



Microbiological Testing for Bacteria *Salmonella* sp. on Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Using ISO 6579-1:2017 Method at UPTD PPMHP Banten

Pengujian Mikrobiologi Bakteri *Salmonella* sp. pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan metode ISO 6579-1: 2017 di UPTD PPMHP Banten

Tia Yusmila¹, Devi Faustine Elvina Nuryadin^{1,*}, Ichsanudin Ramdani²

¹ Jurusan Ilmu Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Kota Serang, 42163, Indonesia

² UPTD, Pengujian dan Penerapan Mutu Hasil Perikanan PPMHP Tangerang, Kota Tangerang, Banten 15118, Indonesia

Received 3 March 2024

Accepted 27 August 2024

Published 10 February 2025

ABSTRACT

Fish is a food source that is available in large quantities in Indonesia. Indonesia's fisheries production is recorded as occupying the third largest position with total production of 6.43 million tons in the world (FAO 2022). Tilapia is a perishable food so it needs to be handled well so that the freshness of the fish is maintained. The quality of freshness can include appearance, taste, smell and texture which will be consciously or unconsciously assessed by buyers or users of the product. Apart from the freshness and high nutritional value of tilapia, there are aquatic pathogenic microorganisms that can cause disease in humans, for example nausea, diarrhea and stomachache. The presence of microbes in fish can affect quality, such as reducing the freshness of fishery product quality and consumer welfare. Pathogenic bacteria that are often found include *Salmonella* sp. UPTD PPMH Banten is the organizer of quality control and safety of certified fishery products as well as a quarantine center for microbiological testing of pathogenic bacteria in fishery products, one of which is *Salmonella* sp. The purpose of the test is to find out the correct testing procedures and according to the procedures, to find out the results of the analysis of *Salmonella* sp. contamination. on tilapia. Microbiological testing method for *Salmonella* sp. bacteria. carried out by referring to the standard procedure ISO 6579-1:2017. Results of microbiological testing for *Salmonella* sp. with the addition of ATCC: 14028 *Salmonella* Typhi culture in tilapia fish showed positive results for *Salmonella* sp..

Keywords: tilapia, microbiology, *Salmonella*

1. Pendahuluan

Ikan merupakan sumber pangan yang tersedia dalam jumlah besar di Indonesia. Di tingkat dunia, produksi perikanan Indonesia tercatat menempati posisi ketiga terbesar dengan total produksi sebesar 6,43 juta ton (Food Agriculture Organization 2022). Masyarakat Indonesia sangat gemar mengonsumsi ikan, hal ini dikarenakan harga jual ikan yang terjangkau dan memiliki manfaat gizi yang tinggi. Salah satu ikan yang sangat terkenal di kalangan masyarakat adalah

ikan nila. Kementerian Kelautan dan Perikanan mencatat data produksi ikan nila tahun 2022 di Indonesia memiliki nilai yang tinggi yaitu 1,41 juta ton dengan nilai Rp36,47 triliun (KKP 2022).

Ikan nila merupakan salah satu bahan pangan yang mudah rusak (*perishable food*) sehingga perlu dilakukan penanganan yang baik agar kesegaran ikan tetap terjaga. Kualitas kesegaran dapat mencakup kenampakan, rasa, bau dan tekstur yang secara sadar atau tidak sadar akan dinilai oleh pembeli atau pengguna

*Corresponding author
mail address: devifaustine@untirta.ac.id



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License

produk (Winarni *et al.* 2003). Selain kesegaran mutu dan kandungan gizinya yang tinggi pada ikan nila, terdapat mikroorganisme patogen air yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia, misalnya mual-mual, diare, muntah, dan sakit perut.

