

## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Sebagai negara yang memiliki banyak pulau, negara kita juga memiliki banyak laut yang berarti pula menghasilkan banyak ikan. Ikan merupakan bahan makanan yang banyak dikonsumsi masyarakat dalam dan bahkan luar negeri. Selain karena rasanya, ikan banyak disukai karena memberi manfaat untuk kesehatan tubuh yaitu mempunyai kandungan protein yang tinggi dan kandungan lemak yang lebih rendah dibanding sumber protein hewani lain. Namun, ikan cepat membusuk karena adanya bakteri dan enzyme jika dibiarkan begitu saja tanpa proses pengawetan. Proses pengawetan ikan yang umum dilakukan adalah dengan penggaraman, pengeringan, pemindangan, pengasapan dan pendinginan (Handoyo et al., 2011).

Subsektor perikanan dan peternakan merupakan andalan utama sumber pangan dan gizi bagi masyarakat Indonesia. Ikan, selain merupakan sumber protein, juga diakui sebagai “functional food” yang mempunyai arti penting kesehatan karena mengandung asam lemak tidak jenuh berantai panjang (terutama yang tergolong asam lemak omega-3), vitamin, serta makro dan mikro mineral (Heruwati, 2002).

Menurut (Suprpti, 2002). Ikan merupakan hewan yang hidup didalam air, sehingga bila diangkat beberapa detik saja dari dalam air (pada saat penangkapan atau pemanenan) maka akan

mati, akan. Sejak ikan mati, akan terjadi perubahan-perubahan yang berlangsung secara alami, yang sedikit demi sedikit mengarah pada penurunan kualitas dan pembusukan sebagai akibat dari aktivitas autolysis, enzymatic, dan mikrobiologis. Proses penurunan kualitas atau pembusukan tersebut akan berlangsung selama 6-7 jam, sesudah itu ikan akan menjadi busuk sama sekali sehingga tidak dapat dimanfaatkan atau dikonsumsi lagi. Mengingat sifat ikan yang demikian itu, maka penanganan pascapanen yang tepat sangat diperlukan.

Penanganan pascapanen merupakan berbagai kegiatan atau perlakuan terhadap ikan-ikan setelah diangkat dari habitatnya, baik dalam keadaan hidup maupun mati. Penanganan pascapanen ini merupakan kegiatan yang sangat penting, yang akan menentukan kualitas ikan selanjutnya. (Suprapti, 2002)

Ikan pada umumnya lebih banyak dikenal dari pada hasil perikanan lainnya, karena jenis tersebut yang paling banyak ditangkap dan dikonsumsi. Ikan memang sudah dikenal sejak waktu yang sangat lama, ribuan tahun yang lalu. Jenis ini termasuk hewan vertebrata, artinya hewan yang mempunyai tulang belakang, dan cirinya yang khas adalah hidupnya di air dan pada umumnya bernafas dengan menggunakan insangnya. Sebagai bahan pangan, kedudukan ikan menjadi sangat penting, karena banyak mengandung komponen-komponen yang diperlukan oleh

tubuh. Baik di negara maju maupun di Negara-negara berkembang, ikan banyak ditangkap dan dibudidayakan (Hadiwiyoto, 1993).

Sebagai bahan pangan, ikan merupakan sumber protein, lemak, vitamin, dan mineral yang sangat baik dan prospektif. Keunggulan utama protein ikan dibandingkan produk lainnya terletak pada kelengkapan komposisi asam aminonya dan kemudahan untuk dicerna. Ikan juga mengandung asam lemak, terutama asam lemak omega-3 yang sangat penting bagi kesehatan dan perkembangan otak bayi untuk potensi kecerdasannya (Puspitasari, 2009).

Ikan tergolong bahan makanan yang cepat mengalami pembusukan dibandingkan dengan bahan makanan lain. Proses pembusukan ini pada umumnya disebabkan oleh proses kimia (oksidasi), proses mikrobiologis terutama bakteri, dan proses biokimia (enzym). Pada dasarnya ketiga proses tersebut berjalan bersama-sama sesaat setelah ikan itu mati (Ismail 2007). Ikan cepat busuk dan rusak bila dibiarkan diudara terbuka (kira-kira 5 – 8 jam setelah tertangkap). Oleh karena itu, ikan yang sudah ditangkap harus segera mendapat proses pengolahan atau pengawetan guyna memperpanjang masa simpan dan distribusinya. Hal tersebut dapat dilakukan melalui proses pembekuan, pengalengan, pengasinan / pengeringan, pemindangan atau pengasapan (Wahyuni 2002).



Alongi (1994) menyatakan bahwa bakteri terdapat hampir di seluruh ekosistem yang terdapat di bumi di mana bertanggungjawab untuk mendegradasi dan mendaur ulang unsur-unsur atau elemen esensial seperti karbon, nitrogen dan fosfor. Energi yang terdapat dalam tubuh bakteri sebenarnya lebih besar dibandingkan dengan energi yang terdapat dalam tubuh organisme hidup lainnya sehingga bakteri dapat mengatur sistem rantai makanan di perairan dan daratan. Pengendalian pencemaran dengan mikroba tengah berkembang dan berpotensi dimasa mendatang karena teknologinya yang ramah lingkungan (mengurangi dampak penggunaan bahan kimia).

Aktivitas bakteri pada bahan organik adalah memineralisasi dan juga memisahkan karbon organik menjadi bentuk biomassa bakteri (Boulton dan Boon,1991). Aktivitas bakteri dalam siklus unsur hara pada sedimen adalah suatu hal yang tidak bisa dipisahkan. Aktivitas bakteri tersebut tergantung pada ketersediaan karbonkarbon yang dioksidasi (Pollard dan Kogure, 1993). Daur bahan organik di laut sama dengan daur organik di lingkungan air tawar dan di darat. Karbon bersama-sama dengan unsur lainnya seperti fosfor (P) dan nitrogen (N) melalui proses fotosintesis menghasilkan jaringan tumbuh-tumbuhan yang menjadi makanan hewan. Keduanya menghasilkan zat organik, jika mati dan membusuk dihasilkan bahan mentah untuk memulai daur bahan organik (Romimohtarto dan Juwana, 2001).

Bakteri berperan penting dalam proses dekomposisi bahan organik. Aktivitas bakteri mampu meningkatkan ketersediaan unsur hara melalui proses mineralisasi karbon dan asimilasi nitrogen (Blum *et al.*, 1988). Mikroorganisme membutuhkan molekul-molekul organik dari organisme lain sebagai nutrisi agar mampu bertahan hidup dan berkembang biak. Adanya aktivitas bakteri menyebabkan produktivitas ekosistem mangrove tinggi (Lyla dan Ajmal, 2006).

Sebagai bahan pangan, ikan merupakan sumber protein, lemak, vitamin, dan mineral yang sangat baik dan prospektif. Keunggulan utama protein ikan dibandingkan produk lainnya terletak pada kelengkapan komposisi asam aminonya dan kemudahan untuk dicerna. Ikan juga mengandung asam lemak, terutama asam lemak omega-3 yang sangat penting bagi kesehatan dan perkembangan otak bayi untuk potensi kecerdasannya (Puspitasari, 2009).

Ikan merupakan salah satu bahan pangan yang banyak digemari oleh masyarakat. Hal ini disebabkan karena ikan memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan jenis pangan hewani lainnya, yaitu mudah dibudidayakan, memiliki daging yang tebal dengan rasa yang khas, dan dapat diolah menjadi berbagai produk olahan (Aswar 1995). Hasil pengolahan ikan yang mulai digemari oleh masyarakat adalah filet. Produk filet memiliki banyak kelebihan, diantaranya adalah dapat diolah lebih lanjut menjadi

berbagai produk olahan lain, dapat dipasarkan dalam bentuk penyajian yang menarik, serta memudahkan dalam pengangkutan .

Seperti komoditas pangan hewani lainnya, ikan juga mempunyai sifat yang mudah busuk (Perishable food). Produk ikan rentan terhadap kontaminasi dan penurunan mutu, sehingga dibutuhkan penanganan dan pengolahan dengan perhatian ekstra yang melebihi komoditas pangan hewani yang lain (Suparno 1992). Proses pembusukan harus dihambat agar sebagian besar produk perikanan dapat dimanfaatkan secara maksimal, salah satunya dengan pengembangan beberapa cara pengawetan. Cara pengawetan pada ikan antara lain dengan penyimpanan pada suhu rendah dan penambahan zat aditif sebagai bahan pengawet. Penyimpanan pada suhu rendah dapat memperpanjang masa hidup jaringan-jaringan di dalam bahan pangan. Hal ini selain dapat menurunkan aktivitas respirasi juga dapat menghambat perkembangbiakan bakteri pembusuk yang terdapat di permukaan daging. Cara pengawetan dengan suhu rendah dibedakan menjadi dua yaitu pembekuan dan pendinginan. Pembekuan dapat mengawetkan bahan pangan untuk beberapa tahun, sedangkan pendinginan dapat mengawetkan bahan pangan untuk beberapa hari atau beberapa minggu, tergantung pada macam bahan pangannya (Winarno 1993).

