

## G-07

### Uji Kontaminasi Cemaran Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. pada Produk Pasteurized Crab Meat

Kusuma Handayani<sup>1\*</sup>, Tina Pertiwi<sup>1</sup>, Arum Zahara<sup>1</sup>

1. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Jln Soemantri Brojonegoro No 1 Bandar Lampung. 35145

\*Email Corresponding Author: kusumahandayani@yahoo.co.id

#### ABSTRAK

Mengonsumsi makanan laut yang tercemar dapat berpotensi buruk bagi kesehatan tubuh. Kontaminasi bakteri pada penanganan hasil perikanan dapat terjadi mulai dari proses penangkapan, pengolahan, sampai dengan distribusi ke tangan konsumen. Menurut laporan dari WHO, sekitar 70% *foodborne disease* disebabkan oleh kontaminasi patogen yang mengeluarkan metabolit dan faktor virulensi ke dalam tanah, air dan makanan melalui metabolisme mereka sendiri, sehingga menyebabkan infeksi patogen pada manusia. Beberapa jenis bakteri patogen pada makanan, yaitu *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, dan lain-lain. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui cemaran *Salmonella* sp. dan *Escherichia coli* terhadap hasil produk *crab meat* untuk melihat kualitas dan keamanan dari produk terjamin sehingga memberikan mutu produk terbaik untuk konsumen dan masyarakat. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu untuk uji *E. coli* meliputi uji penduga, pelengkap, dan penguat. Sedangkan metode untuk uji *Salmonella* sp. meliputi uji pra-pengkayaan, pengkayaan, dan isolasi di media selektif. Hasil pengujian deteksi cemaran *E. coli* dan *Salmonella* sp. pada sampel produk *Pasteurized Crab Meat* menunjukkan hasil negatif pada uji *E. coli* di media LEMBA dan hasil negatif pada uji *Salmonella* sp. di media XLD sehingga hasil produk tersebut memenuhi standart keamanan pangan dan siap untuk dipasarkan/diekspor ke negara tujuan. Penelitian ini diharapkan sebagai tambahan ilmu pengetahuan serta menjadi sumber informasi mengenai bakteri patogen pada makanan.

**Kata kunci:** *E.coli*, makanan laut, *Salmonella* sp.

#### PENDAHULUAN

Makanan laut (*seafoods*), seperti ikan, kepiting, kerang, dan udang, selain memberikan berbagai manfaat gizi, tetapi juga dapat membahayakan kesehatan tubuh manusia apabila cemaran di dalamnya melewati batas konsentrasi tertentu (Vandermeersch et al., 2015). Pada produk *crab meat* ini termasuk dalam produk perikanan dimana merupakan salah satu bahan pangan yang masuk dalam golongan bahan yang mudah rusak (*Perishable food*), karena didalam daging produk perikanan banyak terkandung air dan protein yang cukup tinggi, sehingga dapat mempercepat perkembangbiakan mikroorganisme apabila tidak ditangani dengan benar. Penanganan yang kurang baik pada produk perikanan dapat menurunkan nilai mutunya (Aulia et al., 2015). Kontaminasi bakteri pada penanganan hasil perikanan dapat terjadi mulai dari proses penangkapan, pengolahan, sampai dengan distribusi ke tangan konsumen.

Mengonsumsi makanan laut yang tercemar dapat berpotensi buruk bagi kesehatan tubuh. Untuk itu, kajian risiko kesehatan sangat penting dilakukan untuk menentukan jumlah batas aman dalam mengonsumsi makanan laut tersebut (Yap et al., 2016; Liu et al., 2019). Menurut laporan dari WHO, sekitar 70% *foodborne disease* disebabkan oleh kontaminasi patogen yang mengeluarkan metabolit dan faktor virulensi ke dalam tanah, air dan makanan melalui metabolisme mereka sendiri, sehingga menyebabkan infeksi patogen pada manusia. Beberapa jenis bakteri patogen pada makanan, yaitu *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, dan lain-lain (Hengwei et al., 2022).

*Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif yang termasuk flora normal pada saluran pencernaan manusia, apabila melebihi batas normal, bakteri ini akan bersifat patogen sehingga membahayakan kesehatan manusia. Bakteri patogen yang ada pada makanan adalah penyebab utama dari *foodborne disease*. *E. coli* dapat menimbulkan suatu gejala penyakit bila mampu masuk ke tubuh inangnya dan mampu beradaptasi serta bertahan di dalam tubuh manusia, kemudian menyerang sistem imun dan akhirnya menimbulkan penyakit (Winiati et al., 2020).

