



KELIMPAHAN DAN KARAKTERISASI MORFOLOGI BAKTERI COLIFORM PADA KALORA

Ferymon Mahulette^{1*}, Christo G. Muskita², Stevin Melay¹

¹Program Studi Pendidikan Biologi

²Alumni Program Studi Pendidikan Biologi

*Corresponding Author: e-mail: ferymonm@gmail.com

Abstract

Background: Kalora is one of the processed fish foods consumed by the people in Maluku. The studies on food safety aspects of this processed food have never been carried out. One of the microbial groups used as an indicator of food safety is Coliform bacteria. This research aims to analyze the number and characteristics of Coliform bacteria in kalora.

Methods: This research using three types of fish, i.e. white snapper (*Lutjanus* sp), scad mackerel (*Decapterus* sp), and tuna (*Thunnus* sp) as raw materials of kalora. Analysis of the number of Coliform bacteria used the Most Probable Number (MPN) method by inoculating the sample in lactose broth media, while macroscopic morphological characterization was carried out by streaking a positive tube sample on Eosin methylene blue agar (EMBA) media.

Results: The results showed that snapper kalora had the highest MPN value of 9.2 MPN/g, followed by tuna and scad mackerel kalora at 6.2 MPN/g and 3.6 MPN/g, respectively. The characteristics of Coliform bacteria in kalora were varied but dominated by *Escherichia* and *Enterobacter*.

Conclusion: The third types of kalora has the number of Coliform bacteria below the maximum threshold so it is safe for consumption.

Keywords: Coliform, *Escherichia*, kalora, *Lutjanus*, morphology characteristics.

Abstrak

Latar Belakang: Kalora merupakan salah satu pangan olahan ikan yang dikonsumsi masyarakat di Maluku. Kajian aspek keamanan pangan olahan ini belum pernah dilakukan. Salah satu kelompok mikroba yang digunakan sebagai indikator keamanan pangan adalah bakteri Coliform. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kelimpahan dan karakteristik bakteri Coliform pada kalora.

Metode: Penelitian ini menggunakan tiga jenis ikan yaitu ikan kakap putih (*Lutjanus* sp), layang (*Decapterus* sp), dan tuna (*Thunnus* sp) sebagai bahan dasar kalora. Analisis kelimpahan bakteri Coliform menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) dengan menginokulasi sampel dalam media *lactose broth*, sedangkan karakterisasi morfologi secara makroskopis dengan menggores sampel tabung positif pada media *Eosin methylene blue agar* (EMBA).

Hasil. Hasil Penelitian menunjukkan bahwa kalora kakap memiliki nilai MPN yang paling tinggi yaitu 9.2 MPN/g diikuti kalora tuna dan layang masing-masing sebesar 6.2 MPN/g dan 3.6 MPN/g. Karakteristik bakteri Coliform pada kalora bervariasi tetapi diduga didominasi oleh *Escherichia* dan *Enterobacter*. **Kesimpulan:** ketiga jenis kalora memiliki jumlah bakteri Coliform di bawah ambang batas maksimum yaitu 10 MPN/g sehingga aman untuk dikonsumsi.

Kata Kunci: Coliform, *Escherichia*, kalora, *Lutjanus*, karakteristik morfologi.



PENDAHULUAN

Kalora merupakan salah satu pangan olahan ikan yang dikonsumsi masyarakat Teon Nila dan Serua (TNS) di Maluku. Berbeda dengan produk olahan lainnya, pangan olahan ini dikonsumsi dalam keadaan mentah dengan penambahan garam dan air perasan jeruk lemon (*Citrus limon* L). Air perasan jeruk lemon mengandung banyak senyawa bioaktif seperti flavonoid, tanin, dan asam sitrat yang bersifat antibakteri, antioksidan, serta menetralkan radikal bebas (Paendong et al., 2022).

Bagi masyarakat TNS, kalora adalah makanan identitas yang jika dihidangkan di atas meja dianggap sebagai suatu kehormatan. Produk olahan ikan ini sering dikonsumsi setiap hari sehingga kalora dianggap sebagai makanan khas bagi masyarakat TNS, selain inasua (sejenis ikan fermentasi (Mahulette et al., 2018). Makanan ini mirip dengan sashimi yang dikenal masyarakat Jepang (Trahutami, 2019).

