

**PENGARUH PENAMBAHAN KONSENTRASI GARAM BERBEDA  
TERHADAP PERUBAHAN GIZI DAGING IKAN LELE (*Clarias batrachus*)  
YANG TERINFEKSI *Edwardsiella tarda* SECARA ARTIFISIAL**

**SKRIPSI**

Oleh :

**DEWI ENDAH HASTUTI  
NIM. 155080301111048**



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2019**

**PENGARUH PENAMBAHAN KONSENTRASI GARAM BERBEDA  
TERHADAP PERUBAHAN GIZI DAGING IKAN LELE (*Clarias batrachus*)  
YANG TERINFEKSI *Edwardsiella tarda* SECARA ARTIFISIAL**

**SKRIPSI**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar  
Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya**

Oleh :  
**DEWI ENDAH HASTUTI**  
**NIM. 155080301111048**



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
Juni, 2019**

SKRIPSI

PENGARUH PENAMBAHAN KONSENTRASI GARAM BERBEDA TERHADAP PERUBAHAN GIZI DAGING IKAN LELE (*Clarias batrachus*) YANG TERINFEKSI *Edwardsiella tarda* SECARA ARTIFISIAL

Oleh :  
DEWI ENDAH HASTUTI  
155080301111048

Telah dipertahankan didepan penguji  
Pada Tanggal 24 Juni 2019  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Mengetahui,  
Ketua Jurusan



(Dr. Ir. Muhammad Firdaus, MP.)

NIP. 196809 19200501 1 001  
Tanggal: 15 JUL 2019

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing

(Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, M.Si.)

NIP. 19640726 198903 2 004  
Tanggal: 15 JUL 2019



**IDENTITAS TIM PENGUJI**

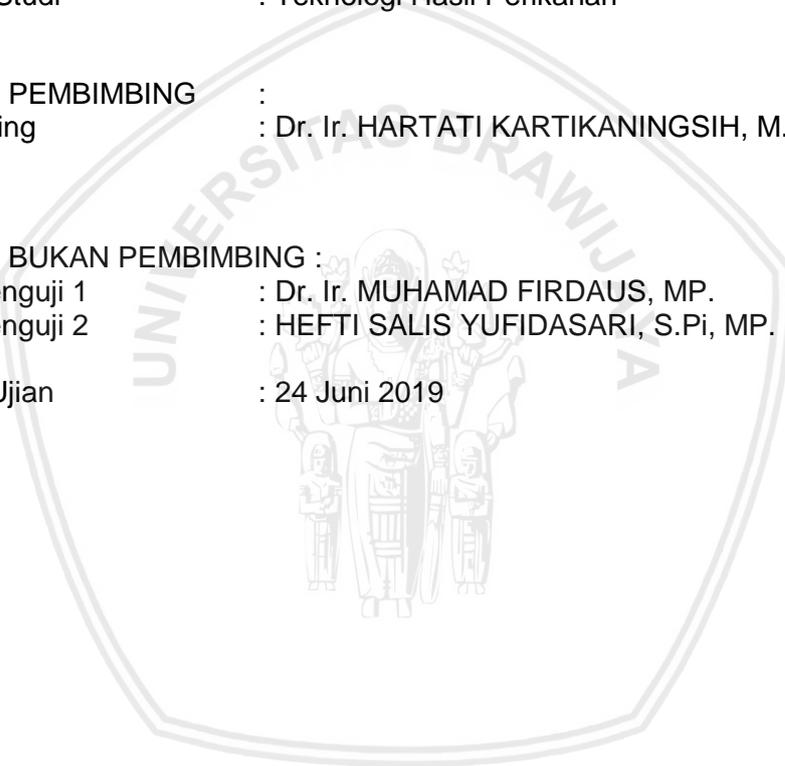
Judul : **PENGARUH PENAMABAHAN KONSENTRASI GARAM BERBEDA TERHADAP PERUBAHAN GIZI DAGING IKAN LELE (*Clarias batrachus*) YANG TERINFEKSI *Edwardsiella tarda* SECARA ARTIFISIAL**

Nama Mahasiswa : DEWI ENDAH HASTUTI  
NIM : 155080301111048  
Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan

PENGUJI PEMBIMBING :  
Pembimbing : Dr. Ir. HARTATI KARTIKANINGSIH, M.Si.

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING :  
Dosen Penguji 1 : Dr. Ir. MUHAMAD FIRDAUS, MP.  
Dosen Penguji 2 : HEFTI SALIS YUFIDASARI, S.Pi, MP.

Tanggal Ujian : 24 Juni 2019



## PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Dewi Endah Hastuti

NIM : 155080301111048

Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 24 Juni 2019  
Mahasiswa,

Dewi Endah Hastuti  
NIM. 155080301111048

## UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam pelaksanaan dan penyusunan laporan skripsi ini, banyak pihak yang telah membantu. Sehingga penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

- Allah SWT atas karunia dan kesehatan yang diberikan selama ini sehingga laporan praktik kerja magang ini dapat terselesaikan dengan baik
- Bapak Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP. selaku ketua jurusan Manajemen Sumberdaya Perikanan dan dosen penguji 1
- Ibu Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, M.Si. selaku dosen pembimbing
- Ibu Hefti Salis Yufidasari, S.Pi, MP. selaku dosen penguji 2
- Ibu Rahmi Nurdiani, S.Pi, Mapp.Sc, PhD. selaku ketua Program Studi Teknologi Hasil Perikanan
- Bapak dan ibu dan semua keluarga saya yang telah memberikan doa serta dukungan
- Teman-teman satu bimbingan ibu Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, M.Si.
- Teman-teman Teknologi Hasil Perikanan 2015

## RINGKASAN

**DEWI ENDAH HASTUTI (155080301111048).** Pengaruh Penambahan Konsentrasi Garam Berbeda terhadap Perubahan Gizi Daging Ikan lele (*Clarias batrachus*) yang Terinfeksi *Edwardsiella tarda* Secara Artifisial (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, M.Si.**).

Ikan lele ialah ikan air tawar unggulan di Indonesia yang sangat digemari dan tingkat konsumsinya sangat tinggi. Mengonsumsi ikan lele yang terinfeksi bakteri patogen dapat menimbulkan bahaya. Salah satu jenis bakteri patogen tersebut ialah *Edwardsiella tarda* yang menimbulkan penyakit *Edwardsiellosis*, *Emphismathous Putrefactive Disease of Catfish* (EPDC) yang mematikan pada ikan. *E. tarda* dapat menginfeksi vertebrata tingkat tinggi, mamalia, dan manusia yang menyebabkan penyakit gastrointestinal dan ekstraintestinal. Maka dibutuhkan penanganan untuk mengurangi kontaminasi *E. tarda* pada daging ikan lele agar aman dikonsumsi dan tidak menurunkan nilai gizi daging ikan lele. Salah satu penanganan yang dapat dilakukan yaitu memberikan bahan tambahan pangan yang aman serta memiliki fungsi dan aktivitas yang tidak kalah dengan antibiotika. Salah satu bahan tambahan pangan tersebut ialah garam karena bersifat bakteristatik ataupun bakteriosidal.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan konsentrasi garam berbeda terhadap keamanan pangan pada daging ikan lele (*Clarias batrachus*) yang terinfeksi *E. tarda* secara artifisial. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember-Maret di Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perikanan Divisi Keamanan Hasil Perikanan, Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Reproduksi Ikan, Laboratorium Hidrobiologi Divisi Sumberdaya Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode penelitian eksperimen dengan variabel bebas yaitu konsentrasi garam (0%, 5%, 10% dan 15%) serta variabel terikat yaitu uji TPC, uji kadar garam, serta uji proksimat yang terdiri dari kadar air, kadar abu, kadar protein dan kadar lemak pada daging ikan lele yang terinfeksi *E. tarda*.

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan perubahan gizi pada daging ikan lele (*C. batrachus*) yang terinfeksi *E. tarda* secara artifisial dengan perlakuan penambahan konsentrasi garam yang berbeda. Penambahan konsentrasi garam yang berbeda berpengaruh terhadap kadar air, kadar abu, kadar protein dan kadar lemak daging ikan lele (*C. batrachus*) yang terinfeksi *E. tarda*. Pada analisa proksimat nilai kadar air masih masuk *range* dan beberapa dibawah kandungan gizi daging ikan lele secara umum, kadar abu berada diatas kandungan gizi daging ikan lele, kadar protein dibawah kandungan gizi daging ikan lele, dan kadar lemak dibawah kandungan gizi daging ikan lele.

Disarankan untuk melakukan penelitian dengan bahan tambahan pangan alami selain garam yang bersifat antimikroba yang dapat mengurangi kontaminasi *E. tarda* sehingga aman untuk dikonsumsi dan tidak menurunkan gizi daging ikan tersebut.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan anugrah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Penambahan Konsentrasi Garam yang Berbeda terhadap Perubahan Gizi Daging Ikan Lele (*C. batrachus*) yang Terinfeksi *Edwardsiella tarda* Secara Artifisial” untuk menyelesaikan program strata 1 dalam program studi Teknologi Hasil Perikanan dan juga sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.

Laporan skripsi ini berisi tentang hasil penelitian terhadap pengaruh penambahan konsentrasi garam pada daging ikan lele yang terinfeksi *E. tarda* secara artifisial dari segi perubahan gizi. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam berbagai hal dalam penyusunan laporan skripsi ini karena keterbatasan kemampuan yang dimiliki oleh penulis. Semoga laporan skripsi ini bisa bermanfaat bagi semua pihak dalam upaya meningkatkan fungsi dan proses belajar mengajar di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.

Sekian kata pengantar yang bisa penulis sampaikan, apabila terdapat kekurangan atau kesalahan mohon dimaafkan.

*Wassalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh.*

Malang, 24 Juni 2019

Dewi Endah Hastuti

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiii</b>
<b>1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Perumusan Masalah .....	3
1.3. Tujuan .....	3
1.4. Hipotesis .....	3
1.5. Kegunaan Penelitian .....	3
1.6. Tempat dan Waktu Penelitian .....	4
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1. Deskripsi Ikan Lele ( <i>Clarias batrachus</i> ) .....	5
2.1.1. Klasifikasi .....	5
2.1.2. Morfologi .....	5
2.1.3. Karakteristik .....	6
2.1.4. Kandungan Gizi .....	7
2.2. <i>Edwardsiella tarda</i> .....	8
2.2.1. Deskripsi dan Karakteristik <i>Edwardsiella tarda</i> .....	8
2.2.2. Klasifikasi <i>Edwardsiella tarda</i> .....	9
2.2.3. Patogenitas <i>Edwardsiella tarda</i> .....	9
2.3. Garam .....	10
2.4. Uji Kadar Garam .....	11
2.5. Uji <i>Total Plate Count</i> .....	11
2.6. Uji Proksimat .....	13
2.6.1. Kadar Air .....	13
2.6.2. Kadar Abu .....	14
2.6.3. Kadar Protein .....	15
2.6.4. Kadar Lemak .....	16
<b>3. MATERI DAN METODE PENELITIAN</b> .....	<b>18</b>
3.1 Materi Penelitian .....	18
3.1.1 Alat Penelitian .....	18
3.1.2 Bahan Penelitian .....	19
3.2 Metode Penelitian .....	19
3.3 Analisa Data .....	22
3.4 Prosedur Penelitian .....	22
3.5 Penelitian Pendahuluan .....	23
3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan .....	23
3.5.2 Pembuatan Larutan Na-Fis .....	24
3.5.3 Pembuatan Media Natrium Agar (NA) .....	25
3.5.4 Pembuatan Media <i>Tryptone Soya Agar</i> (TSA) .....	26

3.5.5	Pembuatan Media <i>Tryptone Soya Broth</i> (TSB).....	27
3.5.6	Pembuatan Media Gelatin .....	28
3.5.7	Pembuatan Media <i>Mac Conkey Agar</i> (MCA) .....	28
3.5.8	Peremajaan <i>Edwardsiella tarda</i> .....	29
3.5.9	Uji Biokimia <i>Edwardsiella tarda</i> .....	30
3.5.10	Uji Kepadatan Bakteri.....	33
3.5.11	Kultur <i>Edwardsiella tarda</i> .....	35
3.6	Penelitian Utama .....	36
3.6.1	Infeksi <i>Edwardsiella tarda</i> pada Ikan Lele.....	36
3.6.2	Perlakuan Garam .....	37
3.6.3	Total Plate Count.....	38
3.6.4	Uji Proksimat .....	40
3.6.5	Uji Kadar Garam.....	44
<b>4</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>36</b>
4.1	Penelitian Pendahuluan.....	45
4.1.1	Uji Biokimia <i>Edwardsiella tarda</i> .....	45
4.1.2	Uji Kepadatan <i>Edwardsiella tarda</i> .....	50
4.2	Penelitian Utama .....	51
4.2.1	Uji <i>Total Plate Count</i> .....	52
4.2.2	Analisa Proksimat.....	58
4.2.3	Analisa Kadar Garam .....	79
<b>5</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>83</b>
5.1	Kesimpulan.....	83
5.2	Saran.....	83
	<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>84</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>91</b>



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan gizi ikan lele ( <i>C. batrachus</i> ).....	7
2. Struktur rancangan percobaan.....	21
3. Hasil uji biokimia <i>E. tarda</i> .....	45
4. <i>Optical Density</i> (OD) <i>E. tarda</i> .....	50
5. <i>Total Plate Count E. tarda</i> .....	50
6. Hasil uji TPC pada media non-selektif (NA) .....	52
7. Hasil TPC pada media selektif (MCA) .....	53
8. Hasil analisis ANOVA uji TPC non-selektif .....	53
9. Hasil analisis ANOVA uji TPC selektif <i>E. tarda</i> .....	53
10. Hasil analisa kadar air.....	58
11. Hasil analisis ANOVA uji kadar air .....	59
12. Hasil uji lanjut Duncan nilai kadar air .....	59
13. Hasil analisa kadar abu.....	63
14. Hasil analisis ANOVA uji kadar abu .....	63
15. Hasil uji lanjut Duncan nilai kadar abu .....	64
16. Hasil analisa kadar protein <i>dry basis</i> .....	68
17. Hasil analisis ANOVA uji kadar protein <i>dry basis</i> .....	68
18. Hasil uji lanjut Duncan nilai kadar protein <i>dry basis</i> .....	69
19. Hasil analisa kadar lemak <i>dry basis</i> .....	73
20. Hasil analisis ANOVA uji kadar lemak <i>dry basis</i> .....	73
21. Hasil uji lanjut Duncan nilai kadar lemak <i>dry basis</i> .....	74
22. Hasil analisa kadar garam.....	79
23. Hasil analisis ANOVA uji kadar garam .....	80
24. Hasil uji lanjut Duncan nilai kadar garam .....	82

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan lele .....	5
2. Pewarnaan gram <i>E. tarda</i> .....	46
3. Uji gelatin <i>E. tarda</i> .....	47
4. Uji H <sub>2</sub> s pada media TSIA <i>E. tarda</i> .....	48
5. Uji hemolisis <i>E. tarda</i> pada media agar darah .....	49
6. Regresi kepadatan <i>E. tarda</i> .....	51
7. Grafik TPC non-selektif berdasarkan pengaruh penambahan .....	54
8. Grafik TPC selektif berdasarkan pengaruh penambahan .....	55
9. Grafik TPC non-selektif berdasarkan penginfeksian.....	56
10. Grafik TPC selektif berdasarkan penginfeksian <i>E. tarda</i> .....	57
11. Grafik uji kadar air berdasarkan pengaruh penambahan.....	60
12. Grafik uji kadar air berdasarkan penginfeksian .....	61
13. Grafik uji kadar abu berdasarkan pengaruh penambahan.....	64
14. Grafik uji kadar abu berdasarkan penginfeksian .....	66
15. Grafik uji kadar protein berdasarkan pengaruh penambahan .....	69
16. Grafik uji kadar protein berdasarkan penginfeksian.....	71
17. Grafik uji kadar lemak berdasarkan pengaruh penambahan.....	74
18. Grafik uji kadar lemak berdasarkan penginfeksian .....	76
19. Grafik uji kadar garam.....	80

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja pembuatan larutan Na-Fis untuk pengujian kepadatan bakteri .....	91
2. Skema kerja pembuatan larutan Na-Fis untuk pengujian TPC .....	92
3. Skema kerja pembuatan media NA ( <i>Nutrient Agar</i> ) untuk pengujian kepadatan bakteri .....	93
4. Skema kerja pembuatan media NA ( <i>Nutrient Agar</i> ) untuk pengujian TPC .....	94
5. Skema kerja pembuatan media TSA ( <i>Tryptone Soya Agar</i> ) .....	95
6. Skema kerja pembuatan media TSB ( <i>Tryptone Soya Broth</i> ) .....	96
7. Skema kerja pembuatan media gelatin .....	97
8. Skema kerja pembuatan media <i>Mac Conkey Agar</i> (MCA) .....	98
9. Skema kerja peremajaan <i>E. tarda</i> .....	99
10. Skema kerja uji biokimia pewarnaan gram .....	100
11. Skema kerja uji biokimia gelatin .....	101
12. Skema kerja uji biokimia H <sub>2</sub> S pada media TSIA .....	102
13. Skema kerja uji biokimia hemolisis pada media agar darah .....	103
14. Skema kerja kepadatan <i>E. tarda</i> .....	104
15. Skema kerja TPC kepadatan <i>E. tarda</i> .....	105
16. Skema kerja kultur <i>E. tarda</i> .....	106
17. Skema kerja penginfeksian <i>E. tarda</i> .....	107
18. Skema kerja perlakuan garam pada daging ikan lele .....	108
19. Skema kerja <i>Total Plate Count</i> .....	109
20. Skema kerja kadar air (SNI 2354.2:2015) .....	110
21. Skema kerja kadar abu (SNI 2354.1:2010) .....	111
22. Skema kerja kadar protein (SNI 01-2354.4:2006) .....	112
23. Skema kerja kadar lemak (SNI 01-2354.3-2006) .....	113
24. Skema kerja uji kadar garam .....	114
25. Hasil analisis uji tpc non-selektif dengan aplikasi SPSS .....	115
26. Hasil analisis uji tpc selektif dengan aplikasi SPSS .....	117
27. Hasil analisis uji kadar air dengan aplikasi SPSS .....	119
28. Hasil analisis uji kadar abu dengan aplikasi SPSS .....	121
29. Hasil uji kadar protein <i>wet basis</i> .....	123
30. Hasil analisis uji kadar protein ( <i>dry basis</i> ) .....	124
31. Hasil uji kadar lemak <i>wet basis</i> .....	126
32. Hasil analisis uji kadar lemak ( <i>dry basis</i> ) .....	127
33. Hasil analisis uji kadar garam dengan aplikasi SPSS .....	129
34. Dokumentasi pembuatan media Na-fis .....	131
35. Dokumentasi pembuatan media NA ( <i>Nutrient Agar</i> ) .....	132
36. Dokumentasi pembuatan media gelatin .....	133
37. Dokumentasi peremajaan <i>E. tarda</i> .....	134
38. Dokumentasi uji biokimia pewarnaan gram .....	135
39. Dokumentasi uji biokimia gelatin .....	137
40. Dokumentasi uji biokimia H <sub>2</sub> S pada media TSIA .....	138
41. Dokumentasi uji biokimia hemolisis pada media agar darah .....	139
42. Dokumentasi uji kepadatan <i>E. tarda</i> .....	140
43. Dokumentasi uji TPC kepadatan <i>E. tarda</i> .....	141
44. Dokumentasi penginfeksian <i>E. tarda</i> .....	142

45. Dokumentasi perlakuan garam ..... 143  
46. Dokumentasi uji *Total Plate Count* ..... 144  
47. Dokumentasi daging ikan lele ..... 145



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Ikan lele (*Clarias batrachus*) ialah jenis ikan air tawar yang digemari oleh masyarakat (Utami, 2014). Departemen Kelautan dan Perikanan (DKP) telah menetapkan ikan air tawar unggulan di Indonesia ialah ikan lele (*C. batrachus*). Perkembangan produksi ikan lele sangat baik karena setiap tahunnya mengalami peningkatan rata-rata sebesar 39,66%. Angka tingkat konsumsi ikan lele ini sangat tinggi baik di dalam negeri maupun di luar negeri. Namun, terdapat salah satu bahaya yang muncul yaitu jika mengonsumsi ikan lele yang terinfeksi bakteri patogen (Wijaya *et al.*, 2014).

Salah satu jenis bakteri patogen yang dapat menginfeksi dan menyebabkan penyakit pada ikan ialah *Edwardsiella tarda*. Bakteri tersebut menyerang ikan golongan *catfish* termasuk ikan lele (*C. batrachus*). Daerah penyebaran *E. tarda* sangat luas yaitu di wilayah Eropa, Thailand, Amerika Serikat, Malaysia, Asia, Kanada, Australia, dan juga Indonesia (KEPMEN KP RI, 2010). Bakteri tersebut di Indonesia sudah ditemukan di Jawa, Sumatera, dan Kalimantan (Narwiyani dan Kurniasih, 2011).

Menurut KEPMEN KP RI (2010), adapun penyakit yang ditimbulkan oleh *E. tarda* antara lain *Edwardsiellosis*, *Emphisemathous Putrevactive Disease of Catfish* (EPDC) dan *red disease*. Penyakit tersebut dapat menyebabkan kematian pada ikan. *E. tarda* dapat menyerang organ dalam seperti ginjal, hati, limpa dan otot serta dapat menyebabkan septicemia dengan luka serius pada kulit. Selain itu, juga dapat menginfeksi vertebrata tingkat tinggi (burung dan reptil), mamalia,

serta manusia yang dapat menyebabkan penyakit gastrointestinal. (Narwiyani dan Kurniasih, 2011).

Berdasarkan dampak yang dapat ditimbulkan dari *E. tarda* maka dibutuhkan penanganan untuk mengurangi kontaminasi *E. tarda* pada daging ikan lele (*C. batrachus*) agar aman untuk dikonsumsi dan tidak menurunkan nilai gizi daging ikan lele tersebut. Salah satu upaya penanganan yang dapat dilakukan yaitu dengan memberikan bahan alam sebagai bahan tambahan pangan yang aman dan melimpah serta memiliki fungsi dan aktivitas yang tidak kalah dengan antibiotika (Wahjuningrum *et al.*, 2014). Bahan tambahan pangan tersebut salah satunya yaitu garam. Garam memiliki sifat bakteristatik ataupun bakteriosidal. Garam mampu membunuh bakteri karena sifatnya yang higroskopis yaitu mampu menyerap air di dalam sitoplasma bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri mengkerut dan mati (Salosa, 2013).

Bahan makanan yang dikonsumsi harus sehat, bergizi lengkap dan juga aman karena dapat mempengaruhi tingkat kesehatan dan kecerdasan seseorang (Salosa, 2013). Kesadaran manusia akan pola konsumsi makanan dalam memenuhi kebutuhan gizi semakin meningkat. Status gizi mempengaruhi tingkat konsumsi energi. Energi dibutuhkan oleh tubuh untuk beraktivitas, pertumbuhan dan metabolisme (Pahlevi, 2012). Hal ini membuat semakin pentingnya mempertahankan kandungan gizi pada suatu bahan pangan. Akan tetapi, sejauh ini belum ada data tentang perubahan gizi daging ikan lele yang terinfeksi *E. tarda* dengan penambahan konsentrasi garam berbeda pada proses pengolahannya. Oleh karena itu dibutuhkan studi tentang pengaruh penambahan konsentrasi garam berbeda terhadap perubahan gizi daging ikan lele (*C. batrachus*) yang terinfeksi *E. tarda* secara artifisial.

## 1.2. Perumusan Masalah

Perumusan masalah dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui adakah pengaruh penambahan konsentrasi garam yang berbeda terhadap perubahan gizi daging ikan lele (*C. batrachus*) yang terinfeksi *E. tarda* secara artifisial?

## 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan konsentrasi garam yang berbeda terhadap perubahan gizi pada daging ikan lele (*C. batrachus*) yang terinfeksi *E. tarda* secara artifisial

## 1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

H<sub>0</sub> : Penambahan konsentrasi garam berbeda tidak berpengaruh terhadap perubahan gizi daging ikan lele (*C. batrachus*) yang terinfeksi *E. tarda* secara artifisial

H<sub>1</sub> : Penambahan konsentrasi garam berbeda berpengaruh terhadap perubahan gizi daging ikan lele (*C. batrachus*) yang terinfeksi *E. tarda* secara artifisial

## 1.5 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat bagi masyarakat sebagai bagian dari ilmu pengetahuan yang memberikan informasi tambahan mengenai perubahan gizi daging ikan lele (*C. batrachus*) yang terinfeksi *E. tarda* setelah di beri penambahan konsentrasi garam yang berbeda

## 1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember-Maret 2019 di Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perikanan Divisi Keamanan Hasil Perikanan, Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Reproduksi Ikan, Laboratorium Hidrobiologi Divisi Sumberdaya Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Deskripsi Ikan Lele (*Clarias batrachus*)

Salah satu jenis ikan air tawar yang digemari oleh masyarakat ialah ikan lele. Ikan lele juga merupakan salah satu komoditas yang patut dibanggakan di bidang perikanan air tawar. Selain memiliki rasa yang gurih dan lezat daging ikan lele juga mengandung protein hewani yang cukup tinggi (Sutrisno, 2007). Habitat dari ikan lele ini memiliki debit air yang tidak terlalu besar. Ikan lele ini cenderung lebih menyukai hidup di dasar perairan jika dilihat dari bentuk tubuhnya (Hendriana, 2010).

#### 2.1.1. Klasifikasi

Menurut Khairuman dan Khairul (2008), klasifikasi ikan lele ialah sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Kelas	: Actinopterygii
Ordo	: Siluriformes
Subordo	: Siluroidea
Famili	: Clariidae
Genus	: Clarias
Species	: <i>Clarias batrachus</i>



Gambar 1. Ikan lele  
(Google image, 2019)

#### 2.1.2. Morfologi

Ikan lele (*C. batrachus*) memiliki ciri-ciri morfologi seperti memiliki bentuk badan yang berbeda dengan ikan lainnya yaitu berbentuk memanjang. Di bagian tengah badan ikan lele mempunyai potongan

membulat dan bentuk kepala yang pipih ke bawah (*depressed*). Sedangkan pada bagian belakang berbentuk pipih ke samping (*compressed*). Jadi, dapat disimpulkan bahwa bentuk potongan melintang seekor ikan lele ada 3 yaitu bulat, pipih ke bawah dan pipih ke samping. Ikan lele memiliki kumis yang digunakan sebagai alat penciuman. Fungsinya yaitu untuk alat peraba ketika ikan bergerak mencari makanannya (Sutrisno, 2007).

Ikan lele memiliki warna tubuh cokelat terang, coklat gelap dan ada yang hitam yang bersifat permanen atau tidak mengalami perubahan. Ikan lele juga memiliki sirip ekor. Sirip ekor ikan lele berbentuk bundar dan terpisah dengan sirip anal dan sirip punggung. Dibagian sirip dada ikan lele terdapat sepasang patil yang berbisa. Patil yang berguna untuk melindungi diri dari pengaruh luar dan untuk melompat dari kolam yang kemudian melarikan diri ke saluran air (Sutrisno, 2007).

### **2.1.3. Karakteristik**

Ikan lele ialah salah satu jenis ikan yang hidup di dasar perairan. Ikan lele tergolong jenis ikan karnivora seperti ikan-ikan kecil. Di habitat aslinya makanan kesukaan ikan lele antara lain seperti cacing, jentik serangga dan belatung. Sifat lain dari ikan lele ini yaitu kanibal. Jadi, ketika lele dalam kondisi lapar dan tidak ada makanan maka ikan lele akan memakan ikan dari jenisnya sendiri (Hendriana, 2010).

Lele memiliki *aborescent* atau labirin yaitu sepasang insang tambahan. Labirin ini membuat ikan lele dapat bertahan hidup dalam air yang tidak mengalir atau tergenang dan juga membantu ikan lele mengambil oksigen yang berada bebas dalam udara. Serta labirin ini membuat ikan lele hidup di dalam lumpur atau di darat selama beberapa

jam, dengan syarat udara disekitarnya cukup lembab. Hal ini juga merupakan alasan mengapa ikan lele dapat dipelihara di kualitas air yang sangat buruk seperti di comberan. Tetapi agar produktivitas ikan lele optimal, ikan lele harus dipelihara dengan kualitas dan kuantitas air yang mencukupi kebutuhan ikan lele yaitu suhu air berkisar 25-30°C dan pH air berkisar 6,5-8,5 (Hendriana, 2010).

#### 2.1.4. Kandungan Gizi

Ikan lele memiliki kandungan gizi yang cukup tinggi (Darseno, 2010). Kandungan gizi daging ikan lele secara umum dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan gizi ikan lele (*C. batrachus*)

Zat gizi	Daging ikan lele
Air	74-85%
Abu	0,8-2%
Protein	12-22%
Lemak	0,4-5,7%

Sumber : Bimantara, 2018.

Ikan lele termasuk bahan pangan yang berprotein sedang dengan lemak yang rendah. Kandungan protein *wet basis* pada ikan lele sebesar 12% - 22% dan mengandung lemak *wet basis* sebesar 0,4 – 5,7%. Menurut Olaniyi *et al.*, (2017), kandungan protein *dry basis* pada ikan lele sebesar 60,38% dan kandungan lemak *dry basis* pada ikan lele sebesar 25,60%. Selain mengandung lemak dan protein ikan lele juga mengandung karoten, vitamin A, protein, lemak, kalsium, fosfor, zat besi, vitamin B1, vitamin B6, vitamin B12, serta asam amino. Kandungan gizi ikan lele mudah diserap dan dicerna oleh tubuh manusia dari semua kalangan baik anak-anak, dewasa maupun orang tua. Manfaat mengonsumsi ikan lele yaitu dapat membantu pertumbuhan dan perkembangan anak. Manfaat asam amino esensial yang terdapat pada

ikan lele yaitu untuk membantu tumbuh kembang tulang, membantu penyerapan kalsium, dan menjaga keseimbangan nitrogen dalam tubuh serta memelihara masa tubuh anak agar tidak terlalu berlemak (Yuliastri *et al.*, 2015).

## **2.2. *Edwardsiella tarda***

*E. tarda* ialah bakteri gram negatif, pendek, berbentuk batang, dan bakteri fakultatif anaerob. Ukuran dari bakteri tersebut ialah memiliki panjang 2 - 3  $\mu\text{m}$  dan diameter 1  $\mu\text{m}$ . Penjabaran *E. tarda* ialah sebagai berikut.

### **2.2.1. Deskripsi dan Karakteristik *Edwardsiella tarda***

*E. tarda* adalah bakteri gram negatif, pendek, berbentuk batang, dan bakteri fakultatif anaerob. Ukuran dari bakteri tersebut ialah memiliki panjang 2 - 3  $\mu\text{m}$  dan diameter 1  $\mu\text{m}$ . Biasanya motil, tetapi dari isolat *red sea bream* atau ikan kurisi merah dan non motil dari ikan *yellowtail* atau ikan ekor kuning. Bakteri ini dapat bertahan hidup pada 0-4% kadar garam, pH 4,0-10,0 dan pada suhu 14-45°C. *E. tarda* telah diisolasi dari banyak ikan air tawar maupun air laut termasuk baramundi, kurisi merah, ekor kuning, lele, belut, dll. Selain itu juga pada invertebrata, amfibi, reptil, burung dan mamalia, termasuk manusia, anjing, hewan ternak, babi dan anjing laut (Park *et al.*, 2012).

*E. tarda* adalah bakteri gram negatif yang dikategorikan dalam famili enterobacteriaceae, anaerob fakultatif dan motil. Isolasi *E. tarda* biasanya diambil dari lingkungan air tawar ataupun air payau seperti di muara sungai. Selain itu *E. tarda* juga dapat diisolasi dari usus manusia. Dengan syarat manusia yang telah memakan sumber makanan dari air tawar seperti lele atau belut yang terinfeksi *E. tarda*. Selain itu juga

sumber makanan dari hewan termasuk reptil dan ikan air tawar yang terinfeksi *E. tarda* (Hirai *et al.*, 2015).

### 2.2.2. Klasifikasi *Edwardsiella tarda*

Menurut Ewing *et al.*, (1965), *E. tarda* adalah mikroorganisme gram negatif, bakteri yang memanfaatkan fermentasi glukosa. Klasifikasi dari *E. tarda* ialah sebagai berikut :

Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Edwardsiella</i>
Spesies	: <i>Edwardsiella tarda</i>

### 2.2.3. Patogenitas *Edwardsiella tarda*

Menurut ratnawati (2013), bakteri ialah mikroflora normal intestinum pada ikan, amfibi dan reptil. Salah satu bakteri yang diketahui merugikan dalam budidaya ikan ialah *E. tarda*. Hal tersebut dikarenakan *E. tarda* dapat menimbulkan penyakit pada ikan. Kehidupan di air tawar dan air laut ialah tempat dimana sebagian besar ditemukan *E. tarda*. Termasuk pada ikan, kura-kura, anjing laut, ular, dan kadal serta menyebabkan penyakit pada *catfish* atau ikan lele, penguin serta belut.

*Edwardsiellosis* atau *Emphysematous Putrefactive Disease of Catfish* (EPDC) ialah penyakit yang disebabkan oleh *E. tarda*. Ikan yang terserang hanya menunjukkan gejala yang bersifat umum, tidak menunjukkan gejala klinik yang tersifat. Gejala lain yang ditunjukkan yaitu seperti pendarahan pada kulit, kehilangan warna tubuh serta terjadi luka yang merata diseluruh permukaan tubuh. Paling sedikit terdapat 250 kasus penyakit yang disebabkan oleh *E. tarda*. Penyakit tersebut telah

dilaporkan menimbulkan *gastroenteritis*, *septicemia* dan infeksi pada jaringan lunak (Ratnawati, 2013).

### 2.3. Garam

NaCl ialah garam dapur yang biasanya digunakan dalam industri pangan. Berdasarkan konsentrasinya garam memiliki fungsi yang berbeda. Garam dengan konsentrasi rendah memiliki fungsi sebagai pembentuk cita rasa. Sedangkan garam dengan konsentrasi yang cukup tinggi memiliki fungsi sebagai pengawet. Mekanisme garam dapat mengawetkan bahan pangan yaitu dengan peristiwa hidrasi ion yaitu garam akan terionisasi dan menarik sejumlah molekul air. Ketika garam pada makanan dengan konsentrasi yang semakin besar, maka akan semakin banyak ion hidrat dan molekul air terjerat, sehingga aktivitas air ( $A_w$ ) pada bahan pangan akan menurun. Aktivitas garam menyerap air berkaitan dengan peristiwa plasmolisis. Plasmolisis yaitu air yang bergerak dari konsentrasi garam rendah ke konsentrasi garam tinggi yang disebabkan oleh adanya perbedaan tekanan osmosis (Widyani dan Suciyati, 2008).