Seperti makhluk hidup pada umumnya, pertumbuhan mikroba tentunya tidak lepas dari pengaruh lingkungan. Faktor-



faktor yang mempengaruhi itu dapat berupa faktor fisika, faktor kimia, maupun faktor biologi. Namun, pertumbuhan mikroba ini tidak hanya dipengaruhi faktor lingkungan, tetapi juga mempengaruhi keadaan lingkungan. Karena ukurannya yang sangat mikroskopis, pertumbuhan mikroba sangat tergantung pada keadaan sekelilingnya (Pelczar dan Chan, 2006). Kemampuan mikroorganisme untuk tumbuh dan tetap hidup merupakan hal yang penting dalam ekosistem pangan. Suatu pengetahuan dan pengertian tentang faktor-faktor yang mempengaruhi kemampuan tersebut sangat penting untuk mengendalikan hubungan antara mikroorganisme-makanan-manusia. Beberapa faktor utama yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme meliputi suplai zat gizi, waktu, suhu, air, pH, dan tersedianya oksigen (Buckle, 1985).

Bakteri merupakan mikroba prokariotik uniselular, berkembang biak secara aseksual dengan pembelahan sel. Bakteri tidak berklorofil kecuali beberapa yang bersifat fotosintetik. Bakteri ada yang dapat hidup bebas, parasitik, saprofitik, patogen pada manusia, hewan dan tumbuhan. Habitatnya tersebar luas di alam, dalam tanah, atmosfer (sampai  $\pm 10$  km di atas bumi), di dalam lumpur, dan di laut. Bakteri mempunyai bentuk dasar bulat, batang, dan lengkung. Bentuk bakteri juga dapat dipengaruhi oleh umur dan syarat pertumbuhan tertentu. Bakteri dapat mengalami involusi, yaitu perubahan bentuk yang disebabkan faktor makanan, suhu, dan lingkungan yang kurang menguntungkan bagi bakteri. Selain

itu, beberapa bakteri dapat mengalami pleomorfi, yaitu bentuk dan ukuran yang bermacam-macam dan teratur walaupun ditumbuhkan pada syarat pertumbuhan yang sesuai. Umumnya bakteri berukuran Umumnya bakteri berukuran 0,5-10  $\mu\text{m}$  (Wawan, 2010).

Pemanfaatan manyung cukup luas, khususnya di kawasan Pantai Utara Jawa. Selain dagingnya sebagai ikan asin, seperti disebutkan sebelumnya, kepala ikan manyung digulai, dimangut, atau diasap, menjadi makanan khas pantai utara Jawa (Pantura). Kantung udara ikan ini juga diperdagangkan dan dikonsumsi. Ikan manyung adalah ikan laut yang biasa ditangkap dan diolah sebagai ikan asin yang disebut jambal roti. Ikan ini adalah anggota bangsa ikan berkumis (Siluriformes), famili Ariidae (Anonymus, 2012).

Pengeringan adalah suatu cara untuk mengeluarkan atau menghilangkan sebagian air yang dikandung melalui penggunaan energi panas. Biasanya, kandungan air bahan tersebut dikurangi sampai batas sehingga mikroorganisme tidak dapat tumbuh lagi didalamnya (Suwandi dan Riyanto, 2000 ).

Proses pengeringan pada prinsipnya adalah proses mengurangi kadar air dalam ikan. Menurut Abdullah (2003), untuk mencegah bakteri dan enzyme bekerja dalam ikan, selain mengurangi kadar air dalam ikan, diperlukan juga pengendalian temperatur dan RH udara tempat penyimpanan ikan. Beberapa variabel yang penting dalam proses pengeringan ikan adalah: temperatur, RH dan laju aliran udara serta waktu pengeringan.



Mengatakan bahwa kadar air ikan bervariasi antara 50% – 80%. Untuk mengurangi aktivitas bakteri dan enzim, kadar air ikan sebaiknya dijaga dibawah 25%.

Pengeringan merupakan cara pengawetan produk makanan yang pertama digunakan oleh manusia. Pengeringan ikan merupakan cara pengawetan sebagai lanjutan dari kegiatan pengawetan dengan penggaraman. Ikan hasil proses penggaraman segera diangkat dari wadah penggaraman, dicuci bersih kemudian dikeringkan. Pada awalnya proses pengeringan hanya menggunakan panas sinar matahari dan tiupan angin. Pada prinsipnya proses pengeringan akan mengurangi kadar air dalam tubuh ikan sebanyak-banyaknya, sehingga kegiatan bakteri akan bisa dihambat atau bila memungkinkan bisa dihentikan (Budiman 2004).

Pengeringan dapat dilakukan dengan memakai suatu alat pengering (artificial drying), atau dengan penjemuran (sun drying), yaitu yang menggunakan energi langsung sinar matahari (Suwandi dan Riyanto, 2000 ).

Bakteri merupakan organisme yang paling banyak jumlahnya dan lebih tersebar luas dibandingkan makhluk hidup yang lain. Bakteri memiliki ratusan ribu spesies yang hidup di darat hingga lautan dan pada tempat-tempat yang ekstrim. Bakteri ada yang menguntungkan tetapi ada pula yang merugikan. Bakteri memiliki ciri-ciri yang membedakannya dengan makhluk hidup yang lain.

Bakteri adalah organisme uniseluler dan prokariot serta umumnya tidak memiliki klorofil dan berukuran renik (mikroskopis) (Dr Guntur Heri Putranto.2011)

*Bacillus* secara alami terdapat dimana-mana, dan termasuk spesies yang hidup bebas atau bersifat patogen. Beberapa spesies *Bacillus* menghasilkan enzim ekstraseluler seperti *protease*, *lipase*, *amilase*, dan *selulase* yang bisa membantu pencernaan dalam tubuh hewan (Wongsa dan Werukhamkul, 2007). Jenis *Bacillus* (*B. cereus*, *B. clausii* dan *B. pumilus*) termasuk dalam lima produk probiotik komersil terdiri dari spora bakteri yang telah dikarakterisasi dan berpotensi untuk kolonisasi, immunostimulasi, dan aktivitas antimikrobanya (Duc *et al.*, 2004).

Beberapa penelitian telah berhasil mengisolasi dan memurnikan bakteriosin *Bacillus* sp. Gram positif diantaranya yaitu subtilin yang dihasilkan oleh *Bacillus subtilis* (Klein *et al.* 1993), megacin yang dihasilkan oleh *B. megaterium* (Tagg *et al.*, 1976), coagulin dihasilkan oleh *B. coagulans* (Hyronimus, 1998), cerein dihasilkan oleh *B. cereus* (Oscariz dan Pisabarrotocicin yang dihasilkan, 2000), dan oleh *B. thuringiensis* (Paik *et al.*, 1997).

Bakteriosin merupakan zat antimikroba berupa polipeptida, protein, atau senyawa yang mirip protein. Bakteriosin disintesis diri bosom oleh bakteri selama masa pertumbuhannya dan umumnya hanya menghambat pertumbuhan galur-galur bakteri yang berkerabat dekat dengan bakteri penghasil bakteriosin (Kone &

Fung, 1992). Menurut Tagg *et al.*, (1976), kriteria yang merupakan ciri-ciri bakteriosin adalah sebagai berikut: (1) memiliki spektra aktivitas yang lebih sempit, (2) senyawa aktif merupakan polipeptida atau protein, (3) bersifat bakterisida, (4) mempunyai reseptor spesifik pada sel sasaran, 5) gen determinan terdapat pada plasmid. Senyawa antibiotik yang dihasilkan *Bacillus* sp adalah basitrasin, pumulin, laterosporin, gramisidin, dan tirocidin yang efektif melawan bakteri Gram positif serta kolistin dan polimiksin bersifat efektif melawan bakteri Gram negatif. Sedangkan difficidin memilikis pektrum lebar, mikobacilin dan zwittermicin bersifat antijamur (Todar, 2005).

Menurut (Ilse J. Broekaert dan W. Allan Walker, 2006). Beberapa temuan pada potensi basil genus ditemukan. Mayoritas probiotik alami menghuni mikroflora usus manusia, atau bakteri yang biasanya terjadi dalam sistem pencernaan. Penelitian klinis telah membuktikan bahwa probiotik menawarkan fitur preventif dan kuratif. Mengutip studi ini secara langsung, "Positif, efek-regangan spesifik probiotik telah ditunjukkan dalam penyakit diare, penyakit radang usus, sindrom iritasi usus, dan *Helicobacter pylori*-induced gastritis, dan penyakit atopik dan dalam pencegahan kanker." Meskipun mereka menyarankan bahwa penelitian tambahan diperlukan pada efektivitas strain bakteri tertentu, mereka menyebutkan banyak makanan yang sudah mengandung probiotik *bacillus* menguntungkan, seperti yoghurt dan susu formula.



Sebuah artikel 2006 tentang probiotik dan infeksi usus neonatal oleh Hammerman dan Kaplan mengungkapkan bahwa penggunaan probiotik bacillus lebih sederhana dan kurang invasif dibandingkan obat dalam membantu untuk menormalkan mikroflora dalam usus. Karena bacillus membantu untuk meningkatkan pertahanan tuan rumah alami, itu dianggap sebagai program yang lebih aman pengobatan. Sebagai suplemen makanan, bacillus dianggap kurang agresif, lebih alami, dan efektif sebagai profilaksis atau "pencegahan penyakit" ukuran. Ini adalah pernyataan yang kuat yang menunjukkan bagaimana penggunaan medis yang sah dari basil probiotik telah berkembang dalam dekade terakhir.