Kalora sejak lama dikonsumsi oleh masyarakat, tetapi kajian aspek mikrobiologi produk olahan ini belum pernah dilakukan. Salah satu aspek penting dalam mikrobiologi pangan adalah keamanan pangan yang mensyaratkan kelayakan suatu produk pangan untuk dikonsumsi. Kelompok mikroba yang sering digunakan sebagai indikator dalam keamanan pangan adalah bakteri Coliform. Bakteri Coliform yang mencemari ikan adalah *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, dan *Proteus* (Ghanem et al., 2014). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kelimpahan dan karakteristik morfologi bakteri Coliform pada kalora.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2021. Ikan dibeli secara *purposive* di Pasar Mardika Ambon pada pagi hari kemudian dibawa ke Laboratorium menggunakan *cooler box*. Ikan yang digunakan sebagai bahan dasar pembuatan

kalora adalah ikan tuna (*Thunnus* sp), layang (*Decapterus* sp), dan kakap putih (*Lutjanus* sp). Pembuatan kalora dan analisis mikrobiologi dilakukan di Laboratorium Biologi FKIP Unpatti. Pengukuran jumlah bakteri Coliform menggunakan metode *Most Probable Number* 3 seri tabung dengan menginokulasi sampel pada media *lactose broth* (LB). Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan abang batas bakteri Coliform yang dapat ditolerir dalam produk olahan ikan. Tabung-tabung yang positif mengandung bakteri coliform selanjutnya digores pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Koloni-koloni yang memiliki karakteristik berbeda dikarakterisasi secara morfologi yang meliputi warna, bentuk, tepian dan elevasi (Hadioetomo, 1993). kemudian dipurifikasi secara kuadran untuk memperoleh kultur murni yang dianggap sebagai isolat. Isolat – isolat yang ditemukan selanjutnya diwarnai dengan pewarnaan Gram dan dikarakterisasi secara mikroskopis pada pembesaran 1000 kali. Karakteristik mikroskopis yang diamati adalah tipe Gram, bentuk dan distribusi sel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kelimpahan Bakteri Coliform pada Kalora

Hasil pengukuran nilai MPN dari ketiga jenis ikan yang digunakan dalam pembuatan kalora menunjukkan bahwa sampel kalora kakap memiliki kombinasi tabung positif adalah 2-0-0 dengan nilai MPN yang paling tinggi yaitu 9,2 MPN/g diikuti sampel kalora tuna memiliki kombinasi 0-2-1 dengan nilai MPN sebesar 6,2 MPN/g. Sampel yang memiliki nilai MPN terendah adalah sampel kalora layang dengan kombinasi 1-0-0 sebesar 3,6 MPN/g seperti ditunjukkan pada Tabel 1. Tabung positif ditandai dengan adanya gelembung gas yang terperangkap dalam tabung Durham. Adanya gas tersebut mengindikasikan kemampuan bakteri Coliform untuk memfermentasi laktosa.

Tabel 1. Hasil uji pendugaan keberadaan bakteri Coliform pada kalora menggunakan media *lactosa broth*.

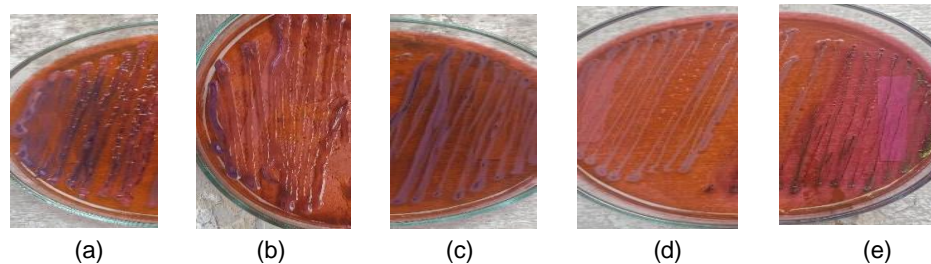
Sampel	Hasil Pengamatan									Kombinasi Tabung Positif	Nilai MPN/g
	10 ml			1,0 ml			0,1 ml				
Kalora Kakap	+	+	-	-	-	-	-	-	-	2-0-0	9.2
Kalora Tuna	-	-	-	-	+	+	-	-	-	0-2-0	6.2
Kalora Layang	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1-0-0	3.6

Ikan merupakan produk pangan yang mudah mengalami kontaminasi. Kontaminasi pada ikan disebabkan dua faktor yaitu faktor internal seperti pembusukan dan faktor eksternal berupa tempat hidup ikan seperti daerah berlumpur dan berpasir, cara pengangkutan, penanganan, ikan seperti pencucian yang kurang bersih, penggunaan air yang tercemar mikroba dan tempat penyimpanan maupun tempat lapak penjualan yang tidak memperhatikan kebersihan (Mawli dan Trimulyono, 2019). Daging ikan yang baru saja mati tidak dapat dikatakan steril karena sebagian besar bakteri bersarang di permukaan kulit, insang, dan perut. Bakteri - bakteri tersebut secara bertahap memasuki daging ikan kemudian melakukan proses penguraian setelah *rigor mortis* yaitu fase ketika daging ikan mengendur dan celah-celah seratnya terisi oleh cairan. Ikan mempunyai kandungan air 80% dan kadar pH mendekati netral. Kondisi ini yang mendukung pertumbuhan bakteri pembusuk seperti Coliform (Maruka dkk, 2017).