Garam memiliki efek sebagai pengawet karena memiliki sifat osmotik yang tinggi. Maka dapat memecahkan membran sel mikroba. Selain itu garam juga memiliki sifat hidroskopis. Sifat hidroskopis garam dapat menghambat aktifitas enzim proteolitik dan adanya ion Cl yang terdisosiasi. Larutan garam pekat sebesar (30-40%) jika diberikan pada mikroorganisme dapat menghambat perkembangbiakan mikroorganisme tersebut. Hal ini dikarenakan air dalam sel akan keluar secara osmosis dan sel akan mengalami plasmolisis sehingga perkembangbiakan mikroorganisme terhambat (Widyani dan Suciyati, 2008). Garam juga

bersifat toksin bagi beberapa bakteri (Salosa, 2013). Garam memiliki kemampuan membunuh parasit-parasit bersel tunggal berupa bakteri, jamur dan virus yang dapat menyerang ikan lele (Basset, 1994).

#### 2.4. Uji Kadar Garam

Garam atau Natrium klorida (NaCl) sudah lama dikenal masyarakat untuk pemberi rasa asin. Selain itu garam juga bermanfaat untuk mencegah kebusukan. Sehingga garam dapat digunakan sebagai bahan pengawet. Garam merupakan bahan pengawet GRAS (*Generally Recognize as Safe*). Sehingga tidak memiliki efek toksik dan aman untuk digunakan. Garam dapat digunakan sebagai pengawet hal ini dikarenakan garam mampu berperan sebagai penghambat selektif mikroorganisme pencemar tertentu. Selain itu garam juga dapat mempengaruhi aktivitas air (*water activity*) suatu substrat sehingga dapat mengontrol pertumbuhan mikroba (Yusmita, 2017).

Penentuan kadar garam dalam suatu bahan pangan dapat dilakukan dengan titrasi argentometri. Metode Mohr merupakan salah satu bentuk metode titrasi argentometri. Metode titrasi argentometri ialah metode titrasi yang digunakan untuk menentukan kadar zat yang terdapat dalam suatu larutan. Penentuan kadar zat tersebut dilakukan dengan pembentukan endapan bersama ion  $\text{Ag}^+$ . Prinsip metode Mohr untuk menentukan konsentrasi garam (NaCl) ialah mentitrasi ion klorida yang ada pada NaCl menggunakan larutan  $\text{AgNO}_3$  dan menggunakan  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  sebagai indikator (Yusmita, 2017).

#### 2.5. Uji Total Plate Count

*Total Plate Count* (TPC) atau Angka Lempeng Total (ALT) ialah metode yang digunakan untuk mengetahui jumlah total mikroba pada

produk pangan. Tujuan penentuan TPC dan ALT ialah untuk mengetahui berapa banyak koloni bakteri yang terdapat pada produk pangan (Ulfiana *et al.*, 2012). Pemerintah telah mempersyaratkan kriteria mikrobiologi pangan bervariasi tergantung dari jenis pangannya melalui Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) dan Standar Nasional Indonesia (SNI). Secara umum kriteria analisis produk pangan yaitu angka lempeng total atau nilai total mikroba, bakteri koliform serta total kapang dan khamir. Selain itu juga ada yang mempersyaratkan analisis bakteri patogen pada produk tertentu. Produk pangan yang kriteria mikrobiologinya dipersyaratkan antara lain produk segar, produk setengah jadi contohnya yaitu tepung-tepungan, produk olahan yang siap dikonsumsi serta bahan tambahan pangan (Atma, 2016).

Tahapan yang dilakukan untuk menganalisis total mikroba atau TPC yaitu pertama-tama siapkan sampel yang akan diuji. Kemudian dilakukan pengenceran sampel. Setelah itu ambil sebanyak 1 mL sampel pengenceran. Selanjutnya dituang ke dalam cawan petri yang sudah disterilkan sebelumnya. Kemudian tuangkan media PCA cair ke dalam cawan petri yang sudah berisi 1 mL pengenceran sampel sebanyak 15-20 mL. Setelah itu cawan petri tersebut dihomogenkan hingga sampel tercampur dengan rata. Selanjutnya ditunggu hingga membeku dan diinkubasi dengan posisi terbalik di dalam inkubator dengan suhu  $36\pm 1^{\circ}\text{C}$  selama 24-48 jam. Perhitungan pertumbuhan koloni dilakukan dalam satuan (cfu/g atau mL) (Atma, 2016).

## 2.6. Uji Proksimat

Uji proksimat terdiri dari kadar air, kadar abu, kadar protein dan kadar lemak yang akan dijelaskan sebagai berikut.

### 2.6.1. Kadar Air

Definisi dari kadar air adalah persentase yang menyatakan banyaknya air yang terkandung dalam suatu bahan. Salah satu karakteristik yang sangat penting pada bahan pangan ialah kadar air. Hal tersebut dikarenakan air dapat mempengaruhi tekstur, penampakan dan cita rasa pada bahan pangan. Kadar air dalam bahan pangan juga berfungsi untuk menentukan tingkat kesegaran serta daya awet bahan pangan tersebut. Jika kadar air yang terkandung dalam bahan pangan tinggi dapat mengakibatkan bakteri, kapang, dan khamir mudah untuk berkembang biak, sehingga akan terjadi perubahan pada bahan pangan tersebut (Aventi, 2015).

Menetapkan kandungan air dapat dilakukan dengan beberapa cara tergantung dari sifat bahannya. Secara umum penentuan kadar air dilakukan dengan oven yaitu mengeringkan bahan pada suhu 105-100 °C selama 3 jam atau hingga didapatkan berat yang konstan. Banyaknya air yang diuapkan dapat diketahui dengan cara menghitung selisih berat sebelum dan sesudah pengeringan. Selain itu penetapan kandungan air juga dapat menggunakan oven vakum dengan suhu yang lebih rendah. Cara tersebut khusus untuk bahan-bahan yang tidak tahan panas. Cara lain untuk penetapan kandungan air tanpa pemanasan yaitu menggunakan desikator. Bahan yang akan ditentukan kadar airnya dimasukkan dalam desikator dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat sebagai pengering hingga mencapai berat yang konstan. Cara penentuan kadar air dari

bahan-bahan yang kadar airnya tinggi dan mengandung senyawa-senyawa *volatile* yaitu menggunakan cara destilasi dengan pelarut tertentu seperti toluen, xilol dan heptana. Bahan dengan kadar gula tinggi cara penentuan kadar airnya yaitu menggunakan refraktometer (Winarno, 2004).

### 2.6.2. Kadar Abu

Zat anorganik yang merupakan sisa hasil dari pembakaran suatu bahan organik ialah abu. Jenis bahan dan cara pengabuan akan mempengaruhi kadar abu dan komposisiya. Kadar abu memiliki hubungan erat dengan mineral suatu bahan. Kadar abu yang meningkat dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain dapat disebabkan oleh peningkatan kadar garam. Hal tersebut dikarenakan garam terdiri dari ion  $\text{Na}^+$  dan  $\text{Cl}^-$ . Selain itu garam juga dapat menjadi prekursor abu yang merupakan residu anorganik dari pembakaran bahan-bahan organik (Winata *et al.*, 2015).

Kadar abu ialah banyaknya mineral yang tidak terbakar pada suatu sampel bahan makanan yang dibakar sempurna dalam tungku pengabuan yang menjadi zat yang dapat menguap. Ada tidaknya zat mineral dalam suatu bahan pangan dapat ditentukan dengan kadar abu yang terkandung pada bahan pangan tersebut (Mustar, 2013). Metode pengabuan kering (*dry ashing*) ialah metode untuk menentukan kadar abu pada suatu bahan pangan. Prinsip dari metode ini ialah semua zat organik dioksidasi pada suhu tinggi (sekitar  $550^\circ\text{C}$ ). Setelah itu dilakukan penimbangan zat yang tertinggal setelah proses pembakaran tersebut (Hafiludin, 2011).

### 2.6.3. Kadar Protein

Sumber asam-asam amino yang mengandung unsur-unsur C, H, O, dan N ialah protein. Unsur-unsur C, H, O, dan N tersebut tidak dimiliki oleh lemak atau karbohidrat. Protein memiliki molekul yang mengandung fosfor dan belerang. Selain itu ada jenis protein tertentu yang mengandung unsur logam seperti besi dan tembaga (Winarno, 2004). Ikan memiliki kandungan protein sekitar 18-20% pada daging ikan. Protein pada ikan berdasarkan kelarutannya dibagi menjadi 3 golongan ialah protein yang sangat mudah larut dalam air yaitu sarkoplasma dan miogen. Kemudian ada protein yang sedikit larut yaitu protein fibrilar. Sedangkan protein yang tidak mudah larut dalam air ataupun larutan garam yaitu protein stroma, yang terletak di jaringan pengikat dan dinding sel. Ikan memiliki protein myosin. Protein myosin ialah protein yang memiliki kekhususan secara biologis yaitu adanya kegiatan enzim (adinosintriposphatase) yang dapat menggabungkan myosin dan aktin menjadi aktomiosin. Ketika ikan masih hidup aktomiosin dapat berkontraksi dengan memendekkan urat, tetapi ketika ikan mati akan menjadi kaku (Zailanie, 2015).

Dalam menganalisis kadar protein dibedakan menjadi dua jenis analisis protein yaitu analisis kualitatif dan analisis kuantitatif. Analisis kualitatif memiliki banyak cara yang dapat digunakan untuk mengukur mutu protein. Cara analisis yang dapat digunakan yaitu secara biologis maupun kimia. Sedangkan pada analisis kuantitatif menggunakan cara *Kjeldahl* dan cara *Dumas*. Cara yang dapat digunakan untuk menganalisis protein kasar dalam bahan makanan secara tidak langsung yaitu menggunakan cara *Kjeldahl*. Hal ini dikarenakan yang dianalisis dengan cara ini ialah kadar nitrogennya. Untuk memperoleh nilai protein dalam

bahan makanan yaitu dengan cara mengalikan hasil analisis tersebut dengan angka konversi 6,25. Angka tersebut diperoleh dari angka konversi serum albumin yang mengandung 16% nitrogen. Prinsip *Kjeldahl* yaitu pertama-tama mendekstruksi bahan dengan asam sulfat pekat menggunakan katalis selenium oksiklorida atau butiran Zn. kemudian tampung amonia dan titrasi dengan bantuan indikator (Winarno, 2004).

#### 2.6.4. Kadar Lemak

Lemak ialah sumber energi yang lebih efektif jika dibandingkan dengan protein dan karbohidrat. Hampir pada semua bahan pangan mengandung lemak dengan kandungan yang berbeda-beda. Bahan pangan seperti daging, telur, susu, ikan, alpukat, kacang tanah dan beberapa jenis sayuran mengandung lemak yang biasanya termakan bersama bahan tersebut. Lemak ini terkenal sebagai lemak tersembunyi (*invisible fat*) (Winarno, 2004). Pada ikan lemak merupakan sumber kalori dan juga mempengaruhi rasa dari ikan tersebut. Pada ikan lemak terdapat pada organ-organ seperti hati, isi perut, kulit, sel-sel telur dan daging. Lemak pada ikan mengandung rantai-rantai asam lemak yang terdiri dari 18 atom C. Asam lemak pada ikan lebih banyak mengandung ikatan rangkap sekitar 5-6 ikatan rangkap sehingga mudah mengalami oksidasi (Zailanie, 2015).

Penentuan kadar lemak dapat dilakukan dengan ekstraksi soxhlet. Ekstraksi soxhlet biasanya digunakan untuk mengekstrak senyawa yang memiliki kelarutan terbatas pada suatu pelarut serta pengotornya tidak dapat larut dalam pelarut tersebut. Sampel yang digunakan untuk metode ini berbentuk padatan. Nama lain dari ekstraksi soxhlet ini ialah ekstraksi padat-cair (Melwita, *et al.*, 2014). Ekstraksi soxhlet merupakan cara yang

efisien dan efektif untuk menentukan kadar lemak suatu bahan. Hal ini dikarenakan ekstraksi soxhlet menggunakan pelarut yang dapat diperoleh kembali serta hanya memerlukan waktu yang relatif singkat untuk ekstraksi. Hal-hal yang mempengaruhi proses ekstraksi antara lain pelarut, metode, suhu dan waktu. Hal-hal tersebut dapat mempengaruhi konsentrasi dan kualitas ekstrak minyak yang dihasilkan (Sahriawati, 2016).



### 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

Materi penelitian meliputi alat dan bahan penelitian. Alat dan bahan yang digunakan dalam pengujian pengaruh penambahan konsentrasi garam yang berbeda terhadap perubahan gizi daging ikan lele (*C. batrachus*) yang terinfeksi *E. tarda* akan dijelaskan pada sub bab berikut.

##### 3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini untuk peremajaan *E. tarda*, pengujian biokimia (pewarnaan gram, uji agar darah, uji TSIA dan uji gelatin), uji kepadatan bakteri, kultur bakteri, penginfeksian ikan lele, perlakuan garam, uji *Total Plate Count* (TPC), uji kadar garam serta uji proksimat antara lain *object glass* sebagai tempat untuk pengujian pewarnaan gram, pipet tetes untuk meneteskan larutan (kristal violet, iodine, safranin) pada pengujian pewarnaan gram, bunsen untuk pengkondisian aseptis, benang kasur sebagai penyangga kaca objek pada pengujian pewarnaan gram, baskom sebagai wadah pembuangan larutan pada pengujian pewarnaan gram, mikroskop untuk melihat hasil (warna dan bentuk bakteri) dari pengujian pewarnaan gram, tabung reaksi sebagai tempat media, rak tabung reaksi untuk meletakkan tabung reaksi, cawan petri sebagai tempat media, erlenmeyer 250 ml sebagai tempat untuk membuat larutan media, gelas ukur 100 ml untuk mengukur volume larutan yang dibutuhkan, spatula untuk mengaduk larutan media, jarum ose untuk inokulasi, *Laminary Air Flow* (LAF) ialah tempat yang digunakan untuk inokulasi bakteri, autoklaf untuk mensterilkan alat dan

bahan, inkubator untuk menginkubasi pengujian, dan timbangan analitik untuk menimbang media yang akan digunakan, akuarium untuk tempat penginfeksi ikan lele, aerator untuk menambah oksigen di dalam akuarium.

### 3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini untuk peremajaan *E. tarda*, pengujian biokimia (pewarnaan gram, uji agar darah, uji TSIA dan uji gelatin), uji kepadatan dan kultur bakteri, penginfeksi ikan lele, perlakuan garam, uji *Total Plate Count* (TPC) uji proksimat dan uji kadar garam.

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ikan lele (*C. batrachus*) dan *E. tarda* yang nantinya diinfeksi pada ikan lele. Kemudian bahan-bahan yang lain yaitu air bersih untuk ikan lele, aquades untuk membuat semua media, alkohol untuk pengkondisian aseptis dan uji pewarnaan gram, kristal violet, iodine dan safranin ialah larutan untuk uji pewarnaan gram, NaCl untuk membuat larutan Na-Fis, TSA (*Trypton Soya Agar*) sebagai media peremajaan bakteri, nutrient gelatin untuk membuat media uji gelatin, TSIA (*Trypton Soya Iron Agar*) untuk media uji produksi H<sub>2</sub>S, Agar Darah (*Blood Agar*) untuk media uji hemolisis atau uji agar darah, TSB (*Trypton Soya Broth*) untuk media uji kepadatan dan kultur bakteri, NA (*Nutrien Agar*) untuk uji TPC, *Mac Conkey Agar* sebagai media selektif *E. tarda*.

### 3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian atau metode ilmiah ialah metode yang menggunakan cara sistematis untuk menyusun ilmu pengetahuan. Metode penelitian juga dapat diartikan sebagai langkah-langkah dalam

mendapatkan pengetahuan ilmiah. Cara untuk menjalankan metode penelitian disebut teknik penelitian (Suryana, 2010). Pengertian dari eksperimen yaitu suatu penelitian ilmiah yang dilakukan dengan memanipulasi dan mengontrol satu atau lebih variabel bebas dengan suatu cara tertentu dan melakukan pengamatan pada variabel-variabel terikat untuk menemukan variasi yang muncul bersamaan dengan manipulasi terhadap variabel bebas tersebut (Kerlinger, 1986).

Metode eksperimen ialah metode yang biasanya digunakan untuk menguji keefektifan variabel-variabel eksperimen. Pengujiannya menggunakan variabel kontrol. Metode eksperimen memiliki tujuan untuk meneliti hubungan sebab akibat dengan memanipulasikan satu atau lebih variabel pada satu atau lebih kelompok eksperimen dan membandingkan hasilnya dengan kelompok kontrol yang tidak mengalami manipulasi (Rakhmat, 1985). Sedangkan penelitian eksperimen adalah penelitian yang biasanya dilakukan untuk bidang yang bersifat eksak bukan bidang sosial. Penelitian tersebut bertujuan untuk menguji hipotesis yang dirumuskan secara ketat (Suryana, 2010).

Pada penelitian ini menggunakan metode eksperimen untuk mengetahui seberapa besar pengaruh penambahan konsentrasi garam berbeda terhadap perubahan gizi daging ikan lele yang terinfeksi *E. tarda*. Tujuan dari metode eksperimen yaitu untuk mengetahui pengaruh konsentrasi berbeda dari garam terhadap perubahan kandungan kadar garam pada daging, mengetahui jumlah bakteri, dan perubahan kandungan gizi ikan lele. Hipotesis ini dibuktikan dengan melakukan uji *Total Plate Count*, uji kadar garam serta uji proksimat meliputi kadar air, kadar abu, kadar protein dan kadar lemak.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi garam 0%, 5%, 10% dan 15%. Sedangkan variabel terikat pada penelitian ini adalah pengujian *Total Plate Count*, analisa kadar garam serta analisa proksimat. Rancangan penelitian yang digunakan adalah RAL sederhana dengan pola 8 x 3 dengan 3 kali ulangan. Analisis data yang digunakan adalah analisis sidik ragam (ANOVA) pada taraf 5%. Jika didapatkan hasil yang berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf 5%. Analisis data menggunakan aplikasi SPSS versi 16. Struktur rancangan percobaan yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Struktur rancangan percobaan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
Tanpa infeksi, Garam 0% (K 0%)	1K0%	2K0%	3K0%	K0%	K0%/n
Tanpa infeksi, Garam 5% (K 5%)	1K5%	2K5%	3K5%	K5%	K5%/n
Tanpa infeksi, Garam 10% (K 10%)	1K10%	2K10%	3K10%	K10%	K10%/n
Tanpa infeksi, Garam 15% (K 15%)	1K15%	2K15%	3K15%	K15%	K15%/n
Infeksi, Garam 0% (ET 0%)	1ET0%	2ET0%	3ET0%	ET0%	ET0%/n
Infeksi, Garam 5% (ET 5%)	1ET5%	2ET5%	3ET5%	ET5%	ET5%/n
Infeksi, Garam 10% (ET 10%)	1ET10%	2ET10%	3ET10%	ET10%	ET10%/n
Infeksi, Garam 15% (ET 15%)	1ET15%	2ET15%	3ET15%	ET15%	ET15%/n
<b>Total</b>	Y.1	Y.2	Y.3	Y..	Y../(t.n)

Sumber : Data Primer, 2019.

Rancangan Acak Lengkap (RAL) ialah rancangan yang paling sederhana daripada rancangan percobaan lainnya. Sumber keragaman yang dihayati hanya perlakuan dan galat, karena dirancangan ini tidak terdapat lokal kontrol (Adinugraha dan Taswati, 2017). Keuntungan menggunakan RAL antara lain denah perancangan lebih mudah serta pelaksanaan yang mudah, analisis statistik terhadap subjek percobaan

sangat sederhana, penggunaan jumlah perlakuan dan jumlah ulangan fleksibel, dapat dilakukan dengan ulangan yang tidak sama dan resiko data hilang atau kehilangan informasi relatif sedikit dibandingkan rancangan lain (Christina *et al.*, 2016). Bentuk umum model linier aditif dari Rancangan Acak Lengkap (RAL) menurut Adinugraha dan Taswati (2017), ialah sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu_i + \tau_i + \varepsilon_{ij} \text{ atau } Y_{ij} = \mu_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

$i = 1, 2, \dots, t$  dan  $j = 1, 2, \dots, r$

$Y_{ij}$  = Pengamatan pada perlakuan ke- $i$  dan ulangan ke- $j$

$\mu$  = Rataan umum

$\tau_i$  = Pengaruh perlakuan ke- $i$

$\varepsilon_{ij}$  = Pengaruh acak pada perlakuan ke- $i$  dan ulangan ke- $j$

### 3.3 Analisa Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian, dianalisis secara statistik menggunakan analisis keragaman ANOVA dengan aplikasi SPSS versi 16. Tujuan analisa data ialah untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Kemudian akan dilakukan uji lanjut Duncan jika didapatkan hasil analisis ANOVA berbeda nyata.

### 3.4 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang dilakukan terbagi menjadi 2 tahapan yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Alur proses penelitian pendahuluan yaitu dengan sterilisasi alat dan bahan, pembuatan media, peremajaan, uji biokimia, setelah dilakukan uji biokimia kemudian menentukan kepadatan dan konsentrasi bakteri yang akan diinfeksi pada ikan uji. Setelah proses penelitian pendahuluan selesai dilanjutkan ke alur proses penelitian utama yaitu uji *Total Plate Count*, uji kadar

garam serta uji proksimat meliputi kadar air, kadar abu, kadar lemak dan kadar protein.

### **3.5 Penelitian Pendahuluan**

Penelitian pendahuluan yang dilakukan yaitu identifikasi *E. tarda* dengan melakukan uji biokimia meliputi pewarnaan gram, uji agar darah atau uji hemolisin, uji gelatin atau uji motilitas dan uji TSIA atau uji produksi H<sub>2</sub>S. Selanjutnya dilakukan isolasi dan peremajaan *E. tarda*. Setelah itu dilakukan uji kepadatan dan kultur bakteri.

#### **3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan**

Pada penelitian ini dilakukan proses sterilisasi alat dan bahan dengan metode sterilisasi basah dan sterilisasi kering. Pada proses sterilisasi basah semua alat-alat yang akan disterilisasi (tabung reaksi, gelas ukur, erlenmeyer dan cawan petri) dibungkus menggunakan kertas, tetapi alat yang ada bagian mulutnya ditutup terlebih dahulu dengan kapas. Kemudian untuk bahan juga dilakukan sterilisasi basah dimasukkan kedalam tabung reaksi dan erlenmeyer lalu ditutup dengan kapas diletakkan didalam beaker glass (khusus tabung reaksi) dan tutup dengan kertas lalu ikat menggunakan karet. Proses ini memiliki tujuan agar uap air tidak masuk atau mengkontaminasi alat dan bahan yang akan disterilisasi. Setelah siap alat dan bahan dimasukkan kedalam autoklaf dan dilakukan proses sterilisasi basah selama 15 menit dengan suhu 121°C (tetap stabil) dengan tekan 1 atm. Setelah selesai sterilisasi basah dilanjutkan ke proses sterilisasi kering khusus untuk alat yaitu dimasukkan kedalam oven dengan suhu 100 °C selama 15 menit.

Proses membunuh semua mikroorganisme dengan pemanasan ialah pengertian dari sterilisasi. Sterilisasi juga dapat disebut sebagai

proses yang dapat menghancurkan semua bentuk kehidupan. Sterilisasi memiliki tujuan untuk membebaskan bahan dari semua mikroba perusak. Dari sudut mikrobiologi, benda dikatakan steril apabila benda tersebut bebas dari mikroorganisme hidup atau mikroba. Suatu benda tidak akan pernah mungkin dapat dikatakan setengah steril atau hampir steril, tetapi hanya dapat dikatakan suatu benda atau substansi steril atau tidak steril (Rizal *et al.*, 2016).

Pada umumnya proses sterilisasi dilakukan berdasarkan pemanasan basah atau disebut dengan autoklafisasi dan pemanasan kering menggunakan oven (Meliawaty, 2012). Autoklaf ialah alat pemanas tertutup yang berfungsi untuk menterilkan suatu substansi atau benda menggunakan uap dengan suhu bertekanan tinggi 121°C, 15 lbs dengan waktu kurang lebih 15 menit. Suhu yang tinggi tersebut yang akan membunuh mikroorganisme. Tujuan yang utama yaitu untuk membunuh endospora. Endospora ialah sel resisten yang diproduksi oleh bakteri (Rizal *et al.*, 2016). Proses autoklafisasi dilakukan selama 15 menit setelah temperatur atau suhu autoklaf mencapai 121°C dan tetap stabil. Oven ialah alat yang digunakan untuk sterilisasi kering. Pemanasan dalam oven biasanya dilakukan dengan temperatur atau suhu sebesar 125°C dan dilakukan selama 15 menit (Meliawaty, 2012).

### 3.5.2 Pembuatan Larutan Na-Fis

Pada penelitian ini dilakukan pembuatan larutan Na-Fis. Pertama-tama siapkan alat dan bahan yang diperlukan. Setelah itu timbang serbuk NaCl sebanyak 0,972 g untuk uji kepadatan. Kemudian larutkan dalam 108 mL aquades di dalam erlenmeyer dan dihomogenkan. Selanjutnya diukur menggunakan gelas ukur sebanyak 9 mL dan dimasukkan ke

dalam 12 tabung reaksi. Pada uji TPC dibutuhkan serbuk NaCl sebanyak 5,43 g dan dilarutkan dalam 594 mL aquades. Selanjutnya diukur menggunakan gelas ukur sebanyak 9 mL dan dimasukkan ke dalam 66 tabung reaksi. Setelah itu di tutup dengan kapas dan plastik wrap. Kemudian di sterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm. Didapatkan Na-fis steril siap untuk digunakan. Pembuatan larutan Na-Fis untuk kepadatan bakteri dapat dilihat pada Lampiran 1. Pembuatan larutan Na-Fis untuk TPC dapat dilihat pada lampiran 2.

Pembuatan larutan NaCl 0,9% pertama-tama yaitu siapkan kristal NaCl, aquades dan alat-alat yang dibutuhkan. Kemudian timbang kristal NaCl sebanyak 0,9 g menggunakan timbangan. Lalu masukkan kristal NaCl yang sudah ditimbang kedalam erlenmeyer. Tambahkan aquades sebanyak 100 mL sehingga didapatkan konsentrasi 0,9%. Selanjutnya larutkan kristal NaCl dengan cara diaduk. Larutan disterilisasi dan siap untuk digunakan (Diarti *et al.*,2016).

### **3.5.3 Pembuatan Media Natrium Agar (NA)**

Pada penelitian ini dilakukan pembuatan media Natrium Agar (NA). Pertama-tama siapkan alat dan bahan yang diperlukan. Setelah itu timbang serbuk NA sebanyak 42,8 g. Kemudian larutkan dalam 2.140 mL aquades di dalam erlenmeyer dan dihomogenkan. Setelah itu direbus selama 15 menit untuk mengaktifkan fungsi gel nya. Selanjutnya di sterilisasi di dalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm. Didapatkan media NA steril yang siap dituangkan ke dalam 107 cawan petri sebanyak  $\pm$  20 mL untuk pengujian *Total Plate Count* (TPC). Pada uji kepadatan bakteri dibutuhkan serbuk NA sebanyak

4 g dan aquades sebanyak 200 mL. dibuat dengan prosedur yang sama. Setelah steril tuang kedalam 10 cawan petri sebanyak  $\pm$  20 mL. Pembuatan larutan media NA untuk kepadatan bakteri dapat dilihat pada lampiran 3. Pembuatan media NA untuk TPC dapat dilihat pada lampiran 4.

Media Natrium Agar (NA) ialah media yang digunakan untuk media pertumbuhan bakteri. Adapun langkah-langkah pembuatan media NA ialah sebagai berikut. Pertama-tama siapkan alat dan bahan yang akan digunakan. Timbang media NA sebanyak 0,02 g tergantung dari kebutuhan masukkan kedalam *beaker glass* dan tambahkan aquades sesuai dengan perhitungannya. Kemudian panaskan media NA yang ada didalam *beaker glass* hingga larut. Setelah itu media dimasukkan kedalam erlenmeyer, ditutup kapas dan aluminium foil. Lalu masukkan kedalam autoklaf untuk mensterilkan media pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm. Setelah steril media tersebut dituang ke cawan petri sebanyak 15 mL masing-masing cawan dan didiamkan hingga padat (Arief *et al.*, 2010).

#### **3.5.4 Pembuatan Media *Tryptone Soya Agar* (TSA)**

Pada penelitian ini dilakukan pembuatan media *Tryptone Soya Agar* (TSA). Pertama-tama siapkan alat dan bahan yang diperlukan. Setelah itu timbang serbuk TSA sebanyak 4 g. Kemudian larutkan dalam 10 mL aquades di dalam erlenmeyer dan dihomogenkan. Selanjutnya direbus selama 15 menit untuk mengaktifkan fungsi gel nya. Kemudian disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm. Didapatkan TSA steril dan dituangkan kedalam 2 tabung reaksi sebanyak 10 mL dan dimiringkan untuk membentuk agar miring.

Didapatkan 2 media agar miring TSA steril untuk peremajaan *E. tarda*. Pembuatan media TSA dapat dilihat pada Lampiran 5.

Langkah-langkah pembuatan media TSA pertama-tama yaitu siapkan alat dan bahan. Kemudian timbang TSA sebanyak 4 g. Larutkan dalam aquades sebanyak 100 mL. Panaskan diatas *hot plate* dan diaduk menggunakan *magnetic stirer* hingga larut. Setelah larut sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah selesai proses sterilisasi media TSA siap digunakan (Nurjanna dan Ahmaddirrahman, 2010).

### 3.5.5 Pembuatan Media *Tryptone Soya Broth* (TSB)

Pada penelitian ini dilakukan pembuatan media *Tryptone Soya Broth* (TSB). Pertama-tama siapkan alat dan bahan yang diperlukan. Setelah itu timbang serbuk TSB sebanyak 8,4 g. Kemudian larutkan dalam 280 mL aquades di dalam erlenmeyer dan dihomogenkan. Selanjutnya direbus selama 15 menit untuk mengaktifkan fungsi gel nya. Setelah itu disterilisasi didalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm. Didapatkan media TSB steril dituangkan kedalam tabung reaksi sebanyak 5 mL untuk *Optical Density* (OD). Pembuatan media TSB dapat dilihat pada Lampiran 6.

Prosedur atau langkah-langkah pembuatan media TSB ialah sebagai berikut. Pertama-tama siapkan alat dan bahan yang dibutuhkan. Timbang media TSB sebanyak 1,6 g atau sesuaikan dengan kebutuhan. Larutkan dalam 50 mL aquades atau sesuaikan dengan kebutuhan. Kemudian media dihomogenkan menggunakan alat pengaduk media yaitu *magnetic stirer*. Jika media sudah homogen tahap selanjutnya ialah

mensterilisasi media menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Media yang sudah steril siap untuk digunakan (Sarida *et al.*, 2010).

### 3.5.6 Pembuatan Media Gelatin

Pada penelitian ini dilakukan pembuatan media gelatin. Pertama-tama siapkan alat dan bahan yang dibutuhkan. Kemudian timbang media gelatin sebanyak 1,28 g. Siapkan aquades sebanyak 10 mL. Larutkan media gelatin yang telah ditimbang ke dalam 10 mL aquades. Tuangkan ke dalam 1 tabung reaksi sebanyak 10 mL. Sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 selama 15 menit. Setelah di sterilisasi media gelatin siap untuk digunakan untuk pengujian biokimia. Pembuatan media gelatin dapat dilihat pada Lampiran 7.

Langkah-langkah yang dilakukan untuk membuat media gelatin ialah sebagai berikut. Pertama-tama siapkan bahan dan alat yang dibutuhkan. Kemudian timbang media *nutrient* gelatin sebanyak yang dibutuhkan. Masukkan media tersebut didalam erlenmeyer dan tambahkan akuades sesuai kebutuhan. Setelah itu panaskan media di *hot plate* dan aduk menggunakan spatula sampai homogen tunggu hingga mendidih. Kemudian masukkan ke tiap-tiap tabung reaksi sebanyak  $\pm$  10 mL. Tutup dengan kapas dan aluminium foil dan ikat dengan tali. Tahap selanjutnya yaitu sterilisasi media menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah selesai proses sterilisasi media dikeluarkan dari autoklaf dan siap untuk digunakan (Prihanto *et al.*, 2018).

### 3.5.7 Pembuatan Media *Mac Conkey Agar* (MCA)

Pada penelitian ini dilakukan pembuatan media *Mac Conkey Agar* (MCA). Pertama-tama siapkan alat dan bahan yang diperlukan. Setelah

itu timbang serbuk MCA sebanyak 107 g. Kemudian larutkan dalam 2.140 mL aquades di dalam erlenmeyer dan dihomogenkan. Kemudian direbus selama 15 menit untuk mengaktifkan fungsi gel. Setelah itu disterilisasi didalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm. MCA steril dituang kedalam 107 cawan petri sebanyak  $\pm$  20 mL. Didapatkan media MCA steril untuk pengujian *Total Plate Count* (TPC). Pembuatan media MCA dapat dilihat pada Lampiran 8.

Langkah-langkah yang dilakukan untuk membuat media *Mac Conkey Agar* (MCA) ialah sebagai berikut. Pertama-tama timbang media MCA sebanyak 49,53 g. Kemudian siapkan aquades sebanyak 1000 mL. Panaskan media MCA yang sudah ditimbang dalam 1000 mL aquades hingga media terlarut. Setelah media larut sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 lbs selama 15 menit. Setelah steril media siap dituangkan ke dalam cawan petri dan siap untuk digunakan (Himedia, 2011).

### 3.5.8 Peremajaan *Edwardsiella tarda*

Proses peremajaan *E. tarda* pada penelitian ini ialah sebagai berikut. Pertama-tama siapkan media agar miring TSA (*Trypton Soy Agar*) sebanyak 6 mL, isolat bakteri dan alat-alat lain yang dibutuhkan. Selanjutnya lakukan tahap peremajaan di *Laminary Air Flow*. Ambil 1 ose bakteri dari isolat *E. tarda* menggunakan jarum ose. Kemudian inokulasikan ke media TSA dengan metode *streak*. Inkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Skema kerja peremajaan *E. tarda* dapat dilihat pada Lampiran 9.

Peremajaan kultur bakteri dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut. Pertama-tama ambil 1 ose bakteri. Kemudian diinokulasi

pada media agar miring. Setelah itu inkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Cara yang dilakukan untuk memperbanyak bakteri uji dari kultur persediaan induk yaitu menggunakan cara yang sama dengan peremajaan bakteri. Inokulasi ke media agar miring lalu inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Wahyuni *et al.*, 2014). Tujuan dari peremajaan bakteri ialah untuk mengaktivasi isolat bakteri dan mengoptimalkan pertumbuhan bakteri (Prihanto *et al.*, 2018).

### 3.5.9 Uji Biokimia *Edwardsiella tarda*

Adapun uji biokimia yang dilakukan meliputi uji pewarnaan gram, uji gelatin, uji H<sub>2</sub>S pada media TSIA dan uji hemolisis pada media agar darah yang akan dijelaskan sebagai berikut.

