



Uji Bakteri *Escherichia coli* pada Produk Ikan Layur (*Trichiurus lepturus*) Beku Hasil Tangkapan di Kota Bengkulu

Received: 27 Januari 2026

Accepted: 21 April 2026

*Korespondensi:

dedekurniawansembiring@gmail.com

Dede Kurniawan Sembiring^{1*}, Firdha Iresta Wardani¹, Jonis Setiawan²

¹Prodi Ilmu Kelautan, Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu, Jl. W. R. Supratman, Kandang Limun, Provinsi Bengkulu, 38371, Indonesia

²Badan Pengendalian Pengawasan Mutu Hasil Perikanan dan Kelautan (BPPMHKP) Bengkulu, Jl. Raya Padang Kemiling KM 12,5 RT.02, Pekan Sabtu, Selebar, Kota Bengkulu, 38216, Indonesia

Abstrak — Ikan layur (*Trichiurus Lepturus*) merupakan salah satu komoditas perikanan bernilai ekonomi tinggi yang banyak dikonsumsi masyarakat dan dipasarkan dalam bentuk beku, sehingga mutunya perlu dijaga terutama dari kontaminasi bakteri patogen seperti *Escherichia coli*. Praktik Kerja Lapangan (PKL) ini dilaksanakan di Laboratorium Penguji Badan Pengendalian dan Pengawasan Mutu Hasil Kelautan dan Perikanan (BPPMHKP) Bengkulu dengan tujuan untuk mengetahui keberadaan *E. coli* pada produk ikan layur beku. Pengujian dilakukan menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) dan serangkaian uji biokimia sesuai dengan standar SNI 2332.1:2015. Tahapan analisis meliputi uji pendugaan menggunakan LTB, uji penegasan dengan EC Broth, isolasi pada media L-EMB, serta konfirmasi melalui uji IMViC (Indol, MR, VP, dan Sitrat). Hasil pengujian menunjukkan nilai akhir <3,0 APM/gram dan tidak ditemukan karakteristik biokimia khas *E. coli*, sehingga dapat disimpulkan bahwa ikan layur beku yang diuji memenuhi standar keamanan pangan dan layak untuk dikonsumsi.

Kata Kunci — BPPMHKP Bengkulu, *E. coli*, Ikan Layur, MPN, Keamanan Pangan

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Ikan merupakan salah satu sumber pangan yang memiliki peran dalam pemenuhan kebutuhan gizi manusia. Sebagai sumber protein berkualitas tinggi, ikan juga mengandung berbagai senyawa esensial seperti asam lemak omega-3, vitamin d, serta mineral penting seperti yodium, selenium, dan zat besi. Kandungan-kandungan tersebut sangat bermanfaat bagi kesehatan, terutama dalam mendukung perkembangan otak, menjaga fungsi jantung, meningkatkan system kekebalan tubuh, dan mencegah berbagai penyakit kronis (Andhikawati *et al.*, 2021). Di antara berbagai jenis ikan, ikan air laut secara umum memiliki 75 kandungan omega-3 yang lebih tinggi, sehingga menjadikannya pilihan yang lebih unggul dari segi nutrisi (Kementerian Kesehatan RI, 2014).

Seminar Nasional Samudra Rafflesia I | 302





Ikan layur (*Trichiurus lepturus*) merupakan salah satu komoditas perikanan bernilai ekonomi tinggi di perairan Indonesia, terutama karena tingginya permintaan pasar ekspor (Rahmat *et al.*, 2020). Spesies ini tergolong ikan demersal yang umumnya hidup berkelompok dan banyak ditemukan di perairan pantai dangkal wilayah Sumatera dan Jawa, sehingga memiliki kontribusi ekonomi yang signifikan (Phuryandari *et al.*, 2020). Menurut Shabrina *et al.* (2022), ikan layur (*Trichiurus lepturus*) merupakan produk perikanan yang memiliki nilai ekonomi penting dan telah dikembangkan sebagai komoditas ekspor, didukung oleh tingginya tingkat kesukaan masyarakat terhadap karakteristik sensori ikan ini, seperti cita rasa yang baik, tekstur daging yang kenyal, aroma yang tidak terlalu amis, kandungan lemak yang relatif rendah, serta daging yang mudah dipisahkan dari tulangnya. Untuk mempertahankan mutu dan memperpanjang masa simpan, ikan layur umumnya diolah dalam bentuk produk beku, meskipun secara alami ikan termasuk bahan pangan yang mudah mengalami kerusakan dan sulit mempertahankan kesegarannya. Di sisi lain, meningkatnya aktivitas manusia di wilayah pesisir dan daratan berpotensi menimbulkan pencemaran biologis, fisik, dan kimiawi, terutama akibat pembuangan limbah domestik seperti urin, feses, dan sisa makanan yang langsung dialirkan ke perairan, sehingga dapat memicu kontaminasi bakteri koliform pada media perairan dan bahan pangan yang bersentuhan langsung, termasuk ikan (Feliatra, 2002).

Menurut Pelczar & Chan (2008), keberadaan bakteri koliform di lingkungan perairan umumnya berkaitan dengan pencemaran yang berasal dari kotoran manusia serta limbah domestik, baik organik maupun anorganik, yang dibuang secara langsung ke wilayah perairan. Tingginya tingkat cemaran bakteri koliform mengindikasikan meningkatnya potensi keberadaan mikroorganisme patogen yang umumnya berasal dari feses manusia dan hewan. *E. coli* merupakan bakteri yang secara alami termasuk flora normal dalam saluran pencernaan manusia dan ternak, namun beberapa strain bersifat patogen dan mampu menimbulkan infeksi serta penyakit bawaan pangan, salah satunya *E. coli* O157:H7 yang menghasilkan *shiga toxin* (Elsie & Harahap, 2016). Infeksi akibat bakteri ini dilaporkan dapat bersifat fatal, menyebabkan septisemia, serta memperparah kondisi penyakit tertentu (Trisno *et al.*, 2019). Penularan *E. coli* pada manusia dapat terjadi melalui kontak langsung maupun konsumsi pangan yang terkontaminasi, sehingga pengujian secara rutin terhadap keberadaan bakteri ini pada produk pangan, termasuk ikan, menjadi langkah penting dalam menjamin keamanan pangan bagi masyarakat (Kaper *et al.*, 2004).