Salah satu kelompok bakteri yang banyak ditemukan dalam usus ikan adalah Coliform. Coliform adalah bakteri berbentuk batang Gram positif yang memiliki kemampuan untuk memfermentasi laktosa (Sari dkk, 2019). Kemampuan tersebut ditunjukkan dengan adanya karbondioksida yang dihasilkan ketika bakteri-bakteri ini dikultivasi pada media lactose broth dan

terperangkap dalam tabung Durham yang diletakkan terbalik. Beberapa genus yang dikelompokkan sebagai bakteri Coliform adalah *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, dan *Proteus* (Wiliantari dkk, 2018). Bakteri-bakteri ini juga dibedakan atas Coliform fekal, misalnya *Escherichia coli* berasal dari kotoran hewan dan manusia dan non fekal, misalnya *Enterobacter aerogenes* ditemukan pada kotoran hewan dan tanaman mati (Tapotubun dkk, 2016).

Ikan kakap memiliki tekstur daging yang lebih lembut dibandingkan ikan layang dan tuna, Kandungan protein dan kadar air ikan kakap putih tergolong tinggi karena mencapai 20% dari berat ikan. Hal ini menyebabkan ikan kakap putih sangat mudah rusak dan busuk (Mawli dan Trimulyono 2019). Menurut standar baku mutu keamanan pangan yang dipersyaratkan oleh BSNI 7388:2009 dan BPOM (Badan Pengawas Obat dan Makanan) tentang batas cemaran maksimum dalam pangan sebesar 10 MPN/g pada daging segar sehingga kalora berbahan dasar ikan kakap, tuna dan layang aman untuk dikonsumsi karena tidak melewati batas standar cemaran maksimum daging segar (PerBPOM, 2009). Rendahnya bakteri cemaran pada kalora juga disebabkan oleh bahan tambahan yang digunakan, yaitu garam dan perasan jeruk lemon yang berpotensi sebagai antibakteri.



Gambar 1. Karakteristik makroskopis bakteri Coliform pada kalora menggunakan Media *Eosin methylene blue agar* (EMBA). Koloni 1 kalora layang (a), Koloni 2 dan 3 kalora tuna (b,c), dan Koloni 4 dan 5 kalora kakap (d,e). Karakterisasi Bakteri Coliform pada Kalora

Hasil karakterisasi ditemukan 6 koloni yang terdiri dari 2 koloni dari kalora kakap, 1 koloni dari kalora layang, dan 2 koloni dari kalora tuna. Dua koloni yang ditemukan pada kalora kakap masing-masing memiliki karakteristik makroskopis berwarna hijau metalik, berbentuk kompleks, tepian licin dengan elevasi seperti tetesan dan berwarna merah muda, berbentuk bundar, tepian licin dengan elevasi seperti tetesan. Koloni yang ditemukan pada kalora layang berwarna ungu, bentuk tidak beraturan dan menyebar, tepian berlekuk dengan elevasi seperti kawah. kedua koloni yang ditemukan pada kalora tuna masing-

masing berwarna hijau metalik, dan merah muda (Tabel 2, Gambar 1).