- **Uji Pewarnaan Gram**

Pada pengujian biokimia uji pewarnaan gram pertama-tama siapkan alat dan bahan yang dibutuhkan. Setelah itu *object glass* dibersihkan dengan alkohol 70% agar steril. Kemudian ditetesi satu tetes aquades steril. Selanjutnya ambil kultur bakteri dan dioleskan pada *object glass* tersebut dan dilakukan fiksasi diatas bunsen. Lalu tetesi larutan kristal violet dan diamkan selama 2 menit. Setelah 2 menit catat perubahan warna yang terjadi dan bilas dengan aquades. Tahap kedua ditetesi dengan iodine dan diamkan selama 1,5 menit. Setelah itu catat hasilnya dan bilas dengan aquades. Kemudian semprot alkohol 70% untuk melarutkan lemak dan menghilangkan warna. Bilas kembali dengan aquades. Selanjutnya tetesi safranin dan diamkan selama 1 menit. Bilas kembali dengan aquades. Kemudian keringkan tutup dengan *cover glass* dan dilihat hasilnya menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x.

Kemudian foto dan catat hasilnya. Skema uji biokimia pewarnaan gram *E. tarda* dapat dilihat pada Lampiran 10.

Prosedur uji pewarnaan gram ialah sebagai berikut. Pertama-tama bersihkan *object glass* dengan alkohol dan panaskan diatas bunsen sampai kering. Ambil 1 ose bakteri lalu inokulasikan di atas *object glass* dan diratakan kemudian lakukan fiksasi diatas *bunsen burner*. Lakukan pewarnaan penggenangan larutan kristal violet (Gram A) diamkan selama 1 menit dan bilas menggunakan akuades. Lanjutkan dengan meneteskan larutan KI (Gram B) diamkan selama 1 menit dan bilas kembali dengan akuades. Selanjutnya berikan larutan peluntur alkohol (Gram C) diamkan selama 30 detik dan cuci menggunakan akuades. Genangkan pewarna penutup safranin (Gram D) diamkan selama 2 menit cuci dengan akuades dan kering-anginkan. Amati morfologi sel bakteri dan sifat gram menggunakan mikroskop perbesaran 1000 kali (SNI, 2011).

- **Uji Gelatin**

Pertama-tama hal yang perlu disiapkan untuk pengujian gelatin yaitu alat dan bahan. Hasil peremajaan *E. tarda* diambil sebanyak 1 ose menggunakan jarum ose. Kemudian diinokulasikan ke media gelatin. Setelah itu diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi selama 1 hari dimasukkan kedalam kulkas selama 15 menit. Selanjutnya di baca hasilnya dan dicatat. Skema uji biokimia gelatin *E. tarda* dapat dilihat pada Lampiran 11.

Langkah-langkah pengujian gelatin pertama-tama yaitu ambil bakteri dari biakan agar tegak berumur 24 jam menggunakan ose bulat. Kemudian inokulasikan pada medium *nutrient* gelatin. Setelah diinokulasikan di inkubasi pada suhu yang sesuai. Setelah diinkubasi letakkan medium di kulkas selama 15 menit. Amati perubahan yang

terjadi. Jika medium padat artinya bakteri tidak mampu menghidrolisis gelatin (SNI, 2011).

- **Uji H<sub>2</sub>S pada media TSIA**

Pada pengujian TSIA hal yang pertama-tama disiapkan yaitu alat dan bahan. Kemudian inokulasikan *E. tarda* dari hasil peremajaan ke media TSIA. Cara menginokulasikan yaitu dengan cara ditusuk (*butt*) dan digores (*slant*). Kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi didapatkan hasil dan dicatat hasilnya. Skema uji biokimia H<sub>2</sub>S pada media TSIA *E. tarda* dapat dilihat pada Lampiran 12.

Prosedur pengujian TSIA atau uji produksi H<sub>2</sub>S ialah sebagai berikut. Pertama-tama ambil 1 ose isolat bakteri. Kemudian inokulasikan bakteri pada medium TSIA dengan cara ditusuk dan *streak*. Setelah itu inkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi amati sifat bakteri berdasarkan perubahan warna medium pada daerah miring (aerob) dan daerah tusukan (anaerob) (SNI, 2011).

- **Uji Biokimia Hemolisis pada media Agar Darah**

Pada pengujian Agar Darah hal yang pertama-tama dilakukan yaitu menyiapkan alat dan bahan. Kemudian ambil 1 ose bakteri dari hasil peremajaan *E. tarda*. Selanjutnya diinokulasikan ke media agar darah. Cara inokulasi yaitu menggunakan metode *streak* membentuk 4 kuadran. Setelah itu diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Sesudah diinkubasi selama 1 hari didapatkan hasil dari pengujian agar darah dan dicatat hasilnya. Skema uji biokimia hemolisis pada media agar darah *E. tarda* dapat dilihat pada Lampiran 13.

Prosedur pengujian agar darah ialah sebagai berikut. Pertama-tama siapkan isolat bakteri dan media agar darah. Kemudian ambil 1 ose

bakteri dari isolat. Kemudian inokulasikan ke media agar darah dengan cara digores. Setelah di inokulasi inkubasi didalam inkubator selama 24 jam. Setelah 24 jam media agar darah bisa dikeluarkan dari inkubator dan dapat dilihat hasilnya (Mudatsir, 2012).

### 3.5.10 Uji Kepadatan Bakteri

Pada pengujian kepadatan bakteri hal yang pertama-tama dilakukan yaitu menyiapkan alat dan bahan. Tahap selanjutnya yaitu ambil 1 ose dari hasil peremajaan *E. tarda*. Kemudian inokulasikan ke media TSB cair dalam erlenmeyer sebanyak 250 mL dan disebut sebagai ( $OD_1$ ) atau *Optical Density* 1. Selanjutnya diinkubasi pada suhu  $35^{\circ}C$  selama 48 jam. Setelah diinkubasi selama 2 hari dilakukan pengenceran hingga  $OD_6$  dengan cara ambil sebanyak 5 mL dari ( $OD_1$ ) menggunakan mikropipet dan diinokulasikan ke media TSB dalam tabung reaksi pertama sebanyak 5 mL dan dicatat sebagai  $OD_2$ . Kemudian ambil 5 mL dari  $OD_2$  dan dilakukan pengenceran dengan cara yang sama hingga  $OD_6$ . Setelah dilakukan pengenceran hingga  $OD_6$  tahap selanjutnya yaitu menghitung tingkat *turbidimetric* dengan cara ambil 1 mL dari masing-masing pengenceran dari  $OD_1$  hingga  $OD_6$  dan dimasukkan kedalam cuvet. Kemudian di spektrofotometri dengan panjang gelombang 600 nm. Setelah itu dicatat hasilnya. Skema kerja kepadatan bakteri dapat dilihat pada Lampiran 14.

Teknik perhitungan *Optical Density* yaitu dengan mengambil masing-masing sampel sebanyak 1 mL. kemudian sampel tersebut dimasukkan kedalam kuvet. Aquades dijadikan sebagai blanko. Selanjutnya ukur nilai absorbansi suspensi tersebut menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 610 nm. Lakukan

pengulangan maksimal 3 kali untuk masing-masing sampel (Lizayana *et al.*, 2016). Dalam menentukan kekeruhan dilakukan pengujian dengan metode spektrofotometri yaitu mengukur panjang gelombang serta nilai absorbansi kekeruhan yang ada pada setiap perlakuan. Setelah uji spektrofotometri dilakukan uji TPC. Uji TPC dilakukan dengan menanam sampel pada media dalam cawan petri. Kemudian inkubasi selama 24 jam. Setelah itu hitung koloni menggunakan *colony counter* (Soelama *et al.*, 2015).

Metode selanjutnya untuk uji kepadatan bakteri setelah metode turbidimetric ialah metode *Total plate count*. Pertama-tama siapkan alat dan bahan. Setelah itu ambil 1 ose bakteri dari OD<sub>1</sub> menggunakan jarum ose. Kemudian dimasukkan ke tabung reaksi 1 berisi media Na-fisiologis sebanyak 9 mL sebagai pengenceran pertama ( $10^{-1}$ ) dan dilakukan pengenceran bertingkat dari  $10^{-1}$  hingga  $10^{-12}$ . Ditentukan pengenceran hingga  $10^{-12}$  didapatkan dari percobaan TPC yang telah dilakukan sebelumnya, hasil yang dapat dihitung total koloninya yaitu sampai di pengenceran  $10^{-12}$ . Setelah pengenceran hingga  $10^{-12}$  dilakukan penanaman dari  $10^{-8}$ - $10^{-12}$  secara duplo dengan metode *pour plate* dengan cara sebagai berikut. Ambil masing-masing sebanyak 1 mL menggunakan mikropipet dari pengenceran  $10^{-8}$  hingga pengenceran  $10^{-12}$  dan dimasukkan kedalam cawan petri. Setelah itu masing-masing cawan yang diisi dituang media NA sebanyak kurang lebih 20 mL. Kemudian diinkubasi pada suhu 35°C dan selama 24 jam. Setelah diinkubasi selama 1 hari dihitung koloni masing-masing cawan dan dicatat hasilnya. Syarat koloni untuk dihitung yaitu koloni yang masuk dalam kisaran atau *range* 25-250 sesuai dengan metode SNI 2332.3: 2015. Jika jumlah koloni dalam 1 cawan lebih sedikit dari 25 koloni atau lebih besar

dari 250 koloni maka koloni tersebut tidak dapat dihitung. Perhitungan jumlah koloni bakteri dihitung dengan rumus sebagai berikut. Skema kerja *Total Plate Count* kepadatan bakteri dapat dilihat pada Lampiran 15.

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times d}$$

Keterangan :

N = Jumlah koloni bakteri yang dihitung (Kol/mL)

$n_1$  = Jumlah cawan pertama yang dihitung

$n_2$  = Jumlah cawan kedua yang dihitung

d = Jumlah pengenceran pertama yang dihitung.

TPC ialah metode yang digunakan untuk perhitungan total bakteri atau disebut juga sebagai metode pendugaan jumlah mikroorganisme secara keseluruhan dari suatu bahan. Analisis TPC dilakukan dengan menanam sampel dari pengenceran pada media agar di dalam cawan petri. Kemudian di inkubasi pada suhu 35°C. Kemudian dihitung dengan alat penghitung. Hasil perhitungan koloni berupa (cfu) per mL/g (Nufus *et al.*, 2016). Cara untuk menghitung total koloni yang tumbuh dengan metode cawan agar ialah sebagai berikut. Setelah diinkubasi selama 24 jam cawan dikeluarkan dari inkubator. Kemudian amati koloni bakteri yang tumbuh pada media cawan. Selanjutnya cari koloni bakteri yang dominan dengan mengamati secara morfologis dari bentuk dan warna yang seragam (Sari *et al.*, 2013). Setelah itu hitung jumlah koloni bakteri dominan dengan pengenceran yang mengandung jumlah koloni antara 25-250 koloni sesuai dengan metode SNI 2332.3: 2015.

### 3.5.11 Kultur *Edwardsiella tarda*

Kultur *E. tarda* ialah tahap untuk menentukan konsentrasi *E. tarda* yang akan diinfeksi pada ikan lele. Nilai  $N_1$  menggunakan standar kepadatan *E. tarda* yang mengacu pada penelitian Castro *et al.*, (2011),

yaitu  $10^8$ . Cara perhitungan yaitu dari hasil kepadatan bakteri akan diencerkan dengan rumus sebagai berikut.

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

Keterangan :

$V_1$  = Volume akuarium (mL)

$N_1$  = Jumlah kepadatan bakteri standar pada media NA (Kol/g)

$V_2$  = Volume yang diinfeksi (mL)

$N_2$  = Jumlah kepadatan bakteri pada media TSB ( $10^{11}$ )

Pada tahap kultur *E. tarda* pertama-tama yaitu siapkan alat dan bahan yang dibutuhkan. Kemudian ambil 1 ose dari isolat *E. tarda*. Lalu diinokulasikan ke media TSB cair sebanyak 250 mL. Setelah itu diinkubasi pada suhu  $35^\circ\text{C}$  selama 48 jam. Setelah diinkubasi kultur *E. tarda* siap untuk dimasukkan kedalam akuarium yang sudah berisi ikan lele atau tahap penginfeksian ikan lele. Skema kerja kultur *E. tarda* dapat dilihat pada Lampiran 16.

### 3.6 Penelitian Utama

Pada penelitian utama proses atau tahap awal yang dilakukan yaitu penginfeksian *E. tarda* pada ikan lele selama 7 hari. Kemudian dilanjutkan dengan perlakuan penambahan kadar garam dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Setelah diberi perlakuan dilanjutkan untuk uji *Total Plate Count*, pengujian kadar garam serta pengujian proksimat meliputi kadar air, kadar abu, kadar lemak, dan kadar protein.

#### 3.6.1 Infeksi *Edwardsiella tarda* pada Ikan Lele (*Clarias batrachus*)

Pada tahap penginfeksian *E. tarda* pada ikan lele pertama-tama yaitu menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan. Ikan lele di aklimatisasi terlebih dahulu selama 1 minggu di kolam yang ada di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Reproduksi Ikan. Setelah 1 minggu di aklimatisasi ikan lele tersebut dipindah di dalam akuarium yang sudah

dicuci dengan air bersih dan di aerasi di laboratorium Hidrobiologi Divisi Sumber Daya Ikan dan diaklimatisasi lagi selama 5 hari. Setelah 5 hari siapkan kultur *E. tarda* yaitu 50 ml TSB. Setelah itu masukkan kultur bakteri tersebut pada masing-masing akuarium yang sudah berisi ikan lele sebanyak 5 ekor. Ikan lele yang sudah diinfeksi *E. tarda* tersebut di diamkan selama 1 minggu. Setelah diinfeksi selama 1 minggu ikan lele dapat dipanen dan dilanjutkan ke proses pengujian berikutnya. Skema kerja penginfeksian ikan lele dapat dilihat pada Lampiran 17.

Persiapan wadah pemeliharaan pertama-tama dilakukan dengan mencuci akuarium dengan air bersih. Setelah itu akuarium dikeringkan selama 1 hari. Kemudian akuarium diisi dengan air dan dipasang aerasi. Setelah siap akuarium dapat diisi dengan ikan uji. Masa pemeliharaan pertama-tama melakukan adaptasi ikan terhadap lingkungannya selama 3 hari (Asniatih *et al.*, 2013).

### **3.6.2 Perlakuan Garam**

Pada tahap perlakuan garam pertama-tama menyiapkan alat dan bahan. Penambahan garam yang diberikan pada sampel menggunakan konsentrasi yang berbeda-beda yaitu perlakuan garam dengan konsentrasi 0%, 5%, 10% dan 15%. Pertama-tama siapkan sampel daging ikan lele infeksi dan tidak diinfeksi yang sudah difillet dan dihaluskan. Kemudian dilakukan penggaraman dengan konsentrasi garam 0%, 5%, 10% dan 15%. Setelah semua sampel digarami kemudian siap untuk dilakukan pengujian analisa proksimat, analisa kadar garam, dan *Total Plate Count* atau kepadatan bakteri. Skema kerja perlakuan garam dapat dilihat pada Lampiran 18.

Penelitian tentang kadar garam dan kandungan mikroba dianggap penting karena banyak sekali penggunaan zat pengawet berbahaya pada bahan makanan sehingga banyak konsumen yang tidak yakin untuk mengonsumsi makanan tersebut. Kadar garam yang tinggi melebihi 20% dapat membahayakan kesehatan karena dapat menyebabkan hipertensi pada beberapa orang. Penambahan garam pada bahan makanan selain sebagai bahan pengawet alami, menambah cita rasa masakan garam juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri dalam daging ikan dengan cara menguraikan atau menghilangkan oksigen, sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat (Salosa, 2013).

### 3.6.3 Total Plate Count

Pada pengujian *Total Plate Count* pertama-tama yaitu siapkan sampel daging ikan lele belum terinfeksi *E. tarda* dan daging ikan lele yang sudah terinfeksi *E. tarda*. Kemudian masing-masing sampel ditimbang sebanyak 1 gram dan diberi perlakuan garam 0%, 5%, 10% dan 15%. Siapkan peralatan seperti tabung reaksi, cawan petri, mikropipet dan lain-lain. Siapkan juga bahan-bahan yang dibutuhkan seperti media NA sebagai media non-selektif dan media MCA sebagai media selektif, larutan Na-fis, alkohol, dan lain-lain. Pengujian TPC ini dilakukan di dalam ruang steril menggunakan *Laminary Air Flow* agar steril dan menghindari kontaminasi dari luar. Adapun prosedur pengujian TPC ialah sebagai berikut. Masukkan sampel yang telah disiapkan kedalam tabung reaksi yang berisi 9 mL larutan Na-fis sebagai pengenceran  $10^{-1}$ . Kemudian homogenkan dan ambil 1 mL menggunakan mikropipet kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi yang juga berisi 9 mL Na-fis (pengenceran  $10^{-2}$ ). Lakukan terus proses pengenceran

bertingkat tersebut hingga pengenceran yang dibutuhkan. Kemudian tanam 3-5 pengenceran terakhir menggunakan metode *pour plate* secara duplo dengan media selektif dan media non selektif. Setelah dilakukan penanaman ditunggu hingga media menjadi gel. Setelah menjadi gel diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Sesudah diinkubasi selama 1 hari dilakukan perhitungan koloni. Setelah itu hitung jumlah koloni bakteri dominan dengan pengenceran yang mengandung jumlah koloni antara 25-250 koloni sesuai dengan metode SNI 2332.3: 2015. Skema Kerja Uji TPC dapat dilihat pada Lampiran 19. Perhitungan jumlah koloni bakteri dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times d}$$

Keterangan :

N = Jumlah koloni bakteri yang dihitung (Kol/mL)

$n_1$  = Jumlah cawan pertama yang dihitung

$n_2$  = Jumlah cawan kedua yang dihitung

d = jumlah pengenceran pertama yang dihitung

Pengujian total bakteri dilakukan dengan seri pengenceran. Metode pengenceran dilakukan dengan cara masukkan 1 g sampel yang telah dihaluskan ke dalam 9 mL larutan pengencer steril secara aseptis dan didapatkan pengenceran  $10^{-1}$ . Selanjutnya untuk mendapatkan pengenceran  $10^{-2}$  dengan cara ambil 1 mL *suspense* sampel dari tabung reaksi pengenceran  $10^{-1}$ . Kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL larutan pengencer atau larutan fisiologis. Selanjutnya kocok dengan homogen. Lakukan hingga mendapatkan pengenceran yang dibutuhkan. Selanjutnya masukkan hasil pengenceran kedalam cawan petri dan diikuti 15 mL medium Natrium Agar (NA) yang telah disterilkan dan goyangkan cawan petri agar sampel menyebar merata. Kemudian inkubasi pada suhu 30°C selama 24-72 jam. TPC dilakukan

secara duplo. Koloni yang tumbuh diamati dan dihitung jumlahnya (Salosa, 2013).

#### **3.6.4 Uji Proksimat**

Uji proksimat dilakukan di Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya. Uji proksimat yang dilakukan meliputi uji kadar air, kadar abu, kadar lemak dan kadar protein.

- **Uji Kadar Air (SNI, 2015)**

Pada penelitian ini uji kadar air menggunakan pedoman Standar Nasional Indonesia tahun 2015. Pengujian kadar air menggunakan metode gravimetri. Metode gravimetri yaitu metode pengujian yang didasarkan pada penimbangan atau berat. Prinsip pengujian kadar air yaitu menghilangkan molekul air melalui pemanasan dengan oven atau alat penentuan kadar air lain yang menggunakan panas pada suhu 80°C-110°C sampai didapatkan berat kering konstan dan dihitung secara gravimetri berdasarkan selisih berat contoh sebelum dan sesudah dikeringkan. Adapun prosedur atau langkah pertama yang dilakukan yaitu mengatur oven pada suhu 105°C dan masukkan cawan kosong minimal selama 2 jam. Kemudian pindah ke dalam desikator selama 30 menit atau sampai mencapai suhu ruang dan timbang bobot cawan kosong (A). Siapkan sampel yang sudah di preparasi timbang sebanyak  $\pm 2$  g lalu masukkan ke dalam cawan dan timbang cawan beserta sampel (B). Setelah ditimbang masukkan kedalam oven tidak vakum pada suhu 105°C selama 16 jam - 24 jam. Kemudian masukkan kembali didalam desikator  $\pm 30$  menit dan timbang cawan beserta sampel yang sudah dikeringkan (C). Kemudian dihitung persentase kadar air dengan

perhitungan sebagai berikut. Skema uji kadar air dapat dilihat pada Lampiran 20.

$$\text{Kadar air} = \frac{B - C}{B - A} \times 100\%$$

Keterangan :

A : Berat cawan kosong (g)

B : Berat cawan + contoh awal (g)

C : Berat cawan + contoh kering (g)

- **Uji Kadar Abu (SNI, 2010)**

Pada penelitian ini pengujian kadar abu menggunakan pedoman standar Nasional Indonesia tahun 2015. Uji kadar abu menggunakan metode gravimetri yaitu metode analisa yang didasarkan pada penimbangan (berat). Prinsip pengujian kadar abu yaitu mengoksidasi sampel pada suhu 550°C dalam tungku pengabuan selama 8 jam atau hingga abu berwarna putih dan penentuan berat abu dihitung secara gravimetri. Adapun prosedur atau langkah pertama yang dilakukan yaitu masukkan cawan porselen kedalam tungku pengabuan yang dinaikkan suhunya secara bertahap hingga mencapai 550°C dan dipertahankan selama 16 jam - 24 jam. Kemudian turunkan suhu tungku pengabuan hingga mencapai 40°C lalu keluarkan cawan dan pindah ke dalam desikator selama 30 menit. Setelah itu timbang cawan abu porselen kosong (A). Masukkan sampel sebanyak 2 g kedalam cawan yang sudah ditimbang tersebut dan masukkan kedalam oven diatur pada suhu 100°C selama 16 jam - 24 jam. Setelah itu pindahkan cawan abu porselen ke tungku pengabuan naikkan suhu hingga mencapai (550 ± 5) °C secara bertahap dan pertahankan selama 16 jam – 24 jam hingga diperoleh abu berwarna putih. Langkah selanjutnya turunkan suhu tungku pengabuan hingga mencapai 40°C dan pindahkan cawan ke desikator selama 30 menit lalu timbang cawan dan sampel yang sudah diabukan (B). lakukan

perhitungan kadar abu dengan rumus sebagai berikut. Skema uji kadar abu dapat dilihat pada Lampiran 21.

$$\text{Kadar abu} = \frac{B - A}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

Keterangan :

A : Berat cawan porselen kosong (g)

B : Berat cawan dengan abu (g)

- **Uji Kadar Protein (SNI, 2006)**

Pada penelitian ini pengujian kadar protein menggunakan metode *Kjeldhal*. Langkah pertama yang dilakukan ialah timbang homogenat contoh dikertas timbang lipat dan masukkan labu dekstruksi. Tambahkan 2 buah tablet katalis serta beberapa butir batu didih. Tambahkan 15 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat (95%-97%) dan 3 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> secara perlahan-lahan dalam ruang asam. Kemudian dekstruksi pada suhu 410°C selama ± 2 jam atau hingga larutan jernih lalu diamkan hingga mencapai suhu kamar dan tambahkan 50-75 mL aquades. Siapkan penampung destilat yaitu erlenmeyer berisi 25 mL larutan H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 4% yang mengandung indikator. Setelah itu pasang labu yang berisi hasil dekstruksi pada rangkaian destilasi uap. Selanjutnya tambahkan larutan natrium hidroksida-thiosulfat sebanyak 50-75 mL. Kemudian di destilasi dan tampung dalam erlenmeyer (penampung destilat) hingga mencapai volume minimal 150 mL. Hasil destilat akan berubah menjadi kuning. Kemudian hasil destilat dititrasi dengan HCl 0,2 N hingga warna hijau berubah menjadi abu-abu netral. Setelah itu lakukan pengerjaan blanko seperti tahapan contoh dan hitung persentase kadar protein dengan rumus sebagai berikut. Skema uji kadar protein dapat dilihat pada Lampiran 22.

$$\text{Kadar protein} = \frac{(V_A - V_B \times N \text{ HCl} \times 14,007 \times 6,25 \times 100\%)}{W \times 1000}$$

Keterangan :

$V_A$  : mL HCl untuk titrasi contoh

$V_B$  : mL HCl untuk titrasi blangko

$N$  : Normalitas HCl standar yang digunakan

14,007 : Berat atom nitrogen

6,25 : Faktor konversi protein untuk ikan

$W$  : Berat contoh

- **Uji Kadar Lemak (SNI, 2006)**

Pada pengujian kadar lemak langkah pertama yang harus dilakukan yaitu menimbang labu alas bulat kosong (A) dan timbang juga homogenat contoh sebanyak 2 g lalu masukkan dalam selongsong lemak (B). Kemudian masukkan *chloroform* ke dalam labu alas bulat sebanyak 150 mL, selongsong lemak dalam ekstraktor *soxhlet* dan pasang rangkaian *soxhlet*. Setelah itu ekstraksi pada suhu 60°C selama 8 jam. Selanjutnya lakukan evaporasi campuran lemak dan *chloroform* dalam labu alas bulat hingga kering dan masukkan labu alas bulat yang berisi lemak ke dalam oven dan diatur pada suhu 105°C selama  $\pm 2$  jam untuk menghilangkan sisa *chloroform* dan uap air. Kemudian dinginkan labu alas bulat masukkan ke dalam desikator selama 30 menit lalu timbang labu alas bulat yang berisi lemak (C). Setelah itu hitung persentase lemak total dengan perhitungan sebagai berikut. Skema uji kadar lemak dapat dilihat pada Lampiran 23.

$$\% \text{ Lemak total} = \frac{(C - A) \times 100\%}{B}$$

Keterangan :

A : Berat labu alas bulat kosong (g)

B : Berat contoh (g)

C : Berat labu alas bulat dan lemak hasil ekstraksi (g)

### 3.6.5 Uji Kadar Garam

Pada penelitian ini pengujian kadar garam menggunakan menggunakan titrasi argentometri metode *mohr*. Prosedur yang dilakukan yaitu pertama-tama timbang bahan sebanyak 5 g. Kemudian haluskan dengan mortal dan alu. Ekstraksi NaCl dengan akuades panas sebanyak 15 mL pada suhu 100°C selama 15 menit hingga larut. Ulang proses ekstraksi sebanyak 8 kali. Tampung hasil ekstraksi dalam wadah. Kemudian tambahkan sebanyak 3 mL kalium kromat 5%. Proses selanjutnya yaitu titrasi dengan AgNO<sub>3</sub> 0,1 N sampai berubah warna menjadi merah bata (Salosa, *et al.*, 2013). Kemudian hitung persentase kadar garam dengan perhitungan sebagai berikut. Skema uji kadar garam dapat dilihat pada Lampiran 24.

$$\% \text{ Kadar NaCl} = \frac{(\text{mL AgNO}_3 \times \text{N AgNO}_3) \times 58,46}{\text{Berat bahan (g)} \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan :

mL AgNO<sub>3</sub> : Volume AgNO<sub>3</sub> untuk titrasi sampel

N AgNO<sub>3</sub> : Normalitas AgNO<sub>3</sub>

58,46 : BM NaCl

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Penelitian Pendahuluan

Pada penelitian pendahuluan dilakukan uji biokimia dan uji kepadatan *E. tarda*. Uji biokimia bertujuan untuk memastikan bakteri target yaitu *E. tarda*. Kemudian dilakukan uji kepadatan *E. tarda* bertujuan untuk mengetahui kepadatan bakteri tersebut dan kebutuhan bakteri untuk diinfeksi ke ikan lele (*C. batrachus*).

#### 4.1.1 Uji Biokimia *Edwardsiella tarda*

Uji biokimia dilakukan sebelum uji kepadatan dan penginfeksi bakteri. Tujuan dari uji biokimia agar bakteri yang diinfeksi sesuai dengan bakteri target yaitu *E. tarda*. Uji biokimia yang dilakukan sesuai dengan SNI (2011), meliputi uji pewarnaan gram, uji gelatin, uji H<sub>2</sub>S pada media TSIA, dan uji agar darah didapatkan hasil pada Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Hasil uji biokimia *E. tarda*

No.	Karakteristik	<i>E. tarda</i>		
		Data Primer	Kartikaningsih <i>et al.</i> , (2018)	SNI, (2011)
1	Pewarnaan Gram	Gram negatif	Gram negatif	Gram negatif
2	Bentuk	Batang	Batang	Batang pendek
3	Gelatin	-	-	-
4	H <sub>2</sub> S pada TSIA	+	+	+
5	Hemolisis (Agar darah)	Beta	Beta	ND

Keterangan : + (Reaksi positif); - (Reaksi negatif); ND (No Data)

Sumber : Data Primer, (2019); Kartikaningsih *et al.*, (2018); SNI, (2011).

- **Pewarnaan Gram**

Hasil analisis uji biokimia *E. tarda* pewarnaan gram dilihat menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x didapatkan hasil gram negatif berbentuk batang. Hasil foto bakteri berwarna merah dan berbentuk batang. Menurut SNI (2011), karakteristik *E. tarda* pada uji

biokimia gelatin menunjukkan hasil gram negatif dengan bentuk batang pendek. *E. tarda* tergolong dalam enterobacter yang bersifat gram negatif. Dimana bakteri gram negatif ketika dilakukan uji pewarnaan gram ditandai dengan sel bakteri berwarna merah. Menurut Kartikaningsih *et al.*, (2018), *E. tarda* memiliki karakteristik yaitu termasuk dalam kelompok bakteri gram negatif dan berbentuk batang. Menurut Supriadi *et al.*, (2014), Hasil uji pewarnaan gram pada *E. tarda* dapat dilihat bahwa gambar yang timbul berwarna merah yang berarti termasuk bakteri gram negatif. Hasil morfologi *E. tarda* dari mikroskop dengan pembesaran 1000 kali berbentuk batang pendek. Hasil uji pewarnaan gram *E. tarda* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pewarnaan gram *E. tarda*  
(Data Primer, 2019)

- **Uji Gelatin**

Hasil analisis uji biokimia *E. tarda* gelatin didapatkan hasil sebagai berikut. Setelah media gelatin diinkubasi selama 24 jam dan kemudian diletakkan didalam kulkas atau lemari pendingin selama 15 menit didapatkan hasil negatif. Hasil negatif ditunjukkan dengan perubahan media gelatin menjadi gel atau memadat. Menurut SNI (2011), karakteristik *E. tarda* pada uji biokimia gelatin menunjukkan hasil reaksi negatif. Hasil uji gelatin *E. tarda* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Uji gelatin *E. tarda*  
(Data Primer, 2019)

Hasil uji gelatin positif ditandai dengan media cair akan tetap menjadi cair setelah diletakkan dalam lemari es selama beberapa menit. Pada hasil uji gelatin negatif kebalikan dari uji positif yaitu ditandai dengan media cair akan membeku setelah diletakkan di dalam lemari es (Samosir, *et al.*, 2017). Pada hasil uji gelatin negatif media gelatin membentuk gel setelah didinginkan di lemari es hal tersebut dikarenakan bakteri tidak mempunyai enzim gelatinase sehingga tidak mampu untuk menguraikan gelatin. Sedangkan pada hasil uji gelatin positif media gelatin tetap cair hal tersebut dikarenakan bakteri tersebut memiliki enzim gelatinase sehingga mampu menguraikan media gelatin (Huda *et al.*, 2012).

- **Uji H<sub>2</sub>S pada Media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)**

Hasil analisis biokimia *E. tarda* uji H<sub>2</sub>S pada media TSIA didapatkan hasil sebagai berikut. *E. tarda* positif H<sub>2</sub>S yang ditandai dengan adanya endapan hitam pada media dan didapatkan hasil bahwa bakteri ini dapat memfermentasi glukosa karena bagian slant berwarna merah dan bagian butt berwarna kuning (K/A). Menurut SNI (2011), karakteristik *E. tarda* dari uji biokimia produksi H<sub>2</sub>S pada media TSIA

didapatkan hasil reaksi positif  $H_2S$ . Hasil uji  $H_2S$  pada media TSIA *E. tarda* dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Uji  $H_2S$  pada media TSIA *E. tarda* (Data Primer, 2019)

Menurut Wahyuni *et al.*, (2018), pada hasil uji TSIA reaksi basa atau alkali (K) ditunjukkan dengan warna merah. Sedangkan reaksi asam (A) ditunjukkan dengan warna kuning. Pada uji TSIA terjadi fermentasi glukosa tetapi tidak laktosa dan sukrosa ditandai dengan warna merah (K) di bagian *slant* (miring) dan warna kuning (A) di bagian *butt* (dasar). Terjadi fermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa jika di bagian *slant* dan *butt* berwarna kuning (A). Terjadi fermentasi laktosa dan sukrosa ditandai dengan warna kuning (A) di bagian *slant* dan warna merah (K) dibagian *butt*. Tidak terjadi fermentasi ketiga gula (glukosa, laktosa dan sukrosa) jika di bagian *slant* dan *butt* berwarna merah (K). Terjadi pembentukan  $H_2S$  jika terjadi perubahan warna menjadi hitam. Sedangkan adanya gas ditandai dengan terbentuknya rongga-rongga dibagian *butt* agar.

- **Uji Hemolisis Pada Media Agar Darah**

Hasil analisis biokimia *E. tarda* uji hemolisis pada media agar darah didapatkan hasil sebagai berikut. Setelah di inkubasi selama 24 jam didapatkan hasil beta hemolisis ( $\beta$ -hemolisis) yang ditandai dengan zona bening. Menurut Watson dan White (1979), *E. tarda* menghasilkan

hemolisis tipe beta ( $\beta$ -hemolysis). Menurut Kartikaningsih *et al.*, (2018), hasil uji biokimia hemolisis *E. tarda* ialah beta hemolisis ( $\beta$ -hemolysis). Hasil uji hemolisis *E. tarda* pada media agar darah dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Uji hemolisis *E. tarda* pada media agar darah (Data Primer, 2019)

Tujuan dari uji hemolisis yaitu untuk menganalisis kemampuan isolat bakteri melisis sel-sel darah yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekeliling koloni. Ada tiga tipe hemolisis yaitu alfa hemolisis ( $\alpha$ -hemolisis), beta hemolisis ( $\beta$ -hemolysis) dan gamma hemolisis ( $\gamma$ -hemolisis) (Wahjuningrum *et al.*, 2018). Bakteri yang termasuk tipe alfa hemolisis ( $\alpha$ -hemolisis) ialah bakteri yang mampu melisis sebagian sel darah merah dan hemoglobin sehingga di sekitar koloni terbentuk warna abu-abu kehijauan. Bakteri tipe beta hemolisis ( $\beta$ -hemolysis) ialah bakteri yang mampu melisis lengkap sel darah merah dan hemoglobin yang ditandai dengan zona bening. Sedangkan bakteri tipe gamma hemolisis ( $\gamma$ -hemolisis) ialah bakteri yang tidak mampu melisis sel darah sehingga tidak ada perubahan warna dalam media (Brooks *et al.*, 2010).