Menurut (Parvez dan Malik, 2006) mengungkapkan temuan sebagai berikut: "Kebanyakan probiotik jatuh ke dalam kelompok organisme yang dikenal sebagai bakteri penghasil asam laktat dan biasanya dikonsumsi dalam bentuk yoghurt, susu fermentasi atau makanan fermentasi lainnya. Beberapa efek menguntungkan dari konsumsi laktat bakteri asam meliputi: (i) meningkatkan usus kesehatan saluran, (ii) meningkatkan sistem kekebalan tubuh, mensintesis dan meningkatkan bioavailabilitas nutrisi, (iii) mengurangi gejala intoleransi laktosa, menurunkan prevalensi alergi pada individu yang rentan, dan (iv) mengurangi risiko kanker tertentu "

*Bacillus* merupakan salah satu bakteri utama yang terkait dengan produk susu fermentasi. Seperti artikel terdahulu, mekanisme

yang probiotik memberi efek mereka dijelaskan. Mereka mungkin melibatkan memodifikasi pH usus, antagonis patogen melalui produksi senyawa antimikroba, bersaing untuk situs patogen-mengikat dan reseptor, serta untuk nutrisi yang tersedia dan faktor pertumbuhan, merangsang sel-sel imunomodulator, dan memproduksi laktase. Artikel ini mengulas aspek pemeliharaan kesehatan dan pencegahan penyakit dari beberapa strain dalam array probiotik bakteri membantu, dan memuji efektivitas biaya suplemen makanan ini. Suplemen bacillus digambarkan sebagai salah satu produk yang mungkin membantu dalam menciptakan penghalang terhadap infeksi mikroba. Deskripsi ini sesuai paralel kami sebelumnya bacillus sebagai alat yang berguna atau wali dari usus yang tepat berfungsi.

Menurut (Sylvia Santosa, et al 2006). Dengan kesimpulan sebagai berikut: "Bukti yang paling kuat terkait dengan penggunaan *Lactobacillus rhamnosus* GG dalam pencegahan dan pengobatan rotavirus diare terkait. Pemeriksaan lebih lanjut literatur juga menunjukkan janji dalam pengobatan beberapa bentuk iritasi bowel syndrome (IBS) dengan probiotik." Meskipun artikel membuat klaim yang sangat umum, itu merekomendasikan penelitian lebih bacillus sehingga strain tertentu yang mungkin bermanfaat bagi penyakit tertentu dapat sepenuhnya dieksplorasi. Artikel ini mengacu pada berbagai studi manusia dan hewan yang telah menunjukkan

bagaimana suplemen bacillus yang efektif dalam manfaat kesehatan pencernaan.

Telur ayamnya diklaim tidak ada residu antibiotik, rendah kolesterol, non allergen, dan tidak ada bakteri patogen seperti Salmonella dan E.coli. Jenis bakteri probiotik yang digunakan pada campuran pakan ayamnya ini diantaranya adalah Bacillus laterosporus. Menurut Emil bakteri Bacillus ini dapat diisolasi dari alam seperti ada pada usus manusia, hewan, tanah, dan tanaman. Probiotik ini bersifat transient, non residu dan tidak menyebabkan resistensi. Fungsi pemberiannya adalah dapat memperbaiki saluran pencernaan dan nantinya juga memperbaiki saluran reproduksi, sehingga telur yang dihasilkan sehat. Bacillus laterosporus ini menghasikan senyawa anti mikroba yang menekan pertumbuhan bakteri patogen.

Hal ini mungkin karena prebiotik ini sangat selektif dan tidak mempengaruhi pertumbuhan probiotik spesies bacillus yang digunakan. Seperti telah disebutkan sebelumnya (Gibson *et al.*, 2004) bahwa prebiotik menstimulasi pertumbuhan dan aktifitas bakteri pencernaan secara selektif. Oligofruktosa dan inulin secara efektif dapat meningkatkan pertumbuhan total E. coli serta meningkatkan laktobacilli pada rempela dan usus kecil broiler (Yusrizal dan Chen, 2003).



## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, permasalahan yang mendasari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Apakah terdapat bakteri *Bacillus* sp pada ikan jambal roti kering di jawa timur?
2. Jenis bakteri yang termasuk genus *Bacillus*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Secara umum, penelitian ini bertujuan untuk melihat dengan bakteri *Bacillus* sp yang terdapat pada ikan jambal roti kering di Jawa Timur.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai informasi tetap kandungan *Bacillus* sp. pada ikan jambal roti kering yang diambil dari pasar tuban kota, Paciran lamongan dan pasar pabean Surabaya, sehingga dapat dimanfaatkan untuk penelitian lain.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Jambal roti

Menurut (Burhanuddin dkk.1987). Ikan manyung dikenal di Jawa sebagai ikan mangmung, diklasifikasikan ke dalam ordo Ostariophysi, yaitu ikan yang mempunyai sungut sebanyak tiga pasang (Kriswantoro dan Sunyoto 1986). Ikan manyung merupakan salah satu ikan demersal, hidup di air tawar, estuaria dan laut. Kebanyakan ikan ini hidup di dua habitat, mula-mula di air tawar lalu beruaya ke perairan estuaria untuk memijah. Dalam ruayanya ikan manyung sampai ke laut lepas. Jenis yang tergolong ikan laut sejati hanya diwakili oleh *Arius thalassinus*.

Ikan manyung pada umumnya digunakan sebagai bahan baku pembuatan jambal roti melalui proses fermentasi garam. Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan fermentasi garam antara lain jenis garam, cara penggaraman dan pengeringan. Komposisi garam terdiri dari 39,39 persen Na dan 60,61 persen Cl, berwarna putih, kristalnya berbentuk kubus dan pada kondisi normal tidak mengandung air (Zaitsev 1969). Garam mempunyai sifat bakteristatik (menghambat pertumbuhan bakteri dan bakterisidal (membunuh bakteri). Cara penggaraman terdiri dari tiga cara yaitu penggaraman kering di mana ikan ditaburi dengan kristal garam, penggaraman basah dengan cara melarutkan garam di dalam suatu wadah kemudian ikan direndam di dalamnya; dan penggaraman kombinasi yaitu ikan ditaburi kristal garam lalu

dituangi larutan garam sampai ikan terendam seluruhnya (Suparno 1988).

Sampai saat ini para pengolah jambal roti belum mengikuti aturan tertentu, hanya berdasarkan kebiasaan setempat. Faktor yang sangat mempengaruhi kualitas jambal roti adalah konsentrasi garam dan lama fermentasi. Konsentrasi garam dan lamanya fermentasi akan mempengaruhi aktivitas mikroorganisme. Berdasarkan hal ini maka tujuan penelitian ini adalah menentukan konsentrasi garam yang tepat dan lama fermentasi yang optimal sehingga diperoleh produk jambal roti dengan karakteristik yang baik.

Komposisi gizi ikan jambal menurut Badan Litbang KP –

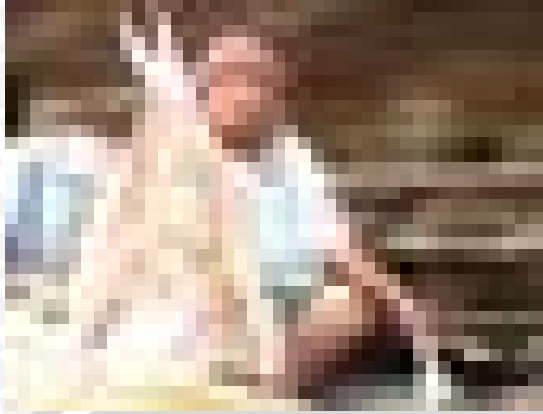
KKP, 2010

nama ikan	:	Manyung
nama latin	:	Arius thalasinus
kadar air	:	78,1
kadar abu	:	1,25
kadar protein:		12,45
kadar lemak	:	0,55

Klasifikasi ikan jambal menurut Anonymus, 2013

Kerajaan	:	Animalia
Filum	:	Chordata
Kelas	:	Actinopterygii
Ordo	:	Siluriformes
Superfamili	:	Arioidea
Famili	:	Ariidae





## 2.2 Pengolahan Ikan Jambal Roti

Menurut (Burhanuddin *et. al.*, 1987). Ikan jambal roti merupakan salah satu produk hasil penggaraman. Cara pengolahan ikan jambal roti pada setiap daerah memiliki ciri khas tersendiri, tetapi pada prinsipnya sama.