Salmonella sp. adalah spesialis penyebab penyakit obsesif pada manusia, sapi, unggas dan hewan lainnya. Kontaminasi *Salmonella* merupakan penyebab utama kekhawatiran bagi manusia, hewan dan industri makanan, khususnya produk perikanan. Adanya kadar *Salmonella* sp. pada ikan nila seringkali diperoleh melalui pembusukan kotoran hewan dan pakan tambahan selama proses budidaya konvensional. Cara budidaya ikan nila yang umum dilakukan adalah dengan membuang kotoran hewan yang banyak mengandung penumpukan antitoksin sehingga menyebabkan bakteri ini berpindah ke dalam tubuh ikan nila (Effendi *et al.* 2020).

Unit Pelaksana Teknis Daerah (UPTD) Pengujian dan Penerapan Mutu Hasil Perikanan Provinsi Banten merupakan penyelenggara pengendalian mutu dan keamanan hasil perikanan bersertifikasi serta sebagai balai karantina dalam pengujian mikrobiologi bakteri patogen pada produk perikanan salah satunya bakteri *Salmonella* sp. Dalam rangka pelaksanaan Kuliah Kerja Profesi mahasiswa program studi Ilmu Perikanan konsentrasi Teknologi Pengolahan Perikanan, maka dibutuhkan keterampilan dan wawasan mengenai dunia pekerjaan serta implementasi ilmu yang didapatkan dalam mengemban kewajiban menuntut ilmu. Menurut latar belakang di atas maka dibutuhkan studi lebih lanjut mengenai cemaran kandungan mikroba pada ikan nila berupa pengujian *Salmonella* sp. karena merupakan bagian penting dari pengawasan dan pengendalian mutu hasil perikanan.

2. Metodologi

2.1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Pelaksanaan Kuliah Kerja Profesi (KKP) pada tanggal 18 Januari–23 Februari 2023. Sedangkan pengujian mikrobiologi bakteri *Salmonella* sp. pada ikan nila telah dilaksanakan selama sepuluh hari yaitu pada

tanggal 12–22 Februari 2024 di laboratorium mikrobiologi, Unit Pelaksana Teknis Daerah (UPTD) Penerapan dan Pengendalian Mutu Hasil Perikanan Banten.

2.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam pengujian ini ialah Autoclave, Oven, Inkubator $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, Waterbath dengan suhu $41,5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, Laminar airflow, vortex, refrigerator, hot plate, erlenmeyer, stomacher beserta plastik steril, jarum inokulasi (ose), pipet steril, gunting steril, cawan petri steril, kapas steril, nampan steril mikropipet, timbangan analitik, bunsen, spatula, gelas ukur, tabung reaksi dan penyangga tabung reaksi.

Bahan yang digunakan pada pengujian ini ialah Buffered peptone water (BPW), ATTC *Salmonella*: 14028, Rappaport-Vassiliadis medium with soya (RVS broth), Muller-Kauffmann tetrathionate novobiocin broth (MKTTn broth), Potassium iodide, Iodine, Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) Agar, Hektoen Enteric Agar (HE), Nutrient agar, Triple sugar/iron agar (TSI agar), Urea Agar (Christensen), L-Lysine decarboxylation medium, Physiological Saline 0,85%, ONPG disk, Reagen β -Galactosidase, Reagen Kovac's, Antiserum *Salmonella*-O dan H.

2.3. Metode Penelitian

Metode pengujian mikrobiologi bakteri *Salmonella* sp. dilakukan dengan mengacu pada prosedur standar ISO (International Organization for Standardization) 6579-1:2017 yang berjudul: "Microbiology of the Food Chain – Horizontal Method for the Detection, Enumeration and Serotyping of *Salmonella*. Part 1: Detection of *Salmonella* spp.".

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Hasil Tahap Pra-Pengkayaan Sampel *Salmonella* sp.