#### 4.1.2 Uji Kepadatan *Edwardsiella tarda*

Kepadatan *E. tarda* dihitung dengan mengukur *Optical Density* (OD) dari pengenceran 1 ( $OD_1$ ) sampai 6 ( $OD_6$ ) menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 600 nm. Masing-masing ( $OD_1$ - $OD_6$ ) diencerkan hingga  $10^{-12}$ . Hasil pengukuran nilai *Optical Density* (OD) *E. tarda* didapatkan hasil pada Tabel 4. Dilakukan uji TPC (*Total Plate Count*) dengan penanaman dari pengenceran  $10^{-8}$ - $10^{-12}$ . Hasil TPC *E. tarda* dapat dilihat pada Tabel 5. Kemudian dihitung TPC (*Total Plate Count*) pada penanaman  $10^{-8}$ - $10^{-12}$  dengan rumus total N. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel 4. Persamaan regresi dapat dilihat pada Gambar 6.

Tabel 4. *Optical Density* (OD) *E. tarda*

Pengenceran	Absorbansi ( $\lambda = 600 \text{ nm}$ )
$10^{-1}$	0,602
$10^{-2}$	0,547
$10^{-3}$	0,312
$10^{-4}$	0,298
$10^{-5}$	0,178
$10^{-6}$	0,102

Sumber : Data Primer, 2019.

Tabel 5. *Total Plate Count* *E. tarda*

Pengenceran	Jumlah Koloni	
	A	B
$10^{-8}$	230	>250
$10^{-9}$	140	156
$10^{-10}$	37	40
$10^{-11}$	12	33
$10^{-12}$	3	1

Sumber : Data Primer, 2019.

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times d}$$

Keterangan :

- N : Jumlah koloni per mL/g
- $\sum C$  : Jumlah total koloni
- $n_1$  : Jumlah cawan pada pengenceran pertama
- $n_2$  : Jumlah cawan pada pengenceran kedua
- d : Tingkat pengenceran pertama yang dihitung

Perhitungan :

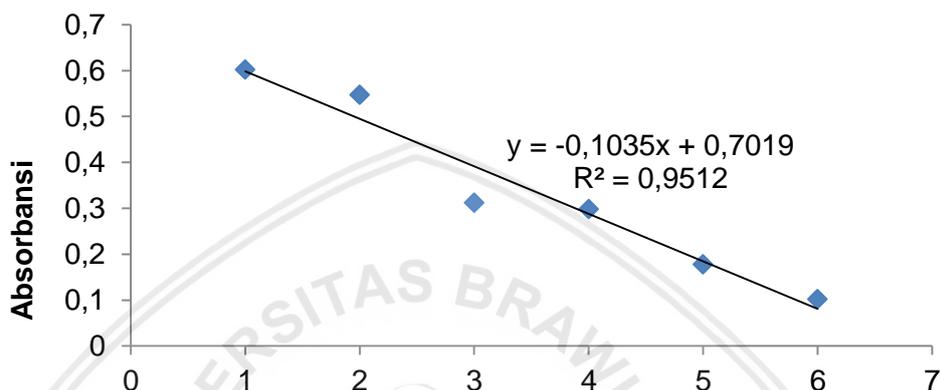
$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times d}$$

$$N = \frac{373}{[140 + 37 + 156 + 40]}$$

$$N = \frac{373}{[(1 \times 2) + (0,1 \times 2)] \times 10^{-9}}$$

$$N = \frac{373}{2,2 \times 10^{-9}}$$

$$N = 1,69 \times 10^{11}$$



Gambar 6. Regresi kepadatan *E. tarda* (Data Primer, 2019)

Nilai  $N_1$  menggunakan menggunakan standar kepadatan *E. tarda* yang mengacu pada penelitian Castro *et al.*, (2011), yaitu  $10^8$ . Berdasarkan hasil perhitungan diatas didapatkan kepadatan bakteri pada media TSB adalah  $10^{11}$ . Volume air dalam akuarium sebanyak 50 L. Penentuan dosis *E. tarda* yang diinfeksi dalam 1 akuarium berisi 50 L air dapat dilakukan perhitungan sebagai berikut :

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$10^8 \times 50000 = 10^{11} \times V_2$$

$$V_2 = 50 \text{ mL}$$

#### 4.2 Penelitian Utama

Pada penelitian utama dilakukan pengujian *Total Plate Count* (TPC), analisa proksimat meliputi kadar air, kadar abu, kadar protein, dan kadar lemak. Selain itu juga dilakukan analisa kadar garam. Tujuan dilakukan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh perlakuan garam

dengan konsentrasi berbeda terhadap pengujian TPC, kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak serta kadar garam menggunakan sampel daging ikan lele (*C. batrachus*) tanpa infeksi dan yang sudah terinfeksi *E. tarda*.

#### 4.2.1 Uji Total Plate Count

Pembacaan dan perhitungan koloni pada cawan petri sesuai dengan metode (SNI 2332.3: 2015) dengan syarat cawan yang dihitung dengan jumlah koloni 25-250 koloni dan bebas *spreader*. Persyaratan mutu dan keamanan produk ikan segar persyaratan cemaran mikroba ALT sebanyak  $5,0 \times 10^5$  koloni/g (SNI 2729: 2013). Berdasarkan hasil *Total Plate Count* (TPC) pada media non-selektif (NA) didapatkan hasil pada Tabel 6. Sedangkan hasil TPC pada media selektif dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 6. Hasil uji TPC pada media non-selektif (NA)

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata	Rata-rata Log	Stdev
	1	2	3			
Garam 0%	$8,70 \times 10^9$	$8,50 \times 10^9$	$8,30 \times 10^9$	$8,50 \times 10^9$	9,93	0,01
Garam 5%	$5,20 \times 10^8$	$5,70 \times 10^8$	$5,50 \times 10^8$	$5,47 \times 10^8$	8,74	0,02
Garam 10%	$4,50 \times 10^6$	$5,40 \times 10^6$	$5,30 \times 10^6$	$5,07 \times 10^6$	6,70	0,04
Garam 15%	$3,20 \times 10^4$	$4,50 \times 10^4$	$4,80 \times 10^4$	$4,17 \times 10^4$	4,61	0,09
Infeksi, Garam 0%	$9,80 \times 10^{25}$	$9,30 \times 10^{25}$	$9,50 \times 10^{25}$	$9,53 \times 10^{25}$	25,98	0,01
Infeksi, Garam 5%	$2,70 \times 10^{15}$	$2,60 \times 10^{15}$	$2,60 \times 10^{15}$	$2,63 \times 10^{15}$	15,42	0,01
Infeksi, Garam 10%	$1,35 \times 10^{11}$	$1,30 \times 10^{11}$	$1,30 \times 10^{11}$	$1,32 \times 10^{11}$	11,12	0,01
Infeksi, Garam 15%	$9,10 \times 10^8$	$8,10 \times 10^8$	$8,60 \times 10^8$	$8,60 \times 10^8$	8,93	0,03

Sumber : Data Primer, 2019.



Tabel 7. Hasil TPC pada media selektif (MCA)

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata	Rata-rata Log	Stddev
	1	2	3			
Garam 0%	1,70x10 <sup>9</sup>	1,50x10 <sup>9</sup>	1,50x10 <sup>9</sup>	1,57x10 <sup>9</sup>	9,19	0,03
Garam 5%	5,40x10 <sup>7</sup>	4,50x10 <sup>7</sup>	6,80x10 <sup>7</sup>	5,57x10 <sup>7</sup>	7,74	0,09
Garam 10%	0	0	0	0	0,00	0,00
Garam 15%	0	0	0	0	0,00	0,00
Infeksi, Garam 0%	1,60x10 <sup>24</sup>	1,70x10 <sup>24</sup>	1,70x10 <sup>24</sup>	1,67x10 <sup>24</sup>	24,22	0,02
Infeksi, Garam 5%	1,45x10 <sup>15</sup>	1,50x10 <sup>15</sup>	1,40x10 <sup>15</sup>	1,45x10 <sup>15</sup>	15,16	0,01
Infeksi, Garam 10%	6,50x10 <sup>10</sup>	8,30x10 <sup>10</sup>	6,70x10 <sup>10</sup>	7,17x10 <sup>10</sup>	10,85	0,06
Infeksi, Garam 15%	4,20x10 <sup>8</sup>	4,90x10 <sup>8</sup>	4,80x10 <sup>8</sup>	4,63x10 <sup>8</sup>	8,66	0,04

Sumber : Data Primer, 2019.

Berdasarkan tabel tersebut dapat dilakukan uji statistik Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan analisis ANOVA dan uji lanjut Duncan pada taraf 5% menggunakan aplikasi SPSS versi 16. Hasil analisis ANOVA pada uji TPC Non-selektif dapat dilihat pada Tabel 8. Hasil analisis ANOVA pada uji TPC Selektif dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 8. Hasil analisis ANOVA uji TPC non-selektif

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	936.760	7	133.823	9.203E4	.000
Within Groups	.023	16	.001		
Total	936.784	23			

Sumber : Data Primer, 2019.

Tabel 9. Hasil analisis ANOVA uji TPC selektif *E. tarda*

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1304.943	7	186.420	1.038E5	.000
Within Groups	.029	16	.002		
Total	1304.972	23			

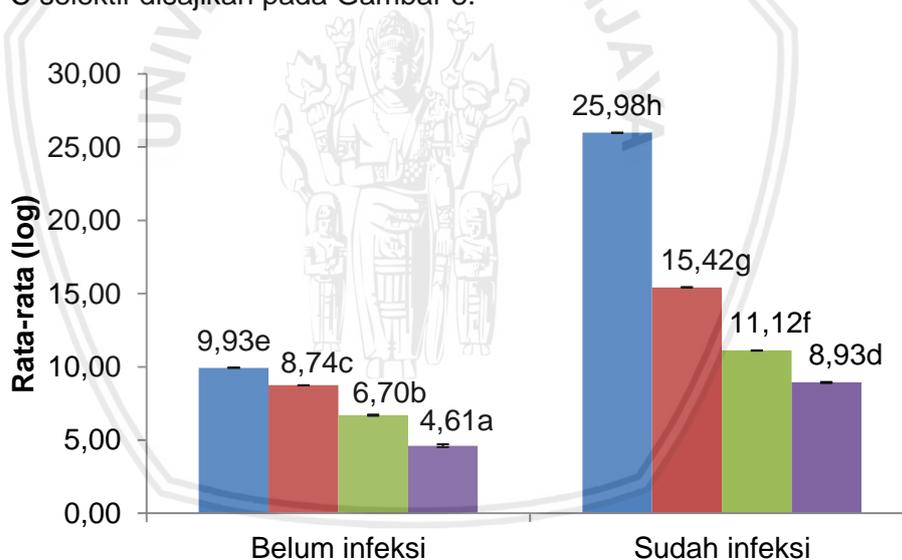
Sumber : Data Primer, 2019.



Hasil pengujian analisis ANOVA nilai uji TPC non-selektif dan selektif *E. tarda* didapatkan hasil sig. < 0,05 yang berarti terdapat perbedaan nyata terhadap semua perlakuan dalam penelitian. Maka dari itu dilakukan uji lanjut Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dalam penelitian. Analisis pada TPC non-selektif menggunakan aplikasi SPSS versi 16 beserta tabel uji Duncan disajikan pada Lampiran 25 dan TPC selektif disajikan pada Lampiran 26.

- **Analisis Pengaruh Penambahan Konsentrasi Garam Berbeda Terhadap Nilai TPC**

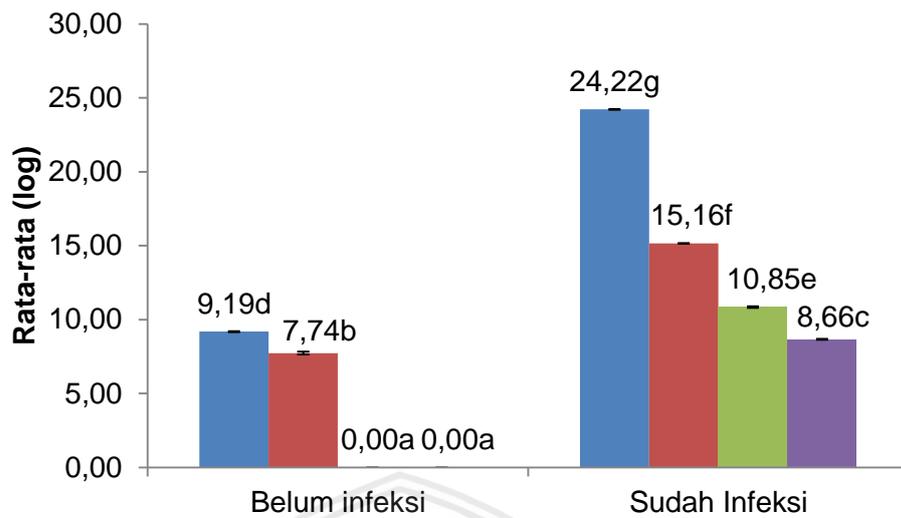
Hasil uji TPC non-selektif berdasarkan penambahan konsentrasi garam yang berbeda disajikan pada Gambar 7. Sedangkan pada hasil uji TPC selektif disajikan pada Gambar 8.



Gambar 7. Grafik TPC non-selektif berdasarkan pengaruh penambahan garam

(Data Primer, 2019)

Berdasarkan Gambar 7. Grafik TPC non-selektif didapatkan nilai Log TPC pada kondisi sebelum penginfeksi *E. tarda* berkisar antara 9,93-4,61 ( $8,50 \times 10^9$  -  $4,17 \times 10^4$  Kol/g). Nilai Log TPC pada kondisi sesudah penginfeksi *E. tarda* berkisar antara 25,98 - 8,93 ( $9,53 \times 10^{25}$  -  $8,60 \times 10^8$  Kol/g).



Gambar 8. Grafik TPC selektif berdasarkan pengaruh penambahan garam

(Data Primer, 2019)

Sedangkan pada Gambar 8. Grafik TPC selektif didapatkan nilai Log TPC pada kondisi sebelum penginfeksian *E. tarda* berkisar antara 9,19-0 ( $1,57 \times 10^9$ -0 Kol/g). Nilai Log TPC pada kondisi sesudah penginfeksian *E. tarda* berkisar antara 24,22-8,66 ( $1,67 \times 10^{24}$  –  $4,63 \times 10^8$  Kol/g). Pada Gambar 7 dan Gambar 8 terjadi penurunan nilai Log TPC pada daging ikan sebelum dan sesudah infeksi dari semua perlakuan. Hal ini disebabkan oleh adanya perlakuan penambahan konsentrasi garam yang semakin meningkat dari 0% hingga 15%. Semakin banyak garam yang digunakan akan semakin menurunkan nilai Log TPC karena garam bersifat bakteristatik dan bakteriosidal sehingga dapat menghambat atau mencegah pertumbuhan mikroba yang tidak tahan terhadap kadar garam tinggi.

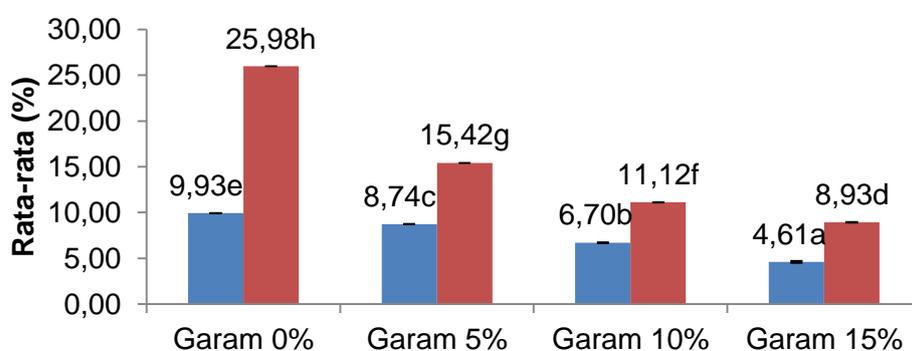
Garam ialah komponen kimia yang memiliki sifat bakteristatik dan bakteriosidal. Garam memiliki sifat osmotik yang tinggi sehingga dapat memecahkan membran sel mikroba. Garam dapat menghambat aktivitas enzim proteolitik dan adanya ion  $\text{Cl}^-$  yang terdisosiasi karena garam

bersifat higroskopis. Peristiwa plasmolisis terjadi karena aktivitas garam yaitu air akan bergerak dari konsentrasi garam rendah ke konsentrasi garam tinggi dikarenakan oleh perbedaan tekanan osmosis. Reaksi garam dengan mikroorganisme ialah air yang ada didalam sel akan keluar secara osmosis dan akan terjadi plasmolisis sel sehingga menghambat perkembangbiakan bakteri tersebut (Widyani dan Suciyaty, 2008).

Garam memiliki fungsi yang penting yaitu untuk menghambat bahkan menyembuhkan ikan lele bakteri yang terserang bakteri dengan cara membentuk sistem imun dan mengontrol keseimbangan pada tubuh ikan dengan membentuk mekanisme sistem penyangga (*buffer*) (Basset, 1994). Garam dapat terurai menjadi ion natrium ( $\text{Na}^+$ ) dan ion klorida ( $\text{Cl}^-$ ) yang bersifat racun atau toksik pada beberapa bakteri. Bakteri dapat terbunuh oleh garam karena garam memiliki sifat higroskopis yang mampu menyerap air (sitoplasma) sehingga pada akhirnya bakteri mengkerut dan mati (Salosa, 2013).

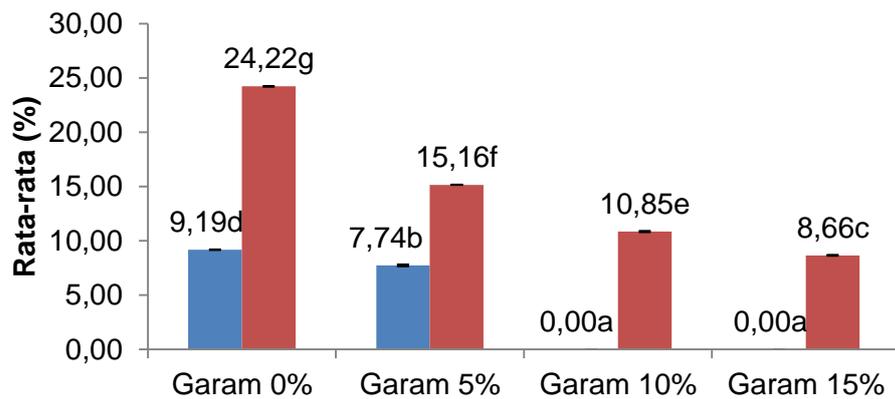
- **Analisis Pengaruh Penginfeksian *Edwardsiella tarda* Terhadap Nilai TPC**

Hasil uji TPC non-selektif berdasarkan penginfeksian *E. tarda* disajikan pada Gambar 9. Sedangkan pada hasil uji TPC selektif disajikan pada Gambar 10.



Gambar 9. Grafik TPC non-selektif berdasarkan penginfeksian *E. tarda*

(Data Primer, 2019)



Gambar 10. Grafik TPC selektif berdasarkan penginfeksi *E. tarda* (Data Primer, 2019)

Pada Gambar 9 dan Gambar 10. nilai Log TPC non-selektif maupun TPC selektif pada daging ikan lele (*C. batrachus*) perlakuan infeksi *E. tarda* lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan tanpa infeksi. Secara keseluruhan dari konsentrasi garam 0% hingga 15% mengalami pertumbuhan koloni lebih banyak pada daging infeksi *E. tarda* dari pada daging tanpa infeksi. Hal ini diduga karena adanya penginfeksi *E. tarda* pada ikan lele jadi bukan hanya bakteri asli yang ada di air dan daging ikan tetapi juga adanya penambahan bakteri sehingga jumlah koloni meningkat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Yuliantoro *et al.*, (2017), yang mengatakan bahwa secara umum pada tubuh ikan lele sudah terdapat bakteri. Dimana bakteri dalam tubuh ikan lele tersebut dapat meningkat pada kondisi tertentu. Faktor-faktor tersebut antara lain stress, kepadatan ikan yang terlalu tinggi dan musim.

Menurut (SNI 2729: 2013) cemaran mikroba TPC sebanyak  $5,0 \times 10^5$  Kol/g. Berdasarkan hasil TPC yang sudah dilakukan yang memenuhi syarat SNI ialah TPC non-selektif pada daging ikan lele tanpa infeksi dengan perlakuan garam 15% sebesar  $4,17 \times 10^4$  Kol/g. Sedangkan pada TPC selektif yang memenuhi syarat ialah pada daging tanpa infeksi

dengan perlakuan garam 10% sebesar 0 Kol/g dan dengan perlakuan garam 15% sebesar 0 Kol/g.

#### 4.2.2 Analisa Proksimat

Pada penelitian utama dilakukan analisa proksimat pada daging ikan lele (*C. batrachus*) tanpa infeksi dan yang terinfeksi *E. tarda* dengan penambahan konsentrasi garam yang berbeda. Analisa proksimat yang dilakukan meliputi uji kadar air, kadar abu, kadar protein dan kadar lemak. Tujuan dari analisa proksimat yaitu untuk mengetahui pengaruh penginfeksian serta penambahan garam terhadap perubahan komponen gizi ikan lele dari segi parameter kimia.

- **Analisa Kadar Air**

Pengujian kadar air menggunakan metode (SNI 2354.2: 2015). Kadar air yang terkandung pada daging ikan lele secara umum berkisar antara 74-85% (Bimantara, 2018). Hasil uji kadar air pada daging ikan lele (*C. batrachus*) tanpa infeksi dan yang terinfeksi *E. tarda* dengan perlakuan penambahan konsentrasi garam yang berbeda didapatkan hasil pada Tabel 10.

Tabel 10. Hasil analisa kadar air

Sampel	% Kadar Air			Rata-rata	Stdev
	1	2	3		
Garam 0%	79,54	80,51	80,03	80,03	0,48
Garam 5%	77,11	76,14	76,63	76,63	0,48
Garam 10%	74,03	73,28	73,66	73,66	0,38
Garam 15%	70,04	68,74	69,39	69,39	0,65
Infeksi, Garam 0%	77,80	78,39	78,00	78,06	0,30
Infeksi, Garam 5%	73,89	74,09	74,18	74,05	0,15
Infeksi, Garam 10%	70,81	71,65	71,23	71,23	0,42
Infeksi, Garam 15%	68,03	68,80	68,92	68,58	0,48

Sumber : Data Primer, 2019.

Berdasarkan tabel tersebut dapat uji statistik Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan analisis ANOVA dan uji lanjut Duncan

pada taraf 5% menggunakan aplikasi SPSS versi 16. Hasil analisis ANOVA pada uji kadar air dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Hasil analisis ANOVA uji kadar air

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	354.214	7	50.602	260.286	.000
Within Groups	3.111	16	.194		
Total	357.325	23			

Sumber : Data Primer, 2019.

Hasil pengujian analisis ANOVA nilai uji kadar air didapatkan hasil sig. < 0,05 yang berarti terdapat perbedaan nyata terhadap semua perlakuan dalam penelitian. Maka dari itu dilakukan uji lanjut Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dalam penelitian. Tabel Duncan pada uji kadar air disajikan pada Tabel 12 dan analisis kadar air menggunakan aplikasi SPSS versi 16 beserta tabel uji Duncan disajikan pada Lampiran 27.

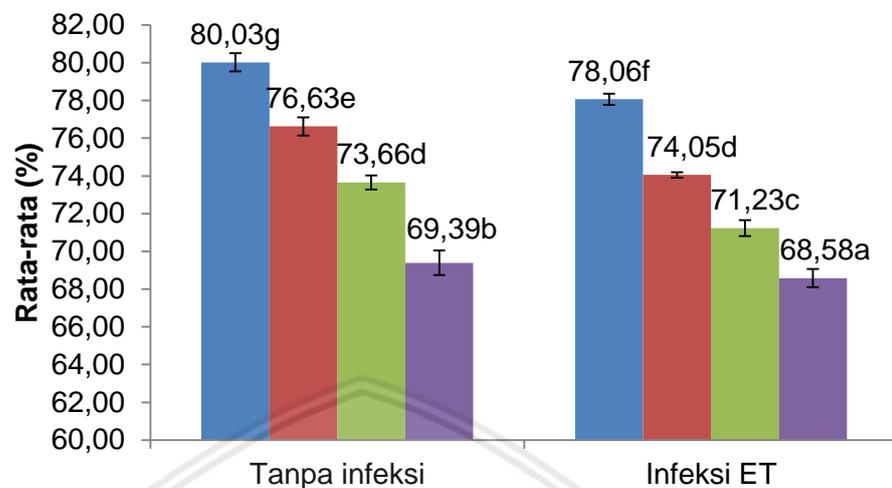
Tabel 12. Hasil uji lanjut Duncan nilai kadar air

Perlakuan	Rata-rata
Garam 0%	80,03 <sup>g</sup>
Garam 5%	76,63 <sup>e</sup>
Garam 10%	73,66 <sup>d</sup>
Garam 15%	69,39 <sup>b</sup>
Infeksi, Garam 0%	78,06 <sup>f</sup>
Infeksi, Garam 5%	74,05 <sup>d</sup>
Infeksi, Garam 10%	71,23 <sup>c</sup>
Infeksi, Garam 15%	68,58 <sup>a</sup>

Sumber : Data Primer, 2019.

Berdasarkan hasil uji Duncan nilai kadar air pada daging ikan lele (*C. batrachus*) tanpa infeksi maupun infeksi perlakuan garam 0%, 5%, 10% dan 15% menunjukkan bahwa terdapat pengaruh nyata pada setiap perlakuan. Hal ini dibuktikan pada daging ikan lele (*C. batrachus*) infeksi maupun tanpa infeksi *E. tarda* pada semua konsentrasi garam dari 0% hingga 15% memiliki notasi yang berbeda.

- Analisis Pengaruh Penambahan Konsentrasi Garam Berbeda Terhadap Nilai Kadar Air



Gambar 11. Grafik uji kadar air berdasarkan pengaruh penambahan garam  
(Data Primer, 2019)

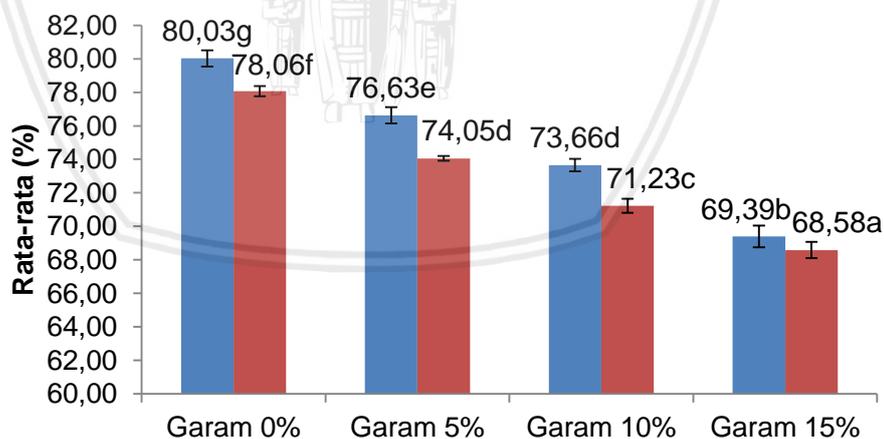
Berdasarkan Gambar 11. Grafik kadar air dengan perlakuan penambahan konsentrasi garam 0-15% didapatkan nilai rata-rata kadar air berkisar antara 80,03-69,39% pada kondisi sebelum penginfeksian *E. tarda*. Sedangkan pada kondisi sesudah penginfeksian *E. tarda* dengan perlakuan yang sama berkisar antara 78,06-68,58%. Nilai rata-rata kadar air tertinggi diperoleh pada perlakuan garam 0%, tanpa infeksi yaitu 80,03%. Sedangkan nilai rata-rata kadar air terendah diperoleh pada perlakuan garam 15%, sesudah infeksi yaitu 68,58%.

Pada Gambar 11 terjadi penurunan nilai rata-rata kadar air seiring dengan bertambahnya konsentrasi garam 0-15% baik pada daging ikan sebelum diinfeksi maupun sesudah infeksi. Hal ini disebabkan oleh hubungan antara kadar air dengan kadar garam yang berbanding terbalik. Ketika nilai kadar garam pada suatu bahan pangan meningkat maka akan terjadi penurunan kadar air yang terkandung dalam bahan pangan tersebut. Hal ini bisa terjadi karena garam bersifat higroskopis yaitu

garam mampu menarik air dalam bahan pangan sehingga nilai kadar air akan turun seiring dengan penambahan garam pada suatu bahan pangan.

Menurut Majid *et al.*, (2014), kadar garam yang tinggi menghasilkan kadar air yang lebih rendah. Hal tersebut dikarenakan garam yang tinggi juga akan melakukan penyerapan yang besar terhadap kandungan air dalam bahan makanan. Kadar air yang semakin turun tersebut disebabkan karena adanya hidrasi ion-ion garam yang menarik ion molekul air pada suatu bahan pangan. Pada proses penggaraman penurunan kadar air bisa terjadi karena garam akan berpenetrasi ke dalam tubuh ikan. Garam yang masuk dalam tubuh ikan tersebut akan menggantikan air bebas yang ada pada tubuh ikan karena sifat garam yang higroskopis.

- **Analisis Pengaruh Penginfeksi *Edwardsiella tarda* Terhadap Nilai Kadar Air**



Gambar 12. Grafik uji kadar air berdasarkan penginfeksi *E. tarda*

(Data Primer, 2019)

Pada Gambar 12. nilai rata-rata kadar air pada daging ikan lele (*C. batrachus*) perlakuan tanpa infeksi lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan infeksi *E. tarda*. Secara keseluruhan pada setiap konsentrasi



garam 0% hingga 15% nilai rata-rata kadar air lebih tinggi pada daging tanpa infeksi dari pada daging infeksi *E. tarda*. Hal ini dikarenakan adanya penginfeksi *E. tarda* pada ikan akan meningkatkan jumlah koloni atau terjadi penambahan jumlah bakteri. Dengan bertambahnya bakteri yang terkandung dalam bahan pangan akan semakin menurunkan nilai rata-rata kadar air. Hal ini dikarenakan bakteri membutuhkan air untuk sumber kehidupannya. Sehingga kadar air pada daging ikan lele yang sudah diinfeksi bakteri akan menurun.

Mikroorganisme dalam melakukan aktivitas dan pertumbuhannya membutuhkan air bebas dengan jumlah tertentu. Bakteri membutuhkan jumlah air bebas yang tinggi untuk tumbuh. Selain itu bakteri juga membutuhkan air bebas untuk meningkatkan produktivitas bakteri dan bertahan hidup. Tetapi sebaliknya jika jumlah air bebas menurun akan meningkatkan jarak pertumbuhan bakteri menuju fase lag semakin lama. Hal tersebut akan menyebabkan sel bakteri mati sebelum fase kematian. Selain itu produktivitas bakteri juga berkurang ketika berada pada awal fase statis. Jadi semakin banyak bakteri yang terdapat pada bahan pangan nilai kadar air nya akan menurun karena bakteri membutuhkan air untuk pertumbuhannya (Majid *et al.*, 2014).

- **Analisa Kadar Abu**

Pengujian kadar abu menggunakan metode (SNI 2354.1:2010). Kadar abu yang terkandung pada daging ikan lele secara umum berkisar antara 0,8-2% (Bimantara, 2018). Hasil uji kadar abu pada daging ikan lele (*C. batrachus*) tanpa infeksi dan yang terinfeksi *E. tarda* dengan perlakuan penambahan konsentrasi garam yang berbeda didapatkan hasil pada Tabel 13.

Tabel 13. Hasil analisa kadar abu

Sampel	% Kadar Abu			Rata-rata	Stdev
	1	2	3		
Garam 0%	1,00	0,83	0,90	0,91	0,09
Garam 5%	5,47	5,40	5,44	5,44	0,03
Garam 10%	10,26	10,16	10,21	10,21	0,05
Garam 15%	13,58	13,57	13,58	13,58	0,00
Infeksi, Garam 0%	1,36	1,38	1,37	1,37	0,01
Infeksi, Garam 5%	5,62	5,62	5,72	5,65	0,06
Infeksi, Garam 10%	8,91	8,95	8,96	8,94	0,03
Infeksi, Garam 15%	12,42	12,54	12,38	12,45	0,08

Sumber : Data Primer, 2019.

Berdasarkan tabel tersebut dapat uji statistik Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan analisis ANOVA dan uji lanjut Duncan pada taraf 5% menggunakan aplikasi SPSS versi 16. Hasil analisis ANOVA pada uji kadar abu dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 14. Hasil analisis ANOVA uji kadar abu

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	477.661	7	68.237	2.466E4	.000
Within Groups	.044	16	.003		
Total	477.705	23			

Sumber : Data Primer, 2019.

Hasil pengujian analisis ANOVA nilai uji kadar abu didapatkan hasil sig. < 0,05 yang berarti terdapat perbedaan nyata terhadap semua perlakuan dalam penelitian. Maka dari itu dilakukan uji lanjut Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dalam penelitian. Tabel Duncan pada uji kadar abu disajikan pada Tabel 15 dan analisis kadar abu menggunakan aplikasi SPSS versi 16 beserta tabel uji Duncan disajikan pada Lampiran 28.

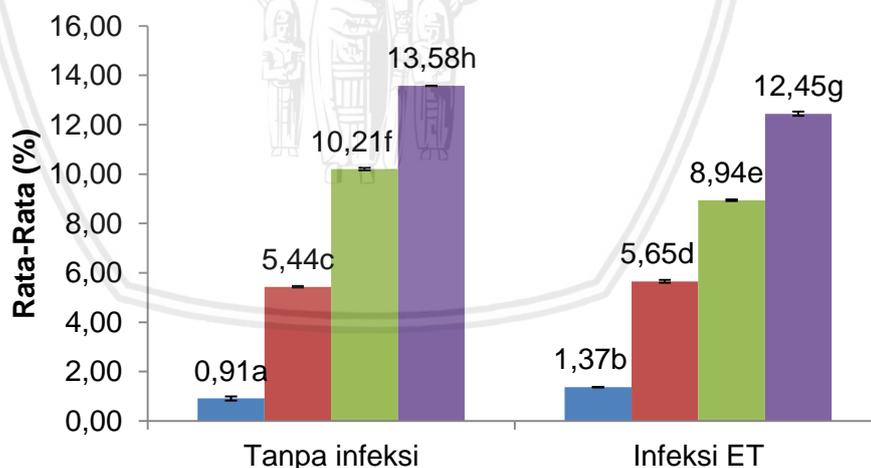
Tabel 15. Hasil uji lanjut Duncan nilai kadar abu

Perlakuan	Rata-rata
Garam 0%	0,91 <sup>a</sup>
Garam 5%	5,44 <sup>c</sup>
Garam 10%	10,21 <sup>f</sup>
Garam 15%	13,58 <sup>h</sup>
Infeksi, Garam 0%	1,37 <sup>b</sup>
Infeksi, Garam 5%	5,65 <sup>d</sup>
Infeksi, Garam 10%	8,94 <sup>e</sup>
Infeksi, Garam 15%	12,45 <sup>g</sup>

Sumber : Data Primer, 2019.