Dari hasil penelitiannya, Erwan (1992) menyimpulkan bahwa cara pengolahan ikan jambal roti yang dapat menghasilkan produk paling disukai oleh konsumen adalah sebagai berikut:

- Ikan manyung segar dipotong kepalanya, dibuang isi perutnya, lalu dicuci sampai bersih.
- Ikan ditiriskan sampai tidak ada air yang menetes, lalu ditimbang.
- Ikan dicelupkan sejenak dalam larutan gula merah (konsentrasi 30 %).
- Ikan digarami dengan cara memasukkan garam ke dalam rongga perut ikan. Jumlah garam yang digunakan sebanyak 20 % dari berat ikan yang telah disiangi (dibuang kepala dan isi perutnya). Ikan disusun berlapis garam di dalam bak penggaraman yang bagian dasarnya telah diberi lapisan garam. Lapisan paling atas

merupakan lapisan garam. Bak penggaraman ditutup rapat. Setelah tiga hari penggaraman, ikan diangkat dari bak penggaraman dan garam dikeluarkan dari rongga perut ikan.

- Ikan dibelah dari arah sepanjang punggung menuju ke perut (sepanjang perut tidak putus) sehingga ikan terbelah dua. Daging tebal pada bagian punggung ikan dibelah lagi (ditoreh).
- Dengan bantuan sikat, ikan yang telah terbelah dicuci sampai bersih.
- Ikan dijemur di atas para-para selama tiga hari atau sampai kering. Pada hari pertama penjemuran, posisi belahan ikan telentang dan pada hari berikutnya telungkup. Pada saat dijemur, ikan diolesi dengan larutan bawang putih secara merata (200 g bawang putih : 1 lt air).
- Ikan yang telah kering selanjutnya disimpan

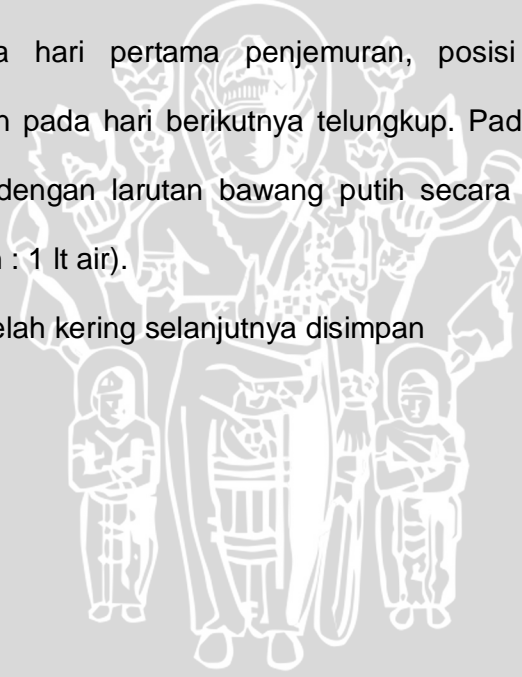
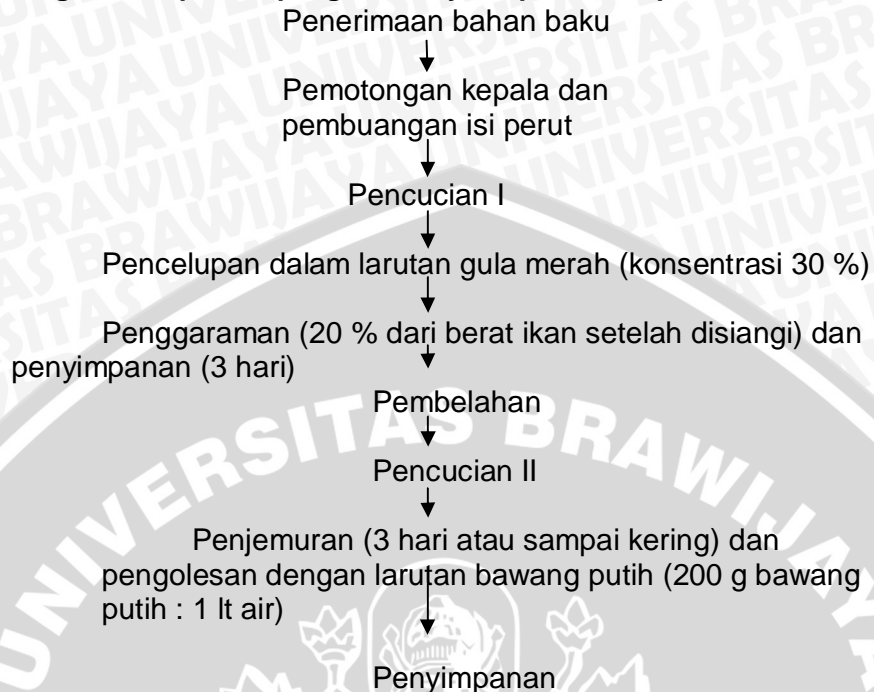


Diagram alir proses pengolahannya dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram Alir Proses Pengolahan Ikan Jambal Roti

## 2.3 Bahan Pembantu/Tambahan dalam Pengolahan Ikan Jambal

### Roti

#### 2.3.1 Garam

Tujuan penggaraman atau pemberian garam pada bahan pangan antara lain sebagai pemberi cita rasa (Winarno et.al., 1982). Disamping itu, pemberian garam pada bahan pangan dapat berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan patogen, karena garam mempunyai sifat-sifat antimikroba sebagai berikut (Rahayu et.al., 1992):

- Garam akan meningkatkan tekanan osmotik substrat.
- Garam menyebabkan terjadinya penarikan air dari dalam bahan pangan,



sehingga aktivitas air ( $A_w$ ) bahan pangan akan menurun dan bakteri tidak akan tumbuh.

- Garam mengakibatkan terjadinya penarikan air dari dalam sel bakteri, sehingga

sel akan kehilangan air dan mengalami pengerutan.

- Ionisasi garam akan menghasilkan ion khlor yang bersifat racun terhadap

bakteri.

- Garam dapat mengganggu kerja enzim proteolitik karena

dapat mengakibatkan

terjadinya denaturasi protein.

Menurut (Burgess et. al., 1965). Sebagai bahan pengawet, kemurnian garam sangat mempengaruhi mutu ikan asin yang dihasilkan. Garam murni adalah garam yang hanya mengandung natrium klorida ( $\text{NaCl}$ ). Beberapa elemen yang biasa mengotori kemurnian garam diantaranya adalah  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgCl}_2$ ,  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{Cu}$  dan  $\text{Fe}$ . Meskipun elemenelemen ini terdapat dalam jumlah kecil, tetapi dapat menyebabkan lambatnya penetrasi garam ke dalam daging ikan. Ikan asin yang tidak menggunakan garam murni akan lebih cepat rusak daripada ikan asin yang dibuat dengan garam murni. Disamping itu beberapa elemen seperti  $\text{MgCl}_2$  dapat menyebabkan produk mudah menyerap air, sehingga menjadi lembab dan basah.

Sedangkan menurut Moeljanto (1982), terdapatnya zat-zat lain yang tercampur ke dalam garam (terutama Mg, Ca, Sulfat, dan lain-lain) menyebabkan mutu yang kurang baik pada ikan asin. Adanya 1 % garam  $\text{CaCl}_2$  membuat warna ikan menjadi putih, keras dan rasanya pahit.

Menurut (Suparno, 1988). Di Indonesia, para pengolah ikan tradisional umumnya menggunakan garam tambak (garam rakyat) karena harganya relatif murah. Garam ini diperoleh dari air laut yang diuapkan. Umumnya garam yang dihasilkan banyak mengandung kotoran berupa lumpur yang mengandung bahan organik dan garam jenis lain.

Penggaraman pada ikan dapat dilakukan melalui tiga cara yaitu; (1) penggaraman kering, yakni penggaraman dengan menggunakan garam berbentuk kristal, (2) penggaraman basah, yakni penggaraman dengan menggunakan larutan garam sebagai media untuk merendam ikan, dan (3) penggaraman kombinasi, yakni memadukan penggaraman kering dan penggaraman basah (Borgstrom, 1965).

Batasan toleransi unsur-unsur/kotoran yang boleh terdapat dalam garam

konsumsi menurut Standar Industri Indonesia disajikan pada Tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Persyaratan Standar Mutu Garam Konsumsi

Syarat Mutu	Mutu I	Mutu II
NaCl, min.	97,1 %	94,7 %
Air, maks.	3,0 %	5,0 %
Iodium (mg/kg)	30 – 80	30- 80
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (mg/kg)	maks 25	maks 100
Ca dan Mg, maks.	1 %	1 %
Sulfat	1 %	1 %
Bagian tak larut air, maks.	0,1 %	0,1 %
Warna	Putih	Putih
Rasa	Asin	Asin
Bau	tidak berbau	tidak berbau

Sumber: Pusat Standarisasi Industri (1994)

#### 2.4 Pengerinan

Pengerinan adalah suatu metode untuk mengeluarkan atau menghilangkan sebagian air dari suatu bahan pangan dengan cara menguapkan air tersebut. Pada umumnya kadar air bahan dikurangi sampai batas tertentu supaya pertumbuhan mikroorganismenya dapat dihentikan (Winarno et.al., 1982).

