

KELIMPAHAN DAN KARAKTERISTIK BAKTERI KOLIFORM PADA BAKASANG BIA GARU (*Tridacna gigas* L) BERDASARKAN JENIS BAHAN PENGAWET

Ferymon Mahulette¹, Brian Sarak¹, Kristin Sangur¹, Ronny Rupilu²

1. Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Pattimura
2. Dinas Perikanan Kabupaten Maluku Barat Daya

E-mail: ferymonm@gmail.com

Abstract

Background: Giant clam or *bia garu* is a kind of bivalves in the coral ecosystems. This biota is used as the raw material for processing bakasang by the people of the Babar Islands in Maluku. Preservatives used in the processing of bakasang are depend on the habits of the people. This study aims to determine the number and characteristics of coliform bacteria in clams bakasang based on the type of preservative.

Methods: The presumptive test used the Most Probably Number (MPN) method on Lactose broth followed by characterization on Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) media.

Result: The number of coliform bacteria in clams bakasang using palmyra vinegar was 20 MPN/g while bakasang using salt and vinegar was 150 MPN/g. The macroscopic characterization of coliform bacteria in both types of clams bakasang were metallic green and pink with varying edges and elevations. In bakasang using palmyra vinegar were also found yellow and white coliform bacteria. The Microscopic characterization of coliform bacteria in clams bakasang was Gram negative rods with varied cell arrangement.

Conclusion: It is suspected that these bacteria belong to the genera *Citrobacter*, *Enterobacter*, and *Escherichia*.

Keywords: Clams *bakasang*, Coliform, Palmyra vinegar, Preservative

Abstrak

Latar belakang: Kima raksasa atau *bia garu* adalah sejenis bivalvia yang sering ditemukan pada perairan ekosistem karang. Biota ini digunakan sebagai bahan dasar pembuatan bakasang oleh masyarakat Kepulauan Babar di Maluku. Bahan pengawet yang digunakan dalam pengolahan bakasang sangat tergantung pada kebiasaan masyarakat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah dan karakteristik bakteri koliform pada bakasang kima berdasarkan jenis bahan pengawet.

Metode: Uji pendugaan menggunakan metode Angka Paling Mungkin (MPN) pada *Lactosa broth* dilanjutkan dengan karakterisasi pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA). **Hasil:** Jumlah bakteri koliform pada bakasang kima yang menggunakan cuka koli adalah 20 MPN/g sedangkan bakasang yang menggunakan garam dan cuka adalah 150 MPN/g. Karakterisasi makroskopis bakteri koliform pada kedua jenis bakasang adalah berwarna hijau metalik dan merah muda dengan bentuk tepian dan elevasi yang bervariasi. Pada bakasang kima menggunakan cuka koli juga ditemukan bakteri koliform berwarna kuning dan putih. Karakterisasi mikroskopis bakteri koliform pada bakasang kima adalah batang Gram negatif dengan penataan sel bervariasi. **Kesimpulan:** Diduga bakteri-bakteri tersebut termasuk dalam genus *Citrobacter*, *Enterobacter*, dan *Escherichia*.

Kata Kunci : *Bakasang* kima, Koliform, Cuka koli, Bahan pengawet

PENDAHULUAN

Kima atau *bia garu* (*Giant clam*), merupakan salah satu jenis bivalvia yang sering ditemukan pada perairan ekosistem karang (Niartiningsih, 2012). Biota laut ini diolah secara fermentasi menjadi bakasang oleh masyarakat Kepulauan Babar di Kabupaten Maluku Barat Daya (MBD), Maluku. Masyarakat setempat lebih mengenal produk fermentasi ini dengan sebutan *bakasang botol* karena umumnya disimpan di dalam botol.

Selain kima, bakasang juga dapat diolah dari bahan dasar lain, seperti jeroan ikan cakalang (Purwaningsih *et al.*, 2013) dan laor (Mahulette dan Kurnia, 2020). Pengolahan bakasang kima sangat bervariasi, terutama jenis bahan pengawet yang ditambahkan untuk memperpanjang masa simpan. Bahan pengawet utama yang biasa ditambahkan adalah garam dan cuka.

Pada umumnya bakteri pembusuk relatif lebih sensitif terhadap garam. Garam dapat berfungsi sebagai bahan pengawet karena dapat menaikkan tekanan osmosis yang menyebabkan terjadinya plasmolisis pada sel mikroba (Purwaningsih *et al.*, 2013). Selain garam, asam asetat sebagai komponen utama cuka yang dihasilkan oleh bakteri asam asetat secara fermentasi maupun sintetik juga dapat menekan pertumbuhan bakteri pembusuk dan patogen dalam bahan pangan.