Pada Gambar 1 dapat dilihat perbedaan sebelum dan sesudah inkubasi. Setelah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C larutan sampel ikan nila yang ditambahkan Buffered Pepton Water (BPW) 225 mL dan media kultur murni ATTC *Salmonella* sp. 14028 sebanyak 4 mL (Gambar 1)

menunjukkan kekeruhan yang menandakan adanya pertumbuhan mikroorganisme berupa bakteri *Salmonella* sp. Sedangkan sebelum inkubasi warna sampel tidak terlalu keruh. Ferdiaz (1992) menyatakan, terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi perkembangan suatu mikroorganisme. Variabel ekologi yang memengaruhi perkembangan mikroorganisme mencakup unsur-unsur nyata antara lain suhu, kandungan oksigen, regangan osmotik, pH, dan lain-lain. Faktor bahan antara lain campuran berbahaya atau campuran sintetis lainnya yang berfungsi sebagai bahan makanan. Unsur alam, khususnya komunikasi dengan mikroorganisme yang berbeda (Azara *et al.* 2020).



Figure 1. Before incubation (top) and after incubation (bottom).

Gambar 1. Sebelum inkubasi (atas) dan sesudah inkubasi (bawah).

3.2. Hasil Analisis Tahap Pengkayaan

Hasil tahap pengayaan media berupa larutan sampel diambil 0,1 mL untuk di masukkan ke dalam 10 mL media RV dan 1 mL larutan sampel uji di masukkan ke dalam

10 mL media *Muller-Kauffmann tetrathionate novobiocin broth* (MKTTn borth) lalu diinkubasi media *Rappaport-Vassiliadis* (RV) ke dalam *waterbath* pada suhu $41,5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam $\pm$ 3 jam dan MKTTn di masukkan dalam inkubator pada suhu $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Setelah diinkubasi warna media sedikit keruh menandakan koloni tumbuh, berbeda pada gambar Media berwarna cukup terang. Proses pengkayaan kultur pada media selektif RV dan MKTTn dapat dilihat di Gambar 2. Media RV da MKTTn berfungsi sebagai media penyeleksi terhadap bakteri bukan *Salmonella* sp. serta sekaligus memperkaya bakteri *Salmonella* sp. karena mengandung zat inhibitor untuk menghambat pertumbuhan bakteri lainnya (Arsinawati *et al.* 2016).

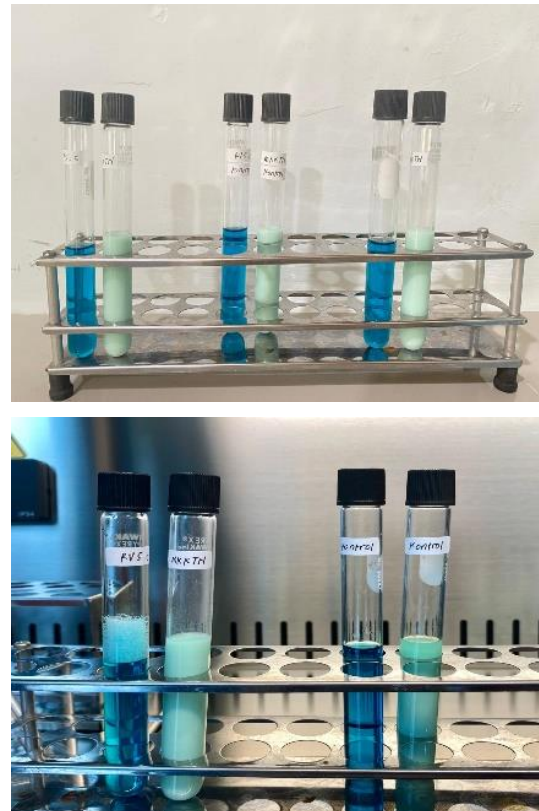


Figure 2. RV and MKTTn media before incubation (top) and after incubation (bottom).

Gambar 2. Media RV dan MKTTn sebelum inkubasi (atas) dan sesudah inkubasi (bawah).