Pada pengerinan, suhu udara mempunyai pengaruh yang sangat besar dalam kecepatan perpindahan uap air, oleh karena suhu ini mengatur tekanan uap jenuh air dan juga suhu ini melengkapi gaya tarik suhu yang memindahkan panas untuk menguapkan air. Peningkatan kecepatan dan suhu udara akan menyebabkan peningkatan laju pengerinan seperti yang diperkirakan oleh persamaan standar. Lebih lanjut lagi, bertambah tinggi kecepatan udara akan menolong perpindahan uap air daerah bagian atas bahan padat yang dikeringkan. Suhu



dibatasi oleh kemungkinan kerusakan bahan pangan oleh suhu tinggi, atau oleh ketentuan-ketentuan praktis seperti kemampuan uap pada tekanan yang pasti ( Earle, R.C.1969 ). Maka dari itu, demi pertimbangan standar zat gizi pemanasan dianjurkan tidak lebih dari 85 °C ( Suharto,1991 ).

Faktor-faktor yang mempengaruhi pengeringan ada dua golongan, yaitu:

1. Faktor yang berhubungan dengan udara pengering, yaitu suhu, kecepatan volumetric aliran udara pengering dan kelembaban udara.
2. Faktor yang berhubungan dengan sifat bahan yang dikeringkan, yaitu ukuran bahan, kadar air awal, dan tekanan parsial di dalam bahan. (Tjahjadi, C., 2011).

Maka dari itu proses pengeringan disebut sebagai metode pengawetan yang tertua di dunia, karena pengeringan selain bertujuan untuk mengawetkan bahan pangan juga untuk mencegah kerusakan pada bahan pangan yang memiliki kadar air yang cukup tinggi. Sehingga proses pengeringan sangatlah penting dilakukan dalam proses pengolahan bahan pangan dan hasil pertanian lainnya.

Menurut Earle (1982), pengeringan bahan pangan dapat diartikan sebagai proses pemisahan air dari suatu bahan pangan dengan maksud untuk mengawetkan bahan pangan dalam penyimpanan. Kadar air bahan dalam proses pengeringan

diturunkan sampai kesuatu tingkat yang memungkinkan untuk dapat menahan atau menghambat pertumbuhan mikroba atau reaksi lainnya. Tujuan lain dari pengeringan adalah mengurangi volume produk sehingga akan meningkatkan efisiensi dalam pengangkutan maupun penyimpanan dari produk yang bersangkutan. Jadi pengeringan bahan pangan adalah merupakan salah satu unit operasi yang penting dalam proses pengolahan bahan pangan.

Kecepatan pengeringan ikan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu kelembaban udara, suhu udara, kecepatan udara yang mengalir di sekitar tubuh ikan serta keadaan fisik dan kimia ikan (Hadiwiyoto, 1993).

Menurut Winarno et.al. (1982), pengeringan dapat dilakukan dengan menggunakan suatu alat pengering (artificial drying) atau dengan penjemuran (sun drying) yaitu pengeringan dengan menggunakan energi langsung dari matahari. Keuntungan dari penjemuran adalah energi panas yang digunakan bersifat murah dan melimpah. Sedangkan kerugiannya adalah jumlah panas sinar matahari tidak tetap sepanjang hari sehingga kenaikan suhu tidak teratur yang menyebabkan waktu penjemuran sukar ditentukan dengan tepat. Selain itu, karena penjemuran dilakukan di tempat terbuka yang langsung berhubungan dengan sinar matahari, maka kebersihannya sukar untuk diawasi.

Kadar air dalam tubuh ikan diperkirakan 70 – 80 %, dan 15 – 20 % dari kadar air tersebut berfungsi untuk pembuatan protein dan karbohidrat, yang disebut sebagai air terikat. Sedangkan kadar air selebihnya berfungsi melarutkan berbagai komponen yang larut dalam air. Kadar air ini disebut air bebas (Darmanto, 2001). Berdasarkan pendapat tersebut, maka air yang diuapkan dari bahan pangan selama proses pengeringan, sebagian besar adalah air bebas. Oleh karena itu, Adnan (1982) menegaskan bahwa aktivitas kimia air bebas atau sering disebut water activity ( $A_w$ ) lebih tepat dipakai untuk meramalkan kecepatan terjadinya kerusakan bahan makanan daripada kadar air.

Tujuan utama pengeringan ialah untuk memperpanjang umur simpan bahan dengan cara menurunkan aktivitas air ( $A_w =$  water activity). Turunnya aktifitas air dapat menghambat pertumbuhan mikroba dan aktifitas yang disebabkan oleh enzim, karena suhu pemanasan tidak cukup tinggi untuk membunuh mikroba dan menonaktifkan enzim. (Fadhil, Rahmat.2005)

Ikan merupakan salah satu sumber zat gizi penting bagi proses kelangsungan hidup manusia. Manusia telah memanfaatkan ikan sebagai bahan pangan sejak beberapa abad yang lalu. sebagai bahan pangan ikan mengandung zat gizi utama berupa protein, lemak, vitamin dan mineral. Penanganan ikan setelah penangkapan atau pemanenan memegang peranan penting untuk memperoleh nilai jual ikan yang maksimal. Salah satu factor yang



menentukan nilai jual ikan dan hasil perikanan yang lain adalah tingkat kesegarannya, mutunya, tahan lama, dan tidak cepat membusuk. (Junianto, 2003)

## 2.5 Kemunduran Mutu pada Ikan Asin

Cepat lambatnya kemunduran mutu pada ikan asin sangat dipengaruhi oleh kemurnian garam yang digunakan. Pengaruh dari penggunaan garam atau larutan garam yang kurang murni adalah terlambatnya penetrasi garam ke dalam daging ikan (Borgstrom, 1965).

Menurut Borgstrom (1965) dan Zaitsev et. al. (1969), jenis kerusakan yang sering menyebabkan kemunduran mutu pada ikan asin adalah pink spoilage, dun spoilage, rust spoilage dan sliming/saponifikasi.

Pink spoilage merupakan kerusakan berupa pembusukan, yang disebabkan oleh bakteri pembusuk halophilic, seperti *Serratia salinaria*, *Pseudomonas salinaria* dan *Sarcina littoralis*. Bakteri tersebut dikenal red halophilic bacteria, karena dapat tumbuh dengan cepat pada kadar garam tinggi yaitu 13 % atau kurang dan membentuk pigmen berwarna kuning kemerahan, merah atau merah jambu pada permukaan ikan asin.

Dun spoilage merupakan kerusakan yang disebabkan oleh jamur halophilic bernama *Sporendonema epizoum*, dan ditandai oleh terbentuknya bintik abu-abu pada permukaan ikan asin.

Sporendonema epizoum dapat tumbuh optimal pada konsentrasi garam 10 – 15 %, kelembaban 75 % dan suhu 25 0C.

Rust spoilage merupakan kerusakan berupa ketengikan, yang ditandai dengan terbentuknya warna coklat keabu-abuan dengan bau tengik yang tajam pada ikan asin. Kerusakan tersebut disebabkan adanya reaksi antara asam amino dengan senyawa karbonil hasil oksidasi lemak yang dirangsang oleh garam.

Sliming/saponifikasi merupakan kerusakan berupa pelendiran, yang ditandai dengan terbentuknya lendir seperti sabun pada permukaan ikan asin, berwarna kuning hijau atau kecoklatan dan berbau asam. Penyebab kerusakan tersebut adalah bahan baku bermutu rendah, kadar garam terlalu rendah dan kondisi tempat penyimpanan sangat lembab.

Teknik pengolahan ikan secara penggaraman masih menggunakan teknik pengolahan yang sangat sederhana, dan belum berkembang, serta hampir tidak dijamah oleh kemajuan teknologi dan modernisasi. Kegiatan pengeringan dan penggaraman ikan merupakan salah satu cara mengawetkan ikan dan sekaligus memberi cita rasa tertentu yang disenangi konsumen (Erizal Jamal, 1991).

## 2.6 Bakteri

Bakteri merupakan organisme yang paling banyak jumlahnya dan lebih tersebar luas dibandingkan makhluk hidup yang lain .

Bakteri memiliki ratusan ribu spesies yang hidup di darat hingga

lautan dan pada tempat-tempat yang ekstrim. Bakteri ada yang menguntungkan tetapi ada pula yang merugikan. Bakteri memiliki ciri-ciri yang membedakannya dengan makhluk hidup yang lain. Bakteri adalah organisme uniseluler dan prokariot serta umumnya tidak memiliki klorofil dan berukuran renik(mikroskopis).

### **2.6.1 Ciri-ciri Bakteri**

Bakteri memiliki ciri-ciri yang membedakannya dengan makhluk hidup lain yaitu :

1. Organisme multiseluler
2. Prokariot (tidak memiliki membran inti sel )
3. Umumnya tidak memiliki klorofil
4. Memiliki ukuran tubuh yang bervariasi antara 0,12 s/d ratusan mikron umumnya memiliki ukuran rata-rata 1 s/d 5 mikron.
5. Memiliki bentuk tubuh yang beraneka ragam
6. Hidup bebas atau parasit
7. Yang hidup di lingkungan ekstrim seperti pada mata air panas,kawah atau gambut dinding selnya tidak mengandung peptidoglikan
8. Yang hidupnya kosmopolit diberbagai lingkungan dinding selnya mengandung peptidoglikan

### **2.6.2 Struktur Bakteri**

Struktur bakteri terbagi menjadi dua yaitu:

1. Struktur dasar (dimiliki oleh hampir semua jenis bakteri)  
Meliputi: dinding sel, membran plasma, sitoplasma, ribosom, DNA, dan granula penyimpanan
2. Struktur tambahan (dimiliki oleh jenis bakteri tertentu)  
Meliputi kapsul, flagelum, pilus, fimbria, klorosom, Vakuola gas dan endospora.