Pembuatan bakasang kima masih dilakukan secara tradisional sehingga proses pengolahannya tidak terkontrol. Fermentasi produk lokal ini berlangsung secara spontan. Dalam proses fermentasi ini pertumbuhan bakteri dirangsang dengan penambahan garam dan karbohidrat dalam kondisi anaerobik (Candra, 2006).

Fermentasi secara spontan dan pengolahan secara tidak terkontrol memungkinkan ditemukannya bakteri kontaminan dalam bakasang kima. Salah satu kelompok bakteri yang sering mencemari produk pangan adalah koliform. Koliform adalah bakteri gram negatif berbentuk batang, bersifat anaerob atau fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan dapat memfermentasi laktosa untuk menghasilkan asam dan gas pada suhu 35°C-37°C (Knechtges, 2011).

Koliform dapat digunakan sebagai indikator untuk menentukan kualitas dari lingkungan air, tanah dan makanan. Kelompok bakteri ini berasal dari sistem pencernaan hewan, termasuk manusia dan juga pada tinja (Novel *et al.*, 2010). Keberadaan bakteri koliform dalam produk fermentasi pangan dapat ditolerir jika jumlahnya tidak melampaui ambang batas yang telah ditentukan 10 MPN/g yaitu 10 unit tumbuh (*grow unit*) *coliform* pada setiap gramnya (perBPOM, 2019).

Riset tentang bakasang kima belum pernah dilakukan padahal produk ini telah lama dikonsumsi oleh masyarakat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah dan karakteristik bakteri koliform dalam bakasang kima.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilakukan pada tanggal 4 hingga 12 Maret 2022 di Laboratorium Biologi Dasar FKIP Universitas Pattimura. Sampel bakasang kima diawetkan menggunakan garam dan cuka sintetik (BGC) diperoleh dari Desa Nurnyaman di Pulau Daweloor, serta cuka koli dari Desa babyotan (Pulau Masela). Uji pendugaan bakteri koliform menggunakan metode Angka paling Mungkin (MPN) pada media Lactosa broth, dilanjutkan dengan karakterisasi pada media Eosin Methylene Blue Agar (EMBA), uji katalase serta pewarnaan untuk menentukan karakteristik secara mikroskopis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Uji Pendugaan

Hasil pengukuran nilai MPN dari kedua sampel menunjukkan bahwa sampel BGC memiliki kombinasi tabung positif yaitu 3-2-1 dengan nilai MPN tertinggi yaitu 150 (MPN/g), sedangkan sampel BCK memiliki kombinasi tabung positif 2-1-1 dengan nilai MPN hanya sebesar 20 (MPN/g). Tabung positif ditandai dengan adanya gelembung gas yang terperangkap di dalam tabung Durham. Hal ini mengindikasikan kemampuan bakteri koliform untuk memfermentasi laktosa. Hasil uji pendugaan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Pendugaan Bakteri Koliform Pada Bakasang Kima Menggunakan Media *Lactose Broth*.

Sampel	Hasil Pengamatan						Kombinasi Tabung Positif	Nilai MPN/g			
	10 ml		1,0 ml		0,1 ml						
BCK	-	+	+	-	-	+	+	-	-	2-1-1	20
BGC	+	+	+	+	+	-	+	-	-	3-2-1	150

Keterangan : BCK = Bakasang kima menggunakan cuka koli

BGC = Bakasang kima menggunakan garam dan cuka sintetik

Bakasang kima merupakan produk olahan khas masyarakat Kepulauan Babar yang proses pengolahannya masih bersifat tradisional dan tidak terkontrol sehingga memungkinkan bakteri koliform dapat tumbuh dalam jumlah yang melampaui ambang batas. Hal ini dibuktikan dengan nilai MPN pada sampel BCK sebesar 20 MPN/g, sedangkan nilai MPN pada sampel BGC terlampaui tinggi, yaitu 150 MPN/g. Padahal ambang batas kontaminasi bakteri koliform dalam bahan pangan yang telah ditentukan hanya sebesar 10 MPN/g (perBPOM, 2019).

Tingginya nilai MPN sampel BGC disebabkan cuka yang digunakan merupakan cuka sintetik yang tidak mengandung bakteri asam laktat. Cuka koli yang digunakan dalam pengawetan sampel BCK merupakan hasil fermentasi nira yang memiliki kadar alkohol dan keasaman yang tinggi. Keasaman tersebut dihasilkan oleh bakteri asam laktat yang berperan sebagai antimikroba sehingga bakteri patogen tidak dapat tumbuh (Destiari dan Mahanani, 2022). Rendahnya nilai MPN pada BCK juga dipengaruhi oleh peranan bakteri probiotik seperti *Lactobacillus* yang terlibat dalam proses pembuatan cuka koli.