Berdasarkan hasil uji Duncan nilai kadar abu pada daging ikan lele (*C. batrachus*) tanpa infeksi maupun infeksi perlakuan garam 0%, 5%, 10% dan 15% menunjukkan bahwa terdapat pengaruh nyata pada setiap perlakuan. Hal ini dibuktikan pada daging ikan lele (*C. batrachus*) infeksi maupun tanpa infeksi *E. tarda* pada semua konsentrasi garam dari 0% hingga 15% memiliki notasi yang berbeda.

- **Analisis Pengaruh Penambahan Konsentrasi Garam Berbeda Terhadap Nilai Kadar Abu**



Gambar 13. Grafik uji kadar abu berdasarkan pengaruh penambahan garam

(Data Primer, 2019)

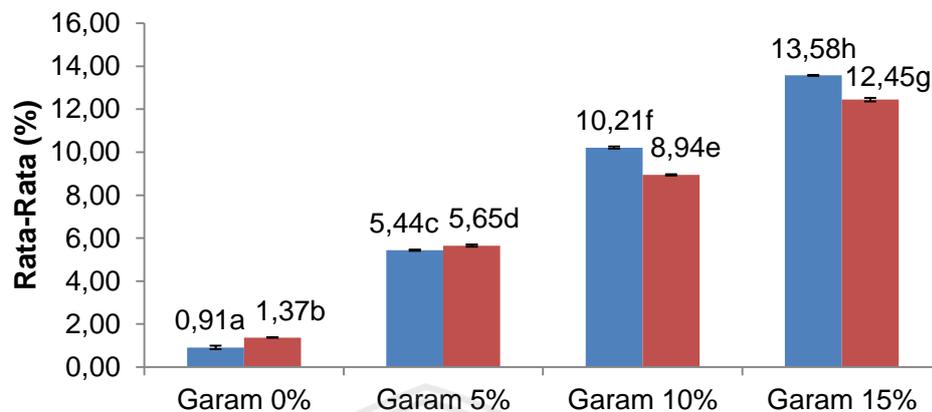
Berdasarkan Gambar 13. Grafik kadar abu dengan perlakuan penambahan konsentrasi garam 0-15% didapatkan nilai rata-rata kadar abu berkisar antara 0,91-13,58% pada kondisi sebelum penginfeksian *E. tarda*. Sedangkan pada kondisi sesudah penginfeksian *E. tarda*

dengan perlakuan yang sama didapatkan nilai rata-rata kadar abu berkisar antara 1,37-12,45%. Nilai rata-rata kadar abu tertinggi diperoleh pada perlakuan garam 15%, sebelum infeksi yaitu 13,58%. Sedangkan nilai rata-rata kadar abu terendah diperoleh pada perlakuan garam 0%, sebelum infeksi yaitu 0,91%.

Pada Gambar 13 dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan nilai rata-rata kadar abu seiring dengan bertambahnya konsentrasi garam 0-15% baik pada daging ikan sebelum diinfeksi maupun sesudah infeksi. Hal ini disebabkan karena hubungan kadar garam dan kadar abu berbanding lurus. Garam mengandung mineral. Jadi ketika suatu bahan pangan ditambahkan garam maka kadar abu juga akan bertambah. Sehingga seiring dengan bertambahnya penambahan konsentrasi garam nilai kadar abu akan semakin meningkat.

Salah satu faktor yang sangat erat kaitannya dengan peningkatan kadar abu ialah faktor penambahan garam. Garam merupakan senyawa anorganik. Semakin tinggi kadar garam maka semakin tinggi pula kadar abu pada bahan pangan tersebut. Daging ikan yang diberi garam akan menyebabkan pertambahan jumlah mineral (terutama natrium) di dalam daging ikan. Sehingga kadar abu dalam daging ikan tersebut juga akan meningkat (Rahmani *et al.*, 2007).

- Analisis Pengaruh Penginfeksi *Edwardsiella tarda* Terhadap Nilai Kadar Abu



Gambar 14. Grafik uji kadar abu berdasarkan penginfeksi *E. tarda*

(Data Primer, 2019)

Berdasarkan Gambar 14. nilai rata-rata kadar abu pada daging ikan lele (*C. batrachus*) perlakuan infeksi *E. tarda* lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan tanpa infeksi pada kadar garam 0% dan 5%. Hal ini diduga karena mikroba membutuhkan air untuk pertumbuhannya. Jadi semakin banyak bakteri kadar air akan semakin menurun. Hubungan kadar air dengan kadar abu berbanding terbalik. Ketika kadar air menurun maka kadar abu akan meningkat. Menurut Mardiah *et al.*, (2017), bakteri membutuhkan air untuk pertumbuhannya. Kadar air yang rendah pada suatu bahan pangan membuat bahan pangan tersebut tidak mudah ditumbuhi bakteri. Menurut Lisa *et al.*, (2015), Bahan pangan akan cepat rusak ketika kandungan kadar air pada bahan pangan tersebut tinggi. Hal ini dikarenakan aktivitas mikroorganisme yang membutuhkan air. Air yang hilang dari suatu bahan pangan akan menyebabkan kadar abu mengalami peningkatan. Wati *et al.*, (2018), menambahkan bahwa kadar air berkorelasi negatif dengan kadar abu. Suatu bahan pangan yang memiliki kadar air rendah tetapi kadar abu lebih tinggi dan sebaliknya.

Nilai rata-rata kadar abu pada perlakuan tanpa infeksi pada garam 10 dan 15% lebih tinggi dibandingkan dengan infeksi *E. tarda*. Hal ini diduga karena bakteri tidak berperan dalam peningkatan kadar abu melainkan hanya penambahan garam saja yang menyebabkan kadar abu meningkat pada penambahan konsentrasi garam 10% dan 15% sampel daging ikan lele tanpa infeksi. Berdasarkan hasil TPC selektif perlakuan garam 10% dan 15% didapatkan hasil jumlah koloni sampel daging ikan lele tanpa infeksi yaitu 0 Kol/g. Berdasarkan data TPC tersebut diduga sebagai penyebab perlakuan tanpa infeksi lebih tinggi daripada perlakuan infeksi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Oktadina *et al.*, (2013), kadar abu ialah mineral yang terdapat dalam bahan. Mineral-mineral tersebut antara lain potasium, kalsium, magnesium, kalium serta mineral non-logam yaitu fosfor dan sulfur. Kandungan mineral-mineral tersebut mempengaruhi kadar abu. Semakin tinggi kandungan mineral pada suatu bahan pangan maka kadar abu juga semakin tinggi. Rahmani *et al.*, (2007), menambahkan bahwa garam merupakan senyawa anorganik. Penambahan garam pada bahan pangan menyebabkan jumlah mineral bertambah terutama natrium. Maka semakin tinggi kadar garam maka semakin tinggi kadar abu pada bahan pangan tersebut.

- **Analisa Kadar Protein**

Pengujian kadar protein menggunakan metode (SNI 01-2354.4-2006). Kadar protein yang terkandung pada daging ikan lele secara umum berkisar antara 12-22% (Bimantara, 2018). Sedangkan kadar protein *dry basis* yang terkandung pada ikan lele sebesar 60,38% (Olaniyi *et al.*, 2017). Hasil uji kadar protein *wet basis* pada daging ikan lele (*C. batrachus*) tanpa infeksi dan yang terinfeksi *E. tarda* dengan perlakuan

penambahan konsentrasi garam yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 29. Hasil kadar protein *dry basis* disajikan pada Tabel 16.

Tabel 16. Hasil analisa kadar protein *dry basis*

Sampel	% Kadar Protein			Rata-rata	Stdev
	1	2	3		
Garam 0%	68,52	70,60	70,61	69,91	f
Garam 5%	50,63	50,42	49,71	50,25	d
Garam 10%	43,78	43,60	42,94	43,44	c
Garam 15%	39,02	38,90	37,83	38,58	b
Infeksi, Garam 0%	56,44	57,38	54,91	56,24	e
Infeksi, Garam 5%	55,92	58,28	57,51	57,24	e
Infeksi, Garam 10%	38,85	40,56	41,61	40,34	b
Infeksi, Garam 15%	34,59	35,26	37,07	35,64	a

Sumber : Data Primer, 2019.

Berdasarkan tabel tersebut dapat uji statistik Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan analisis ANOVA dan uji lanjut Duncan pada taraf 5% menggunakan aplikasi SPSS versi 16. Hasil analisis ANOVA pada uji kadar protein dapat dilihat pada Tabel 17.

Tabel 17. Hasil analisis ANOVA uji kadar protein *dry basis*

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2855.993	7	407.999	366.921	.000
Within Groups	17.791	16	1.112		
Total	2873.784	23			

Sumber : Data Primer, 2019.

Hasil pengujian analisis ANOVA nilai uji kadar protein didapatkan hasil sig. < 0,05 yang berarti terdapat perbedaan nyata terhadap semua perlakuan dalam penelitian. Maka dari itu dilakukan uji lanjut Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dalam penelitian. Tabel Duncan pada uji kadar protein disajikan pada Tabel 18 dan analisis kadar protein *dry basis* menggunakan aplikasi SPSS versi 16 beserta tabel uji Duncan disajikan pada Lampiran 30.

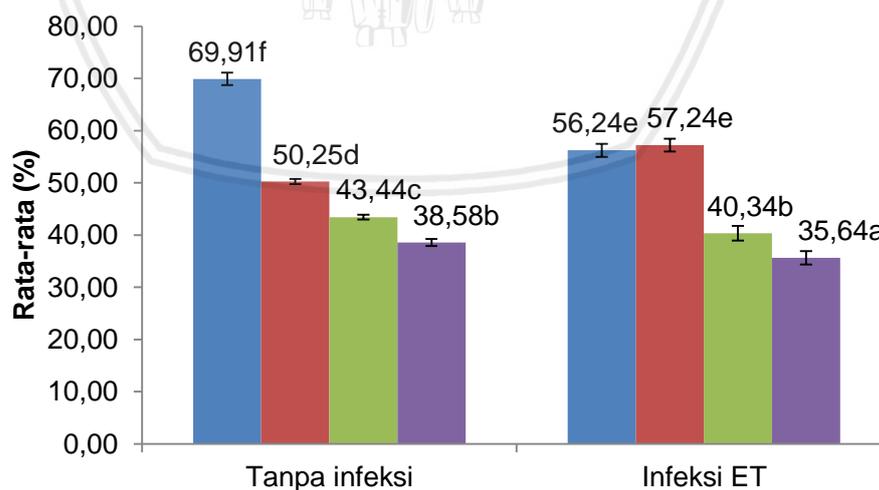
Tabel 18. Hasil uji lanjut Duncan nilai kadar protein *dry basis*

Perlakuan	Rata-rata
Garam 0%	69,91 <sup>f</sup>
Garam 5%	50,25 <sup>d</sup>
Garam 10%	43,44 <sup>c</sup>
Garam 15%	38,58 <sup>b</sup>
Infeksi, Garam 0%	56,24 <sup>e</sup>
Infeksi, Garam 5%	57,24 <sup>e</sup>
Infeksi, Garam 10%	40,34 <sup>b</sup>
Infeksi, Garam 15%	35,64 <sup>a</sup>

Sumber : Data Primer, 2019.

Berdasarkan hasil uji Duncan nilai kadar protein pada daging ikan lele (*C. batrachus*) tanpa infeksi perlakuan garam 0%, 5%, 10% dan 15% menunjukkan bahwa terdapat pengaruh nyata pada setiap perlakuan. Pada daging ikan lele (*C. batrachus*) infeksi *E. tarda* perlakuan garam 0%, dan 5% tidak berpengaruh nyata. Dapat dibuktikan dengan notasi yang sama pada perlakuan tersebut. Sedangkan daging ikan lele kadar garam 10% dan 15% menunjukkan bahwa terdapat pengaruh nyata pada setiap perlakuan. Hal ini dibuktikan dengan notasi yang berbeda.

- **Analisis Pengaruh Penambahan Konsentrasi Garam Berbeda Terhadap Nilai Kadar Protein**



Gambar 15. Grafik uji kadar protein berdasarkan pengaruh penambahan garam

(Data Primer, 2019)

Berdasarkan Gambar 15. Grafik kadar protein dengan perlakuan penambahan konsentrasi garam 0-15% didapatkan nilai rata-rata kadar protein berkisar antara 69,91-38,58% pada kondisi sebelum penginfeksian *E. tarda*. Sedangkan pada kondisi sesudah penginfeksian *E. tarda* dengan perlakuan yang sama didapatkan nilai rata-rata kadar protein berkisar antara 56,24-35,64%. Nilai rata-rata kadar protein tertinggi diperoleh pada perlakuan garam 0%, sebelum infeksi yaitu 69,91%. Sedangkan nilai rata-rata kadar protein terendah diperoleh pada perlakuan garam 15%, sesudah infeksi yaitu 35,64%.

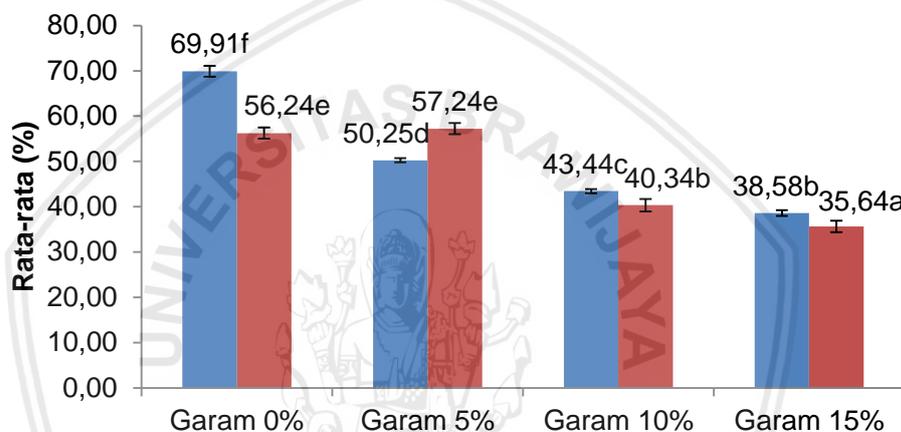
Pada Gambar 15. dapat dilihat bahwa terjadi penurunan nilai rata-rata kadar protein seiring dengan bertambahnya konsentrasi garam 0-15% baik pada daging ikan sebelum diinfeksi maupun sesudah infeksi. Hal ini disebabkan karena garam dapat mendenaturasi protein. Ketika daging ikan diberi garam maka protein akan terdenaturasi. Sehingga penambahan garam dapat mengurangi kadar protein yang terdapat pada daging ikan.

Penambahan garam pada suatu bahan pangan dapat mempengaruhi kadar protein pada bahan pangan tersebut. Garam mempengaruhi stabilitas struktural protein. Hal tersebut ada kaitannya dengan kemampuan garam yang mampu mengikat air secara kuat serta mengubah sifat hidrasi protein. Garam dapat menyebabkan ketidakstabilan struktur protein. Hal tersebut dikarenakan garam menurunkan hidrasi protein dan berikatan kuat dengan protein. Garam berpengaruh terhadap stabilisasi struktur protein yang berkaitan dengan konsentrasi dan pengaruhnya terhadap ikatan air. Pada konsentrasi garam tinggi protein akan terdenaturasi karena merusak struktur air sehingga air menjadi pelarut yang baik untuk residu non polar protein.

Jadi semakin tinggi kadar garam yang ditambahkan maka kadar protein pada bahan pangan tersebut juga akan semakin rendah (Wahyudi dan Endang, 2017).

- **Analisis Pengaruh Penginfeksi *Edwardsiella tarda* Terhadap Nilai Kadar Protein**

Pada Gambar 16. nilai rata-rata kadar protein pada daging ikan lele (*C. batrachus*) perlakuan tanpa infeksi lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan infeksi *E. tarda* pada kadar garam 0, 10 dan 15%.



Gambar 16. Grafik uji kadar protein berdasarkan penginfeksi *E. tarda*  
(Data Primer, 2019)

Peningkatan kadar protein ini diduga karena pengaruh dari enzim protease yang dihasilkan oleh *E. tarda*. Berdasarkan data yang diperoleh dari NCBI *E. tarda* memiliki enzim protease terdapat 9 database. Hal ini sesuai dengan pernyataan Noviyanti *et al.*, (2012), bahwa enzim protease didapatkan dari beberapa sumber yaitu berasal dari hewan, mikroba, dan tanaman. Sumber terbesar yaitu pada tanaman dan diikuti oleh bakteri. Enzim protease memiliki fungsi untuk mengkatalis hidrolisis ikatan peptida pada protein. Ditambahkan oleh Zhang *et al.*, (2013), enzim protease dapat memecah protein. Semakin tinggi enzim protease yang dihasilkan

maka semakin banyak asam amino bebas. Sehingga terjadi penurunan kadar protein.

Sedangkan nilai rata-rata kadar protein pada kadar garam 5% perlakuan daging ikan lele tanpa infeksi menunjukkan nilai rata-rata kadar protein lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan infeksi *E. tarda*. Hal tersebut diduga karena ikan lele memiliki sistem imun yang berbeda-beda. Pada pengambilan sampel semua daging ikan lele di *fillet* dan dihaluskan. Kemudian baru dilakukan pengujian selanjutnya. Hal tersebut diduga sebagai penyebab naiknya kadar protein karena pengambilan sampel secara *mix*. Tetapi berdasarkan teori yang ada seharusnya kadar protein mengalami penurunan ketika diinfeksi. Menurut Kusuma *et al.*, (2017), aktivitas mikroba yang terjadi pada ikan menyebabkan nutrisi pada daging ikan menurun. Aktivitas bakteri dapat menyebabkan kemunduran mutu ikan. Terjadinya proses autolisis menyebabkan salah satu komponen nutrisi penting terurai yaitu protein. Sehingga penambahan bakteri seharusnya menurunkan kadar protein.

- **Analisa Kadar Lemak**

Pengujian kadar lemak menggunakan metode (SNI 01-2354.3-2006). Kadar lemak *wet basis* yang terkandung pada daging ikan lele secara umum berkisar antara 0,4-5,7% (Bimantara, 2018). Sedangkan kadar lemak *dry basis* yang terkandung pada ikan lele sebesar 25,60% (Olaniyi *et al.*, 2017). Hasil uji kadar lemak *wet basis* pada daging ikan lele (*C. batrachus*) tanpa infeksi dan yang terinfeksi *E. tarda* dengan perlakuan penambahan konsentrasi garam yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 31. Hasil kadar lemak *dry basis* disajikan pada Tabel 19.

Tabel 19. Hasil analisa kadar lemak *dry basis*

Sampel	% Kadar Lemak			Rata-rata	Stdev
	1	2	3		
Garam 0%	0,143	0,146	0,147	0,145	0,002
Garam 5%	0,054	0,051	0,053	0,053	0,001
Garam 10%	0,063	0,060	0,062	0,062	0,001
Garam 15%	0,088	0,090	0,089	0,089	0,001
Infeksi, Garam 0%	0,087	0,085	0,089	0,087	0,002
Infeksi, Garam 5%	0,034	0,034	0,031	0,033	0,002
Infeksi, Garam 10%	0,066	0,062	0,061	0,063	0,003
Infeksi, Garam 15%	0,087	0,088	0,089	0,088	0,001

Sumber : Data Primer, 2019.

Berdasarkan tabel tersebut dapat uji statistik Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan analisis ANOVA dan uji lanjut Duncan pada taraf 5% menggunakan aplikasi SPSS versi 16. Hasil analisis ANOVA pada uji kadar lemak dapat dilihat pada Tabel 20.

Tabel 20. Hasil analisis ANOVA uji kadar lemak *dry basis*

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.024	7	.003	1.096E3	.000
Within Groups	.000	16	.000		
Total	.024	23			

Sumber : Data Primer, 2019.

Hasil pengujian analisis ANOVA nilai uji kadar lemak didapatkan hasil sig. < 0,05 yang berarti terdapat perbedaan nyata terhadap semua perlakuan dalam penelitian. Maka dari itu dilakukan uji lanjut Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dalam penelitian. Tabel Duncan pada uji kadar lemak disajikan pada Tabel 21 dan analisis kadar lemak *dry basis* menggunakan aplikasi SPSS versi 16 beserta tabel uji Duncan disajikan pada Lampiran 32.

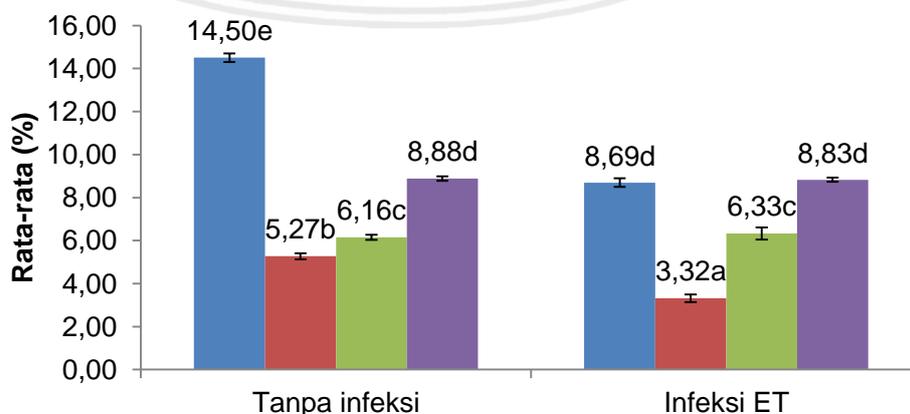
Tabel 21. Hasil uji lanjut Duncan nilai kadar lemak *dry basis*

Perlakuan	Rata-rata (%)
Garam 0%	0,145 <sup>e</sup>
Garam 5%	0,053 <sup>b</sup>
Garam 10%	0,062 <sup>c</sup>
Garam 15%	0,089 <sup>d</sup>
Infeksi, Garam 0%	0,087 <sup>d</sup>
Infeksi, Garam 5%	0,033 <sup>a</sup>
Infeksi, Garam 10%	0,063 <sup>c</sup>
Infeksi, Garam 15%	0,088 <sup>d</sup>

Sumber : Data Primer, 2019.

Berdasarkan hasil uji Duncan nilai kadar lemak pada daging ikan lele (*C. batrachus*) tanpa infeksi perlakuan garam 0%, 5%, 10% dan 15% menunjukkan bahwa terdapat pengaruh nyata dan tidak nyata pada setiap perlakuan. Pada daging ikan lele (*C. batrachus*) tanpa infeksi maupun infeksi *E. tarda* berdasarkan pengaruh perlakuan garam 0%, dan 5% berpengaruh nyata dibuktikan dengan notasi yang berbeda. Sedangkan pada daging ikan lele (*C. batrachus*) berdasarkan pengaruh penginfeksian didapatkan pengaruh nyata pada garam 0% dan 5% dibuktikan dengan notasi yang berbeda. Tetapi pada garam 10% dan 15% tidak memiliki pengaruh nyata pada perlakuan tersebut. Hal ini dapat dibuktikan dengan notasi yang sama pada perlakuan tersebut.

- **Analisis Pengaruh Penambahan Konsentrasi Garam Berbeda Terhadap Nilai Kadar Lemak**



Gambar 17. Grafik uji kadar lemak berdasarkan pengaruh penambahan garam

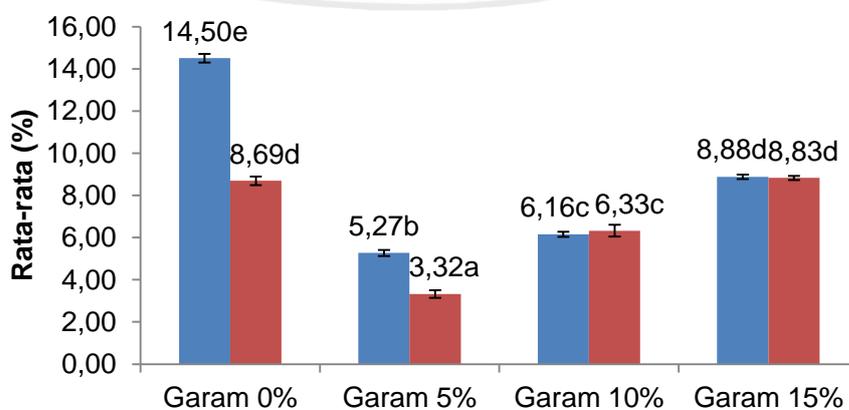
(Data Primer, 2019)

Berdasarkan Gambar 17. Grafik kadar lemak dengan perlakuan penambahan konsentrasi garam 0-15% didapatkan nilai rata-rata kadar lemak berkisar antara 14,50-8,88% pada kondisi sebelum penginfeksian *E. tarda*. Sedangkan pada kondisi sesudah penginfeksian *E. tarda* dengan perlakuan yang sama didapatkan nilai rata-rata kadar lemak berkisar antara 8,69-8,83%. Nilai rata-rata kadar lemak tertinggi diperoleh pada perlakuan garam 0%, sebelum infeksi yaitu 14,50%. Sedangkan nilai rata-rata kadar lemak terendah diperoleh pada perlakuan garam 5%, sesudah infeksi yaitu 3,32%.

Pada Gambar 17. dapat dilihat bahwa nilai rata-rata kadar lemak pada garam 0% ke 5% mengalami penurunan baik pada daging ikan sebelum diinfeksi maupun sesudah infeksi. Hal ini diduga karena pengaruh dari konsentrasi garam yang ditambahkan. Menurut Rahmani *et al.*, (2007), suatu bahan pangan yang ditambahkan garam dapat memperpanjang masa simpan dari bahan tersebut. Selain itu menambahkan garam juga akan memberikan keuntungan yaitu dengan penggaraman dapat menghindari oksidasi lemak atau mencegah lemak mengalami kerusakan. Menurut Hasan *et al.*, (2015), aktivitas enzim dipengaruhi oleh konsentrasi garam. Salah satunya yaitu enzim lipase yang dapat memecah lemak menjadi senyawa yang lebih sederhana. Aktifitas enzim lipase maksimum pada kadar garam 3%. Pada kadar garam 6% aktifitas enzim lipase menurun. Pada kadar garam 9% aktifitas enzim lipase naik kembali. Berdasarkan pernyataan diatas tidak dapat dipastikan bahwa semakin tinggi kadar garam kadar lemak juga akan semakin turun. Pada penambahan konsentrasi garam sebanyak 5% diduga aktifitas enzim maksimum sehingga mengalami penurunan.

Pada hasil nilai rata-rata kadar lemak didapatkan hasil bahwa perlakuan konsentrasi garam 5% ke 15% mengalami kenaikan baik pada daging ikan sebelum diinfeksi maupun sesudah infeksi. Hal ini diduga karena garam dapat menghambat aktivitas enzim yang dapat memecah lemak menjadi dalam bentuk yang lebih sederhana. Menurut Hasan *et al.*, (2015), konsentrasi garam juga dapat mempengaruhi aktivitas enzim. Penambahan garam dengan kadar tinggi dapat menghambat laju aktivitas enzim dari mikroba. Salah satunya yaitu enzim lipase. Dimana ketika enzim lipase terhambat maka aktivitas enzim tersebut dalam memecah lemak dalam menghasilkan molekul sederhana juga terhambat (Majid *et al.*, 2014). Hal tersebut diduga sebagai penyebab naiknya nilai kadar lemak. Tetapi naik turunnya kadar lemak ini tidak bisa dipastikan secara pasti bahwa semakin tinggi kadar garam maka kadar lemak akan menurun karena menurut pernyataan dari Hasan *et al.*, (2015), aktivitas enzim lipase pada kadar garam 3% ke 6% mengalami penurunan. Kemudian naik kembali pada kadar garam 9% dan turun pada kadar garam 15%.

- **Analisis Pengaruh Penginfeksian *Edwardsiella tarda* Terhadap Nilai Kadar Lemak**



Gambar 18. Grafik uji kadar lemak berdasarkan penginfeksian *E. tarda*

(Data Primer, 2019)

Pada Gambar 18. nilai rata-rata kadar lemak pada daging ikan lele (*C. batrachus*) perlakuan tanpa infeksi lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan infeksi *E. tarda* pada kadar garam 0 dan 5%. Hal ini diduga karena terjadi pemecahan lemak sehingga didapatkan nilai yang lebih rendah dari pada perlakuan tanpa infeksi. Berdasarkan data yang terdapat di NCBI *E. tarda* memiliki enzim lipase sebanyak 2 database. Menurut Su'i *et al.*, (2010), enzim lipase dapat memecah lemak menghasilkan asam lemak bebas. Sehingga akibat aktivitas enzim tersebut memungkinkan turunnya nilai kadar lemak. Menurut Hadiwiyoto (2019), mikroba dapat menghasilkan enzim-enzim lipase. Enzim lipase menyebabkan terjadinya lipolisis pada lemak yang kemudian membentuk asam lemak bebas. Januar *et al.*, (2013), menambahkan bahwa penurunan kadar lemak hingga 25% juga dapat disebabkan oleh aktivitas bakteri karena bakteri merombak senyawa organik yang terdapat dalam kultur.

Pada kadar garam 10% nilai kadar lemak perlakuan daging ikan lele infeksi lebih tinggi daripada perlakuan tanpa infeksi yang menunjukkan angka sebesar 6,33%. Tetapi ketika dilakukan uji lanjut Duncan tidak terdapat pengaruh nyata yang ditunjukkan dengan notasi yang sama. Hal ini diduga karena aktivitas enzim dari mikroba yang dapat menurunkan kadar lemak dihambat karena adanya penambahan garam. Menurut Hasan *et al.*, (2015), salah satu faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim yaitu konsentrasi garam. Laju aktivitas enzim dari mikroba dapat terhambat oleh penambahan garam dengan kadar tinggi. Aktivitas enzim lipase dalam memecah lemak juga terhambat. Sehingga kadar lemak akan meningkat. Selain itu kenaikan kadar lemak ini diduga karena ikan lele memiliki sistem imun yang berbeda-beda. Ikan lele yang diinfeksi

akan diambil sampelnya dengan cara *fillet* semua daging ikan lele dan dihaluskan. Kemudian baru dilakukan pengujian selanjutnya. Hal tersebut diduga sebagai penyebab naiknya kadar lemak karena pengambilan sampel secara *mix*. Tetapi, seharusnya nilai kadar lemak akan menurun ketika dilakukan penginfeksian *E. tarda*. Sesuai dengan teori bahwa *E. tarda* memiliki enzim yang dapat memecah lemak menjadi senyawa sederhana sehingga nilai kadar lemak akan turun karena aktivitas enzim lipase.

- **Analisa kandungan gizi daging ikan lele (*Clarias batrachus*) yang terinfeksi *Edwardsiella tarda* dengan penambahan konsentrasi garam yang berbeda**

Manusia mengonsumsi makanan untuk memenuhi kebutuhan gizi yang dibutuhkan oleh tubuh. Salah satu bahan pangan yang sering dikonsumsi oleh manusia ialah daging ikan. Pada dasarnya manusia mengonsumsi daging ikan untuk memenuhi kebutuhan protein pada tubuh. Hal ini didukung dengan pernyataan Pahlevi (2012), yang menyatakan bahwa ikan adalah bahan pangan yang kaya akan protein. Dimana protein memiliki banyak fungsi bagi tubuh antara lain sebagai pertumbuhan, pemeliharaan tubuh, mengatur tekanan air, mengontrol pendarahan (terutama di fibrinogen), mengontrol aliran darah dalam membantu pekerjaan jantung serta sebagai antibodi dari berbagai penyakit. Akan tetapi, jika ikan tersebut terinfeksi bakteri yang tidak diketahui konsumen dengan kasat mata akan menimbulkan dampak yang buruk jika dikonsumsi dan tidak mendapatkan tujuan sesuai yang diharapkan dari mengonsumsi daging ikan yaitu memenuhi kebutuhan protein. Oleh karena itu, dibutuhkan penanganan seperti penambahan garam sebelum daging ikan dimasak untuk mengurangi kontaminasi bakteri tersebut.

Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa nilai kadar protein akan semakin menurun seiring dengan bertambahnya konsentrasi garam yang ditambahkan. Nilai kadar protein pada perlakuan penambahan konsentrasi garam 0%, 5%, 10% dan 15% dibawah kandungan gizi daging ikan lele secara umum. Berdasarkan hal tersebut dapat dikatakan bahwa pada konsentrasi garam tinggi juga akan menurunkan kandungan protein pada daging ikan lele yang terinfeksi *E. tarda*. Tetapi, dapat dilihat dari hasil TPC bahwa semakin tinggi konsentrasi garam yang ditambahkan maka nilai TPC akan semakin rendah. Sehingga perlu dihimbau kepada konsumen bahwa penanganan dengan garam akan lebih baik daripada tidak menggunakan garam meskipun akan menurunkan nilai gizi terutama protein. Akan tetapi, nilai TPC semakin rendah seiring dengan bertambahnya konsentrasi garam. Sehingga hal ini menjadi alasan bahwa ikan lele sebelum dikonsumsi lebih baik melalui proses penanganan menggunakan garam terlebih dahulu.

#### 4.2.3 Analisa Kadar Garam

Uji kadar garam menggunakan metode *mohr* titrasi argentometri. Hasil analisa kadar garam pada daging ikan lele (*C. batrachus*) tanpa infeksi dan infeksi *E. tarda* didapatkan hasil pada Tabel 22.

Tabel 22. Hasil analisa kadar garam

Perlakuan (Garam)	Ulangan			Rata-rata	Stdev
	1	2	3		
Garam 0%	0,77	0,11	0,10	0,33	0,38
Garam 5%	4,63	6,05	5,68	5,45	0,74
Garam 10%	8,82	11,05	10,77	10,21	1,21
Garam 15%	12,19	13,80	13,71	13,23	0,90
Infeksi, Garam 0%	0,75	0,09	0,42	0,42	0,33
Infeksi, Garam 5%	5,65	7,07	6,36	6,36	0,71
Infeksi, Garam 10%	8,75	10,98	9,87	9,87	1,12
Infeksi, Garam 15%	11,41	13,02	12,22	12,22	0,81

Sumber : Data Primer, 2019.

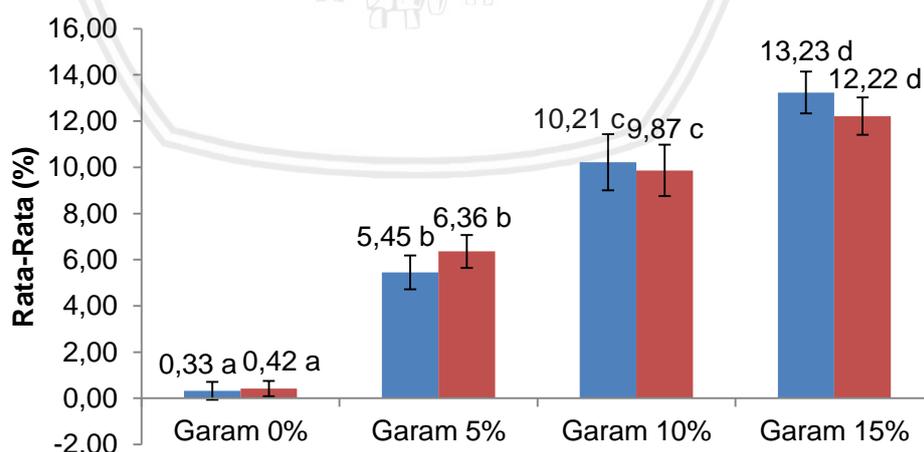
Berdasarkan tabel tersebut dapat uji statistik Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan analisis ANOVA dan uji lanjut Duncan pada taraf 5% menggunakan aplikasi SPSS versi 16. Hasil analisis ANOVA pada uji Kadar garam dapat dilihat pada Tabel 23.