3.3. Hasil Isolasi *Salmonella* sp. (Seleksi pada Media Agar)

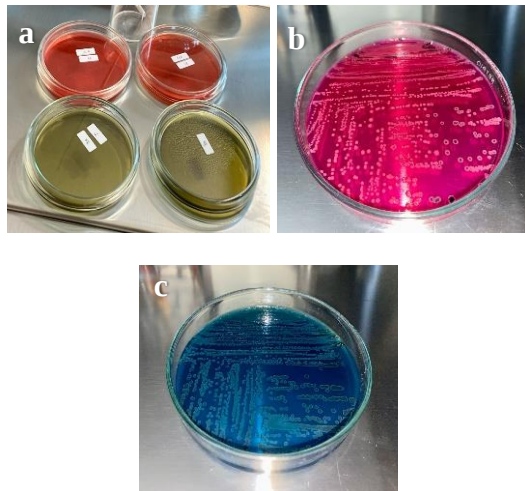


Figure 3. XLD Media and HE Pre-incubation (a), XLD positive media (b) and HE positive media (c).

Gambar 3. Media XLD dan HE Pra-inkubasi (a), media XLD Positif (b) dan media HE Positif (c).

Pada tahap isolasi *Salmonella* sp. dilakukan seleksi pada media XLD dan HE dengan cara inokulasi media RVS broth dan MKTTn yang sudah diinkubasi. Media agar XLD dan HE diinokulasikan dengan metode *streak* tiga kuadran. Selanjutnya balik cawan hingga bagian bawah cawan berada di atas. Inkubasi cawan XLD dan HE selama 24 jam $\pm$ 3 jam pada suhu 37°C $\pm$ 1°C. Medium XLD dapat menghambat perkembangan mikroorganisme Gram positif karena mengandung natrium deoksikolat sehingga bakteri Gram negatif dapat tumbuh dengan pesat serta mengandung tiosulfat sebagai kandungan yang dapat menghasilkan H₂S (Hidrogen Sulfida) dalam yang muncul pada permukaan medium XLD berupa inti hitam pekat (Hyatt *et al.* 2004).

Selanjutnya pada media XLD dan HE setelah inkubasi. Pada media XLD menunjukkan adanya pertumbuhan koloni khas (*typical*) berwarna merah jambu (*pink*) disertai inti hitam. Pada media HE menunjukkan adanya pertumbuhan koloni khas (*typical*) berwarna hijau kebiruan disertai inti hitam. Selanjutnya hasil inkubasi media XLD dan HE positif masuk ke tahap

berikutnya yaitu uji konfirmasi yang meliputi uji biokimia dan uji serologi (ISO 2017).

3.4. Analisis Hasil Uji Biokimia

3.4.1. Hasil Uji Agar Miring Triple Sugar Iron (TSI)

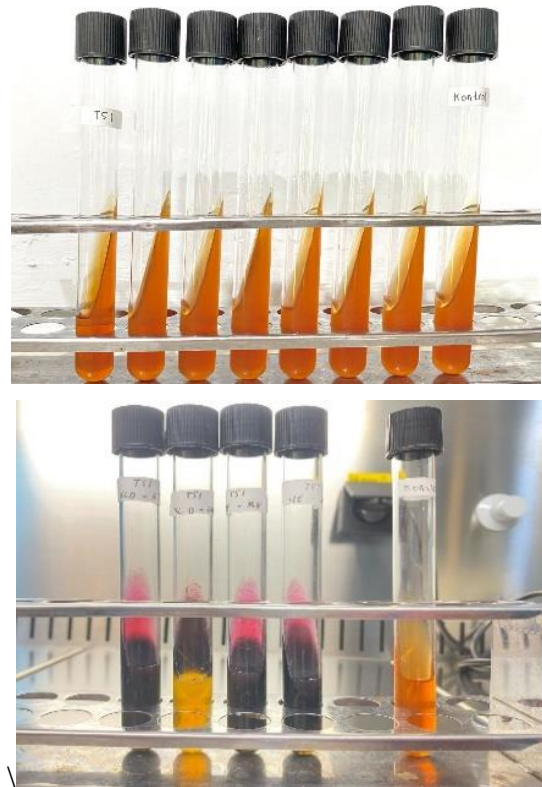


Figure 4. TSI Slant Agar before incubation (top) and TSI Slant Agar after incubation (bottom).