Pada industri perikanan, uji mutu mikrobiologi merupakan langkah penting dalam sistem pengendalian mutu hasil laut. Badan Pengendalian dan Pengawasan Mutu Hasil Kelautan dan Perikanan (BPPMHKP) memiliki peran strategis dalam menjamin produk perikanan bebas dari kontaminan berbahaya. Pengujian *E. coli* dilakukan sebagai





bagian dari penerapan sistem jaminan mutu dan keamanan hasil perikanan. Standar Nasional Indonesia (SNI) telah mengatur batas maksimum cemaran mikrobiologi untuk produk ikan beku. Oleh karena itu, keberadaan laboratorium seperti Stasiun Pengendalian dan Pengawasan Mutu Hasil Kelautan dan Perikanan Bengkulu sangat penting untuk mendukung keamanan pangan berbasis laut (BSN, 2016).

Tujuan

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kontaminasi bakteri *E. coli* pada produk ikan layur (*Trichiurus lepturus*) beku dari sampel yang diuji di laboratorium Penguji Badan Pengendalian dan Pengawasan Mutu Hasil Kelautan dan Perikanan (BPPMHKP) Bengkulu.

Manfaat

Hasil dari pengujian ini diharapkan dapat memperoleh data ilmiah mengenai kondisi mikrobiologis ikan layur beku, khususnya terkait kontaminasi bakteri *E. coli* pada ikan layur (*Trichiurus lepturus*) beku dari sampel yang diuji di laboratorium Penguji Badan Pengendalian dan Pengawasan Mutu Hasil Kelautan dan Perikanan (BPPMHKP) Bengkulu.

METODE

Waktu dan Lokasi Penelitian

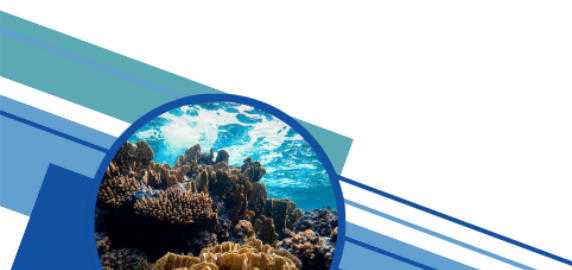
Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 16 Juli – 16 Agustus 2025 yang bertempat di Laboratorium Penguji Stasiun Pengendalian dan Pengawasan Mutu Hasil Kelautan dan Perikanan Kota Bengkulu.

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada saat pengujian beserta kegunaan dapat dilihat pada **Tabel 1** dan **Tabel 2** berikut.

Tabel 1. Alat yang digunakan pada pengujian ini.

| No. | Alat | Kegunaan |
|-----|-------------------------------|---|
| 1. | Sarung tangan | Pelindung tangan dan kontaminasi |
| 2. | Pisau | Untuk memisahkan sampel dari tulang dan kulit |
| 3. | Nampan | Wadah preparasi ikan |
| 4. | Kantong sampel | Wadah setelah ikan di <i>fillet</i> |
| 5. | Lumpang dan alu | Untuk menghaluskan sampel |
| 6. | Spatula | Memantu memindahkan sampel |
| 7. | Botol <i>Centrifuge</i> 15 ml | Wadah sampel saat di ekstraksi |



| | | |
|-----|-----------------|---|
| 8. | Aluminium foil | Untuk alas saat menimbang sampel |
| 9. | Gelas beker | Wadah menampung aquades |
| 10. | Tabung ukur | Mengukur larutan |
| 11. | Mikropipet | Mengukur dan mengambil larutan dalam ukuran mikro |
| 12. | Waterbath | Memanaskan sampel atau media |
| 13. | Inkubator | Menyediakan suhu tetap dan steril untuk pertumbuhan mikroorganisme. |
| 14. | BotoI pengencer | Wadah untuk mengencerkan sampel |
| 15. | Tabung durham | Tabung kecil yang dimasukkan ke dalam tabung media (misal LTB, EC Broth) untuk menangkap gas. |
| 16. | Cawan Petri | Tempat untuk menumbuhkan koloni mikroba di permukaan media padat. |
| 17. | Tabung reaksi | Wadah serbaguna untuk reaksi kimia |
| 18. | Timbangan | Mengukur berat bahan atau media |
| 19. | Jarum Ose | Alat logam kecil untuk mengambil, memindahkan, atau menginokulasikan bakteri dari satu media ke media lain. |
| 20. | Blue tip | Mengambil sampel larutan sesuai dengan ukuran mikro |

Tabel 2. Bahan yang digunakan pada saat pengujian.

| No. | Alat | Kegunaan |
|-----|--|---|
| 1. | Ikan layur beku | Sampel yang diuji |
| 2. | <i>Brilliant green lactose bile (BGLG), 2% broth (B.1)</i> | Media selektif untuk konfirmasi keberadaan bakteri koliform. |
| 3. | Aquades | Melarutkan sampel |
| 4. | <i>Lauryl tryptose broth (LTB) (B.2)</i> | Media pendugaan awal dalam uji MPN untuk mendeteksi koliform. |
| 5. | <i>EC Broth</i> | Media selektif untuk konfirmasi <i>Escherichia coli</i> . |
| 6. | <i>Levine's eosin methylene blue (L-EMB) agar (B.4)</i> | Media selektif-diferensial untuk isolasi dan identifikasi presumtif <i>Escherichia coli</i> . |
| 7. | <i>Tryptone (tryptophane) broth (TB) (B.5)</i> | Untuk mendeteksi produksi indol oleh bakteri (uji indol). |
| 8. | MR-VP Broth (B.6) | Digunakan untuk uji MR (produksi asam kuat) dan uji VP (produksi asetoin). |
| 9. | <i>Simmon Citrate Agar (B.7)</i> | Menguji apakah mikroorganisme dapat menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon. |
| 10. | <i>Plate count agar (B.8)</i> | Media umum untuk menghitung total mikroorganisme hidup (TPC/ALT – Angka Lempeng Total). |

Prosedur Kerja

Metode Penelitian

Metode analisis bakteri *E. coli* pada produk perikanan dalam penelitian ini mengacu pada standar SNI 2332.1:2015. Metode tersebut didasarkan pada prinsip penumbuhan bakteri melalui pengenceran bertingkat dalam beberapa tabung uji, kemudian hasilnya dianalisis menggunakan tabel Angka Paling Memungkinkan (APM)



berdasarkan jumlah tabung yang menunjukkan reaksi positif setelah proses inkubasi pada suhu dan lama waktu tertentu (BSN, 2015).