### Struktur dasar sel bakteri



struktur-bakteri1

Struktur dasar bakteri :

1. Dinding sel tersusun dari peptidoglikan yaitu gabungan protein dan polisakarida (ketebalan peptidoglikan membagi bakteri menjadi bakteri gram positif bila peptidoglikannya tebal dan bakteri gram negatif bila peptidoglikannya tipis).
2. Membran plasma adalah membran yang menyelubungi sitoplasma tersusun atas lapisan fosfolipid dan protein.
3. Sitoplasma adalah cairan sel.
4. Ribosom adalah organel yang tersebar dalam sitoplasma, tersusun atas protein dan RNA.
5. Granula penyimpanan, karena bakteri menyimpan cadangan makanan yang dibutuhkan.



### Struktur tambahan bakteri :

1. Kapsul atau lapisan lendir adalah lapisan di luar dinding sel pada jenis bakteri tertentu, bila lapisannya tebal disebut kapsul dan bila lapisannya tipis disebut lapisan lendir. Kapsul dan lapisan lendir tersusun atas polisakarida dan air.
2. Flagelum atau bulu cambuk adalah struktur berbentuk batang atau spiral yang menonjol dari dinding sel.

3. Pilus dan fimbria adalah struktur berbentuk seperti rambut halus yang menonjol dari dinding sel, pilus mirip dengan flagelum tetapi lebih pendek, kaku dan berdiameter lebih kecil dan tersusun dari protein dan hanya terdapat pada bakteri gram negatif. Fimbria adalah struktur sejenis pilus tetapi lebih pendek daripada pilus.
4. Klorosom adalah struktur yang berada tepat dibawah membran plasma dan mengandung pigmen klorofil dan pigmen lainnya untuk proses fotosintesis. Klorosom hanya terdapat pada bakteri yang melakukan fotosintesis.
5. Vakuola gas terdapat pada bakteri yang hidup di air dan berfotosintesis.
6. Endospora adalah bentuk istirahat (laten) dari beberapa jenis bakteri gram positif dan terbentuk didalam sel bakteri jika kondisi tidak menguntungkan bagi kehidupan bakteri. Endospora mengandung sedikit sitoplasma, materi genetik, dan ribosom. Dinding endospora yang tebal tersusun atas protein dan menyebabkan endospora tahan terhadap kekeringan, radiasi cahaya, suhu tinggi dan zat kimia. Jika kondisi lingkungan menguntungkan endospora akan tumbuh menjadi sel bakteri baru.

### **2.6.3 Bentuk Bakteri**

Bentuk dasar bakteri terdiri atas bentuk bulat (kokus), batang (basil), dan spiral (spirilia) serta terdapat bentuk antara kokus dan basil yang disebut kokobasil. Berbagai macam bentuk bakteri :

**Bakteri Kokus :**



kokus

- a. Monokokus yaitu berupa sel bakteri kokus tunggal
- b. Diplokokus yaitu dua sel bakteri kokus berdempetan
- c. Tetrakokus yaitu empat sel bakteri kokus berdempetan berbentuk segi empat.
- d. Sarkina yaitu delapan sel bakteri kokus berdempetan membentuk kubus
- e. Streptokokus yaitu lebih dari empat sel bakteri kokus berdempetan membentuk rantai.
- f. Stapilokokus yaitu lebih dari empat sel bakteri kokus berdempetan seperti buah anggur

**Bakteri Basil :**



basil

- a. Monobasil yaitu berupa sel bakteri basil tunggal
- b. Diplobasil yaitu berupa dua sel bakteri basil berdempetan
- c. Streptobasil yaitu beberapa sel bakteri basil berdempetan membentuk rantai



**Bakteri Spirilia :**



spirilia

- a. Spiral yaitu bentuk sel bergelombang
- b. Spiroseta yaitu bentuk sel seperti sekrup
- c. Vibrio yaitu bentuk sel seperti tanda baca koma

**2.7 Standar Mutu Ikan Asin**

Persyaratan Standar Mutu Ikan Asin Kering berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) dapat dilihat pada Tabel 2 berikut ini.  
Tabel 2. Persyaratan Standar Mutu Ikan Asin Kering Berdasarkan SNI 01-2721-1992

Jenis Analisis	Persyaratan Mutu
a. Organoleptik	
- Nilai minimum	6,5
- Kapang	Negatif
b. Mikrobiologi	
- TPC, koloni/g, maks	1 x 10 <sup>5</sup>
- <i>E. coli</i> , MPN/g, maks	< 3
- <i>Salmonellae sp.</i> , per 25 g	Negatif
- <i>Vibrio cholerae</i> , per 25 g	Negatif
- <i>Staphylococcus aureus</i> , per 25 g, maks	1 x 10 <sup>3</sup>
c. Kimia	
- Air, % bobot/bobot, maks	40
- Garam, % bobot/bobot, maks	20
- Abu tak larut dalam asam, % bobot/bobot, maks	1,5

Sumber : Badan Standarisasi Nasional (1992)

## 2.8 Bakteri *Bacillus* sp.

*Bacillus* secara alami terdapat dimana-mana, dan termasuk spesies yang hidup bebas atau bersifat patogen. Beberapa spesies *Bacillus* menghasilkan enzim ekstraseluler seperti *protease*, *lipase*, *amilase*, dan *selulase* yang bisa membantu pencernaan dalam tubuh hewan (Wongsa dan Werukhamkul, 2007). Jenis *Bacillus* (*B. cereus*, *B. clausii* dan *B. pumilus*) termasuk dalam lima produk probiotik komersil terdiri dari spora bakteri yang telah dikarakterisasi dan berpotensi untuk kolonisasi, immunostimulasi, dan aktivitas antimikrobanya (Duc *et al.*, 2004).

Beberapa penelitian telah berhasil mengisolasi dan memurnikan bakteriosin *Bacillus* sp. Gram positif diantaranya yaitu subtilin yang dihasilkan oleh *Bacillus subtilis* (Klein *et al.*, 1993), megacin yang dihasilkan oleh *B. megaterium* (Tagg *et al.*, 1976), coagulin dihasilkan oleh *B. coagulans* (Hyronimus, 1998), cerein dihasilkan oleh *B. cereus* (Oscariz dan Pisabarrotocicin yang dihasilkan, 2000), dan oleh *B. thuringiensis* (Paik *et al.*, 1997).

Bakteriosin merupakan zat antimikroba berupa polipeptida, protein, atau senyawa yang mirip protein. Bakteriosin disintesis diri bosom oleh bakteri selama masa pertumbuhannya dan umumnya hanya menghambat pertumbuhan galur-galur bakteri yang berkerabat dekat dengan bakteri penghasil bakteriosin (Kone & Fung, 1992). Menurut Tagg *et al.*, (1976), kriteria yang merupakan ciri-ciri bakteriosin adalah sebagai berikut: (1) memiliki spektra aktivitas yang lebih sempit, (2) senyawa aktif merupakan

polipeptida atau protein, (3) bersifat bakterisida, (4) mempunyai reseptor spesifik pada sel sasaran, 5) gen determinan terdapat pada plasmid. Senyawa antibiotik yang dihasilkan *Bacillus* sp adalah basitrasin, pumulin, laterosporin, gramisidin, dan tirocidin yang efektif melawan bakteri Gram positif serta kolistin dan polimiksin bersifat efektif melawan bakteri Gram negatif. Sedangkan difficidin memiliki spektrum lebar, mikobacilin dan zwittermicin bersifat antijamur (Todar, 2005).

#### Kelebihan dan Kekurangan Bakteri *Bacillus* sp

##### 1. Kelebihan

- *Bacillus* sp memiliki kemampuan dalam menghasilkan antibiotik yang berperan dalam nitrifikasi dan denitrifikasi
- Pengikat nitrogen, pengoksidasi selenium (Se), pengoksidasi dan pereduksi mangan (Mn)
- Bersifat khemolitotrof, aerob dan fakultatif anaerob
- Dapat melarutkan karbonat
- Dapat melarutkan posfat, dan menurunkan pH substrat akibat asam organik yang dihasilkannya
- Dapat melakukan mineralisasi terhadap bahan organik kompleks baik berupa senyawa polisakarida, protein maupun selulosa

##### 2. Kekurangan

*Bacillus* sp ini dapat dimanfaatkan pada tahap persiapan lahan tambak dan pembentukan air pada masa awal budidaya ikan/udang. Pembentukan plankton, bakteri pembentuk flock, menurunkan pH dan stabilisasi alkalinitas berupa pembentukan buffer (penyanggah) bikarbonat-asam karbonat dapat terlaksana. Namun jika dilanjutkan terus dari masa pertengahan budidaya hingga akhir (panen) maka eutrofikasi air dapat terjadi, konsentrasi posfat dan nitrit dapat meningkat sebagai akibat pelarutan posfat dan degradasi protein dari sisa pakan dan kotoran ikan/udang serta produksi nitrit yang intens dari hasil pernafasan denitrifikasi *Bacillus* sp. Rentang pH pagi – sore juga dapat bergerak melebar, akibat daya larut terhadap karbonat yang



Menurut (Saraswati dan Sumarno, 2008). Berbagai spesies dari genus bakteri seperti *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Micrococcus* berperan penting dalam mekanisme pelarutan P. Bakteri pelarut P mampu menghasilkan enzim fosfatase, fitase dan asam-asam organik hasil metabolisme seperti asetat, propionat, glikolat, fumarat, oksalat, suksinat dan tartat, sitrat, laktat dan ketoglutarat.