Gambar 4. Agar Miring TSI sebelum inkubasi (atas) dan Agar Miring TSI setelah inkubasi (bawah).

Uji kemiringan pada TSI Agar merupakan teknik yang digunakan untuk melihat kemampuan mikroorganisme dalam memfermentasikan gula. Media TSI Agar mengandung 3 jenis gula yaitu glukosa, laktosa dan sukrosa. Terdapat penanda fenol merah, serta FeSO₄ yang menunjukkan komposisi H₂S yang digambarkan dengan adanya endapan berwarna hitam gas (Herley *et al.* 2022).

Pada pengujian biokimia tahap analisis pertama menurut ISO (2017) dilakukan uji agar miring media *Triple Sugar Iron* (TSI) yang diinokulasikan menggunakan 1 *loop*

Koloni khas (*typical*) dari media selektif XLD dan HE Agar. Pada media TSI Agar diinokulasi dengan cara menggores (*streak*) pada permukaan agar miring (*slant surface*) serta menusukkan jarum ose pada agar tegak (*stab the butt*). Inkubasi selama 24 jam $\pm$ 3 jam pada suhu 37°C $\pm$ 1°C. Sebelum Agar miring TSI diinkubasi berwarna oranye. Sedangkan pada hasil TSI Agar setelah inkubasi menunjukkan reaksi positif. Reaksi spesifik pada TSI Agar yaitu alkaline basa (berwarna merah) pada agar miring, asam (berwarna kuning) pada agar tegak, H₂S positif (berwarna hitam) dan terdapat gas.

3.4.2. Hasil Uji Agar Miring Urea



Figure 5. Urea Agar before incubation (top) and Urea Agar after incubation (bottom).

Gambar 5. Urea Agar sebelum inkubasi (atas) dan Urea Agar setelah inkubasi (bawah).

Hasil pengujian pada Urea Agar (*Christensen*) menunjukkan hasil negatif karena warna tidak berubah setelah inkubasi

sesuai pada. Pengujian Urea agar sebelum inkubasi dilakukan dengan penambahan 1 loop media kultur TSI yang di gores (*streak*) pada permukaan miring Urea Agar menggunakan jarum ose. Prinsip pengujian ini adalah urea akan dihidrolisis menjadi karbon dioksida dan enzim urase mengubahnya menjadi ammoniak (Pelczar *et al.* 2010). Amonia yang terbentuk kemudian menjadikan medium menjadi basa (*Alkaline*), respon ini mengubah warna kuning menjadi merah fenol (ungu-kemerahan) yang menunjukkan respon positif. Hasil negatif *Salmonella* sp. (*typical*) tidak akan terhidrolisis oleh enzim urase sehingga warnanya tidak berubah (ISO 2017).

3.4.3. Hasil Uji L-Lysine Decarboxylation

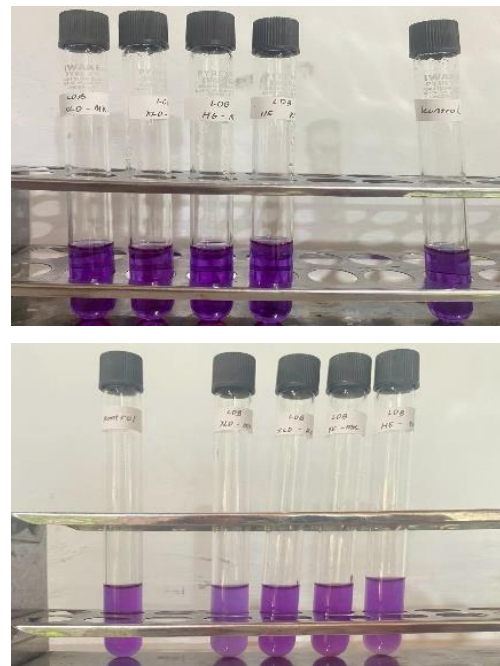


Figure 6. LDB before incubation (top) and LDB after incubation (bottom).