1. *Penyiapan Sampel*

Jenis ikan yang dipakai adalah ikan Layur (*Trichiurus lepturus*) beku yang berasal dari sampel ikan pada Unit Pengelolaan Ikan (UPI) yang telah bersertifikat HAS (*Hazard Analysis and Critical Control Points* (HACCP)). Dengan menerapkan teknis aseptis, contoh daging ikan difillet sesuai berat masing-masing contoh yang akan diuji. Sebanyak 25 g sampel padat ditimbang dan dimasukkan ke dalam wadah atau kantong steril, kemudian ditambahkan 225 mL larutan *Butterfield's phosphate buffer*. Campuran tersebut selanjutnya dihomogenkan selama ± 2 menit hingga diperoleh homogenat dengan tingkat pengenceran 10^{-1} .

2. *Uji Pendugaan Koliform*

Uji pendugaan koliform diawali dengan pembuatan pengenceran $10^{-1,2,3}$, yaitu dengan memindahkan 1 mL larutan sampel ke dalam 9 mL larutan pengencer *Butterfield's phosphate buffer*. Tingkat pengenceran selanjutnya disesuaikan dengan perkiraan kepadatan sampel. Pada setiap tahap pengenceran, larutan dikocok sedikitnya 25 kali hingga homogen. Selanjutnya, sebanyak 1 mL dari masing-masing hasil pengenceran diinokulasikan secara aseptik ke dalam tiga seri tabung *Lauryl Tryptose Broth* (LTB) yang telah dilengkapi tabung Durham. Seluruh tabung kemudian diinkubasi pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Pengamatan pembentukan gas dilakukan setelah inkubasi selama 24 ± 2 jam, di mana tabung positif ditandai oleh kekeruhan medium serta terbentuknya gas pada tabung Durham. Tabung yang belum menunjukkan reaksi positif selanjutnya diinkubasi kembali selama 24 jam, sehingga hasil akhir dapat diamati dan dicatat pada waktu inkubasi 48 ± 3 jam.

3. *Uji Pendugaan E. coli*

Tabung *Lauryl Tryptose Broth* (LTB) yang menunjukkan hasil positif selanjutnya diinokulasikan ke dalam tabung *EC Broth* yang dilengkapi tabung Durham menggunakan jarum ose steril. Media *EC Broth* kemudian diinkubasi dalam *waterbath* sirkulasi pada suhu $42,5^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ selama 48 ± 2 jam, dengan memastikan kondisi *waterbath* bersih dan ketinggian air melebihi permukaan media di dalam tabung. Pembentukan gas diamati setelah inkubasi 24 ± 2 jam, dan apabila belum menunjukkan hasil positif, inkubasi dilanjutkan hingga 48 ± 2 jam. Tabung yang memberikan reaksi positif ditandai dengan terjadinya kekeruhan medium serta adanya gas pada tabung Durham.

4. *Uji Penegasan E. coli*





Hasil positif yang ditunjukkan dari tabung *EC Broth* selanjutnya diinokulasikan dengan cara digoreskan menggunakan jarum ose steril ke permukaan media L-EMB (*Levine's Eosin Methylene Blue*) agar, kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 18–24 jam. Koloni *Escherichia coli* terduga diidentifikasi berdasarkan karakteristik morfologi khas, yaitu berwarna gelap hingga hitam pada bagian tengah, permukaan koloni datar, serta dapat menunjukkan atau tidak menunjukkan kilap hijau metalik. Sebanyak maksimal lima koloni khas dari setiap cawan L-EMB kemudian dipilih dan digoreskan ke media *Plate Count Agar* (PCA) miring menggunakan jarum ose steril. Media tersebut selanjutnya diinkubasi pada suhu 35°C selama 18–24 jam dan digunakan sebagai kultur untuk pengujian lanjutan.

5. Uji Biokimia

a. Produksi *Indol*

Sebanyak satu ose kultur dari PCA miring diinokulasikan ke dalam *Lauryl Tryptose Broth* (LTB) dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 ± 2 jam. Uji *indol* dilakukan dengan menambahkan 0,2–0,3 mL pereaksi Kovacs ke dalam media. Hasil uji dianggap positif apabila terbentuk cincin berwarna merah pada permukaan media, sedangkan hasil negatif ditandai dengan cincin berwarna kuning.

b. Uji *Voges-Proskauer*

Satu ose kultur dari PCA miring diinokulasikan ke dalam *MRVP Broth* dan diinkubasi pada suhu $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ selama 48 ± 2 jam. Selanjutnya, 1 mL setiap *MRVP Broth* dipindahkan ke tabung reaksi steril berukuran 13×100 mm, kemudian ditambahkan 0,6 mL larutan alpha-naphthol dan 0,2 mL KOH 40%. Tabung dikocok, lalu ditambahkan sedikit kristal keratin untuk mempercepat reaksi. Setelah dikocok kembali, tabung didiamkan selama 2 jam. Reaksi uji dianggap positif apabila terbentuk warna merah muda hingga merah delima.