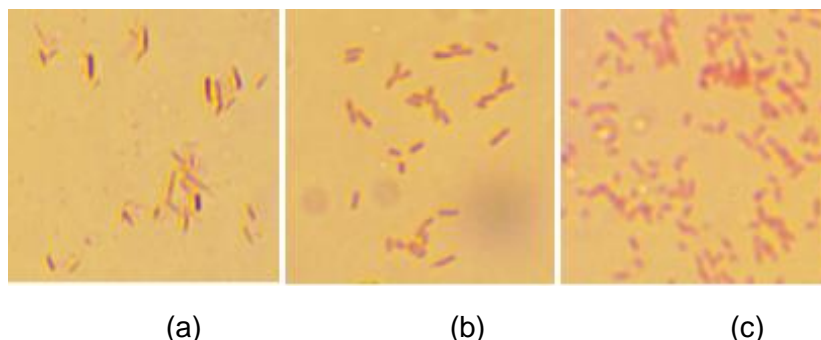
Hasil pengamatan morfologi secara mikroskopis menunjukkan bahwa semua isolat berbentuk batang dan berwarna merah (Gram negatif) yang merupakan karakteristik utama bakteri Coliform. Isolat-isolat tersebut memiliki penataan sel yang bervariasi. Isolat 1 kalora kakap, isolat 3 kalora layang, dan isolat 5 kalora tuna memiliki penataan sel berpasangan ((*duplo*), sedangkan isolat 2 kalora kakap bergerombol. Penataan sel tunggal (*mono*) hanya ditemukan pada isolat 1 kalora ikan tuna (Tabel 3, Gambar 2).

Tabel 2. Karakteristik makroskopis bakteri Coliform pada kalora menggunakan Media *Eosin methylene blue agar* (EMBA)

Sampel	Kode Koloni	Karakteristik Makroskopis			
		Warna	Bentuk	Tepian	Elevasi
Kalora Kakap	Koloni 1	Hijau metalik	Kompleks	Licin	Seperti Tetesan
	Koloni 2	Merah muda	Bundar	Licin	Seperti Tetesan
Kalora Layang	Koloni 3	Ungu	Menyebar	Berlekuk	Seperti Kawah
Kalora Tuna	Koloni 4	Hijau metalik	Bundar	Licin	Seperti Tetesan
	Koloni 5	Merah muda	Bentul L	Berombak	Seperti Tetesan

Tabel 3 Karakteristik mikroskopis bakteri Coliform pada kalora menggunakan pewarna Gram pada pembesaran 1000x

Sampel	Kode Isolat	Karakteristik Mikroskopis		
		Tipe Gram	Bentuk	Penataan
Kalora Kakap	Isolat 1	Negatif	Batang	Duplo
	Isolat 2	Negatif	Batang	Bergerombol
Kalora Layang	Isolat 3	Negatif	Batang	Duplo
Kalora Tuna	Isolat 4	Negatif	Batang	Tunggal/Mono
	Isolat 5	Negatif	Batang	Duplo



Gambar 2. Karakteristik mikroskopis bakteri Coliform pada kalora menggunakan pewarnaan Gram pada pembesaran 1000x. Isolat 1 kalora kakap (a), isolat 3 kalora layang (b), isolat 5 kalora tuna (c).

Bakteri Coliform memiliki karakteristik yang bervariasi ketika dikultivasi pada media *Eosin methylene blue agar* (EMBA). Karakteristik tersebut meliputi warna, bentuk, tepian, dan elevasi koloni setelah diinkubasi selama 24 jam. Karakteristik ini sering digunakan sebagai acuan dalam mengidentifikasi jenis-jenis bakteri Coliform secara makroskopis. Hasil pengamatan karakteristik makroskopis koloni menunjukkan bahwa bakteri Coliform yang ditemukan pada kalora berwarna hijau metalik, ungu, dan merah muda. Bakteri *Escherichia* memiliki koloni berwarna hijau metalik, sedangkan *Enterobacter* berwarna merah muda pada media EMBA (Darna dkk, 2018).

Escherichia adalah genus bakteri Coliform fekal umumnya hidup di dalam usus hewan mamalia, termasuk ikan. Bakteri ini juga menkontaminasi ikan-ikan segar dan sangat membahayakan jika ikan segar yang telah terkontaminasi dikonsumsi secara langsung. Dalam jumlah yang terkontrol, bakteri ini merupakan mikroba normal pada ikan. (Taufik, 2017). Coliform fekal adalah bakteri-bakteri yang berasal dari kotoran manusia dan hewan. Adanya bakteri *Escherichia* pada kalora karena produk pangan ini dikonsumsi tanpa melalui pemasakan. *Escherichia* merupakan bakteri mesofilik yang tumbuh dengan baik pada suhu 39° C. Selain itu, bakteri *Escherichia* diduga juga berasal dari cara pengolahan yang kurang higienis. Kalora adalah produk pangan masyarakat TNS yang masih bersifat tradisional. Pengolahan produk pangan ini umumnya dilakukan secara tidak terkontrol sehingga memungkinkan ditemukannya mikroba

pembusuk dan patogen. Bakteri *Escherichia* dapat menyebabkan penyakit seperti disentri pada anak-anak dan orang dewasa.