Faktor lain seperti kebersihan tangan dan tempat pengolahan, serta sterilitas alat dan bahan bahkan tempat penyimpanan hasil olahan kima juga turut mempengaruhi keberadaan bakteri koliform pada bakasang kima karena pengolahan produk fermentasi ini tidak melalui proses sterilisasi alat dan bahan yang sesuai.

2. Uji Penegasan

Hasil karakterisasi ditemukan 7 koloni yang terdiri dari 5 koloni dari sampel BCK, sedangkan 2 koloni diperoleh dari sampel BGC. Dari 5 koloni pada sampel BCK, dua diantaranya memiliki bentuk tak beraturan dan menyebar (koloni 1 dan 7), sedangkan 3 koloni yang lain memiliki bentuk bundar dengan tepian timbul, keriput dan konsentris (koloni 2, 3, dan 6). Tepian koloni pada sampel BCK ini didominasi oleh bentuk tepian berombak, begitu juga dengan warna koloni yang didominasi oleh warna merah muda. Pada sampel BGC, kedua koloni sama-sama memiliki bentuk koloni bundar, tepian licin, elevasi datar dan hanya dibedakan dari warna koloninya yang berbeda, yaitu merah muda pada koloni 4 dan hijau metalik pada koloni 5. Hasil uji penegasan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Karakteristik Makroskopis Bakteri Koliform Pada Bakasang Kima Menggunakan Media *Eosin methyleneblue agar* (EMBA).

Sampel	Kode Koloni	Karakteristik Makroskopis				Estimasi genus*
		Bentuk	Tepian	Elevasi	Warna	
BCK	K1	Tak beraturan dan menyebar	Berlekuk	Berbukit	Kuning	Citrobacter
	K2	Bundar dengan tepian timbul	Licin	Timbul	Merah muda	Enterobacter
	K3	Keriput	Berombak	Timbul	Merah muda	Enterobacter
	K6	Konsentris	Berombak	Datar	Putih	Tidak teridentifikasi
	K7	Tak beraturan dan menyebar	Berombak	Datar	Hijau metalik	Escherichia

BGC	K4	Bundar	Licin	Datar	Merah muda	Enterobacter
	K5	Bundar	Licin	Datar	Hijau metalik	Escherichia

*Berdasarkan Madigan dan Martinko (2006).

Bakteri koliform 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 koliform secara makroskopis. Hasil pengamatan karakteristik makroskopis koloni menunjukkan bahwa bakteri koliform yang ditemukan pada bakasang kima berwarna hijau metalik, kuning, dan merah muda. Bakteri *Echerichia* memiliki koloni berwarna hijau metalik, *Enterobacter* berwarna merah muda dan *Citrobacter* berwarna kuning pada media EMBA (Darna *et al.*, 2018)

3. Pewarnaan Gram

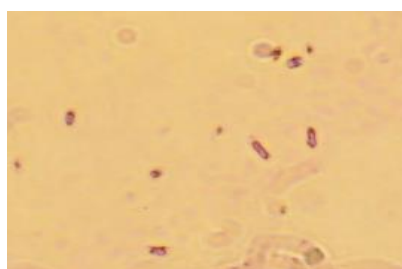
Hasil pengamatan secara mikroskopis menunjukkan bahwa semua isolat berbentuk batang dan berwarna merah (gram negatif) yang merupakan ciri utama bakteri koliform. Isolat-isolat tersebut memiliki penataan sel yang bervariasi. Isolat 1 sampel BCK memiliki penataan sel berpasangan (*duplo*), isolat 2 sampel BCK memiliki penataan sel tunggal (*mono*). Penataan sel berantai ditemukan pada isolat 6 sampel BCK dan pada isolat 4 sampel BGC, sedangkan isolat 3 dan 7 sampel BCK dan isolat 5 sampel bakasang BGC memiliki jenis penataan sel bergerombol. Hasil pewarnaan gram dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 3

Tabel 3 Karakteristik Mikroskopis Bakteri Koliform Pada Bakasang Kima Menggunakan Pewarnaan Gram (Pembesaran 1000x) dan Uji Katalase.