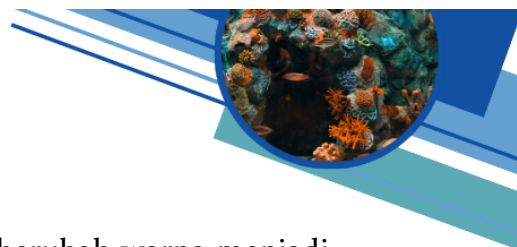
c. Uji *Methyl Red*

Tabung *MRVP Broth* kemudian diinkubasi kembali pada suhu 35°C selama 48 ± 2 jam. Setelah itu, ditambahkan 5 tetes indikator metil merah (MR) ke masing-masing tabung. Hasil uji dianggap positif apabila media berubah warna menjadi merah, sedangkan hasil negatif ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning.

d. Uji Sitrat

Satu ose kultur dari PCA miring diinokulasikan dengan cara digoreskan ke permukaan *Simmon Citrate Agar* dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Hasil





uji dianggap positif apabila terdapat pertumbuhan dan media berubah warna menjadi biru, sedangkan reaksi negatif ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan dan media tetap berwarna hijau.

e. Produksi Gas dari Laktosa

Satu ose kultur dari PCA miring diinokulasikan ke *Lauryl Tryptose Broth* (LTB) dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya gas di dalam tabung Durham.

6. Interpretasi Hasil

Semua kultur yang (a) mampu memfermentasi laktosa dengan pembentukan gas dalam 48 jam pada suhu 35°C, (b) bersifat Gram-negatif, berbentuk batang tanpa spora, dan (c) menunjukkan pola uji IMViC +++- (biotipe 1) atau +- (biotipe 2), dikategorikan sebagai *E. coli*, sebagaimana ditunjukkan pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Interpretasi hasil.

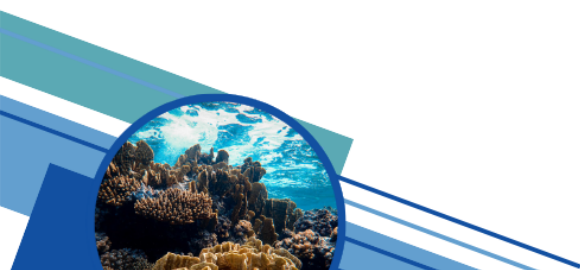
| Kriteria | Biotipe 1 | Biotipe 2 |
|-----------------------------|---|---|
| Gas pada tabung LSB | + | + |
| <i>Indol</i> | + | - |
| <i>Methyl Red</i> (MR) | + | + |
| <i>Voges-Proskauer</i> (VP) | - | - |
| Sitrat | - | - |
| Uji Morfologi | Gram negatif, bentuk batang pendek tidak berspora | Gram negatif, bentuk batang pendek tidak berspora |

sumber: SNI 2332.1:2015

Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif untuk menilai tingkat cemaran bakteri *E. coli* pada sampel ikan Layur (*Trichiurus lepturus*) beku. Analisis kualitatif dilakukan melalui rangkaian uji mikrobiologi yang terdiri dari uji pendugaan *E. coli*, uji penegasan, serta konfirmasi dengan identifikasi morfologi dan uji biokimia. Hasil pengujian kemudian diinterpretasikan secara sederhana, yaitu positif (+) apabila terdeteksi adanya cemaran *E. coli* pada sampel, dan negatif (-) apabila tidak ditemukan. Analisis kuantitatif dilakukan dengan pendekatan *Most Probable Number* (MPN) atau Angka Paling Mungkin (APM) sesuai acuan SNI 2332.1:2015.

HASIL DAN PEMBAHASAN



Hasil

Hasil pengujian terhadap keberadaan bakteri *E. coli* pada sampel ikan layur (*Trichiurus leporus*) beku yang berasal dari sampel ikan pada Unit Pengelolaan Ikan (UPI) yang telah bersertifikat HAS (*Hazard Analysis and Critical Control Points/HACCP*) dengan berat sampel 386,5 gram menunjukkan hasil negatif (-). Pengujian yang dilakukan di Laboratorium Penguji Badan Pengendalian dan Pengawasan Mutu Hasil Kelautan dan Perikanan (BPPMHKP) Bengkulu tersebut mengacu pada standar SNI 2332.1:2015 dan memperoleh nilai total <math><3,0\text{ APM/gram}</math>. Nilai ini menunjukkan bahwa ikan layur beku yang diuji masih memenuhi persyaratan untuk dikonsumsi dan layak beredar di pasaran. Hasil pengujian lengkap dapat dilihat pada **Tabel 4** di bawah ini.

Tabel 4. Interpretasi hasil pengujian.

| Kriteria | | Hasil | | |
|---------------------------|-----------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | | A | B | C |
| LTB | 10^{-1} | + | + | + |
| | 10^{-2} | + | - | + |
| | 10^{-3} | - | + | + |
| EC Broth | 10^{-1} | + | + | + |
| | 10^{-2} | + | - | + |
| | 10^{-3} | - | + | + |
| L-EMBA | 10^{-1} | Warna koloni ungu pucat | Warna koloni ungu pucat | Warna koloni ungu pucat |
| | 10^{-2} | Warna koloni ungu pucat | Warna koloni ungu pucat | Warna koloni ungu pucat |
| | 10^{-3} | Koloni tidak tumbuh | Koloni tidak tumbuh | Warna koloni ungu pucat |
| Indol | 10^{-1} | - | - | - |
| | 10^{-2} | - | - | - |
| | 10^{-3} | - | - | - |
| Methyl Red (MR) | 10^{-1} | - | - | - |
| | 10^{-2} | - | - | - |
| | 10^{-3} | - | - | - |
| Vegetative Proskauer (VP) | 10^{-1} | - | - | - |
| | 10^{-2} | - | - | - |
| | 10^{-3} | - | - | - |
| Citrat | 10^{-1} | + | + | + |
| | 10^{-2} | + | + | + |
| | 10^{-3} | + | + | + |
| Gas dari Laktosa | 10^{-1} | + | + | + |
| | 10^{-2} | + | - | + |

Pembahasan

Pengujian pada ikan layur (*Trichiurus lepturus*) beku terhadap keberadaan bakteri *E. coli* dilakukan di Laboratorium Penguji Badan Pengendalian dan Pengawasan Mutu Hasil Kelautan dan Perikanan (BPPMHKP) Bengkulu. Pengujian ini bertujuan untuk mendeteksi *E. coli* dengan metode *Most Probable Number* (MPN) yang dilengkapi dengan serangkaian uji biokimia, sesuai dengan standar SNI 2332.1:2015.