Bakteri lain yang ditemukan dalam tubuh khususnya usus ikan adalah *Enterobacter* yang bertindak sebagai patogen. *Enterobacter* merupakan bakteri gram negatif, bersifat fakultatif anaerobik, berbentuk batang dan bisa bergerak. Berbeda dengan *Escherichia* yang mempunyai habitat asli pada usus, *enterobacter* tidak diketahui habitat asli sampai sekarang, tetapi *enterobacter* tersebar luas pada lingkungan, makanan, air, tanah, dan sayuran. *Enterobacter* berkembang biak dengan baik pada usus. Bakteri ini dapat menimbulkan infeksi yang ditularkan pada ikan yang berada lingkungan kurang sehat atau perlakuan kurang steril (Mahendra 2016).

SIMPULAN

Nilai MPN bakteri Coliform pada kalora ikan kakap adalah 9,2 MPN/g, kalora ikan tuna 6,2 MPN/g dan kalora ikan layang 3,6 MPN/g. Nilai tersebut masih berada di bawah standar ambang batas cemaran maksimum yang ditetapkan oleh BPOM sehingga kalora masih aman untuk dikonsumsi. Karakteristik morfologi bakteri- Coliform pada kalora bervariasi. Diduga *Escherichia* dan *Enterobacter* adalah dua genus dominan pada produk fermentasi ini.

DAFTAR PUSTAKA

Darna, M., T., Rahmawati. 2018. Identifikasi Bakteri Anggota *Enterobacteriaceae* pada

- Makanan Tradisional Sotong Pangkong. *Jurnal Labor Medika* Vol 2(2): 6-12.
- Hadioetomo, R.S. 1993. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Mahendra, G. 2016. Pengaruh Infeksi Bakteri *Enterobacter sp.* dengan Injeksi Intraperitoneal terhadap Kelulusan Hidupan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga: Surabaya.
- Mahulette, F., Mubarik, N.R., Suwanto, A, dan Widanarni. 2018. Diversity of lactic acid bacteria in inasua fermentation. *Iranian Journal of Microbiology*. Vol.10(5): 258-265.
- Maruka, S.S, Siswohutomo, G., Rahmatu R.P. 2017, Identifikasi bakteri *Escherichia coli* pada ikan layang (*Decapterus ruselii*) segar di Berbagai Pasar Kota Palu. *Mitra Sains*. Vol 5(1): 84-89.
- Mawli, R, E., Trimulyono, G. 2019. Pengaruh Pemberian Asap Cair Ampas Tebu Terhadap Pertumbuhan Bakteri Pada Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*). *Jurnal Mahasiswa Unesa* Vol 8(2) 2252-3979
- Ghanem, N.A., Elshabasy, N.A., Ibrahim, H.A., Samaha, I.A. 2014. Enterobacteriaceae in Some Marine Fish Fillet. *Alexandria Journal of Veterinasy Science*. Vol. 40: 124-131.
- Paendong, A.R.M., Fatimawali, dan Lebang, J.S. 2022. Karakterisasi ekstrak etanol kulit buah lemon suanggi *Citrus limon* L). *Pharmacon*. Vol.11(1): 1302-1308.
- BPOM No. 13 Tahun 2019 Tentang Batas Maksimal Cemaran Mikroba dalam Pangan Olahan. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan
- Sari, D, P., Rahmawati., Rusmiyanto, E. 2019. Deteksi dan identifikasi genera bakteri *Coliform* hasil isolasi dari minuman lidah buaya. *Jurnal Labora Medika*. Vol. 3(1):29-35.
- Tapotubun, A, M., Savitri, I, K. E., Matrutty, T, E, A, A. A. Penghambatan Bakteri Patogen pada Ikan Segar yang Diaplikasi *Caulerpa Lentillifera*. *Jurnal IPB*. Vol 19(3):299-308.
- Taufik, T, F., Soleha, T, U., Anggraeni, J, W., dan Ramadian, M, R. 2017. Identifikasi Bakteri Coliform pada Salmon Mentah dalam Sajian Sushi di Restoran Jepang di Bandar Lampung. *Jurnal Medical Profession of Lampung* Vol. 7(5):210-21.
- Trahutami, S.I. 2019. Choumiryou dan Harapan Hidup Orang Jepang. *Endogami* Vol. 2(2): 144-149.
- Wiliantari, P, P., Besung, N, K., dan Tono, K. 2018. Bakteri Coliform Dan Non Coliform Yang Diisolasi Dari Saluran Pernapasan Sapi Bali. *Jurnal Buletin Veteriner Udayana*. Vol. 10(1):40-44