Tabel 23. Hasil analisis ANOVA uji kadar garam

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	524.091	7	74.870	109.132	.000
Within Groups	10.977	16	.686		
Total	535.067	23			

Sumber : Data Primer, 2019

Hasil pengujian analisis ANOVA nilai uji kadar garam didapatkan hasil sig. < 0,05 yang berarti terdapat perbedaan nyata terhadap semua perlakuan dalam penelitian. Maka dari itu dilakukan uji lanjut Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dalam penelitian. Analisis kadar garam menggunakan aplikasi SPSS versi 16 beserta tabel uji Duncan disajikan pada Lampiran 33. Hasil grafik uji kadar garam disajikan pada Gambar 19.



Gambar 19. Grafik uji kadar garam (Data Primer, 2019)

Berdasarkan hasil uji kadar garam pada daging tanpa infeksi dan infeksi *E. tarda* pada Gambar 19. dapat dilihat bahwa nilai kadar garam

tanpa infeksi cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan infeksi. Tetapi berdasarkan uji lanjut Duncan tidak ada pengaruh nyata pada perlakuan tanpa infeksi maupun infeksi terhadap nilai kadar garam yang ditunjukkan dengan notasi yang sama. Pada daging tanpa infeksi didapatkan hasil nilai kadar garam yang meningkat yaitu dari 0,33% pada kadar garam 0% menjadi 13,23% pada kadar garam 15%. Sedangkan pada daging yang terinfeksi *E. tarda* didapatkan hasil nilai kadar garam yang meningkat dari 0,42% pada kadar garam 0% menjadi 12,22% pada kadar garam 15%. Kandungan garam yang terdapat pada daging ikan lele tanpa infeksi dan dengan infeksi *E. tarda* perlakuan penambahan garam 0% diperoleh dari adanya garam yang terkandung dalam tubuh ikan lele itu sendiri. Sedangkan peningkatan nilai kadar garam disebabkan karena penambahan konsentrasi garam yang terus meningkat dari 0% hingga 15% pada daging tanpa infeksi maupun dengan infeksi *E. tarda*. Menurut Basset (1994), ikan sudah mengandung garam dalam tubuhnya berupa NaCl saja. NaCl ini memiliki peran untuk menjaga keseimbangan tubuhnya. Menurut Burhanuddin (2001), garam memiliki karakteristik higroskopis. Dimana garam mampu menyerap air dalam bahan. Jadi ketika garam ditambahkan pada daging ikan akan menurunkan kadar air dalam daging. Sehingga semakin banyak konsentrasi garam yang ditambahkan pada daging ikan juga akan meningkatkan nilai kadar garam karena garam akan berpenetrasi kedalam tubuh ikan.

Hasil uji lanjut Duncan menggunakan SPSS versi 16 didapatkan hasil yang disajikan pada Tabel 24.

Tabel 24. Hasil uji lanjut Duncan nilai kadar garam

Perlakuan	Rata-rata
Garam 0%	0,33 <sup>a</sup>
Garam 5%	5,45 <sup>b</sup>
Garam 10%	10,21 <sup>c</sup>
Garam 15%	13,23 <sup>d</sup>
Infeksi, Garam 0%	0,42 <sup>a</sup>
Infeksi, Garam 5%	6,36 <sup>b</sup>
Infeksi, Garam 10%	9,87 <sup>c</sup>
Infeksi, Garam 15%	12,22 <sup>d</sup>

Sumber : Data Primer, 2019.

Berdasarkan tabel uji lanjut Duncan tersebut dapat dilihat bahwa terdapat pengaruh nyata antar perlakuan penambahan garam dari 0% hingga 15%. Sedangkan pada perlakuan tanpa penginfeksi dan dengan penginfeksi *E. tarda* tidak terdapat pengaruh nyata antar perlakuan. Berdasarkan hasil tersebut dapat dilihat bahwa perlakuan penambahan garam pada daging ikan lele (*C. batrachus*) ialah faktor yang berpengaruh terhadap meningkatnya nilai kadar garam. Sedangkan penginfeksi *E. tarda* pada daging ikan lele (*C. batrachus*) tidak berpengaruh terhadap kenaikan nilai kadar garam.

Bahan tambahan pangan yang sejak lama sudah dikenal oleh masyarakat untuk mencegah kebusukan ialah garam (NaCl). Garam ialah bahan pengawet yang aman dan tidak berefek toksik pada manusia. Garam dikatakan sebagai bahan pengawet karena mampu menghambat selektif mikroorganisme pencemar tertentu dan mampu mempengaruhi *water activity* suatu substrat. Sehingga garam mampu mengontrol pertumbuhan mikroba (Yusmita, 2017). Garam dapat membantu menyeimbangkan kembali proses osmoregulasi dan memacu daya tahan tubuh ikan terhadap penyakit yang diderita oleh ikan tersebut (Basset, 1994).

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan perubahan gizi pada daging ikan lele (*C. batrachus*) yang terinfeksi *E. tarda* secara artifisial dengan perlakuan penambahan konsentrasi garam yang berbeda. Penambahan konsentrasi garam yang berbeda berpengaruh terhadap kadar air, kadar abu, kadar protein dan kadar lemak daging ikan lele (*C. batrachus*) yang terinfeksi *E. tarda*. Pada analisa proksimat nilai kadar air konsentrasi garam 0% dan 5% masuk *range* dan pada konsentrasi garam 10% dan 15% dibawah kandungan gizi daging ikan lele secara umum, nilai kadar abu berada diatas kandungan gizi daging ikan lele secara umum, nilai kadar protein dibawah kandungan gizi daging ikan lele, serta nilai kadar lemak juga dibawah kandungan gizi daging ikan lele.

### 5.2 Saran

Saran pada penelitian ini yaitu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penambahan bahan tambahan pangan alami selain garam yang bersifat antimikroba yang dapat mengurangi kontaminasi *E. tarda* sehingga aman untuk dikonsumsi dan tidak menurunkan gizi daging ikan tersebut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adinugraha, B. S dan Taswati, N. W. 2017. Rancangan acak lengkap dan rancangan acak kelompok pada bibit ikan. ISBN : 978-602-61599-6-0.
- Arief, M., Irene, P dan Rahayu, K. 2010. Pengaruh pemberian beberapa bakteri terhadap kelangsungan hidup benih ikan lele dumbo (*Clarias* sp). *JIPK*. **2**(2): 193-198.
- Asniatih., Muhammad, I dan Kadir, S. 2013. Studi histopatologi pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Mina Laut Indonesia*. **3**(12): 13-21.
- Atma, Y. 2016. Angka lempeng total (ALT), Angka paling memungkinkan (APM) dan total kapang khamir sebagai metode analisis sederhana untuk menentukan standar mikrobiologi pangan olahan. *Posdaya*. **8**(2): 77-82.
- Aventi. 2015. Penelitian pengukuran kadar air buah. ISSN: 2460-8896. Hlm. 12-27.
- Badan Standarisasi Nasional. 2015. Standar Nasional Indonesia (SNI 2354.2: 2015). Cara Uji Kimia - Bagian 2: Pengujian Kadar Air Pada Produk Perikanan. Dewan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Badan Standarisasi Nasional. 2010. Standar Nasional Indonesia (SNI 2354.1:2010). Cara Uji Kimia - Bagian 1: Penentuan Kadar Abu dan Abu Tak Larut Dalam Asam Pada Produk Perikanan. Dewan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Badan Standarisasi Nasional. 2006. Standar Nasional Indonesia (SNI 01-2354.4-2006). Cara Uji Kimia - Bagian 1: Penentuan Kadar Protein dengan Metode Total Nitrogen pada Produk. Dewan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Badan Standarisasi Nasional. 2006. Standar Nasional Indonesia (SNI 01-2354.3-2006). Cara Uji Kimia - Bagian 3: Penentuan Kadar Lemak Total pada Produk Perikanan. Dewan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Badan Standarisasi Nasional. 2011. Standar Nasional Indonesia (SNI 7663:2011). Identifikasi *Edwardsiella tarda* secara Morfologis, Fisiologis dan Biokimia. Dewan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Badan Standarisasi Nasional. 2013. Standar Nasional Indonesia (SNI 2729:2013). Ikan Segar. Dewan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Badan Standarisasi Nasional. 2015. Standar Nasional Indonesia (SNI 2332.3:2015). Cara Uji Mikrobiologi - Bagian 3: Penentuan Angka

- Lempeng Total (ALT) Pada Produk Perikanan. Dewan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Basset. 1994. Efektivitas Garam Dalam Mengatur Keseimbangan Tubuh Ikan. Jakarta: Balai Pustaka.
- Bimantara, A. 2018. Uji proximat daging ikan lele yang dibudidayakan dengan perbedaan manajemen kualitas air dan pakan. *JIPK*. **10**(1): 55-62.
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A and Mietzner, T. A. 2010. Jawetz, Melnick, & Adelberg Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta: EGC.
- Burhanuddin. 2001. Kompisisi Garam untuk Menghambat Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Yogyakarta: Publisher Press.
- Castro, N., A. E. Toranzo., S. Nunez and B. Magarinos. 2011. Evaluation of the selective and differential ET medium for detection of *Edwardsiella tarda* in aquaculture systems. *Microbiology*. (53): 114-119.
- Christina, Y., Anissa, T., Deti, A. E., Fanny, A., Ratih, D. S., Novitri., Tetinia, G., Ahmad, K. R., Retno, D. J., Erfiani dan Irzaman. 2016. Analisis statistik efisiensi energi penggunaan tungku sekam sebagai bahan bakar alternatif rumah tangga. *Prosiding Seminar Nasional Fisika (E-Journal)*. SNF2016.
- Dapazo, C. P., M. L. Lemos., C. Lodeiros., J. Bolinches, J. L. Barja and Alicia, E. T. 1988. Inhibitory activity of antibiotic-producing marine bacteria against fish pathogens. *Journal of Applied Bacteriology*. 65: 97-101.
- Darseno. 2010. Buku Pintar Budidaya & Bisnis Lele. Jakarta: AgroMedia Pustaka. Hlm. 25.
- Diarti, M. W., Erlin, Y. T dan Aden, T. 2016. Larutan pengencer alternatif NaCl 0,9% dalam pengecatan giemsa pada pemeriksaan morfologi spermatozoa. *Jurnal Kesehatan Prima*. **10**(2): 1709-1716.
- Ewing, W. H., A.C. McWhorter., M. R. Escobar and A. H. Lubin. 1965. *Edwardsiella*, a new genus of enterobacteriaceae based on a new species, *Edwardsiella tarda*. *International Bulletin Of Bacteriological Nomenclature and Taxonomy*. **15**(1): 33-38.
- Hadiwiyoto, S. 2019. Hubungan keadaan kimiawi dan mikrobiologik ikan pindang naya pada penyimpanan suhu kamar dengan sifat organoleptiknya. *Agritech*. **15**(1): 19-23.
- Hafiludin. 2011. Karakteristik proksimat dan kandungan senyawa kimia daging putih dan daging merah ikan tongkol (*Euthynnus affinis*). *Jurnal Kelautan*. **4**(1): 1-10.

- Hasan, B., Desmelati., Dian, I., Titania, N., M. Andesba, A dan Andhra, S. 2015. Aktivitas enzim protease dan lipase viscera ikan kembung (*Restrelliger sp.*) pada ph dan konsentrasi garam berbeda. **43(2)**: 68-76.
- Himedia. 2011. Technical Data Mac Conkey Agar. Mumbai: Swastik Disha Bussiness Park.
- Hirai, Y., Sayaka, A. T., Yusuke, A., Takahiro, F dan Ken, K. 2015. *Edwardsiella tarda* bacteremia, a rare but fatal water and foodborne infection: review of the literature and clinical cases from a single centre. *Infect Dis Med Microbiol.* **26(6)**: 313-318.
- Huda. C., Salni dan Melki. 2012. Penapisan aktivitas antibakteri dari bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak *Sarcophyton sp.* *Maspari Journal.* **4(1)**: 69-76.
- Januar, W., Siti, K dan Ahmad, M. 2013. Kemampuan isolat bakteri pendegradasi lipid dari instalasi pengolahan limbah cair PPKS PTPN-XIII Ngabang Kabupaten Landak. **2(3)**: 136-140.
- Kartikaningsih, H., Qurrota, A., Agoes, S dan Nasrullah, B. A. 2018. Isolation and identification of bacteria from catfish (*Clarias sp.*) attacked by edwardsiellosis. *AIP Publishing.*
- KEPMEN KP RI. 2010. Keputusan Menteri Kelautan Dan Perikanan Republik Indonesia No. 03 Tahun 2010.
- Kerlinger, F. 1973. Foundations of Behavioral Research (2<sup>nd</sup> Edition) Holt, Rinehart and Winston.
- Khairuman dan Khairul, A. 2008. Buku Pintar Budi Daya 15 Ikan Konsumsi. Tangerang: PT. AgroMedia Pustaka. Hlm. 84.
- Kusuma, A. A., Eko, N. D dan Ima, W. 2017. Perbedaan jumlah nutrisi yang hilang pada bandeng beku non cabut duri dan cabut duri selama penyimpanan suhu rendah. *JPHPI.* **20(1)**: 153-163.
- Lisa, M., Musthofa, L dan Bambang, S. 2015. Pengaruh suhu dan lama pengeringan terhadap mutu tepung jamur tiram putih (*Plaerotus ostreatus*). *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem.* **3(3)**: 270-279.
- Lizayana., Mudatsir dan Iswadi. 2016. Densitas bakteri pada limbah cair pasar tradisional. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Biologi.* **1(1)**: 95-106.
- Majid, A., Tri, W. A dan Laras, R. 2014. Pengaruh perbedaan konsentrasi garam terhadap mutu sensori dan kandungan senyawa volatil pada terasi ikan teri (*Stolephorus sp.*). *JPBHP.* **3(2)**: 17-24.
- Mardiah, A., Dwi, S dan Desrita. 2017. Efektivitas ekstrak kulit batang *Rhizophora mucronata* sebagai antibakteri untuk mencegah

- perkembangan bakteri *Edwardsiella tarda* pada ikan mas (*Cyprinus carpio* L.). Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Meliawaty, F. 2012. Efisiensi sterilisasi alat bedah mulut melalui inovasi oven dengan ozon dan infrared. *JKM*. **11**(2): 147-167.
- Melwita, E., Fatmawati dan Santy, O. 2014. Ekstraksi minyak biji kapuk dengan metode ekstraksi soxhlet. *Teknik Kimia*. **1**(20): 20-27.
- Mudatsir. 2012. Penggunaan darah kadaluarsa sebagai media isolasi dan identifikasi *Streptococcus faecalis*. Fakultas Kedokteran. Universitas Syiah Kuala Darussalam Banda Aceh.
- Mustar. 2013. Studi pembuatan abon ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*) sebagai makanan suplemen (*Food Supplement*). Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Narwiyani, S dan Kuriasih. 2011. Perbandingan patogenitas, *Edwardsiella tarda* pada ikan mas koki (*Charassius auratus*) dan ikan celebes rainbow (*Telmatherina celebensis*). *J. Ris. Akuakultur*. **6**(2): 291-301.
- Noviyanti, T., Puji, A dan Winda, R. 2012. Pengaruh temperatur terhadap aktivitas enzim protease dari daun sansakng (*Pycnarrhena cauliflora* Diels). *JKK*. **1**(1): 31-34.
- Nufus, B. N., Galuh, T dan Faturrahman. 2016. Populasi bakteri normal dan bakteri kitinolitik pada saluran pencernaan lobster pasir (*Panulirus homarus* L.) yang diberi kitosan. *Jurnal Biologi Tropis*. **16**(1):15-23.
- Nurjanna dan Ahmadirrahman, F. 2010. Penentuan bakteri sulfat reducing bacteria (SRB) dan sulfur oxidazing bacteria (SOB) dengan menggunakan pelarut yang berbeda. *Media Akuakultur*. **5**(1): 47-50.
- Oktadina, F. D., Bambang, D. A dan M. Bagus, H. 2013. Pemanfaatan nanas (*Ananas Comosus* L. Merr) untuk penurunan kadar kafein dan perbaikan citarasa kopi (*Coffea* Sp) dalam pembuatan kopi bubuk. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem*. **1**(3): 265-273.
- Olaniyi, W. A., Olukayode, A. M and Ofelia, G. O. 2017. Comparison of proximate composition and sensory attributes of *Clariid* catfish species of *Clarias gariepinus*, *Heterobranchus bidorsalis*, and their hybrids. *Food Science & Nutrition*. **5**(2): 285-291.
- Pahlevi, A. E. 2012. Determinasi status gizi pada siswa sekolah dasar. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. **7**(2): 122-126.
- Park, S. B., Takashi, A and Tae, S. J. 2012. Pathogenesis of and strategies for preventing *Edwardsiella tarda* infection in fish. *Veterinary Research*. **43**(67): 2-11.

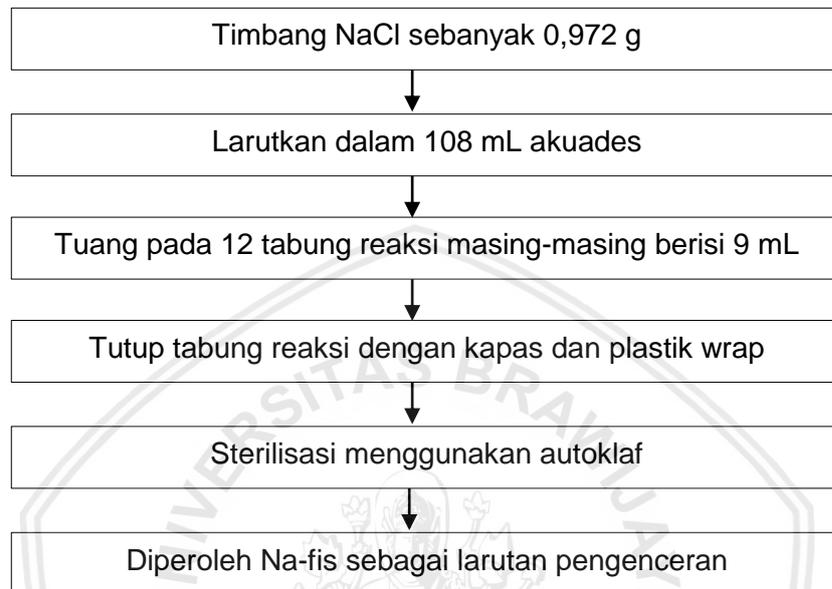
- Prihanto, A. A., Hanan, D. L., Aziz, A. J., Rahmi, N dan Ken, A. P. 2018. Isolasi dan identifikasi bakteri endofit *mangrove Sonneratia alba* penghasil enzim gelatinase dari pantai sendang biru, malang, jawa timur. *Indonesian Journal of Halal*. ISSN: 2623-162X.
- Rahmani., Yunianta dan Erryana, M. 2007. Pengaruh metode penggaraman basah terhadap karakteristik produk ikan asin gabus (*Ophiocephalus striatus*). *Jurnal Teknologi Pertanian*. **8**(8): 142-152.
- Rakhmat, J. 1990. Metode Penelitian Komunikasi. Bandung: Remaja Rosda Karya.
- Ratnawati, A., Uni, P dan Kurniasih. 2013. Histopatologis dugaan *Edwardsiella tarda* sebagai penyebab kematian ikan maskoki (*Crassius auratus*): postulat koch. *Jurnal Sain Veteriner*. **31**(1): 55-65.
- Rizal, M. S., Enny, S dan Suprihana. 2016. Pengaruh waktu dan suhu sterilisasi terhadap susu sapi rasa coklat. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*. **10**(1): 20-30.
- Sahriawati. 2016. Optimasi proses ekstraksi minyak ikan metode soxhletasi dengan variasi jenis pelarut dan suhu berbeda. *Jurnal Galung Tropika*. **5**(3): 164-170.
- Salosa, Y. Y. 2013. Uji kadar formalin, kadar garam dan total bakteri ikan asin tenggiri asal kabupaten sarmi provinsi papua. *Depik*. **2**(1):10-15.
- Samosir, M. F., Dwi. S dan Desrita. 2017. Isolasi dan identifikasi bakteri potensial probiotik pada saluran pencernaan ikan mas (*Cyprinus carpio*). Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara.
- Sari, M. L., Arfan, A dan Merint. 2013. Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat pada usus ayam broiler. *Agripet*. **13**(1): 43-48.
- Sarida, M., Tarsim dan Iwan, F. 2010. Pengaruh ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* secara in vitro. *JPS*. **13**(3): 59-63.
- Soelama, H. J. J., Billy, J. K dan Krista, V. S. 2015. Uji minimum inhibitory concentration (MIC) ekstrak rumput laut (*Euचेuma cottonii*) sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal eGigi*. **3**(2): 374-379.
- Su'i, M., Harijono., Yunianta dan Aulani'am. 2010. Aktivitas hidrolisis enzim lipase dari kentos kelapa terhadap minyak kelapa. *Agritech*. **30**(3): 164-167.
- Supriadi, I., Joko, S dan Sandra, S. A. 2014. Viabilitas dan patogenitas *Edwardsiella tarda* pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang dibekukan pada suhu -20°C celcius. *JMPK*. **1**(1): 1-13.

- Suryana. 2010. Metodologi penelitian Model Praktis Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif Buku Ajar Perkuliahan. Jakarta: Universitas Pendidikan Indonesia.
- Sutrisno. 2007. Budi Daya Lele Kampung dan Lele Dumbo. Jakarta: Ganeca Exact. Hlm. 4-5.
- Ulfiana, R., Gunanti, M dan Hari, S. 2012. Tingkat kejadian aeromonas pada ikan koi (*Cyprinus carpio carpio*) yang terinfeksi *Myxobolous koi* at different degrees of infection. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **4**(2): 169-174.
- Utami, B. W. 2014. Potensi komoditas lele sebagai suplai bahan pangan hewani dan potensi agroindustri olahannya di kabupaten boyolali. *JSEP*. **7**(1): 9-16.
- Wahjuningrum, D., Muharram, N. I., Sukenda dan Yan, E. 2014. Penggunaan ekstrak kunyit sebagai pengendali infeksi bakteri *Edwardsiella tarda* pada ikan lele. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **13**(1): 1-10.
- Wahjuningrum, D., Acep, M. H dan Tatag, B. 2018. Karakterisasi bakteri patogen pada ikan sidat *Anguilla bicolor bicolor*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **17**(1): 94-103.
- Wahyudi. R dan Endang. T. W. M. 2017. Profil Protein Pada Ikan Tenggiri Dengan Variasi Penggaraman dan Lama Penggaraman Dengan Menggunakan Metode SDS-Page. ISBN : 978-602-61599-6-0.
- Wahyuni, R., Isnaeni dan Asri, D. 2014. Prospektif kombinasi susu probiotik *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* sebagai sediaan antidiare. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*. **3**(1): 42-47.
- Wahyuni, R. M., Arman, S., Mahdi, A., Erina., M. Hasan dan Zainuddin. 2018. Isolasi dan identifikasi bakteri enterik patogen pada badak sumatera (*Dicerorhinus sumatrensis*) di suaka rhino sumatera (SRS), taman nasional way kambas (TNWK), Lampung. *JIMVET*. **2**(4): 474-487.
- Wati, A. M., Mei, J. L dan Lilik, E. R. 2018. Physicochemical characteristic of fermented goat milk added with different starters lactic acid bacteria. *JITEK*. **13**(1): 54-62.
- Watson, J. J and F. H. White. 1979. Hemolysins of *Edwardsiella tarda*. *Can J Comp Med*. **43**(1): 78-83.
- Widyani, R dan Suciwati, T. 2008. Prinsip pengawetan pangan. Cirebon: Swagati Press.

- Wijaya, O., Boedi, S. R dan Prayogo. 2014. Pengaruh padat tebar ikan lele terhadap laju pertumbuhan dan survival rate pada sistem akuaponik. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **6**(1): 55-58.
- Winarno, F. G. 2004. Kimia Pangan dan Gizi. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka. Hlm 13-77.
- Winata, A., Kiki, Y dan Siti, H. 2015. Analisis korelasi harga dan mutu kimiawi kerupuk di pasar tradisional cinde Palembang. *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan*. **4**(2): 179-183.
- Yuliantoro, B., Helmizuryani dan Elfachmi. 2017. Keragaman bakteri patogen pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) di beberapa pembudidaya di kota Palembang. *Fiseries*. **6**(1): 1-6.
- Yuliastri, V., Ruddy, S dan Uju. 2015. Hasil penilaian organoleptik dan histologi lele asap pada proses pre-cooking. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. **18**(2): 190-204.
- Yusmita, L. 2017. Identifikasi konsentrasi natrium klorida (NaCl) pada jahe dan lengkuas giling di beberapa pasar tradisional di kota Padang. *Jurnal Teknologi Pertanian Andalas*. **21**(2): 122-126.
- Zailanie, K. 2015. Fish Handling. Malang: UB Press. Hlm. 58-60.
- Zhang, S., Shi, Y., Zhang, S., Shang, W., Gao, X and Wang, H. 2013. Whole soybeans as probiotic lactic acid bacteria carrier food in solid-state fermentation. *Food Control*. **41**(1): 1-6.

## LAMPIRAN

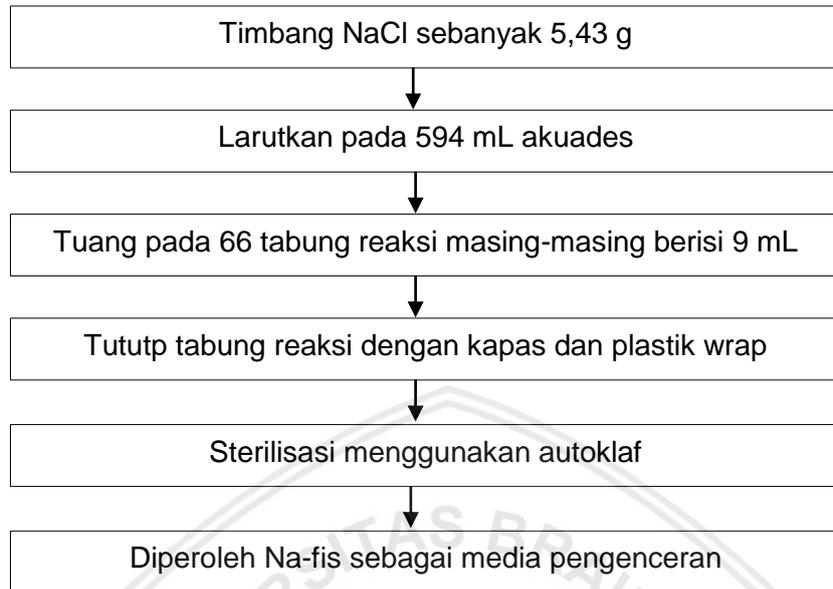
Lampiran 1. Skema kerja pembuatan larutan Na-fis untuk pengujian kepadatan bakteri



Rumus pembuatan larutan Na-fis :

$$\text{NaCl} = \frac{0,9}{100} \times 9 \text{ mL} \times 12 \text{ tabung reaksi}$$

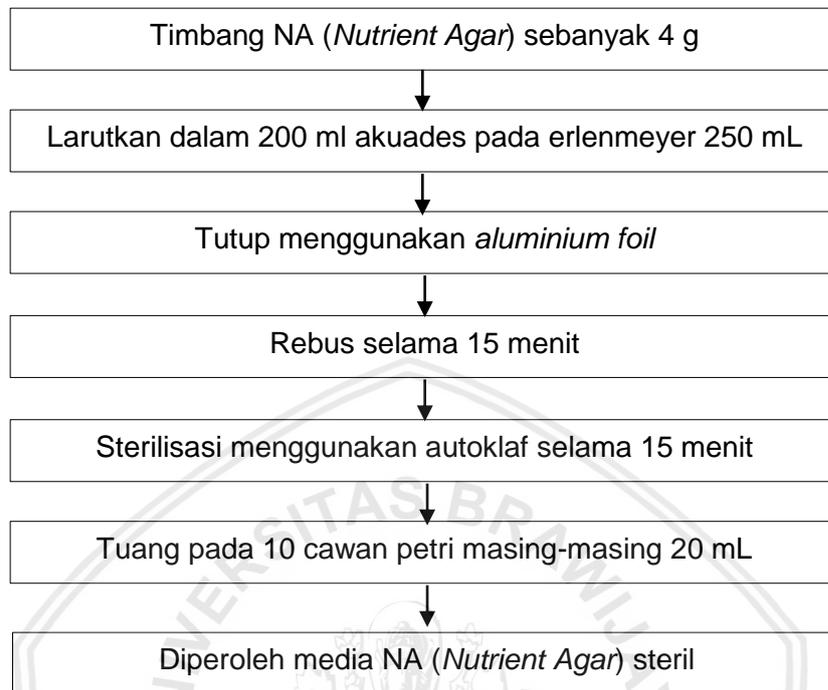
Lampiran 2. Skema kerja pembuatan larutan Na-fis untuk pengujian TPC



Rumus pembuatan larutan Na-fis :

$$\text{NaCl} = \frac{0,9}{100} \times 9 \text{ mL} \times 66 \text{ tabung reaksi}$$

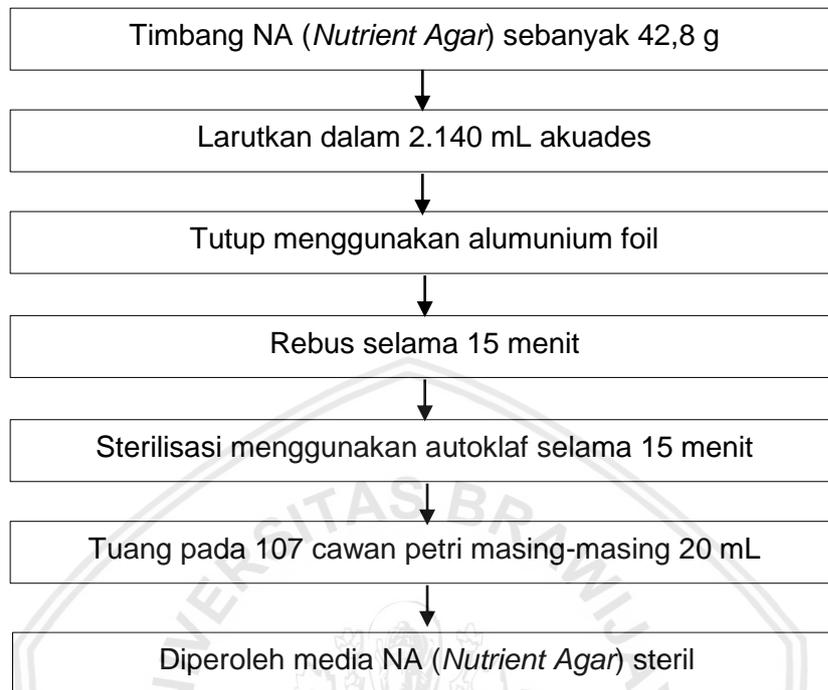
Lampiran 3. Skema kerja pembuatan media NA (*Nutrient Agar*) untuk pegujian kepadatan bakteri



Rumus pembuatan media NA :

$$NA = \frac{20}{1000} \times 20 \text{ mL} \times 10 \text{ cawan petri}$$

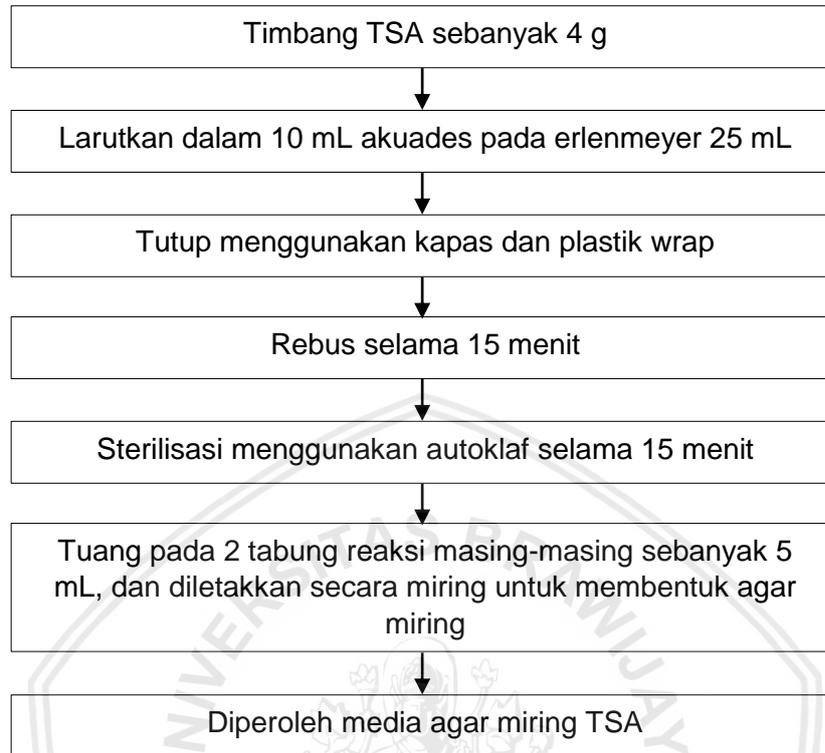
Lampiran 4. Skema kerja pembuatan media NA (*Nutrient Agar*) untuk pegujian TPC



Rumus pembuatan media NA :

$$NA = \frac{20}{1000} \times 20 \text{ mL} \times 107 \text{ cawan petri}$$

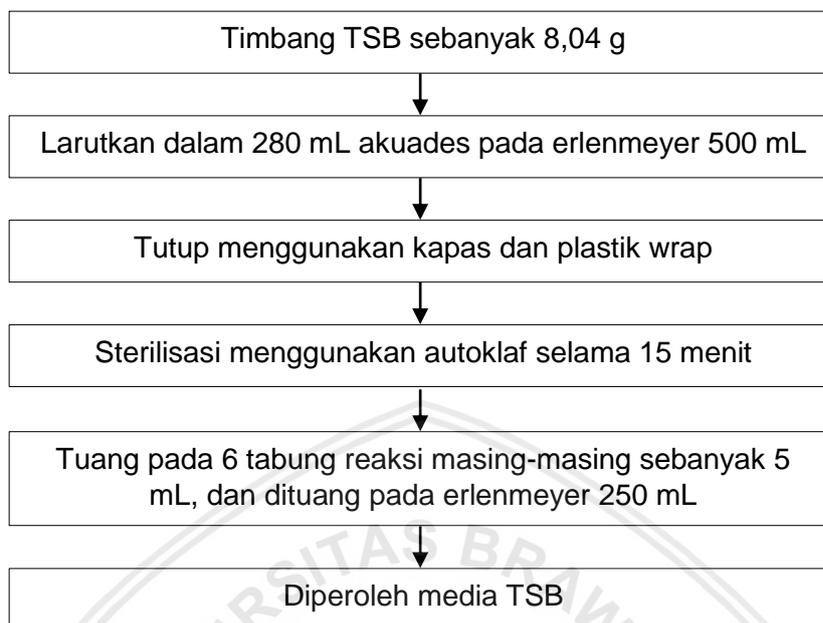
Lampiran 5. Skema kerja pembuatan media TSA (*Tryptone Soya Agar*)