Gambar 6. LDB sebelum inkubasi (atas) dan LDB setelah inkubasi (bawah).

Hasil uji pada media *L-Lysine Decarboxylation* menunjukkan reaksi positif karena menghasilkan kekeruhan pada warna ungu. Biakan murni diambil sebanyak 1 loop TSI Agar yang diinokulasi ke dalam 5 mL media *L-Lysine Decarboxylation*. Inkubasi selama 24 jam $\pm$ 3 jam pada suhu 37°C. Sedangkan warna kuning mengindikasikan negatif (ISO 2017).

3.4.4. Hasil Reaksi Indol



Figure 7. *Tryptone* before incubation (top) and *Tryptone* after incubation (bottom).

Gambar 7. *Tryptone* sebelum inkubasi (atas) dan *Tryptone* setelah inkubasi (bawah).

Uji indole bertujuan untuk mengetahui kapasitas mikroba dalam menghasilkan enzim *triptofanase* yang dapat memisahkan *amino triptofan* korosif menjadi indol (Huss et al. 2004). Media ini biasanya digunakan dalam identifikasi cepat. Inokulasi 1 loop biakan murni pada TSI Agar ke dalam tabung berisi 5 mL *Tryptophane Broth* lalu inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, tambahkan 1 mL *Reagen kovac's* lalu amati. Pembentukan cincin merah mengindikasikan reaksi positif. Sedangkan pembentukan cincin kuning mengindikasikan reaksi negatif.

3.4.5. Hasil Reaksi β -Galaktosidase

Uji biokimia selanjutnya ialah uji β -Galaktosidase seperti pada Gambar 8. Enzim β -Galaktosidase adalah enzim yang menghidrolisis laktosa menjadi *glukosa* dan *galaktosa* (Radji 2016). Ambil *Psychological Saline* 0,85% sebanyak 0,25 mL dan ambil 1

Ose/loop kultur dari media agar miring *Triple Sugar Iron* (TSI). Masukkan ke dalam *Waterbath* $\pm$ 5 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya masukan 0,25 mL Reagen β -Galaktosidase dan tambahkan Disk ONPG. kocok menggunakan *Vortexs* selama $\pm$ 2 menit dan Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Hasil Reagen β -Galaktosidase setelah inkubasi pada *waterbath* selama 24 jam pada suhu 37°C pada Gambar 8 (bawah) menunjukkan warna tidak berubah (putih) yang mengindikasikan reaksi negatif, apabila berubah warna menjadi kuning maka mengindikasikan reaksi positif (ISO 2017).



Figure 8. β -Galactosidase Reagent before incubation (top) and β -Galactosidase Reagent after incubation (bottom).

Gambar 8. Reagen β -Galaktosidase sebelum inkubasi (atas) dan Reagen β -Galaktosidase setelah inkubasi (bawah).

3.4.6. Hasil Uji Serologi

Menurut Oxoid (2013), identifikasi pada uji serologis dilakukan untuk memperkuat hasil uji biokimia. Perluasan antiserum Polivalen-O dan H menandakan bahwa spesies yang diidentifikasi berupa bakteri *Salmonella* sp. akan ditandai dengan adanya tanda-tanda berupa gumpalan gas yang terjadi pada *suspense* (kultur uji). Pengujian serologi

dilakukan dengan cara mengambil 1 loop media kultur dari TSI Agar yang diletakan pada bagian kiri kaca preparat. Lalu letakan 1 tetes Antiserum Polivalen-O atau H di bagian kanan kaca preparat. Homogenkan Antiserum Polivalen dengan kultur TSI Agar menggunakan jarum ose. Ilustrasi uji serologi dapat dilihat pada Gambar 8.



Figure 8. Antiserum-O results before incubation (top) and Antiserum-H results after incubation (bottom).