a. Uji pendugaan koliform

Uji pendugaan koliform menggunakan media *Lactose Tryptose Broth* (LTB) dilakukan sebagai tahap awal dalam metode *Most Probable Number* (MPN), di mana sampel diinokulasikan ke dalam tabung berisi LTB dan diamati setelah inkubasi 24 jam pada suhu sekitar 35°C untuk tanda pertumbuhan seperti kekeruhan dan pembentukan gelembung gas pada tabung Durham (Nugraheni *et al.*, 2024). Kehadiran gas yang tertangkap di tabung Durham bersama dengan kekeruhan media dianggap sebagai hasil presumptif positif coliform dan menjadi dasar untuk melanjutkan uji konfirmasi (SNI 2332.1-2015). Prosedur ini sering diaplikasikan pada pengujian air minum, air sungai, dan produk perikanan sebelum dilakukan konfirmasi dengan media selektif atau uji biokimia untuk memastikan identitas *E. coli* (Sabila, 2023). Penggunaan LTB sebagai medium fermentasi laktosa tetap direkomendasikan dalam standar dan banyak studi lokal karena kesederhanaan dan keandalannya pada tahap skrining awal (Nugraheni *et al.*, 2024). Oleh karena itu, uji LTB memainkan peran penting sebagai langkah pendugaan dalam rantai pengujian mikrobiologi lingkungan dan pangan. (Nugraheni *et al.*, 2024).

Berdasarkan hasil pengujian, media LTB menunjukkan hasil positif pada pengenceran 10^{-1} (seri A, B, C), 10^{-2} (seri A dan C), serta 10^{-3} (seri B dan C) setelah inkubasi 24 jam pada suhu 35°C . Sebaliknya, seri 10^{-2} B dan 10^{-3} A tidak menunjukkan kekeruhan maupun pembentukan gas dalam tabung Durham sehingga dinyatakan negatif, dengan indikasi tidak adanya koliform. Kekeruhan pada media *Lauryl Tryptose Broth* (LTB) menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri akibat pemanfaatan nutrisi seperti triptosa dan laktosa, sedangkan pembentukan gas mengindikasikan terjadinya fermentasi laktosa oleh bakteri koliform. Gas yang terbentuk merupakan hasil metabolisme laktosa selama inkubasi dan menjadi indikator positif keberadaan koliform dalam sampel (Savino *et al.*, 2011). Pada beberapa tabung seperti 10^{-2} A dan C serta 10^{-3} B dan C, media tetap jernih meskipun ditemukan sedikit gas, yang kemungkinan disebabkan oleh jumlah bakteri yang sangat rendah sehingga belum cukup untuk menimbulkan kekeruhan yang terlihat. Hasil ini menunjukkan bahwa jumlah bakteri

Seminar Nasional Samudra Rafflesia I | 310



menurun dengan pengenceran, tetapi masih terdeteksi. Menurut Westeson dan Hornes (2009) yang dikutip oleh Yunita et al. (2015), tujuan pengenceran bertingkat adalah untuk menurunkan konsentrasi mikroba yang tersuspensi dalam suatu larutan.

b. Uji Pendugaan *E. coli*

Tahap pendugaan *E. coli* dilakukan untuk memastikan keberadaan bakteri tersebut dalam sampel melalui metode lanjutan dari uji penduga koliform. Tabung LTB yang menunjukkan hasil positif kemudian diinokulasikan ke dalam media *EC Broth* yang dilengkapi tabung Durham menggunakan jarum ose steril. Media ini selanjutnya diinkubasi pada suhu tinggi, yaitu sekitar 44-45,5°C selama 24-48 jam untuk menyeleksi bakteri koliform fekal. Hasil pengujian diamati berdasarkan terbentuknya gas dalam tabung Durham serta kekeruhan medium. Tabung dinyatakan positif apabila menunjukkan adanya kekeruhan dan pembentukan gas, yang mengindikasikan aktivitas fermentasi laktosa oleh *E. coli* sebagai bakteri koliform fekal (Ramadhani et al., 2020)

Berdasarkan uji konfirmasi menggunakan media *EC Broth* yang diinkubasi selama 48 jam pada suhu 42,5°C, hasil positif ditunjukkan oleh kekeruhan media dan pembentukan gas dalam tabung Durham sebagai indikasi fermentasi oleh *E. coli*. Pada pengenceran 10^{-1} , seluruh tabung (A, B, C) menunjukkan hasil positif. Pada pengenceran 10^{-2} , dua tabung (A dan C) positif dan satu tabung (B) negatif. Pada pengenceran 10^{-3} , dua tabung (B dan C) positif dan satu tabung (A) negatif. Secara keseluruhan, 7 dari 9 tabung menunjukkan hasil positif, menegaskan keberadaan bakteri koliform fekal dalam sampel serta menguatkan hasil uji pendugaan sebelumnya dengan menggunakan media LTB. Temuan ini sejalan dengan Ardani et al. (2025), yang melaporkan bahwa *EC Broth* mengandung garam empedu sebagai agen selektif yang menghambat bakteri Gram-positif dan mendukung pertumbuhan *E. coli*. Hidayah et al. (2020) juga melaporkan hasil positif pada uji pendugaan *E. coli* melalui kekeruhan dan pembentukan gas pada pengenceran 10^{-1} . Penelitian Maftuhah et al. (2024) menunjukkan hasil serupa, di mana inkubasi media *EC Broth* selama 48 jam menghasilkan kekeruhan dan gas pada tabung Durham, menandakan adanya *E. coli* dalam sampel.

c. Uji Penegasan *E. coli*

Uji penegasan *E. coli* dilakukan dengan mengambil koloni dari tabung *EC Broth* yang positif menggunakan jarum ose steril, kemudian digoreskan ke permukaan cawan petri berisi media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) pada setiap tingkat pengenceran. Media diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Koloni yang diduga *E. coli* ditandai





dengan warna hitam di bagian tengah, permukaan koloni datar, serta kilap hijau metalik yang dominan (Yurikko *et al.*, 2025).