Rumus pembatan media TSA :

$$\text{TSA} = \frac{40}{1000} \times 5 \text{ mL} \times 2 \text{ tabung reaksi}$$

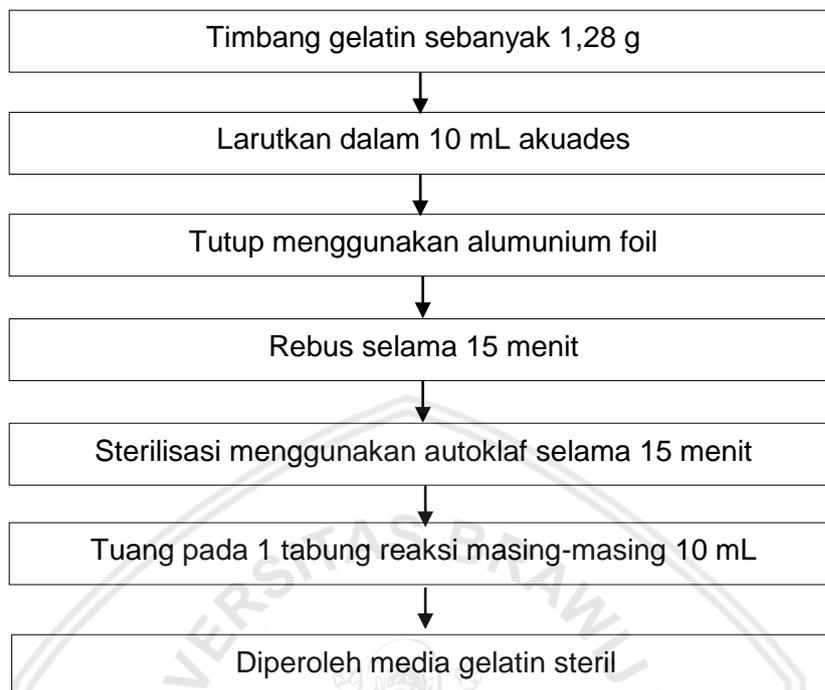
Lampiran 6. Skema kerja pembuatan media TSB (*Tryptone Soya Broth*)



Rumus pembuatan media TSB :

$$\text{TSB} = \frac{40}{1000} \times 5 \text{ mL} \times 6 \text{ tabung reaksi}$$

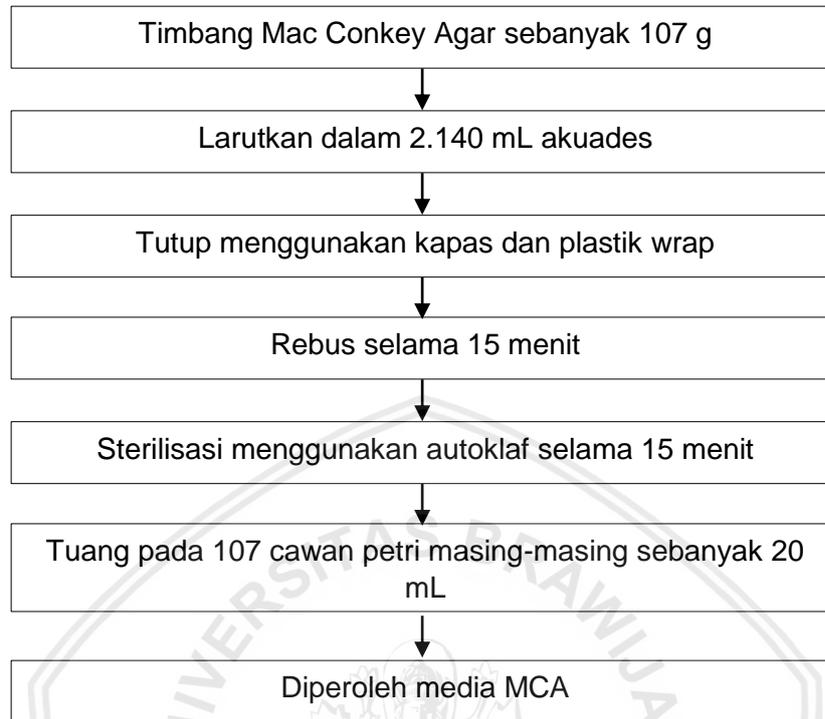
## Lampiran 7. Skema kerja pembuatan media gelatin



Rumus pembuatan media gelatin :

$$\text{Gelatin} = \frac{128}{1000} \times 10 \text{ mL} \times 1 \text{ tabung reaksi}$$

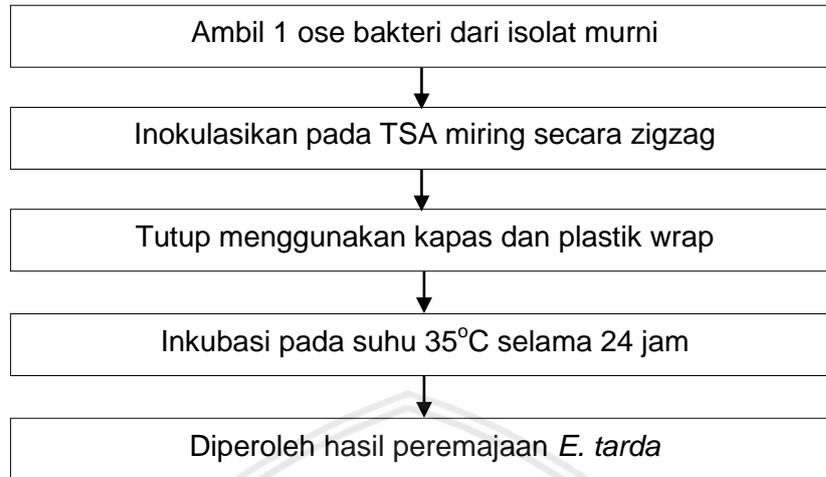
Lampiran 8. Skema kerja pembuatan media Mac Conkey Agar (MCA)



Rumus pembuatan media MCA :

$$\text{MCA} = \frac{50}{1000} \times 20 \text{ mL} \times 168 \text{ cawan petri}$$

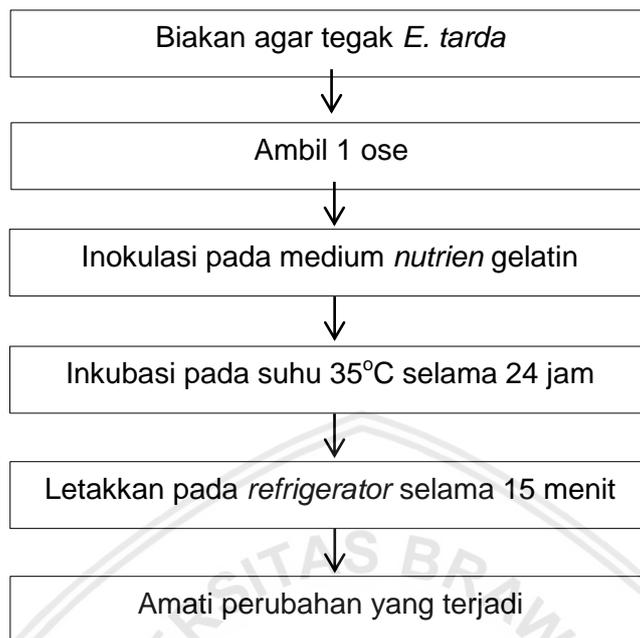
Lampiran 9. Skema kerja peremajaan *E. tarda*



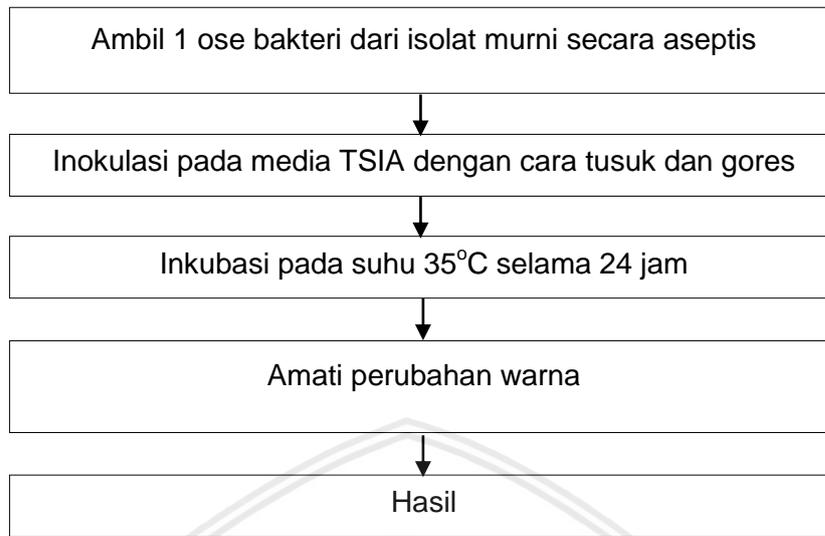
Lampiran 10. Skema kerja uji biokimia pewarnaan gram



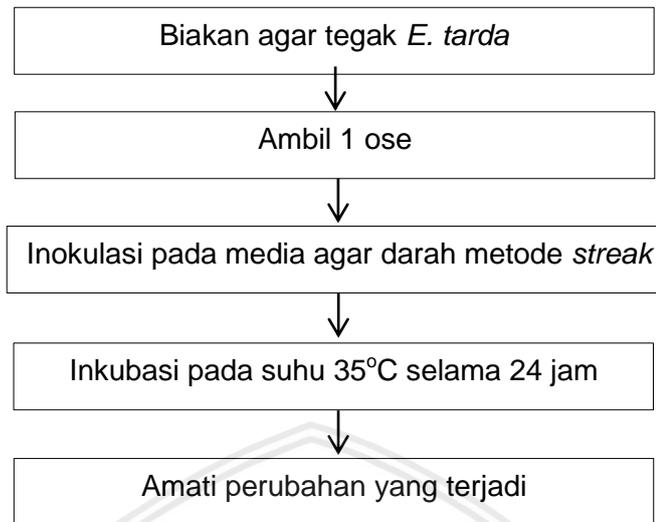
Lampiran 11. Skema kerja uji biokimia gelatin



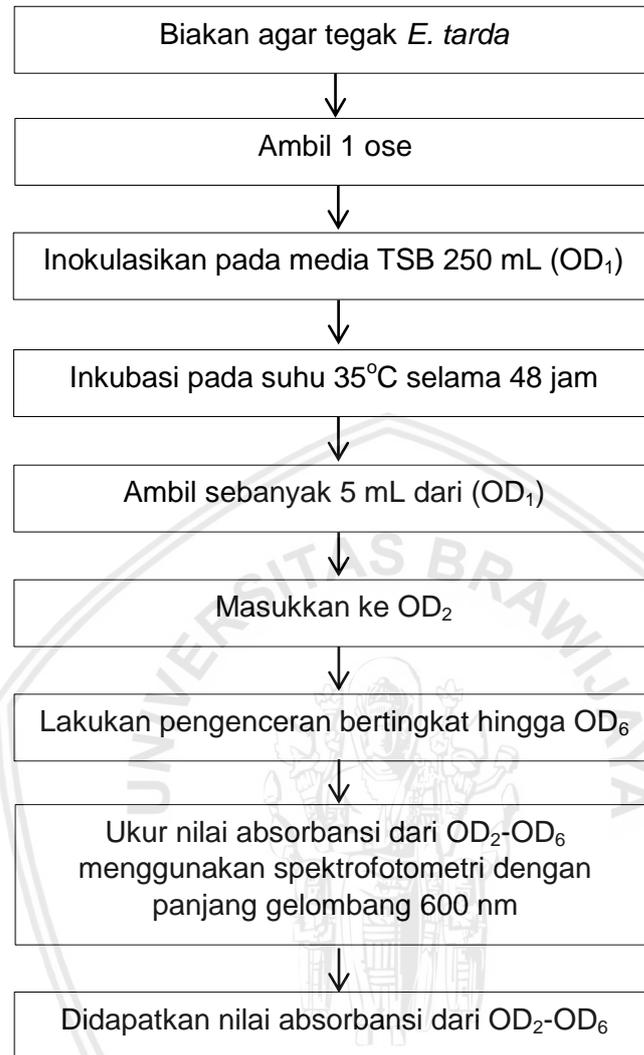
Lampiran 12. Skema kerja uji biokimia H<sub>2</sub>S pada media TSIA



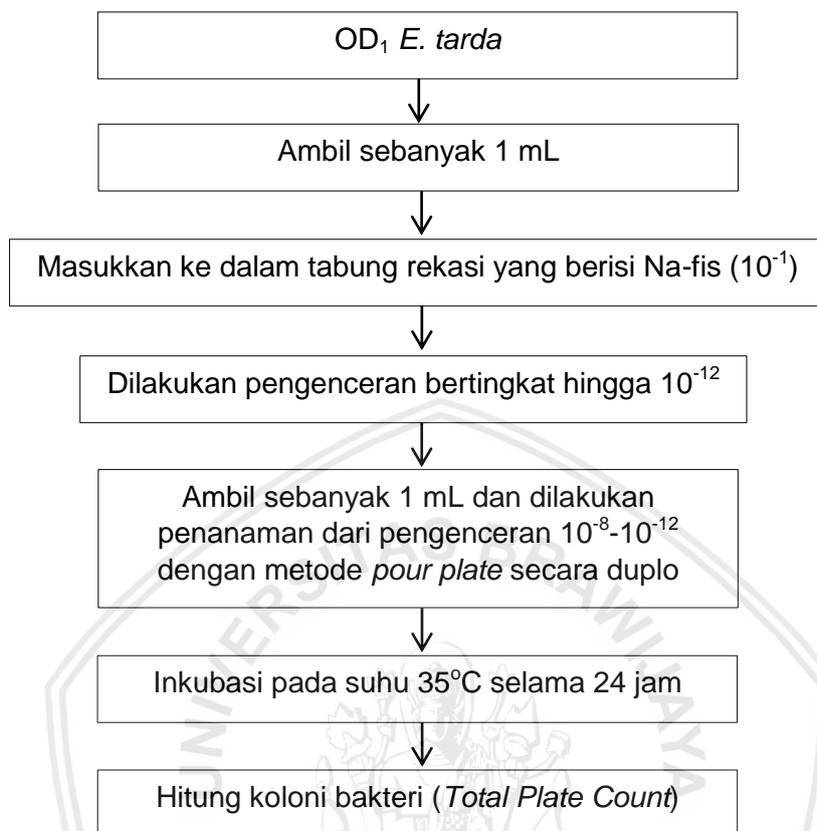
Lampiran 13. Skema kerja uji hemolisis pada media agar darah



Lampiran 14. Skema kerja kepadatan *E. tarda*



Lampiran 15. Skema kerja TPC kepadatan *E. tarda*



Rumus perhitungan jumlah koloni ialah sebagai berikut :

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times d}$$

Keterangan : N = Jumlah koloni produk (kol/mL)

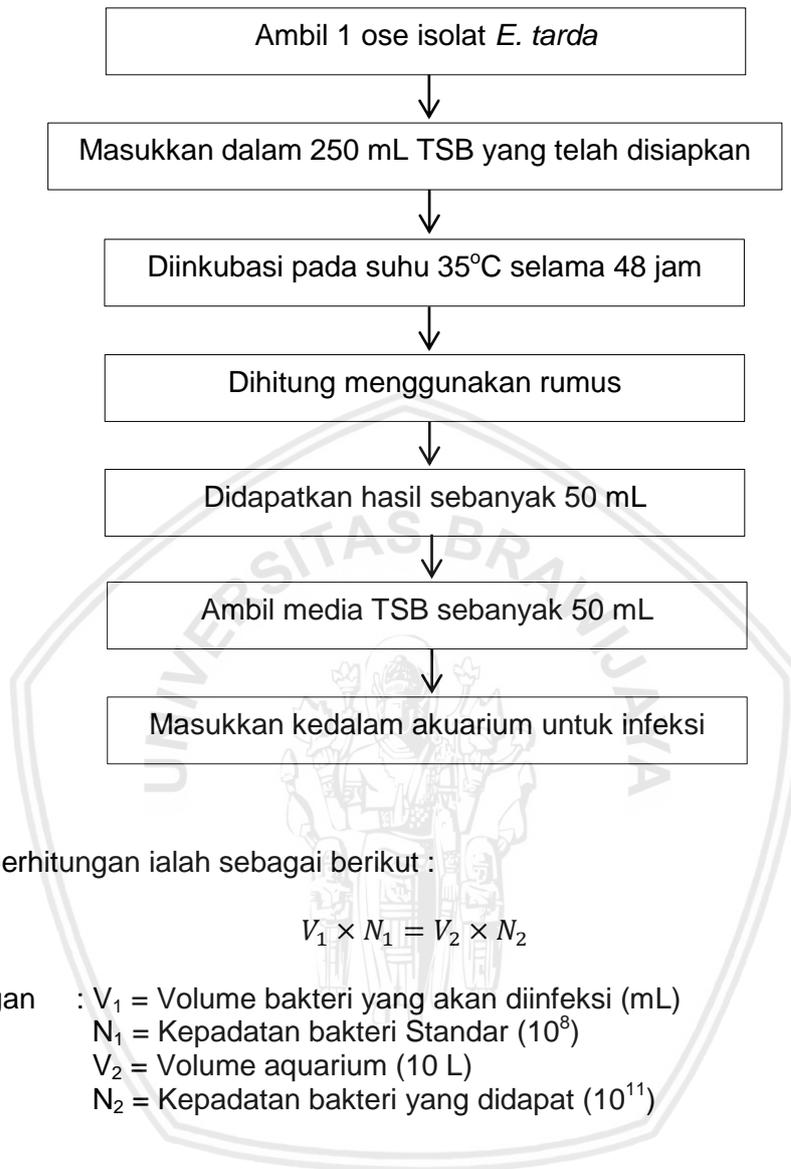
$\sum C$  = Jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung

$n_1$  = Jumlah cawan pengenceran pertama yang dihitung

$n_2$  = Jumlah cawan pengenceran kedua yang dihitung

d = Pengenceran pertama yang dihitung

Lampiran 16. Skema kerja kultur *E. tarda*

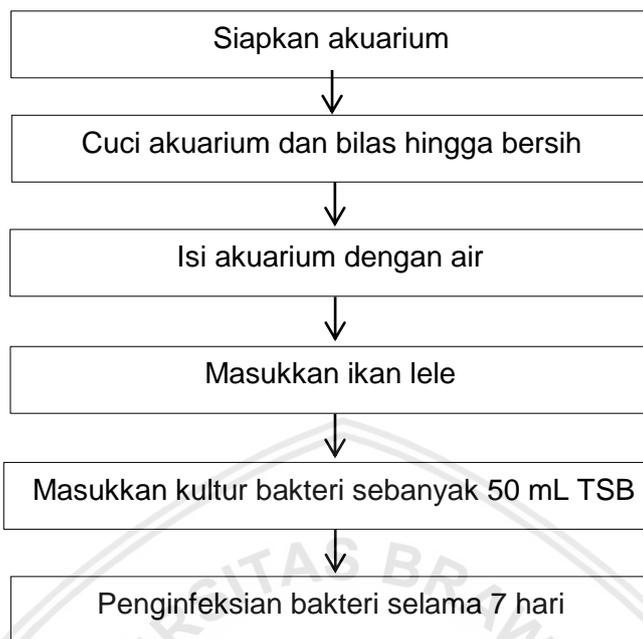


Rumus perhitungan ialah sebagai berikut :

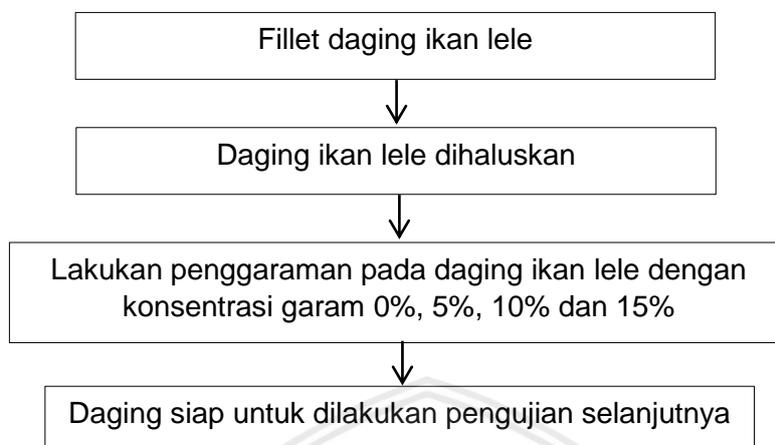
$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

Keterangan :  $V_1$  = Volume bakteri yang akan diinfeksi (mL)  
 $N_1$  = Kepadatan bakteri Standar ( $10^8$ )  
 $V_2$  = Volume aquarium (10 L)  
 $N_2$  = Kepadatan bakteri yang didapat ( $10^{11}$ )

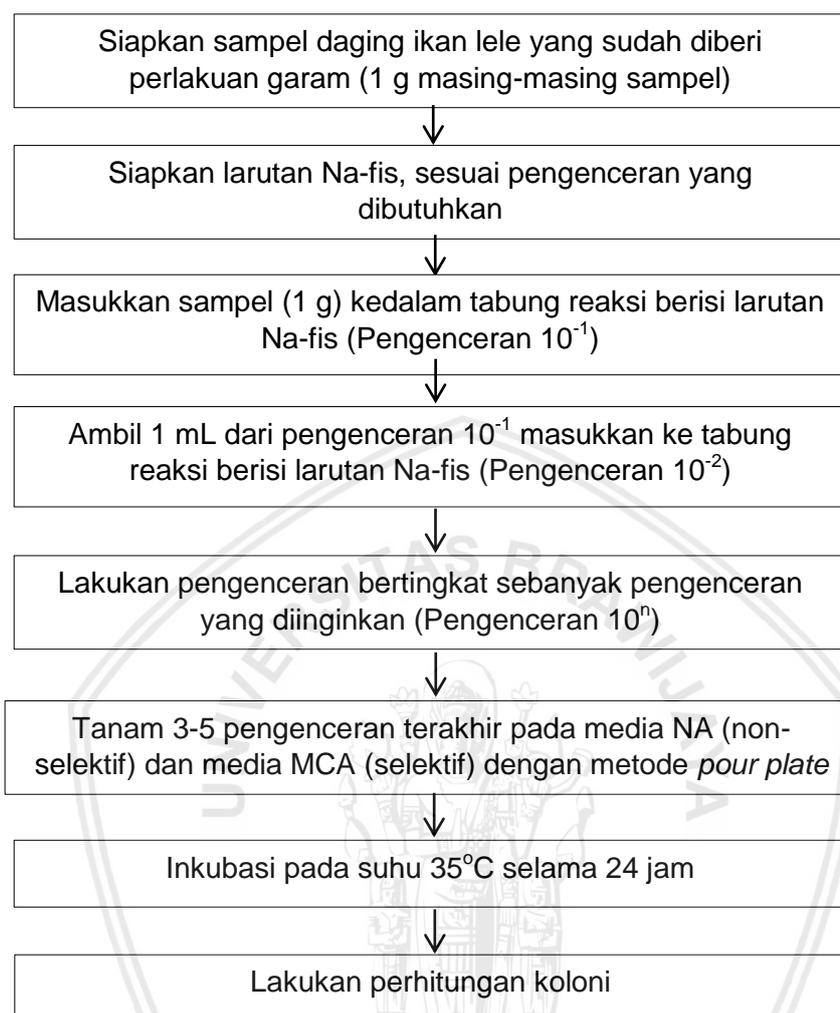
Lampiran 17. Skema kerja penginfeksian *E. tarda*



Lampiran 18. Skema kerja perlakuan garam pada daging ikan lele (*Clarias batrachus*)



## Lampiran 19. Skema Kerja Total Plate Count



Rumus perhitungan jumlah koloni ialah sebagai berikut :

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times d}$$

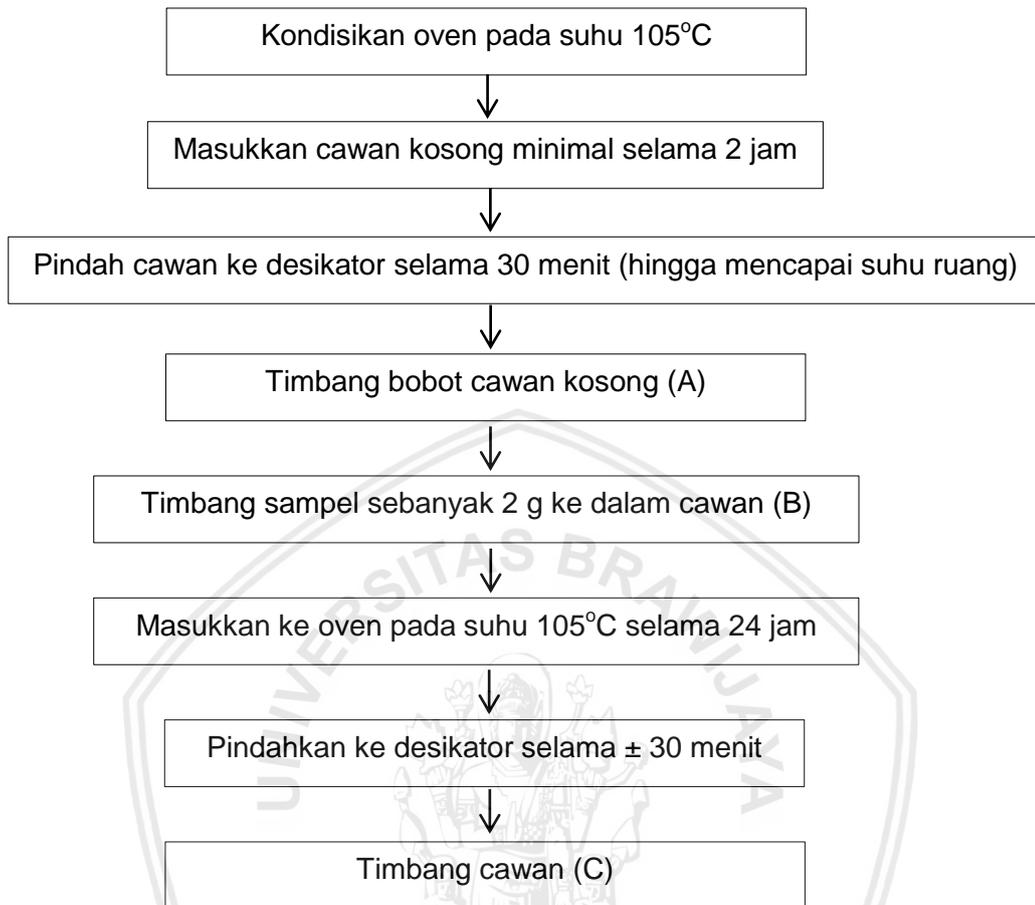
Keterangan : N = Jumlah koloni bakteri yang dihitung (kol/mL)

$n_1$  = Jumlah cawan pertama yang dihitung

$n_2$  = Jumlah cawan kedua yang dihitung

d = jumlah pengenceran pertama yang dihitung.

Lampiran 20. Skema kerja kadar air (SNI 2354.2:2015)



Rumus perhitungan kadar air ialah sebagai berikut :

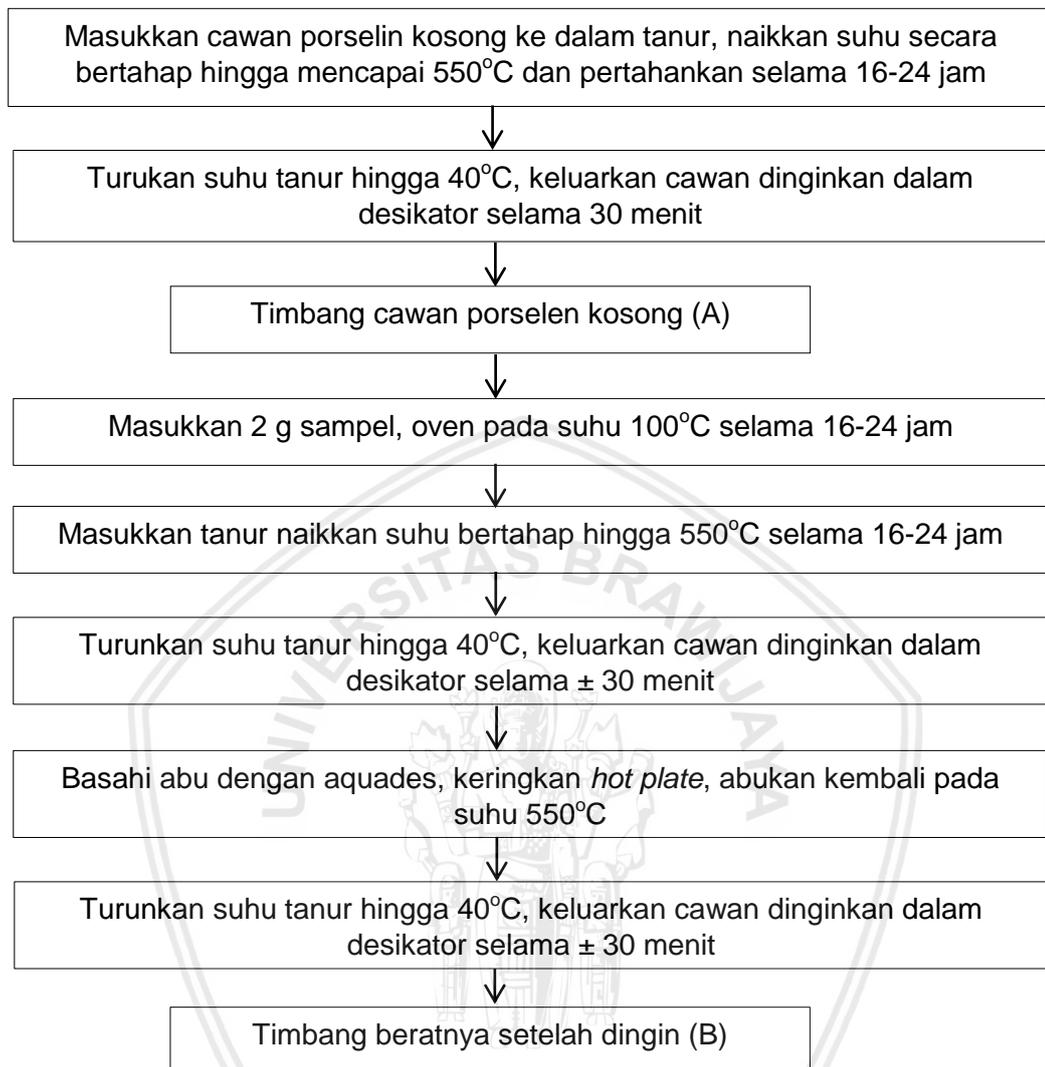
$$\text{Kadar air} = \frac{B - C}{B - A} \times 100\%$$

Keterangan : A : Berat cawan kosong (g)

B : Berat cawan + contoh awal (g)

C : Berat cawan + contoh kering (g)

Lampiran 21. Skema kerja kadar abu (SNI 2354.1:2010)

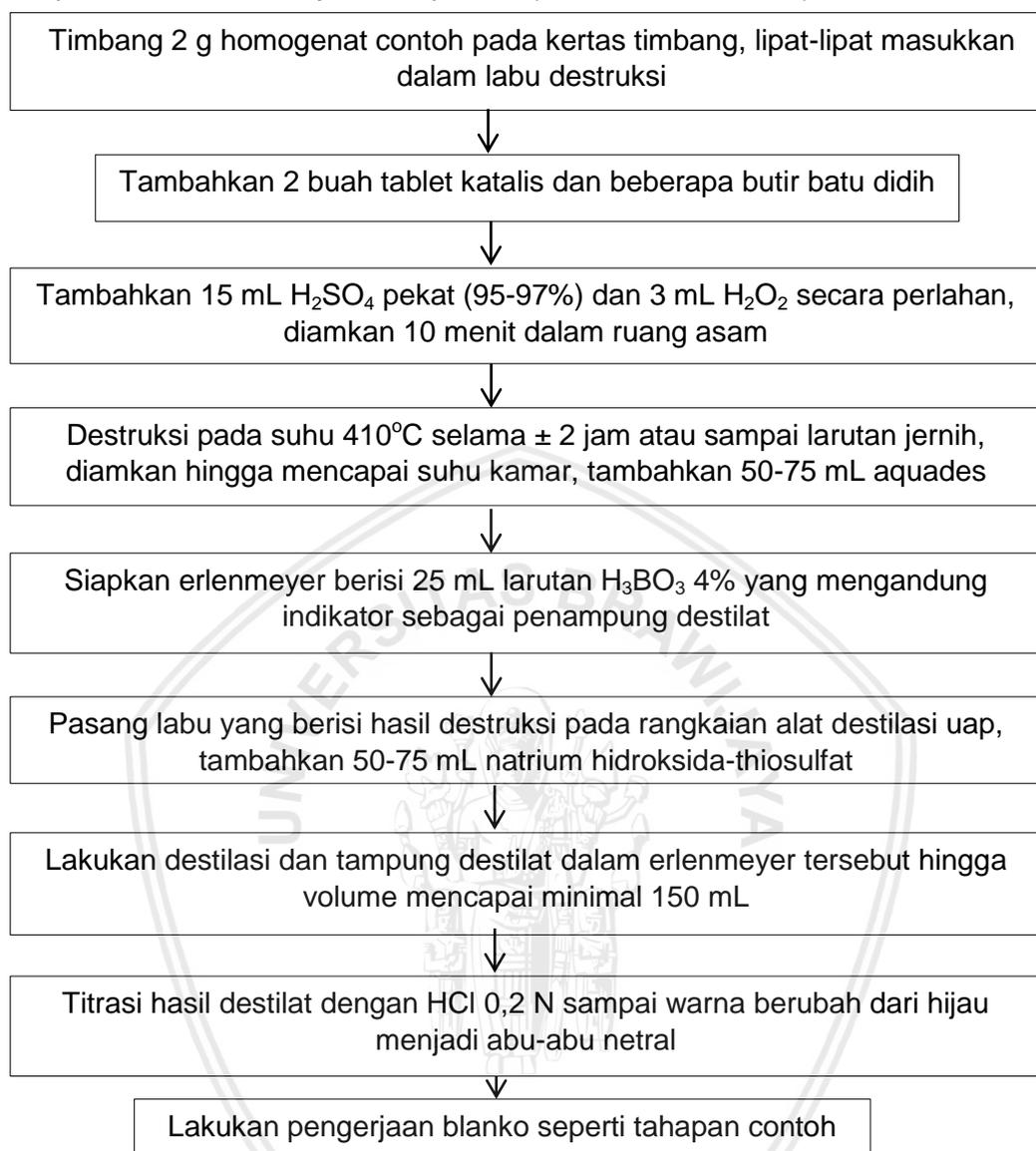


Rumus perhitungan kadar abu ialah sebagai berikut :

$$\text{Kadar abu} = \frac{B - A}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