Keberadaan bakteri patogen pada pangan dapat mengganggu kesehatan konsumen, karena *Salmonella* sp. menyebabkan salmonellosis. Salmonellosis adalah istilah yang menunjukkan adanya infeksi bakteri oleh bakteri

*Salmonella* sp. Ciri-ciri orang yang mengalami salmonellosis adalah diare, mual muntah, kram perut dan demam pada waktu 8-72 jam setelah memakan makanan yang terkontaminasi oleh *Salmonella* (Jawetz et al., 2017). Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui cemaran *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. terhadap hasil produk *crab meat* untuk mengetahui kualitas dan keamanan dari produk terjamin sehingga memberikan mutu produk terbaik untuk konsumen dan masyarakat.

## METODE PENELITIAN

### ALAT DAN BAHAN UJI

Alat yang digunakan dalam menunjang kegiatan kerja praktik ini antara lain tabung reaksi, tutup tabung reaksi, cawan petri, timbangan analitik, bunsen, pipet volumetri, mikropipet, *blue tips*, jarum ose, *hotplate*, *magnetic stirrer*, *stomacher*, penjepit binder, botol media, plastik vakum steril, gelas ukur, rak tabung reaksi, spidol permanen, gelas beaker, spatula, gunting stainless, *vortex*, oven, inkubator 37°C, *autoclave*, dan *Laminar Air Flow*.

Bahan yang digunakan pada uji *E. coli* adalah sampel *Crab Meat*, larutan buffer, air, *Chromocult*, LTB (*Lauryl Tryptose Broth*), BGLB (*Brilliant Green Lactose Broth*), EC (*Escherichia coli Broth*), LEMBA (*Levine Eosin Methylene Blue Agar*), TSA (*Tryptic Soy Agar*), TB (*Tryptose Broth*), *reagent kovac's*, MR-VP (*Methyl Red - Voges Proskauer*), SCA (*Simmon Citrate Agar*), *Alphanaphtol*. Bahan uji *Salmonella* sp. terdiri dari media *Lactose Broth* (LB), media *Rappaport-Vassiliadis* (RV), media *Xylose Lysine Desoxycholate* (XLD) agar, media *Tryptic Soy Agar* (TSA), media *Simmon Citrate Agar* (SCA), media *Triple Sugar Iron* (TSI) Agar, media *Lysine Iron Agar* (LIA), media *Methyl Red-Voges Proskauer* (MR-VP) Broth, media *Terrific Broth* (TB), indikator *Methyl Red*, KOH 4%, *Alpha-naphtol*, *kovac's reagent*, kristal  *kreatin*, air, alkohol 70%, tissue, dan spritus.

### PROSEDUR UJI BAKTERI *Escherichia coli*

Prosedur pengujian bakteri *Escherichia coli* yaitu meliputi:

1. Preparasi sampel, Sampel ditimbang sebanyak 25 gram dan dilarutkan kedalam buffer 225ml.
2. Uji penduga, Sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi berisi media LTB sebanyak 1ml dan di inkubasi dengan suhu 37 °C selama 24 jam.
3. Uji Penguat, Sampel positif dari media LTB dimasukkan kedalam media BGLB dan EC masing-masing sebanyak 1ml dan di inkubasi dengan suhu 37 °C selama 24 jam.
4. Uji Pelengkap, Sampel positif dari media EC akan diinokulasi kedalam media LEMBA dengan metode *streak kuadran* sebanyak 1 ose dan diinkubasi ke dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C.
5. Dari uji penguat hasil positif akan terbentuk koloni yang tumbuh berwarna hijau metalik keemasan, maka akan dilanjutkan ke uji IMViC, jika tidak terbentuk koloni maka tidak perlu dilakukan Uji IMViC.