Berdasarkan hasil uji penegasan menggunakan media L-EMBA, terlihat perbedaan karakteristik pertumbuhan bakteri pada setiap tingkat pengenceran. Pada pengenceran 10^{-1} , terbentuk banyak koloni berwarna ungu pucat yang tersebar merata, menunjukkan kemampuan bakteri koliform memfermentasi laktosa dan menghasilkan asam yang memicu perubahan warna pada media. Pada pengenceran 10^{-2} , koloni yang muncul lebih sedikit, berwarna ungu pucat, dan tidak menunjukkan kilap hijau metalik, menandakan menurunnya aktivitas fermentasi serta kemungkinan pertumbuhan bakteri non-*E. coli* atau *E. coli* dengan aktivitas rendah. Pada pengenceran 10^{-3} , jumlah koloni semakin sedikit dan tampak sebagai titik-titik ungu pucat berukuran kecil, menunjukkan bahwa populasi koloni dalam sampel sangat rendah. Beberapa tabung, seperti pengenceran 10^{-2} B dan 10^{-3} A, tidak menunjukkan pertumbuhan koloni, yang dapat disebabkan oleh rendahnya jumlah bakteri atau kondisi media yang kurang mendukung pertumbuhan koloni. Ketidakhadiran ciri khas kilap hijau metalik mengindikasikan aktivitas fermentasi laktosa yang rendah atau dominasi bakteri non-koliform. Hasil ini sejalan dengan Fatiqin *et al.* (2019), yang menyatakan bahwa pertumbuhan koloni hijau metalik pada EMBA merupakan indikator positif *E. coli* karena kemampuannya memfermentasi laktosa dan menghasilkan asam kuat. Kartikasari *et al.* (2019) juga menegaskan bahwa EMBA efektif memverifikasi keberadaan *E. coli* karena bersifat selektif untuk bakteri Gram-negatif dan membedakan bakteri berdasarkan fermentasi laktosa.

d. Uji Biokimia

Uji biokimia merupakan salah satu metode untuk identifikasi bakteri, yang digunakan untuk menilai aktivitas metabolisme mikroorganisme. Uji ini meliputi uji Indol, *Methyl Red* (MR), *Voges-Proskauer* (VP), dan Citrate (Arifin, 2013). Menurut Imamah dan Efendy (2021), uji biokimia dilakukan dengan mengambil lima koloni khas (*typical*) *E. coli* dari setiap cawan L-EMB agar, kemudian digoreskan ke media *Plate Count Agar* (PCA) miring menggunakan jarum ose, dan diinkubasi pada suhu 35°C selama ± 24 jam.

Hasil uji biokimia isolat bakteri pada media PCA miring menggunakan rangkaian IMViC menunjukkan pola yang konsisten pada seluruh kode seri A, B, dan C dari pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3} . Pada uji laktosa, seluruh isolat menunjukkan perubahan warna media menjadi kuning keruh disertai gas pada tabung Durham, menandakan adanya fermentasi laktosa dan produksi asam serta gas. Uji indol pada semua kode seri menunjukkan hasil negatif, ditandai cincin kuning setelah penambahan reagen Kovac. Hasil ini menunjukkan bahwa bakteri tidak membentuk indol dari triptofan, berbeda

Seminar Nasional Samudra Rafflesia I | 312





dengan karakteristik *E. coli* yang seharusnya menghasilkan cincin merah (Hemraj *et al.*, 2013; Cahyaningtyas *et al.*, 2024). Penelitian Yurriko *et al.* (2025) juga menegaskan bahwa hasil positif ditandai terbentuknya cincin merah, sedangkan cincin kuning menunjukkan hasil negatif. Uji *Methyl Red* (MR) pada semua seri menunjukkan hasil negatif (warna kuning), yang berarti bakteri tidak menghasilkan asam kuat dari fermentasi glukosa. Hal ini berbeda dengan *E. coli* yang seharusnya memberikan warna merah sebagai tanda produksi *mixed-acid* (Rahayu & Gumilar, 2017).

Uji Voges-Proskauer (VP) menghasilkan warna kuning pada semua sampel, menandakan hasil negatif dan tidak adanya produksi asetoin. *E. coli* memang umumnya menunjukkan hasil VP negatif karena tidak menghasilkan produk fermentasi bersifat netral (Hemraj, 2013). Hasil uji sitrat menggunakan *Simmons Citrate Agar* justru menunjukkan perubahan warna media dari hijau menjadi biru, menandakan hasil positif. Perubahan ini mengindikasikan bakteri mampu memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon, berbeda dengan *E. coli* yang seharusnya menunjukkan hasil sitrat negatif (Cicilia *et al.*, 2019). Pada media *Simmons Citrate Agar*, hanya mikroorganisme yang mampu menggunakan sitrat yang dapat berkembang, sehingga terjadi peningkatan pH akibat produksi senyawa alkali dan ditandai dengan perubahan warna media dari hijau menjadi biru. Beberapa bakteri seperti *Salmonella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, dan *Citrobacter* diketahui memberikan hasil positif karena memiliki kemampuan tersebut, sedangkan *Escherichia coli* umumnya menunjukkan hasil negatif karena tidak mampu memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon utama (Leber *et al.*, 2016). Secara keseluruhan, pola hasil IMViC yang diperoleh-indol negatif, MR negatif, VP negatif, dan sitrat positif-tidak sesuai dengan karakteristik biotipe *E. coli*. Menurut BSN (2009), *E. coli* dinyatakan positif apabila menunjukkan hasil indol (+), MR (+), VP (-), dan sitrat (-). Karena hasil pengujian tidak memenuhi pola tersebut, dapat disimpulkan bahwa biakan yang diuji tidak mengandung *E. coli*.

e. Perhitungan Most Probable Numbers (MPN)

Most Probable Number merupakan suatu teknik untuk menghitung jumlah mikroorganisme dengan menggunakan data dari hasil pertumbuhan mikroorganisme dalam medium cair tertentu. Jumlah mikroorganisme yang diuji secara keseluruhan dalam nilai MPN/volume sampel ditetapkan berdasarkan ragam tabung yang digunakan (Harwani *et al.*, 2023).