Keterangan : A : Berat cawan porselen kosong (g)  
B : Berat cawan dengan abu (g)

Lampiran 22. Skema kerja kadar protein (SNI 01-2354.4:2006)

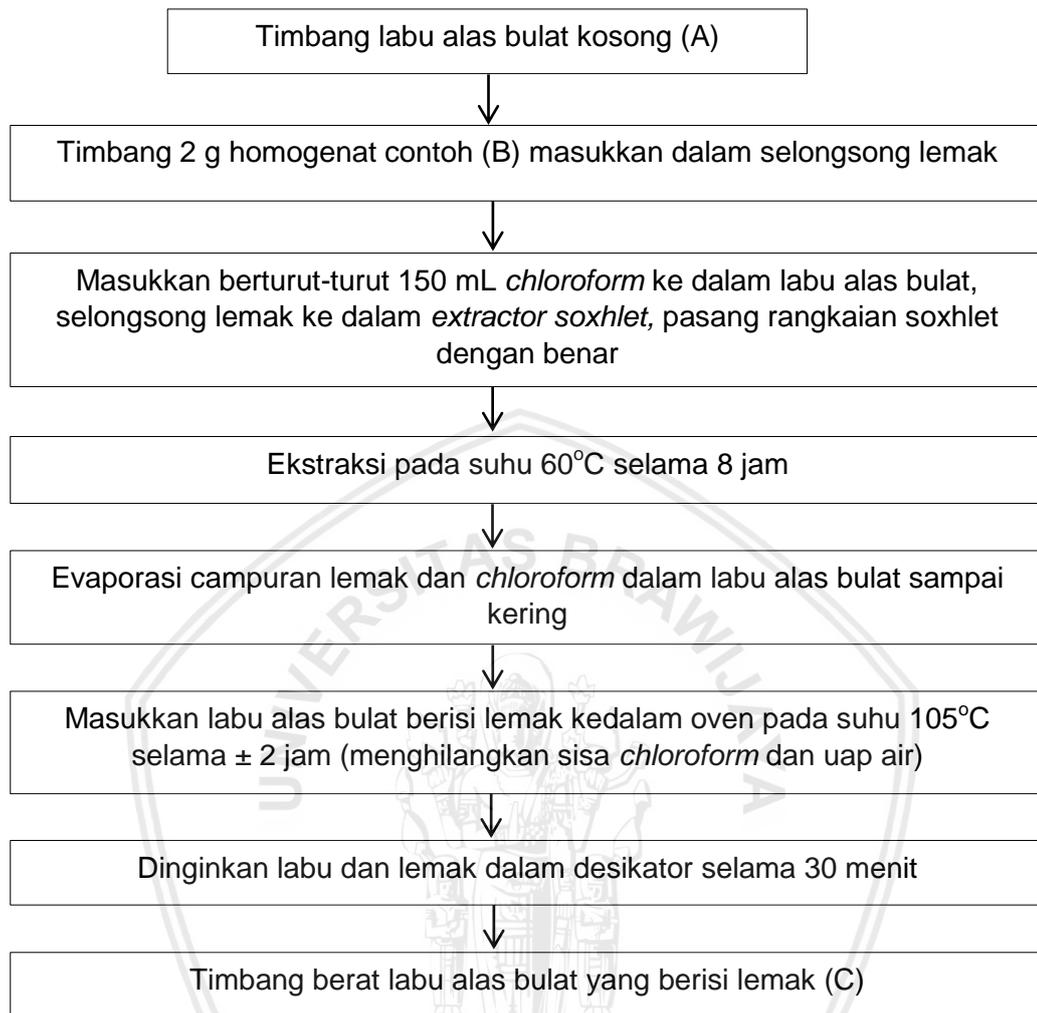


Rumus perhitungan protein ialah sebagai berikut :

$$\text{Kadar protein} = \frac{(V_A - V_B \times N \text{ HCl} \times 14,007 \times 6,25 \times 100\%)}{W \times 1000}$$

Keterangan :  
 $V_A$  : mL HCl untuk titrasi contoh  
 $V_B$  : mL HCl untuk titrasi blanko  
N : Normalitas HCl standar yang digunakan  
14,007 : Berat atom nitrogen  
6,25 : Faktor konversi protein untuk ikan  
W : Berat contoh

Lampiran 23. Skema kerja kadar lemak (SNI 01-2354.3-2006)



Rumus perhitungan kadar lemak ialah sebagai berikut :

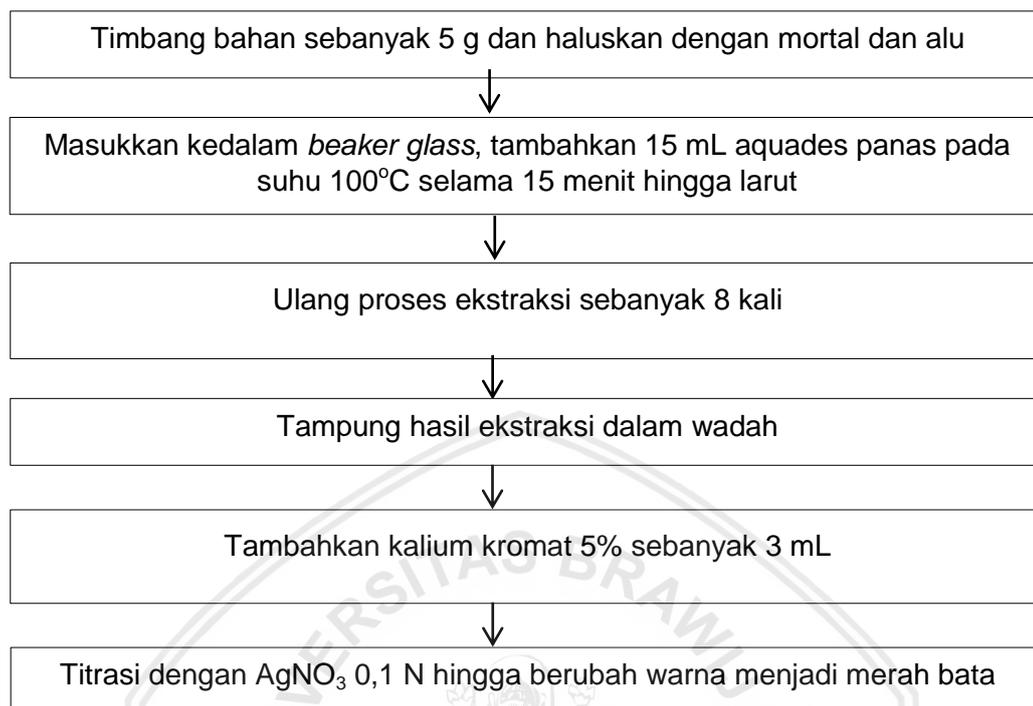
$$\% \text{ Lemak total} = \frac{(C - A) \times 100\%}{B}$$

Keterangan : A : Berat labu alas bulat kosong (g)

B : Berat contoh (g)

C : Berat labu alas bulat dan lemak hasil ekstraksi (g)

## Lampiran 24. Skema kerja uji kadar garam



Rumus perhitungan kadar garam ialah sebagai berikut :

$$\% \text{ Kadar NaCl} = \frac{(\text{mL AgNO}_3 \times \text{N AgNO}_3) \times 58,46}{\text{Berat bahan (g)} \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan : mL AgNO<sub>3</sub> : Volume AgNO<sub>3</sub> untuk titrasi sampel

N AgNO<sub>3</sub> : Normalitas AgNO<sub>3</sub>

58,46 : BM NaCl

Lampiran 25. Hasil analisis uji tpc non-selektif dengan aplikasi SPSS

**Descriptives**

TPC Non-selektif

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A	3	9.9300	.01000	.00577	9.9052	9.9548	9.92	9.94
B	3	8.7400	.02000	.01155	8.6903	8.7897	8.72	8.76
C	3	6.7000	.04359	.02517	6.5917	6.8083	6.65	6.73
D	3	4.6133	.09074	.05239	4.3879	4.8387	4.51	4.68
E	3	25.9800	.01000	.00577	25.9552	26.0048	25.97	25.99
F	3	15.4167	.01155	.00667	15.3880	15.4454	15.41	15.43
G	3	11.1167	.01155	.00667	11.0880	11.1454	11.11	11.13
H	3	8.9333	.02517	.01453	8.8708	8.9958	8.91	8.96
Total	24	11.4288	6.38198	1.30272	8.7339	14.1236	4.51	25.99

**ANOVA**

TPC Non-Selektif	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	936.760	7	133.823	9.203E4	.000
Within Groups	.023	16	.001		
Total	936.784	23			



Post Hoc Test

Homogeneous Subsets

UJI DUNCAN

TPC Non-selektif

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
D	3	4.6133							
C	3		6.7000						
B	3			8.7400					
H	3				8.9333				
A	3					9.9300			
G	3						11.1167		
F	3							15.4167	
E	3								25.9800
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 26. Hasil analisis uji tpc selektif dengan aplikasi SPSS

**Descriptives**

TPC Selektif

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A	3	9.1967	.02887	.01667	9.1250	9.2684	9.18	9.23
B	3	7.7367	.09018	.05207	7.5126	7.9607	7.65	7.83
C	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
D	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
E	3	24.2200	.01732	.01000	24.1770	24.2630	24.20	24.23
F	3	15.1633	.01528	.00882	15.1254	15.2013	15.15	15.18
G	3	10.8533	.05859	.03383	10.7078	10.9989	10.81	10.92
H	3	8.6633	.03786	.02186	8.5693	8.7574	8.62	8.69
Total	24	9.4792	7.53246	1.53756	6.2985	12.6598	.00	24.23

**ANOVA**

TPC Selektif	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1304.943	7	186.420	1.038E5	.000
Within Groups	.029	16	.002		
Total	1304.972	23			



Post Hoc Test

Homogeneous Subsets

UJI DUNCAN

TPC Selektif

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
C	3	.0000						
D	3	.0000						
B	3		7.7367					
H	3			8.6633				
A	3				9.1967			
G	3					10.8533		
F	3						15.1633	
E	3							24.2200
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 27. Hasil analisis uji kadar air dengan aplikasi SPSS

**Descriptives**

Kadar Air

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					A	3		
B	3	76.6250	.48500	.28001	75.4202	77.8298	76.14	77.11
C	3	73.6550	.37500	.21651	72.7234	74.5866	73.28	74.03
D	3	69.3900	.65000	.37528	67.7753	71.0047	68.74	70.04
E	3	78.0633	.30006	.17324	77.3180	78.8087	77.80	78.39
F	3	74.0533	.14844	.08570	73.6846	74.4221	73.89	74.18
G	3	71.2300	.42000	.24249	70.1867	72.2733	70.81	71.65
H	3	68.5833	.48294	.27883	67.3836	69.7830	68.03	68.92
Total	24	73.9531	3.94156	.80457	72.2888	75.6175	68.03	80.51

**ANOVA**

Kadar Air	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	354.214	7	50.602	260.286	.000
Within Groups	3.111	16	.194		
Total	357.325	23			

Post Hoc Test

Homogeneous Subsets

UJI DUNCAN

Kadar air

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
H	3	68.5833						
D	3		69.3900					
G	3			71.2300				
C	3				73.6550			
F	3				74.0533			
B	3					76.6250		
E	3						78.0633	
A	3							80.0250
Sig.		1.000	1.000	1.000	.285	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

**Lampiran 28.** Hasil analisis uji kadar abu dengan aplikasi SPSS

**Descriptives**

Kadar abu

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					A	3		
B	3	5.4367	.03512	.02028	5.3494	5.5239	5.40	5.47
C	3	10.2100	.05000	.02887	10.0858	10.3342	10.16	10.26
D	3	13.5767	.00577	.00333	13.5623	13.5910	13.57	13.58
E	3	1.3700	.01000	.00577	1.3452	1.3948	1.36	1.38
F	3	5.6533	.05774	.03333	5.5099	5.7968	5.62	5.72
G	3	8.9400	.02646	.01528	8.8743	9.0057	8.91	8.96
H	3	12.4467	.08327	.04807	12.2398	12.6535	12.38	12.54
Total	24	7.3179	4.55739	.93027	5.3935	9.2423	.83	13.58

**ANOVA**

Kadar abu	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	477.661	7	68.237	2.466E4	.000
Within Groups	.044	16	.003		
Total	477.705	23			



Post Hoc Test

Homogeneous Subsets

UJI DUNCAN

Kadar abu

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
A	3	.9100							
E	3		1.3700						
B	3			5.4367					
F	3				5.6533				
G	3					8.9400			
C	3						10.2100		
H	3							12.4467	
D	3								13.5767
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 29. Hasil uji kadar protein *wet basis*

Sampel	% Kadar Protein			Rata-rata	Stdev
	1	2	3		
Garam 0%	14,02	13,76	14,11	13,96	0,18
Garam 5%	11,59	12,03	11,62	11,75	0,25
Garam 10%	11,37	11,65	11,31	11,44	0,18
Garam 15%	11,69	12,16	11,58	11,81	0,31
Infeksi, Garam 0%	12,53	12,40	12,08	12,34	0,23
Infeksi, Garam 5%	14,60	15,10	14,85	14,85	0,25
Infeksi, Garam 10%	11,34	11,50	11,97	11,60	0,33
Infeksi, Garam 15%	11,06	11,00	11,52	11,19	0,28



Lampiran 30. Hasil analisis uji kadar protein (*dry basis*) dengan aplikasi SPSS

**Descriptives**

Kadar Protein (*dry basis*)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A	3	69.9100	1.20379	.69501	66.9196	72.9004	68.52	70.61
B	3	50.2533	.48211	.27835	49.0557	51.4510	49.71	50.63
C	3	43.4400	.44227	.25534	42.3413	44.5387	42.94	43.78
D	3	38.5833	.65516	.37826	36.9558	40.2108	37.83	39.02
E	3	56.2433	1.24669	.71978	53.1464	59.3403	54.91	57.38
F	3	57.2367	1.20351	.69485	54.2470	60.2263	55.92	58.28
G	3	40.3400	1.39309	.80430	36.8794	43.8006	38.85	41.61
H	3	35.6400	1.28293	.74070	32.4530	38.8270	34.59	37.07
Total	24	48.9558	11.17798	2.28169	44.2358	53.6759	34.59	70.61

**ANOVA**

Kadar Protein (*dry basis*)

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2855.993	7	407.999	366.921	.000
Within Groups	17.791	16	1.112		
Total	2873.784	23			

**Post Hoc Test**

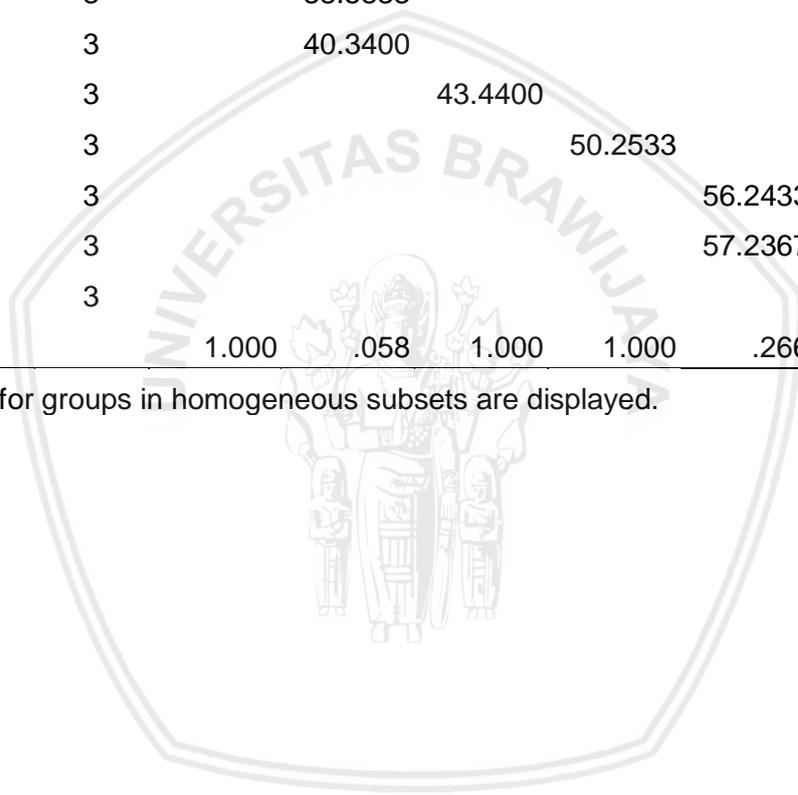
**Homogeneous Subsets**

**UJI DUNCAN**

**Kadar Protein (*dry basis*)**

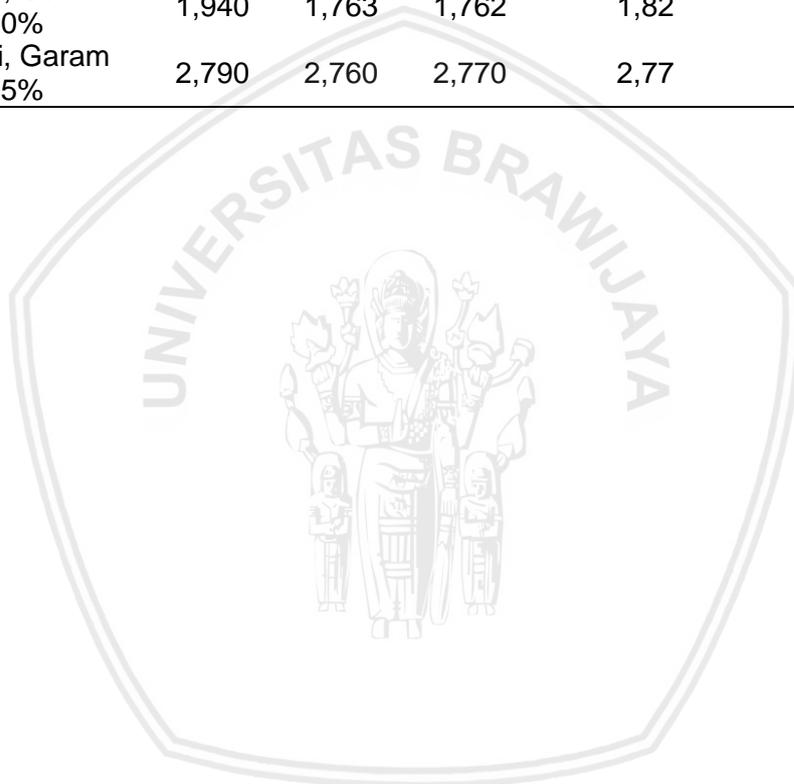
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
H	3	35.6400					
D	3		38.5833				
G	3		40.3400				
C	3			43.4400			
B	3				50.2533		
E	3					56.2433	
F	3					57.2367	
A	3						69.9100
Sig.		1.000	.058	1.000	1.000	.266	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Lampiran 31. Hasil uji kadar lemak *wet basis*

Sampel	% Kadar Lemak			Rata-rata	Stdev
	1	2	3		
Garam 0%	2,920	2,840	2,930	2,90	0,05
Garam 5%	1,240	1,224	1,232	1,23	0,01
Garam 10%	1,630	1,613	1,622	1,62	0,01
Garam 15%	2,630	2,810	2,720	2,72	0,09
Infeksi, Garam 0%	1,940	1,831	1,951	1,91	0,07
Infeksi, Garam 5%	0,890	0,891	0,806	0,86	0,05
Infeksi, Garam 10%	1,940	1,763	1,762	1,82	0,10
Infeksi, Garam 15%	2,790	2,760	2,770	2,77	0,02



Lampiran 32. Hasil analisis uji kadar lemak (*dry basis*) dengan aplikasi SPSS

**Descriptives**

Kadar Lemak (*dry basis*)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A	3	14.5033	.20817	.12019	13.9862	15.0204	14.27	14.67
B	3	5.2733	.14503	.08373	4.9131	5.6336	5.13	5.42
C	3	6.1600	.12000	.06928	5.8619	6.4581	6.04	6.28
D	3	8.8867	.10504	.06064	8.6257	9.1476	8.78	8.99
E	3	8.6933	.20404	.11780	8.1865	9.2002	8.47	8.87
F	3	3.3233	.17673	.10203	2.8843	3.7624	3.12	3.44
G	3	6.3300	.28160	.16258	5.6305	7.0295	6.12	6.65
H	3	8.8300	.09165	.05292	8.6023	9.0577	8.73	8.91
Total	24	7.7500	3.21808	.65689	6.3911	9.1089	3.12	14.67

**ANOVA**

Kadar Lemak (*dry basis*)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	237.689	7	33.956	1.085E3	.000
Within Groups	.501	16	.031		
Total	238.189	23			



**Post Hoc Test**

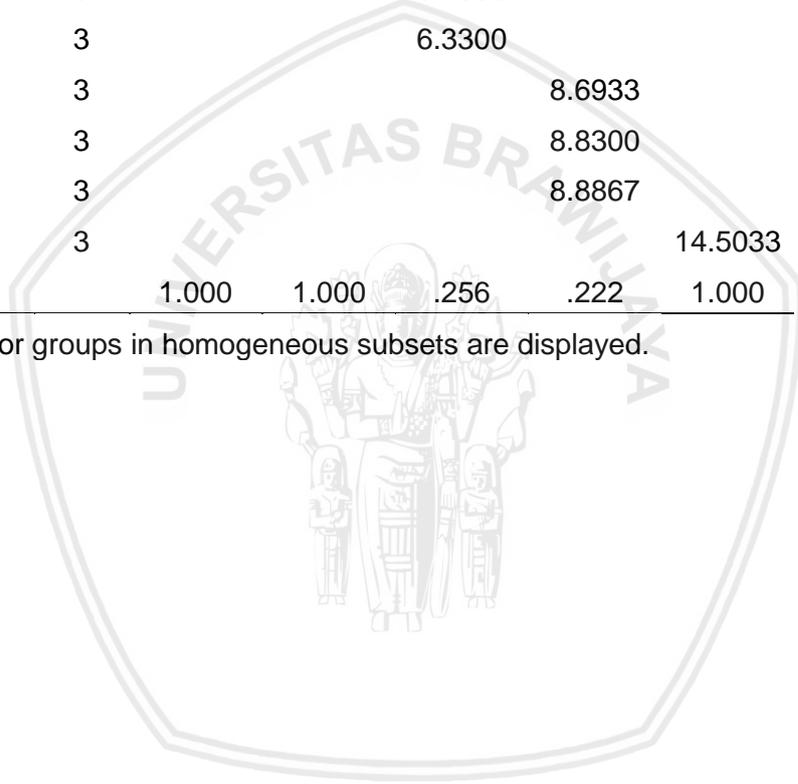
**Homogeneous Subsets**

**UJI DUNCAN**

**Kadar Lemak (*dry basis*)**

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
F	3	3.3233				
B	3		5.2733			
C	3			6.1600		
G	3			6.3300		
E	3				8.6933	
H	3				8.8300	
D	3				8.8867	
A	3					14.5033
Sig.		1.000	1.000	.256	.222	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Lampiran 33. Hasil analisis uji kadar garam dengan aplikasi SPSS

**Descriptives**

Kadar Garam

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					A	3		
B	3	5.4533	.73664	.42530	3.6234	7.2832	4.63	6.05
C	3	10.2133	1.21476	.70134	7.1957	13.2310	8.82	11.05
D	3	13.2333	.90467	.52231	10.9860	15.4807	12.19	13.80
E	3	.4200	.33000	.19053	-.3998	1.2398	.09	.75
F	3	6.3600	.71000	.40992	4.5963	8.1237	5.65	7.07
G	3	9.8667	1.11500	.64375	7.0968	12.6365	8.75	10.98
H	3	12.2167	.80501	.46477	10.2169	14.2164	11.41	13.02
Total	24	7.2612	4.82326	.98454	5.2246	9.2979	.09	13.80

**ANOVA**

Kadar Garam	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	524.091	7	74.870	109.132	.000
Within Groups	10.977	16	.686		
Total	535.067	23			



Post Hoc Test

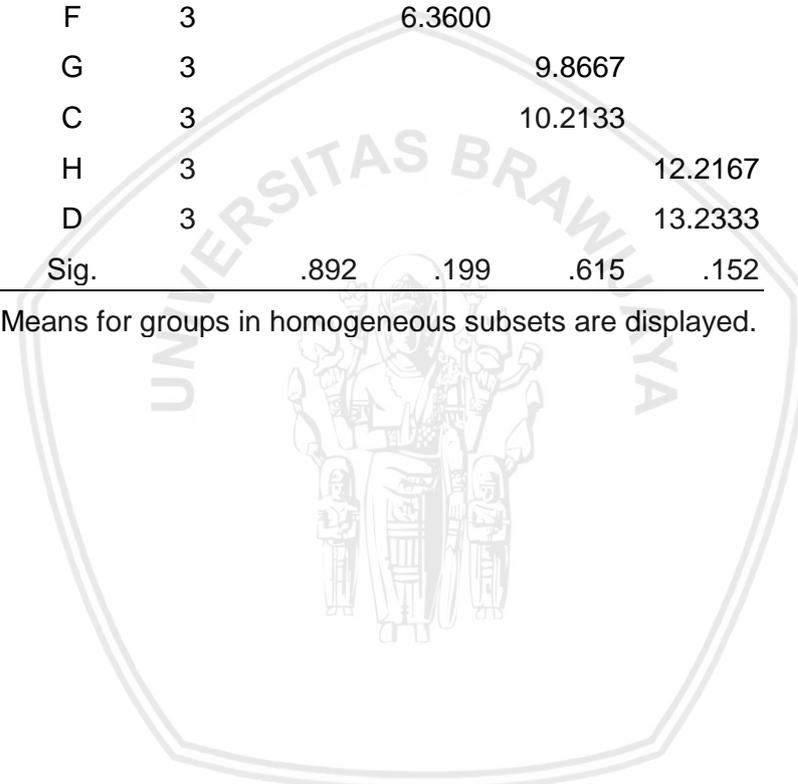
Homogeneous Subsets

UJI DUNCAN

Kadar Garam

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
A	3	.3267			
E	3	.4200			
B	3		5.4533		
F	3		6.3600		
G	3			9.8667	
C	3			10.2133	
H	3				12.2167
D	3				13.2333
Sig.		.892	.199	.615	.152

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Lampiran 34. Dokumentasi pembuatan media Na-fis



Timbang NaCl  
sebanyak 0,972  
gram



Larutkan dalam  
108 ml akuades



Tuang dan tutup  
tabung reaksi  
dengan kapas  
dan plastik wrap

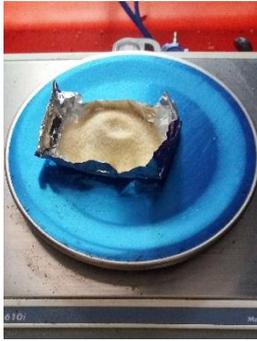


Diperoleh na-fis  
sebagai larutan  
pengenceran



Disterilisasi  
menggunakan  
autoklaf selama  
15 menit

Lampiran 35. Dokumentasi pembuatan media NA (*Nutrient Agar*)



Timbang media NA sebanyak 1,28 gram



Larutkan dalam 200 ml akuades



Rebus selama 15 menit



Sterilisasi menggunakan autoklaf dan didapatkan media NA steril



Lampiran 36. Dokumentasi pembuatan media gelatin



Gelatin ditimbang sebanyak 1,28 gram



Dilarutkan dalam 10 ml akuades



Direbus selama 15 menit



Diperoleh media gelatin steril

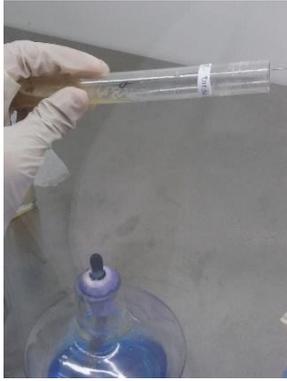


Dituang pada tabung reaksi sebanyak 10 ml



Disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit

Lampiran 37. Dokumentasi peremajaan *E. tarda*



Ambil 1 ose isolat  
*E. tarda*



Inokulasi pada  
TSA miring  
secara zig-zag



Diinkubasi pada  
suhu 35°C  
selama 24 jam



Lampiran 38. Dokumentasi uji biokimia pewarnaan gram



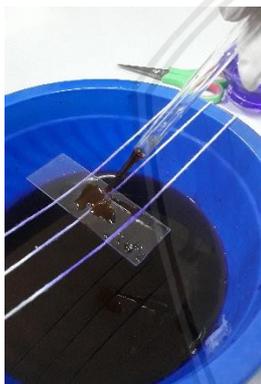
Objek glass yang telah dibersihkan menggunakan alkohol 70%, ditetesi dengan akuades



Diambil kultur *E. tarda* dan dipindahkan ke objek glass



Objek glass difiksasi diatas bunsen



Ditetesi dengan Iodin dan ditunggu 1,5 menit



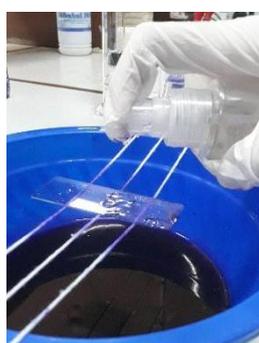
Dibilas dengan akuades



Ditetesi dengan kristal violet dan ditunggu 2 menit



Dibilas dengan akuades



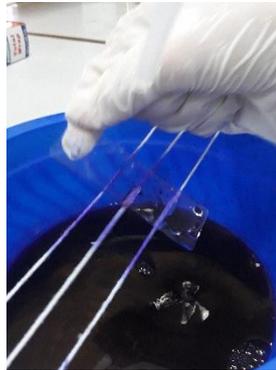
Disemprot alkohol 70%



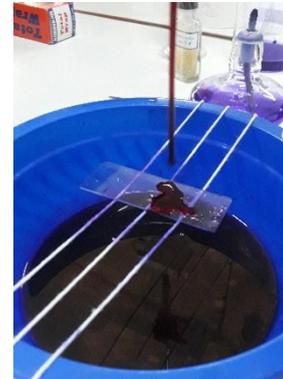
Dibilas dengan akuades



Diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x



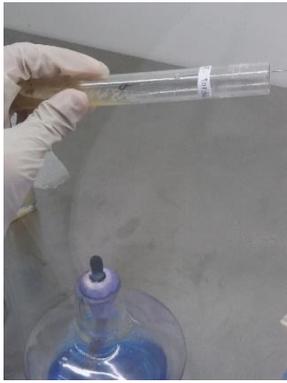
Dibilas menggunakan akuades



Ditetesi dengan safranin dan ditunggu 1 menit



Lampiran 39. Dokumentasi uji biokimia gelatin



Bakteri diambil dari peremajaan sebanyak 1 ose secara aseptis



Inokulasi pada medium *nutrien* gelatin



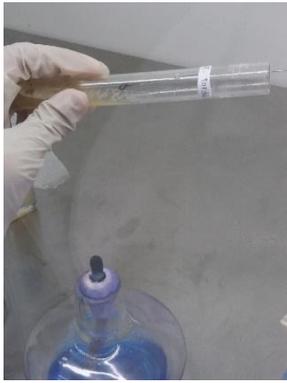
Diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam



Letakkan pada refrigerator selama 15 menit dan diamati



Lampiran 40. Dokumentasi uji biokimia H<sub>2</sub>S pada media TSIA



Bakteri diambil dari peremajaan sebanyak 1 ose secara aseptis



Ditusuk pada media TSIA steril



Diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam



Diamati perubahan yang terjadi



Lampiran 41. Dokumentasi uji biokimia hemolisis pada media agar darah



Bakteri diambil dari peremajaan sebanyak 1 ose secara aseptis



Diinokulasi pada media agar darah secara *streak*



Diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam



Diamati perubahan yang terjadi



Lampiran 42. Dokumentasi uji kepadatan *E. tarda*



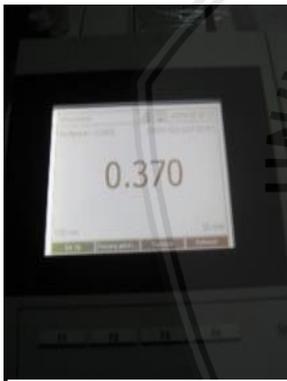
Bakteri diambil dari peremajaan sebanyak 1 ose secara aseptis



Diinokulasikan pada media TSB 250 ml (OD<sub>1</sub>)



Diinkubasi pada suhu 35°C selama 48 jam



Diperoleh nilai absorbansi



Diukur absorbansinya dari OD<sub>2</sub> hingga OD<sub>6</sub>



Dilakukan pengenceran bertingkat kedalam 5 ml TSB hingga OD<sub>6</sub>

Lampiran 43. Dokumentasi uji TPC kepadatan *E. tarda*



Ambil 1 ose dari OD<sub>1</sub>  
dan masukkan ke  
dalam tabung reaksi  
(pengenceran 10<sup>-1</sup>)



Ambil 1 ml dan  
lakukan pengenceran  
bertingkat hingga 10<sup>-12</sup>



Dihomogenkan  
dengan cara  
dipilin



Inkubasi pada  
suhu 35°C  
selama 24 jam



Lakukan penanaman  
dari pengenceran 10<sup>-8</sup>-  
10<sup>-12</sup>

Lampiran 44. Dokumentasi Penginfeksian *E. tarda*



Cuci dan isi  
akuarium



Masukkan ikan  
lele dan  
diaklimatisasi



Masukkan  
kultur bakteri di  
media TSB



Penginfeksian  
bakteri selama  
7 hari



Lampiran 45. Dokumentasi perlakuan garam



Fillet dan haluskan daging ikan lele



Timbang garam sesuai perlakuan



Lumuri daging dengan garam dan siap untuk dilakukan pengujian selanjutnya



Lampiran 46. Dokumentasi uji *Total Plate Count*



Sampel dimasukkan ke dalam 9 ml Na-fis sebagai pengenceran  $10^{-1}$



Diambil 1 ml dan dilakukan pengenceran  $10^{-2}$



Dihomogenkan dengan cara dipilin



Dituang media yang telah hangat



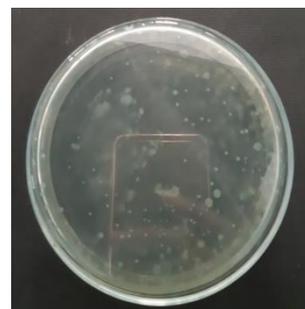
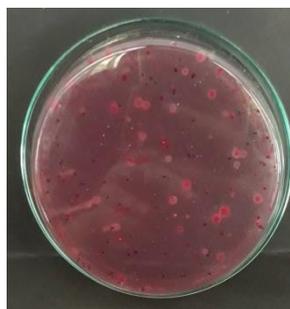
Diambil 1 ml dan dimasukkan ke cawan petri steril



Dilakukan hal yang sama hingga pengenceran yang diinginkan



Dibungkus plastik wrap dan diinkubasi pada suhu  $35^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam



Dihitung jumlah koloni yang tumbuh

Lampiran 47. Dokumentasi daging ikan lele



Daging ikan lele sebelum infeksi *E. tarda*



Daging ikan lele infeksi *E. tarda*