### PROSEDUR UJI BAKTERI *Salmonella* sp.

Prosedur pengujian keberadaan bakteri *Salmonella* sp. pada produk perikanan menurut metode SNI 01-2332.2-2006 melalui 5 tahapan yaitu pertama pada tahap pra-pengkayaan sampel ditimbang masing-masing sebanyak 25 gram lalu dilarutkan dengan 225 ml ke media media *Lactose Broth* (LB) yang dan diinkubasi pada inkubator selama 24 jam. Kedua tahap pengkayaan selektif 1 ml larutan sampel dalam media *Lactose Broth* (LB) yang telah diinkubasi dimasukkan ke dalam media *Rappaport-Vassiliadis* (RV) lalu dihomogenkan dan diinkubasi didalam *waterbath* selama 24 jam pada suhu 45°C. Ketiga tahap isolasi dimedia selektif diambil 1 ose isolat dari tabung reaksi berisi media *Rappaport Vassiliadis* (RV) kemudian diinokulasikan pada media *Xylose Lysine Desoxycholate* (XLD) agar dengan metode streak dan diinkubasi pada inkubator selama 24 jam dengan suhu 35°C. Kemudian diamati hasilnya jika positif *Salmonella* sp. hasil yang didapatkan yaitu pada media XLD agar akan terbentuk koloni berwarna pink dengan atau tanpa inti hitam. Jika hasil negatif pada media XLD maka uji tidak dilanjutkan ke uji identifikasi yakni uji IMViC dan uji biokimia pada media TSI-LIA.

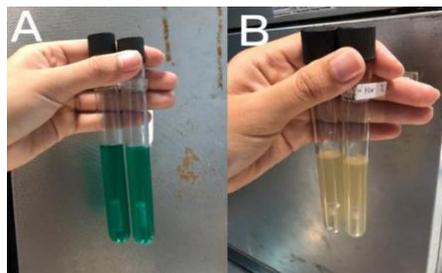
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### UJI BAKTERI *Escherichia coli*

Sampel *crab meat* yang telah diuji tidak terdeteksi adanya cemaran bakteri *E. coli*. Dari semua sampel yang telah di uji, hanya terdapat dua sampel yang dilakukan uji pelengkap pada media LEMBA (*Levine Eosin Methylene Blue Agar*), namun kedua sampel juga tidak menunjukkan terbentuknya koloni positif. Sampel positif pada uji penduga menggunakan media LTB ditandai dengan terbentuknya gelembung gas dan juga perubahan warna menjadi keruh. Diketahui pada Uji Penduga dengan menggunakan media LTB (*Lauryl Triptose Broth*), sampel dengan nilai MPN 3,6 sebanyak 7,69 %, sampel dengan nilai MPN 9,1 sebanyak 11,53% dan sampel dengan nilai MPN 23 adalah 15,38%. Dari uji penduga ini diketahui produk *crab meat* sebanyak 65,38% tidak terdeteksi adanya cemaran bakteri *Coliform*. Hasil yang didapatkan pada media LTB setelah inkubasi selama 24 jam dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Hasil uji positif pada media LTB



**Gambar 2.** (A) Hasil uji BGLB positif, (B) Hasil uji EC positif

Selanjutnya dari sampel media LTB yang positif akan dilanjutkan kedalam uji penguat, sampel positif diambil 1 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 9 ml media EC (*Escherichia coli Broth*) dan BGLB (*Briliant Green Lactosa Broth*). Menurut Tristyanto 2016, Hasil positif yang ditunjukkan pada uji LTB harus dilanjutkan pada uji selanjutnya dengan menanam sampel positif pada media *Briliant Green Lactosa Broth* (BGLB) untuk melihat nilai MPN koliformnya. Hasil yang didapatkan pada media EC dan BGLB setelah diinkubasi selama 24 jam dapat dilihat pada Gambar 2.

Sampel positif pada uji penguat ini dicirikan dengan adanya gelembung gas yang terbentuk pada tabung durham media EC lebih dari 30%, Jika kurang dari 30% maka sampel dinyatakan negatif. Dari 18 sampel yang dilakukan Uji penguat, menghasilkan nilai MPN 3,6 sebanyak 22,22%, nilai MPN 9,1 sebanyak 33,33% dan nilai MPN 23 sebanyak 44,44%. Lalu untuk media EC menghasilkan nilai MPN 9,1 sebanyak 11,11%, dan nilai MPN <3 (negatif) sebanyak 88,88%. Dari uji ini hanya dua sampel yang akan masuk kedalam uji pelengkap.