Pendekatan filogenetik untuk *Bacillus* taksonomi telah dicapai terutama dengan analisis molekul 16S rRNA oleh oligonukleotida sequencing . Teknik ini , tentu saja , juga mengungkapkan hubungan filogenetik . Anehnya , spesies *Bacillus* menunjukkan kekerabatan dengan spesies nonsporeforming tertentu, termasuk *Enterococcus* , *Lactobacillus* , *Streptococcus* dan di tingkat Order, dan *Listeria* dan *Staphylococcus* di tingkat keluarga . Jika tidak, beberapa mantan anggota genus *Bacillus* dikumpulkan ke Keluarga baru, termasuk *Acyclobacillaceae* , *Paenibacillaceae* dan *Planococcaceae* , sekarang pada tingkat dengan *Bacillaceae* . Sebagian besar bakteri yang dibahas dalam artikel ini berasal dari salah satu dari empat Keluarga . Hirarki taksonomi mereka ( Bergey tahun 2004 ) adalah Kerajaan : Bakteri ; Filum : Firmicutes ; Kelas : Basil Tahan ; Order: *Bacillales* ; Keluarga : *Acyclobacillaceae* ( genus : *Acyclobacillus* ) ; Keluarga : *Bacillaceae* ( genus : *Bacillus* , *Geobacillus* ) ; Keluarga : *Paenibacillaceae* ( genus : *Paenibacillus* , *Brevibacillus* ) ; Keluarga : *Planococcaceae* ( genus : *Sporosarcina* )

Agar nutrisi, agar pati, dan agar susu skim. Genus *Bacillus* merupakan bakteri yang Peralatan yang digunakan, yaitu PCR (Perkin

sangat baik digunakan sebagai agen Elmer Biosystem, USA), *Laminar Air Flow*, biokontrol (Jack *et al.* 1995). Bakteri ini merupakan bakteri gram positif berbentuk batang, bersifat aerobik, serta dapat menghasilkan endospora (Schilinger 1990; Kone dan Fung 1992; Klaenhammer 1993; Iriana *et al.* 2001)

Bakteriosin dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan telah digunakan sebagai biopreservative dan terapeutik (Janes *et al.* 1999). Bakteriosin adalah zat antimikroba polipeptida atau protein yang diproduksi oleh mikroorganisme dan bersifat bakterisida maupun bakteristatik. Bakteriosin membunuh sel targetnya dengan menyisip pada membran target dan mengakibatkan fungsi membran sel menjadi tidak stabil sehingga menyebabkan lisis sel (Atlas dan Bartha, 1998).

Menurut Anonymous, 2014. Kekuatan dan kelemahan *Bacillus laterosporus* di jelaskan sebagai berikut, yaitu:

Kekuatan:

Probiotik tidak hanya menghambat pertumbuhan bakteri berbahaya dengan mempromosikan penyebaran bakteri baik, mereka juga ajudan dalam pencernaan dan penyerapan makanan vitamin. Mereka dapat membantu tubuh dalam produksi vitamin. Probiotik merangsang sistem kekebalan tubuh, yang membantu tubuh melawan penyakit.

Kelemahan:

Salah satu kesulitan utama dengan probiotik adalah bahwa satu-satunya tetap dalam sistem seseorang selama beberapa hari, sehingga mereka

harus terus-menerus diisi ulang untuk mempertahankan saluran pencernaan yang sehat. Makanan tertentu seperti yoghurt, pisang, bawang putih, dan bawang, telah alami probiotik, bagaimanapun, sulit untuk tahu persis yang strain dan berapa banyak dari mereka yang Anda konsumsi dalam makanan ini. Selain itu, beberapa bakteri tidak dapat bertahan perjalanan sampai ke usus dan dihancurkan oleh cairan lambung yang disekresikan oleh lambung.

Spesies *Bacillus* menghasilkan 167 senyawa biologis aktif terhadap bakteri, jamur, protozoa dan virus (Katz & Demain, 1977; Cordovilla *et al*, 1993;. Karuse *et al*, 1990;. Berdy, 1974). Sebagian besar antibakteri adalah peptida dan aktif terhadap spesies Gram-positif sementara senyawa seperti polimiksin dan colistin aktif terhadap spesies Gram-negatif. Beberapa senyawa antijamur disintesis oleh spesies *Bacillus* aktif terhadap jamur berfilamen dan ragi. Baru-baru ini, Munimbazi & Bullerman (1998a) dijelaskan metabolit antijamur yang dihasilkan oleh *B. pumilus* tumbuh dalam kaldu glukosa ubi, yang menghambat pertumbuhan miselium (perkecambahan spora) dari *Aspergillus*, *Penicillium* dan *Fusarium* spesies, dan produksi aflatoksin *Aspergillus parasiticus* (Munimbazi & Bullerman, 1998b ). Namun demikian, beberapa perbedaan antara *B. pumilus* kami (MSH) senyawa antijamur dan yang dijelaskan oleh Munimbazi & Bullerman (1998a). *B. pumilus* (MSH) menghasilkan metabolit antijamur yang menghambat pertumbuhan *Mucoraceae* dan *Aspergillus* spesies termasuk *A. flavus*, *A. fumigatus* dan *A. terreus*. Sementara tidak ada data yang diberikan oleh Munimbazi & Bullerman



(1998a) tentang *Mucoraceae*, pumilus senyawa *B. pumilus* mereka tidak aktif terhadap *A. flavus* dan *A. terreus*, dan tidak diuji terhadap *A. fumigatus*. Selain itu, berbeda dengan *B. pumilus* metabolit ditemukan oleh Munimbazi & Bullerman (1998a), *B. pumilus* (MSH) produk tidak menghambat spesies *Fusarium*.

Secara mekanis, *B. pumilus* (MSH) metabolit menghambat perkecambahan spora baik dan hifa elongasi, serta baru berkecambah memajukan hifa. Mikroskop elektron Awal menghambat berkecambah hifa menunjukkan lesi dinding sel yang dapat menyebabkan kebocoran komponen intraseluler dan kematian hifa. Seperti mekanisme kerja juga bisa menjelaskan penghambatan memajukan hifa pada kontak dengan *B. pumilus* (MSH) senyawa anti jamur. The *B. pumilus* galur dijelaskan oleh Munimbazi & Bullerman (1998a) menghambat perkecambahan spora tanpa menyebutkan inhibisi hifa.

The *B. pumilus* (MSH) prinsip antijamur tampaknya menyamakan dengan hemolisin yang dihasilkan oleh virus ini, yang dikuatkan oleh penurunan di zona aktivitas antijamur dengan hemolisin-kekurangan isogenic *B. pumilus* dan tidak adanya lengkap aktivitas antijamur oleh ketik strain *B. pumilus*, ATCC 7061T, yang non-hemolitik.

Metabolit kami adalah tidak aktif saat diuji pada agar glukosa Sabouraud, yang memiliki pH 5,6, berbeda dengan yang Munimbazi & Bullerman (1998a) yang metabolit aktif pada rentang pH 2-10. Pronase pengobatan zona hemolitik bawah filter membran tidak menonaktifkan aktivitas sedangkan paparan kloroform mengakibatkan inaktivasi parsial

seperti yang dituturkan oleh perkecambahan terobosan dari *Mucor* spora 48 jam setelah pengobatan kloroform. Diambil dalam konser dengan massa molekul diperkirakan antara 500 dan 3000 Da, senyawa kami menyerupai antijamur peptida lainnya yang dihasilkan oleh *Bacillus* spesies (Katz & Demain, 1977; Lebbadi *et al*, 1994; Wakayama *et al*, 1984), tapi mungkin juga mengandung gugus lipid.

Meskipun senyawa kami stabil dalam agar selama minimal 8 hari, kami telah mampu mengisolasi dalam konsentrasi yang cukup untuk melakukan aktivitas, sitotoksisitas dan studi physiochemical lebih definitif. Mungkin molekul aktif (hemolisin) membutuhkan molekul pembawa menstabilkan, misalnya eritrosit, spora / hifa atau agar, untuk mempertahankan aktivitas. Ketika dipisahkan, aktivitas hilang. Kemampuan senyawa yang tetap aktif (stabil) selama lebih dari 8 hari di agar mendukung konsep ini.