Gambar 8. Hasil Antiserum-O sebelum inkubasi (atas) dan Hasil Antiserum-H setelah inkubasi (bawah).

Dapat dilihat bahwasanya pada pengujian serologi menggunakan Antiserum Polivalen-O dan H menunjukkan hasil positif karena terdapat gumpalan gas. Hasil yang berbeda nyata pada gambar di atas yang tidak memiliki gumpalan gas (kontrol). Hal ini sesuai pada penelitian Feng (2007), yang menyatakan gumpalan berupa gas berwarna putih pada suspensi yang disebabkan Polivalen somatik (O) dan flagellar (H) mengidentifikasi reaksi positif.

4. Kesimpulan

Pengujian *Salmonella* yang dilakukan di UPTD Penerapan dan Pengendalian Mutu Hasil Perikanan Banten mengacu pada *International Standar Organization* (ISO) 6579-1:2017. Uji *Salmonella* digunakan untuk Mengetahui adanya cemaran mikroorganisme bakteri *Salmonella* sp. pada ikan nila. Hasil pengujian mikrobiologi bakteri *Salmonella* sp. dengan penambahan kultur ATCC: 14028 *Salmonella Typhi* menunjukkan hasil positif bakteri *Salmonella*.

Ucapan Terima Kasih

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan Kuliah Kerja Profesi dengan judul “Pengujian Mikrobiologi Bakteri *Salmonella* sp. pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan Metode ISO 6579-1:2017 di UPTD PPMHP Banten.” Dengan selesai jurnal ini, bukanlah menjadi sebuah akhir, melainkan suatu awal yang baru untuk memulai pertualangan hidup baru. Penulis menyadari betul bahwa ada orang-orang yang berjasa dibalik selesainya jurnal ini. Tidak ada persembahan terbaik yang dapat penulis berikan selain rasa ucapan terima kasih kepada pihak yang telah banyak membantu penulis.

Secara khusus, penulis mengucapkan terima kasih kepada kedua orang tua dan keluarga penulis. Juga saya ucapkan banyak terima kasih kepada Bapak Ichsanudin R., S.St.Pi. Bapak Tedi Adiwangsa, A.Md. dan Bapak Wawan Wartono, selaku pembimbing di UPTD PPMHP yang telah banyak memberikan ilmu, arahan, pengetahuan serta bimbingan berlangsung. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Ibu Devi Faustine Elvina Nurdyadin, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan masukan, arahan, nasehat dan kritik saran yang berharga selama penyusunan jurnal ini.

Daftar Pustaka

Arsinawati Y, Susanto A. 2016. Identifikasi *Salmonella* sp. pada telur ayamras. *Journal of Insan Cendikia*. (4):34–38.

- Azara R. dan Saidi A. (2020) Mikrobiologi Pangan. Sidoarjo: UMSIDA Press.
- Effendi MH, Helmi AM, Mukti AT, Soegianto A. 2020. *A Review of Salmonella sp. in Tilapia fish (Oreochromis niloticus)*. Public Health Importance. Sys Rev Pharm 2020;11(10):819-826.
- FAO. 2022. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2022*. Blue Transformation. Food and Agriculture Organization. Rome.
- Feng P. 2007. *Bacteriological Analytical Manual (BAM) Salmonella*. Journal Food Science Research. Vol. 7:49. China.
- Huss H, Gram L. 2004. *Assessment and Management of Seafood Safety and Quality*. Food and Agriculture Organization of United Nation. Rome. Hal: 45-48.
- Hyatt D, Weese J. 2004. *Salmonella Culture: Sampling Procedure and Laboratory Techniques*. Vet. Clin Am-Equine Publisher. New York. Hal: 57-85.
- ISO 6579-1. 2017. Microbiology of the Food Chain – Horizontal Method for the Detection, Enumeration and Serotyping of Salmonella. Part 1: Detection of Salmonella spp. International Standard Organization. Geneva, Switzerland.