BGLB digunakan sebagai penghambat pertumbuhan mikroba lain yang tidak diharapkan. Media BGLB merupakan media yang akan berwarna hijau metalik jika terdapat reaksi fermentasi dengan media. Warna ini berasal dari adanya koloni koliform yang bereaksi dengan BGLB (Rafika et al., 2014). *E.coli* merupakan bakteri fermentasi, bakteri ini akan menghasilkan warna hijau metalik mengkilap.

Pada uji pelengkap menggunakan media LEMBA, kedua sampel tidak menunjukkan adanya pertumbuhan koloni, Koloni positif *E.coli* terduga memiliki ciri khas yaitu berwarna hitam pada bagian tengah dengan warna hijau metalik. Media LEMBA setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam didapatkan hasil negatif yang dapat dilihat pada Gambar 3.

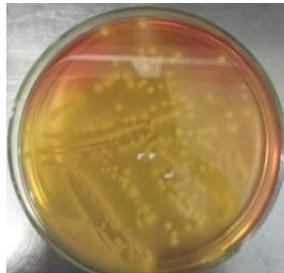


**Gambar 3.** Hasil uji negatif pada media LEMBA

Himyatul et al. (2022) mengungkapkan bahwa sampel yang menunjukkan hasil positif mengandung bakteri *E.coli* ditandai dengan adanya koloni yang tumbuh pada media, koloni yang tumbuh berwarna hijau metalik, LEMBA (*Levine Eosin Methylene Blue Agar*) adalah media selektif untuk menumbuhkan bakteri 27 anggota genus *E. coli*. Karena tidak menunjukkan adanya koloni yang terbentuk, maka pada hasil streak LEMBA dinyatakan negatif sehingga tidak perlu dilakukan Uji Biokimia atau IMViC. Berdasarkan hasil uji yang dilakukan selama 2 minggu, diketahui sebanyak 52 sampel *crab meat* tidak terkontaminasi adanya cemaran bakteri *E. coli*. Hal ini dipastikan karena produk *crab meat* telah dilakukan pasteurisasi. Pasteurisasi adalah cara untuk mempertahankan mutu dan mencegah pembusukan pada daging rajungan dengan pemanasan pada suhu tertentu dan waktu tertentu. Pemanasan pada suhu pasteurisasi dimaksud untuk membunuh sebagian bakteri patogenik yang ada dalam olahan pangan dan mempertahankan semaksimal mungkin sifat fisik dan cita rasa.

#### UJI BAKTERI *Salmonella* sp.

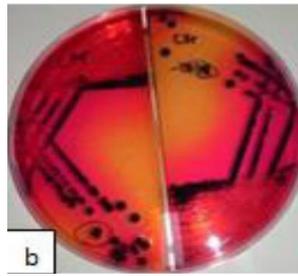
Sampel *crab meat* yang telah diuji tidak terdeteksi adanya cemaran bakteri *Salmonella* sp. dikarenakan pada tahap isolasi di media selektif *Xylose Lysine Desoxycholate (XLD)* setelah diinkubasi selama 24 jam hasil yang didapatkan pada pengujian sampel *Canned Pasteurized Crab Meat* ini yaitu bakteri yang tumbuh pada media XLD bukan koloni dari bakteri *Salmonella* sp. dikarenakan koloni bakteri pada media berwarna putih atau kekuningan dapat dilihat pada Gambar 4.



**Gambar 4.** Media XLD Negatif *Salmonella* sp.

Jika sampel terkontaminasi bakteri *Salmonella* sp. pada media XLD koloni akan terlihat perubahan berwarna merah muda dengan atau tanpa titik mengkilat atau terlihat hampir seluruh koloni berwarna hitam (Putri et al., 2021). Contoh hasil positif *Salmonella* sp. pada media XLD dapat dilihat pada Gambar 5.

Setelah dilakukan serangkaian uji deteksi cemaran bakteri *Salmonella* sp. pada sampel *Canned Pasteurized Crab Meat* hasil produksi tersebut terhindar dari cemaran bakteri *Salmonella* sp. dikarenakan pada daging rajungan yang digunakan telah mengalami proses pasteurisasi. Dimana proses pasteurisasi pada produk *Canned Pasteurized Crab Meat* ini dilakukan pada suhu 186-189°F (85,5-87,2°C), suhu pasteurisasi ini merupakan bukan suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *Salmonella* sp. Suhu optimum untuk bakteri *Salmonella* sp. melakukan pertumbuhan yaitu 35-37°C (Gray dan Fedorka Cray, 2012).



