanan. Proses penyimpanan makanan laut segar menjadi faktor penting yang akan mempengaruhi jumlah bakteri koliform yang terkandung didalamnya, karena keadaan lingkungan seperti suhu dan pH dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri tersebut yang pada akhirnya akan mempengaruhi batas keamanan konsumsi makanan laut tersebut (BPOM RI, 2008).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh DIPA UNTAN 2012 surat perjanjian pelaksanaan penelitian nomor : 2116/UN.22.9/LT.2012.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2014. Seafood for Health Information for Healthcare Providers. A joint project of Oregon State University, Cornell University, and the Universities of California, Delaware, Florida, and Rhode Island <http://seafoodhealthfacts.org>.
- Aryanta, N, dkk, 2001, *Penuntun Praktikum Mikrobiologi*, Institut Teknologi Bandung, Jurusan Biologi, FMIPA. Bandung.
- Arannilewa, S.T., Salawu, S.O., Sorungbe, A.A., and Olasalawu, B.B. 2005. Effect of Frozen Period on the Chemical, Microbiological and Sensory Quality of Frozen Tilapia Fish (*Sarotherodon galienus*), *Journal of Biothechnology* : Vol.4(8).852-855.
- Badan POMRI. 2008. InfoPOM Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Vol. 9, No. 2, Maret. ISSN 1829-9334.
- Badan Standardisasi Nasional. 2009. Batas maksimum cemaran mikroba dalam pangan. Hal 12. SNI 7388:2009.
- Buckle, dkk, 1987, *Ilmu Pangan*, Jakarta : Iniversitas Indonesia Press.
- Depkes. 1996. Pedoman Teknis Sanitasi (Penyehatan) Pengelolaan Makanan Di Rumah Sakit. Direktorat Jenderal PPM & PLP. Jakarta.
- Irianto, K., 2006, *Menguak Dunia Mikroorganisme*, Jilid 2, hal 17-20, CV. Yrama Widya Margahayu Permai, Bandung.