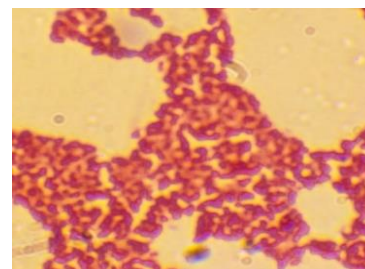
Jenis pengawet	Kode Isolat	Karakteristik Mikroskopis				Uji katalase
		Warna	Bentuk	Gram	Penataan	
BCK	IS 1	Merah	Batang	Negatif	Duplo	+
	IS 2	Merah	Batang	Negatif	Mono	+
	IS 3	Merah	Batang	Negatif	Bergerombol	+
	IS 6	Merah	Batang	Negatif	Berantai	+
	IS 7	Merah	Batang	Negatif	Bergerombol	+
BGC	IS 4	Merah	Batang	Negatif	Berantai	+
	IS 5	Merah	Batang	Negatif	Bergerombol	+



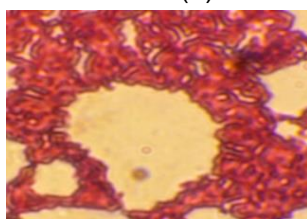
(a)



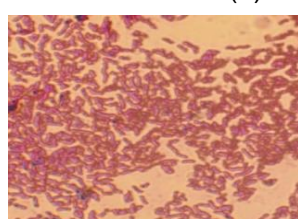
(b)



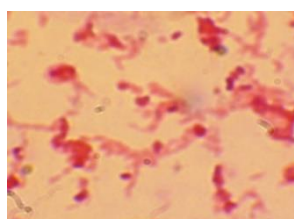
(c)



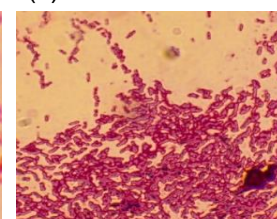
(d)



(e)



(f)



(g)

Gambar 3 Karakteristik Mikroskopis Bakteri Koliform Pada Bakasang Kima Menggunakan Pewarnaan Gram Dengan Pembesaran 1000x. Isolat 1 BCK (a), Isolat 2 BCK (b), Isolat 3 BCK (c), Isolat 4 BGC (d), Isolat 5 BGC (e), Isolat 6 BCK (f), Isolat 7 BCK (g).

SIMPULAN

1. Nilai MPN bakteri koliform pada bakasang kima dengan pengawet cuka koli adalah 20 MPN/g, sedangkan bakasang kima dengan pengawet garam dan cuka sintetik adalah 150 MPN/g. Nilai tersebut sudah melebihi ketentuan standar ambang batas cemaran maksimum yaitu 10 MPN/g.
2. Karakterisasi morfologi bakteri koliform bervariasi. Karakterisasi makroskopis bakteri koliform pada kedua jenis bakasang kima adalah berwarna hijau metalik dan merah muda dengan bentuk tepian dan elevasi yang bervariasi, sedangkan bakasang kima cuka koli juga ditemukan bakteri koliform berwarna kuning dan putih. Karakterisasi mikroskopis bakteri koliform pada kedua jenis bakasang kima adalah batang Gram negatif dengan penataan sel bervariasi. Diduga bakteri-bakteri tersebut termasuk dalam genus *Citrobacter*, *Enterobacter*, dan *Escherichia*.

DAFTAR PUSTAKA

- Candra, J. Iryadi. 2006. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Produk Bekasam Ikan Bandeng (*Chanos chanos*). Skripsi. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan IPB. Diakses tanggal 30 Desember 2012
- Darna, Masnur, T, Rahmawati. 2018. Identifikasi Bakteri Anggota Enterobacteriaceae Pada Makanan Tradisional Sotong Pangkong. *Jurnal Labora Medika* Vol 2(2):6-12
- Destiari, A. W., Mahanani, T. A. 2022. Pengaruh Fermentasi Nira Siwalan (*Borassus flabellifer*) terhadap Koliform dan *Escherichia coli* pada Selada (*Lactuca sativa*). *LenteraBio*, 2022; Vol 11(1):174-182
- Knechtges, P.L., 2011. Food Savety Teory and Practice, East Carolina University, Jones & Bartlett. Available from : Google book [10 April 2016]

- Madigan, M.T., Martinko, J.M. 2006. *Brock Biology of Microorganisms*. Eleventh Edition. London: Pearson Educational International.
- Mahulette, F., Kurnia, T.S. 2020. Microbiological and Physicochemical Characteristics of Bakasang Laor, a Traditional Fermented Fishery product from Maluku, Indonesia. *Biodiversitas* Vol 21(5): 2216-2223.
- Niartiningih, A., 2012. Kima, Biota Laut Langka: Budidaya dan Konservasinya. Identitas Universitas Hasanuddin. Makassar
- Novel, S.S., Wulandari, A.P., Safitri, R. (2010). *Praktikum Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Trans Info Media. Halaman: 120.
- perBPOM No. 13 Tahun 2019 Tentang batas maksimal cemaran mikroba dalam pangan olahan. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan
- Purwaningsih S, Santoso J, Garwan R. 2013. Perubahan Fisiko-Kimiawi, Mikrobiologis dan Histamin Bakasang Ikan Cakalang (*Katuwonus palamis*) Selama Fermentasi dan Penyimpanan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 24(2)1-10