**Gambar 5.** Hasil Positif *Salmonella* sp. Pada Media XLD (Aulia et al. 2015)

Bakteri *Salmonella* sp. ini juga sensitif terhadap panas dan bisa mati pada suhu 70°C keatas. Selain itu juga, hasil uji sampel negatif *Salmonella* sp. ini menunjukkan bahwa dalam proses produksi telah menerapkan sanitasi dan penyimpanan yang baik dilihat dari *cold storage* suhu rendah yang digunakan yaitu min 3°C dan max -22°C dimana suhu rendah ini bukan merupakan suhu optimum untuk bakteri *Salmonella* sp. melakukan pertumbuhan. Berdasarkan penjelasan diatas menunjukkan bahwa produk *Canned Pasteurized Crab Meat* sudah memenuhi standart keamanan pangan dan siap untuk dipasarkan/diekspor ke negara tujuan.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian deteksi cemaran *E. coli* dan *Salmonella* sp. pada sampel produk *Pasteurized Crab Meat* menunjukkan hasil negatif pada uji *E. coli* di media LEMBA dan hasil negatif pada uji *Salmonella* sp. di media XLD. Oleh karena itu, sampel produk yang dilakukan uji cemaran bakteri *E. coli* dan *Salmonella* sp. tidak ada yang positif tercemar sehingga hasil produk memenuhi standart keamanan pangan dan siap untuk dipasarkan/diekspor ke negara tujuan. Penelitian ini diharapkan sebagai tambahan ilmu pengetahuan serta menjadi sumber informasi mengenai bakteri patogen pada makanan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aulia R, Handayani T, Yennie Y. 2015. Isolasi, Identifikasi dan enumerasi bakteri *Salmonella* spp. pada hasil perikanan serta resistensinya terhadap antibiotik. *Bioma* 11(2): 112-130.
- Gray JT, dan Fedorka CPJ. 2012. *Salmonella*. Di dalam: *Foodborne Diseases*. Ed ke-2. Cliver, D.O. dan Riemann, H. (Eds.). Academic Press. New York.
- Himyatul H, Lidia IP, Ayu HS, Amal S. 2022. Analisis cemaran bakteri coliform dan identifikasi *Escherichia Coli* pada es batu balok di kota Karawang. *Jurnal Sains Dan Ilmu Farmasi* 7(5): 13-17.
- Jawetz, Melnick, Adelberg. 2017. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 27*. Penerbit Buku Kedokteran, EGC. Jakarta.
- Liu Q, Xu X, Zeng J, Shi X, Liao Y, Du P, Tang Y, Huang W, Chen Q, Shou L. 2019. Heavy metal concentrations in commercial marine organisms from Xiangshan Bay, China, and the potential health risks. *Marine Pollution Bulletin* 141(36): 215–226.
- Putri RAS, Wiwiek T, Faisal F. 2021. Uji cemaran *Salmonella* sp. pada susu segar kambing sapera di kecamatan Siliragung kabupaten Banyuwangi. *Prosiding Seminar Nasional Pembangunan dan Pendidikan Vokasi Pertanian Politeknik Pembangunan Pertanian Manokwari*. e ISSN : 2774-1982.
- Rafika S, dan Pratiwi A. 2014. Cemaran bakteri *Escherichia coli* dalam beberapa makanan laut yang beredar di pasar tradisional kota Pontianak. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi* 2(2): 14-19.
- Tristyanto N. 2016. *Buku Monograf : Uji Bakteriologi MPN Coliform dan Escherichia Coli Pada Air Baku Kolam Renang di Kota Malang*. PT. Semesta Anugerah. Jakarta.
- Vandermeersch G, Lourenco H, M Alvarez, M Cunha, S Diogene, J Cano, G Sloth, JJ Kwadijk, C Barcelo, D Allegaert, W Bekaert, K Fernandez, Marques, Robbens J. 2015. nvironmental contaminants of emerging concern in seafood-European database on contaminant levels. *Environmental Research* 143: 29–45.
- Yap CK, Cheng WH, Karami A, Ismail A. 2016. Health risk assessments of heavy metal exposure via consumption of marine mussels collected from anthropogenic sites. *Science of the Total Environment* 553: 285–296.