Daging ikan layur beku pada semua pengenceran memperoleh hasil negatif dengan nilai MPN yaitu < 3 MPN/g yang mana nilai tersebut tidak melewati batas maksimum cemaran bakteri *E. coli* pada ikan beku sesuai dengan standar SNI 2332.1:2015

Seminar Nasional Samudra Rafflesia I | 313





mengenai persyaratan mutu dan keamanan ikan segar. Hasil uji MPN < 3 MPN/g pada pengujian ini menunjukkan bahwa ikan layur beku masih tergolong aman untuk dikonsumsi karena kandungan berada di bawah ambang batas deteksi. Hal ini mengindikasikan bahwa proses penanganan ikan mulai dari pendaratan, sortasi, hingga distribusi masih dilakukan dengan cukup baik sehingga mampu meminimalisasi terjadinya kontaminasi fekal. Namun, pada hasil ini tidak ditemukan adanya tabung positif pada seluruh pengenceran, sehingga dugaan adanya *E. coli* tidak terbukti. Semakin kecil nilai MPN nya maka semakin sedikit kandungan bakteri di dalamnya (Sulistiani dan Hafiludin, 2022).

Penelitian serupa oleh Jacoeb *et al.* (2020) pada ikan segar juga melaporkan bahwa nilai MPN < 3 MPN/g menandakan kualitas ikan masih baik dan sesuai standar keamanan pangan. Hasil negatif ini menunjukkan bahwa ikan layur dari TPI Bengkulu memiliki kualitas mikrobiologis yang terjaga, meskipun potensi kontaminasi tetap perlu diwaspadai terutama pada tahapan penanganan pascapanen. Oleh karena itu, menjaga kebersihan peralatan, tempat penyimpanan, serta rantai distribusi tetap menjadi hal yang penting agar mutu ikan dapat dipertahankan.

KESIMPULAN

Sampel ikan layur (*Trichiurus leporus*) beku yang berasal dari sampel ikan pada Unit Pengelolaan Ikan (UPI) yang telah bersertifikat HAS (*Hazard Analysis and Critical Control Points/HACCP*) dengan berat sampel 386,5 gram terbukti tidak mengandung bakteri *E. coli*. Tetapi berdasarkan hasil uji penegasan koliform fekal sampel ikan layur mengandung bakteri koliform. Munculnya bakteri koliform, salah satu penyebabnya adalah penanganan ikan yang kurang baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Program Studi Ilmu Kelautan yang telah menyelenggarakan *Seminar Nasional* dengan sangat baik dan profesional. Kegiatan ini tidak hanya memberikan wawasan baru, tetapi juga menjadi wadah yang penting bagi kami untuk memperluas pengetahuan, jejaring, serta pengalaman akademik di bidang kelautan. Saya juga menyampaikan apresiasi yang mendalam kepada BPPMHKP Bengkulu atas dukungan dan kerja kerasnya dalam melaksanakan proses pengujian. Dedikasi dan ketelitian yang diberikan dalam setiap tahapan pengujian sangat membantu menunjang kelancaran kegiatan serta peningkatan kualitas hasil yang kami peroleh.

DAFTAR PUSTAKA



- Andhikawati, A., Junianto, J., Permana, R., & Oktavia, Y. 2021. Review: Komposisi Gizi Ikan terhadap Kesehatan Tubuh Manusia. *Marinade*, 4(02): 76-84. DOI: <https://doi.org/10.31629/marinade.v4i02.3871>.
- Leber, A. L. (Ed.). 2016. *Clinical Microbiology Procedures Handbook* (4th ed.). American Society for Microbiology.
- Ardani, A. M., Safitri, T. A. N., Silvia, F. F., Felissa, G. S., Hidayat, F., Nexvia, C. M., Roushan, M. E., Alfarizi, R., Sigalingging, F. K., Saputri, W. D., & Junaedi, A. S. 2025. Analisis Cemaran *E. coli* pada Ikan Gulamah (*Johnius. sp*) di Perairan Selat Madura, Jawa Timur. *Filogeni: Jurnal Mahasiswa Biologi*, 5(1) : 33-40. DOI: <https://doi.org/10.24252/filogeni.v5i1.56374>.
- Badan Standardisasi Nasional. 2015. *SNI 2332.1:2015 – Cara Uji Mikrobiologi – Bagian 1: Penentuan Koliform dan Escherichia coli pada Produk Perikanan*. Badan Standardisasi Nasional.
- Cahyaningtyas, D., Gaina, C., & Tangkonda, E. 2024. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, dan *Staphylococcus aureus* pada Ambing dan Susu Kambing Peranakan Etawa. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 7(1): 1-11. DOI: <https://doi.org/10.35508/jvn.v7i1.14626>.
- Elsie, & Harahap, I. 2016. Isolasi *Escherichia coli* pada Daging Sapi Segar yang Diperoleh Dari Beberapa Pasar Tradisional di Pekanbaru. *Photon: Jurnal Sain dan Kesehatan*, 7(1): 121-126. DOI: <https://doi.org/10.37859/jp.v7i01.570>.
- Fatiqin, A., Novita, R., & Apriani, I. 2019. Pengujian Salmonella dengan Menggunakan Media SSA dan *E. coli* Menggunakan Media EMBA pada Bahan Pangan. *Indobiosains*, 1(1): 23-29. DOI: <https://doi.org/10.31851/indobiosains.v1i1.2206>.
- Feliatra, & Moestomo, B. A. 2002. Sebaran Bakteri *Escherichia coli* di Perairan Muara Sungai Bantan Tengah Bengkalis Riau. *Natur Indonesia*, 4(2): 178-181.
- Harwani, N. P., Wahyuni, A. S., & Sunu, B. 2023. Studi Literatur Identifikasi Bakteri Coliform pada Air Tahu yang Dijualbelikan di Indonesia. *Lontara: Journal of Health Science and Technology*, 4(1) : 75-80. DOI: <https://doi.org/10.53861/lontarariset.v4i1.369>.
- Hidayah, Z., Nuzula, N. I., & Wiyanto, D. B. 2020. Analisa Keberlanjutan Pengelolaan Sumber Daya Perikanan di Perairan Selat Madura Jawa Timur. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, 22(2): 101-111. DOI: <https://doi.org/10.22146/jfs.53099>.
- Kaper, J.B., Nataro, J.P., & Mobley, H.L.T. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2): 123-140. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>.
- Kartikasari, A. M., Hamid, I. S., Purnama, M. T. E., Damayanti, R., Fikri, F., & Praja, R. N. 2019. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Kontaminan pada Daging Ayam Broiler di Rumah Potong Ayam Kabupaten Lamongan. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(1): 66-71. DOI: <https://doi.org/10.20473/jmv.vol2.iss1.2019.66-71>.
- Hemraj, V., Diksha, S., & Avneet. G 2013. A Review on Commonly Used Biochemical Tests for Bacteria. *Innovare Journal of Life Science*, 1(1): 1-7.

- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2014. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 41 Tahun 2014 tentang Pedoman Gizi Seimbang*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Maftuhah, N., Nuryadin, D. F. E., & Ramdhani, I. 2024. Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* pada Ikan Selar Kuning (*Selaroides leptolepis*) di Pengujian dan Penerapan Mutu Hasil Perikanan Banten dengan Metode SNI 2332.1: 2015. *LEUIT: Journal of Local Food Security*, 5(1): 356-361. DOI: <https://dx.doi.org/10.62870/leuit.v5i1.24520>.
- Nugraheni, I. A., & Naim, A. 2024. Analisis Kualitas Mikrobiologis Air Sungai melalui Deteksi Total Coliform dan *Escherichia coli* Menggunakan Metode *Most Probable Number* (MPN). Dalam *Prosiding Seminar Nasional Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat LPPM Universitas' Aisyiyah Yogyakarta* (Vol. 2, pp. 1521-1534).
- Jacob, A. M., Nurjanah, N., Hidayat, T., & Perdiansyah, R. 2020. Komposisi Kimia dan Profil Asam Lemak Ikan Layur Segar Penyimpanan Suhu Dingin. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(1): 147-157. DOI: <https://doi.org/10.17844/jphpi.v23i1.31057>.
- Pelczer, M.J & Chan, E. C.S. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi* (Jilid 1). UI Press.
- Phuryandari, A., Ghofar, A., & Saputra, S. W. 2020. Analisis Potensi dan Tingkat Pemanfaatan Ikan Layur (*Trichiurus* sp.) yang Didaratkan di Pelabuhan Perikanan Samudera (PPS) Cilacap. *Pena Akuatika: Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 19(2): 1-10. DOI: <https://doi.org/10.31941/penaakuatika.v19i2.1128>.
- Pigome, M., Yanti, D. I. W., & Masengi, M. C. 2023. Analisis Kandungan Bakteri Coliform pada Ikan Tembang (*Sardinella fimbriata*). *INNOVATIVE: Journal Of Social Science Research*, 3(5) : 8834-8840.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. 2008. *Microbiology* (7th ed.). McGraw-Hill.
- Rahayu, S. A., & Gumilar, M. M. H. 2017. Uji Cemar Air Minum Masyarakat Sekitar Margahayu Raya Bandung dengan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Pharmaceuticalscience and Technology*, 4(2): 50-56. DOI: <https://doi.org/10.15416/ijpst.v4i2.13112>.
- Rahmat, H., Julyantoro, P. G. S., & Suryaningtyas, E. W. 2020. Prevalensi dan Intensitas Parasit pada Ikan Layur (*Trichiurus lepturus*) di Pasar Ikan Kedonganan, Bali. *Current Trends in Aquatic Science*, 3(1): 47-53.
- Ramadhani, W. M., Rukmi, I., & Jannah, S. N. 2020. Kualitas Mikrobiologi Daging Ayam Broiler di Pasar Tradisional Banyumanik Semarang. *Jurnal Biologi Tropika*, 1(1), 8-16. DOI: <https://doi.org/10.14710/jbt.1.1.8-16>.
- Sabila, N., & Setyaningrum, D. 2023. Analisis Coliform Dan Colifecal pada Air Dari Berbagai Sumber Menggunakan Metode MPN (*Most Probable Numbers*). *Jurnal Kimia dan Rekayasa*, 3(2), 54-60.
- Savino, F., Cordisco, L., Tarasco, V., Locatelli, E., Di Gioia, D., Oggero, R., & Matteuzzi, D. 2011. Antagonistic Effect of *Lactobacillus* Strains Against Gas-Producing

Coliforms Isolated From Colicky Infants. *BMC microbiology*, 11: 157. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-157>.

Shabrina, L., Sumiyanto, W., Mulyani, H., & Sipahutar, Y. H. 2022. Alur Produksi Ikan Layur (*Trichiurus lepturus*) Beku di PT. LPB Belawan Sumatera Utara. Dalam *Prosiding Simposium Nasional IX Kelautan dan Perikanan* (pp. 213-222). Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin.

Sulistiani, A., & Hafiludin, H. 2022. Karakteristik Mikrobiologi (ALT, *E. Coli* dan *Salmonella*) pada Produk Hasil Perikanan di BPMHP Semarang. *Juvenil: Jurnal Ilmiah Kelautan dan Perikanan*, 3(1): 37-43. DOI: <https://doi.org/10.21107/juvenil.v3i1.15342>.

Trisno, K., Tono, K. P., & Suarjana, I. G. K. 2019. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* dari Udara pada Rumah Potong Unggas Swasta di Kota Denpasar. *Indonesia Medicus Veterinus*, 8(5): 685-696. DOI: <https://doi.org/10.19087/imv.2019.8.5.685>.

Yunita, M., Hendrawan, Y., & Yulianingsih, R. 2015. Analisis Kuantitatif Mikrobiologi pada Makanan Penerbangan (*Aerofood ACS*) Garuda Indonesia Berdasarkan TPC (*Total Plate Count*) dengan Metode *Pour Plate*. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*, 3(3): 237-248.

Yurikko, A. M., Novita, R. P., Amriani, A., & Agustiarini, V. 2025. Deteksi Pencemaran Bakteri *Escherichia coli* pada Produk Perikanan untuk Keamanan Bahan Pangan Bagi Masyarakat. *MESINA: Medical Scientific Journal*, 5(2): 53-63.