Menurut Raunsay (2011). Melaporkan bahwa isolat bakteri proteolitik yang diisolasi dari sedimen danau asal Gili Meno umumnya merupakan bakteri Gram positif berbentuk batang. Hasilnya menunjukkan bahwa isolat bakteri proteolitik yang diperoleh memiliki karakter yang cocok dengan beberapa genus, diantaranya adalah *Bacillus*. Banyak jenis dari *Bacillus* yang menghasilkan enzim ekstraseluler salah satunya enzim protease (Madigan *et al*. 2003)

Menurut Song *et al*. (2011). Genus *Brevibacillus* merupakan bakteri Gram positif yang dapat diisolasi dari tanah, bakteri ini berukuran 0.8-1.5  $\mu\text{m}$  x 1.2-2.0  $\mu\text{m}$  dan hidup secara optimal pada suhu 15°C hingga 55°C,

*Brevibacillus* dapat dimanfaatkan sebagai agens biokontrol penghambat pertumbuhan cendawan seperti *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxusporus*, *Fusarium solani*, dan *Physalospora piricola*.

Enzim selulase dapat dihasilkan oleh mikroorganisme dari kelompok kapang, aktinometes, fungi dan bakteri. *Bacillus pumilus* merupakan gram positif yang selnya berbentuk batang dengan lebar 0,6-0,7  $\mu\text{m}$  dan panjang 2-3  $\mu\text{m}$ . bakteri ini memiliki kemampuan untuk mendegradasi selulosa dengan menghasilkan enzim selulase (Holt et al, 1984)





### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu Dan Tempat Penelitian

Pengambilan sampel jambal roti kering diambil di ketiga tempat yaitu surabaya yang bertempat di pasar pabean, paciran lamongan dan tuban di pasar tuban. Selanjutnya identifikasi *Bacillus sp* dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Malang

#### 3.2. Bahan dan Alat

##### 3.2.1. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah agar, akuades, alkohol, asam klorida, buffer pH 4 dan 7, De Man Rogosa and Sharpe (MRS), ekstrak ragi, kalsium karbonat, larutan Gram, margarin, natrium hidroksida, natrium klorida, nutrient agar (NA), pepton, phosphat buffer saline (PBS), juice tomat dan susu skim.

Menurut Waluyo (2007), pengenceran dilakukan dengan mengencerkan suatu suspensi yang berupa campuran bermacam-macam, kemudian diikutsertakan suatu tabung tersendiri. Dan pengenceran ini kemudian diambil 1 ml untuk diencerkan lagi. Kalau perlu dari enceran yang kedua ini diambil 1 ml diencerkan lebih lanjut.

Pengenceran sendiri berawal dari suatu sampel dari suatu suspensi yang berupa campuran bermacam-macam spesies diencerkan dalam

suatu tabung tersendiri. Dari pengenceran ini kemudian diambil 1 ml untuk diencerkan lagi kalau perlu dari pengenceran yang kedua ini diambil barang 1 ml untuk diencerkan lebih lanjut. Jika dari pengenceran yang ketiga ini diambil 0,1 ml untuk disebar pada suatu medium padat, kemungkinan besar kita akan mendapatkan beberapa koloni tumbuh dalam medium tersebut tetapi mungkin kita hanya memperoleh satu koloni saja (Dwidjoseputro, 2005).

### **3.2.2. Alat**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoclave, cawan petri, centrifuge, filter 0,22 $\mu$ m, hot plate, jangka sorong, kawat ose, laminar, mikropipet, mikroskop, neraca analitik, pembakar bunsen, pH meter, dan seperangkat alat gelas yang umum digunakan di laboratorium.

### **3.3. Metode Penelitian**

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksploratif. Menurut Amirin (2009), metode eksploratif merupakan salah satu pendekatan dalam penelitian. Metode eksploratif berupaya menemukan informasi umum mengenai sesuatu topik/masalah yang belum dipahami sepenuhnya oleh seorang peneliti. Jadi, penelitian eksploratif merupakan salah satu pendekatan penelitian yang digunakan untuk meneliti sesuatu (yang menarik perhatian) yang belum diketahui, belum dipahami, belum dikenali, dengan baik.

Metode eksploratif bertujuan untuk memperoleh pengetahuan tentang suatu gejala, sehingga setelah melalui tahap observasi, masalah serta hipotesisnya dapat dirumuskan. Dalam penelitian eksploratif

pengetahuan tentang gejala yang hendak diteliti masih sangat terbatas dan merupakan langkah pertama bagi penelitian yang lebih mendalam (Singarimbun dan Effendi, 1989).

Penelitian eksploratif bersifat menjelajah, artinya penelitian yang dilakukan apabila pengetahuan tentang gejala yang diteliti masih sangat kurang atau tidak ada sama sekali. Penelitian eksploratif seringkali berupa studi kasus dari suatu kelompok atau golongan tertentu, yang masih kurang diketahui orang (Yumei dan Yulia, 2009). Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksplorasi yaitu penyelidikan ilmiah dengan penjelajahan bagian-bagian yang bertujuan memperoleh pengetahuan lebih banyak tentang keadaan ataupun sumber - sumber tertentu.

### **3.4 Prosedur Penelitian**

#### **3.4.1 Identifikasi Bakteri**

Identifikasi bakteri dilakukan berdasarkan morfologi koloni, sifat gram, motilitas dan sel bakteri serta pengujian sifat biokimia menurut *Bergey's manual of determinative bacteriology* (Holt et al, 1994).

##### **– Pengamatan Morfologi Koloni dan Sel Bakteri**

Pengamatan morfologi koloni dilakukan pada saat isolat telah murni, pengambilan koloni bakteri dari hasil penanaman pada media PCA yang di inkubasi selama 24 jam berdasarkan atas warna, bentuk dan diameter yang berbeda dari koloni-koloni bakteri yang tumbuh (koloni yang diambil pada permukaan media untuk mendapatkan bakteri aerob) dan diberi kode, selanjutnya koloni – koloni yang sudah terpilih tersebut



dilakukan pewarnaan gram dan perhitungan koloni dengan Colony Counter kemudian diamati dengan menggunakan mikroskop elektron pada pembesaran 10x dan 100x, koloni bakteri bersifat negatif jika berwarna merah dan bersifat positif jika berwarna ungu.

Koloni yang sudah diketahui jenis gramnya kemudian diinokulasi pada media AMC (Agar Mac Conkey) jika koloni tersebut dalam golongan gram negatif dan diinokulasi pada media NA jika koloni tersebut dalam golongan gram positif. Media AMC dipakai untuk isolasi bakteri koliform dan bakteri patogen yang terdapat dalam usus, air dan susu. Koloni-koloni tersebut kemudian dimurnikan melalui Sub Culture Technique (SCT) dalam tabung reaksi diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, diamati bentuk koloni bakterinya meliputi bentuk, tepian, elevasi, permukaan warna, dan diameter. Bentuk morfologi bakteri selanjutnya diamati apakah batang (Bacil), bulat (Coccus), atau bentuk spiral, motilitas dengan menggunakan Mikroskop Binokuler Nikon pada pembesaran 10x dan 100x dan disimpan pada suhu refrigerator hingga dilakukan analisis lebih lanjut. Pada sampel ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) ditemukan 6 isolat bakteri dan sampel ikan layang (*Decapterus spp*) ditemukan 5 isolat bakteri. Selanjutnya isolat tersebut dilakukan pengujian biokimia dengan menggunakan *Microbact identification Kits*. Pengamatan morfologi koloni dilakukan pada saat isolat telah murni dan terpisah. Bakteri yang telah dikultur pada media PCA pada suhu kamar selama 48 jam, diamati bentuk koloni bakterinya.

- **Pengujian sifat biokimia bakteri**

Pengujian biokimia bakteri menggunakan *Microbact identification Kits* Untuk mendapatkan bakteri gram positif bisa digunakan GNB 12B saja, sedangkan GNB 12A diabaikan. Uji bakteri gram negatif menggunakan 1 set yaitu GNB 12A/B/E, 24E yang dapat dilihat pada Gambar2.



Gambar 2. *Microbact identification Kits* GNB 12A/B/E, 24E

Cara penggunaannya adalah sebagai berikut:

- Uji Oxidase**

Uji oksidasi dilakukan terlebih dahulu untuk menentukan jenis *Microbact identification Kits* yang digunakan. Kultur bakteri yang akan diidentifikasi diambil sedikit dengan jarum oose, kemudian ditempatkan pada kertas oksidase (*Bactident Oxidase Kit*), diamati perubahan warnanya selama 60 detik, apabila timbul warna ungu menunjukkan oksidasi positif, maka harus memakai microbact MB-12A + MB-12B atau

microbact-24E. Namun apabila tidak berwarna menunjukkan oksidasi negatif, maka bisa memakai microbact MB-12A saja atau bisa juga MB-12A + MB -12B atau MB-24E.

– **Pengujian Sifat Biokimia Dengan Microbact**

Uji biokimia dengan MB-12A/E meliputi: uji lysine, uji ornithin, uji  $H_2S$ , uji glukosa, uji manitol, uji xylose, uji ONPG, uji indol, uji urease, uji VP, uji citrate dan uji TDA Uji biokimia dengan MB-12B meliputi: uji gelatin, uji malonat, uji inositol, uji sorbitol, uji ramnosa, uji sucrose, uji lactose, uji arabinosa, uji adanitol, uji rafinosa, uji salisin dan uji arginin.

- **Persiapan bakteri**

Sebanyak 5 koloni bakteri yang sudah diinkubasi selama 18 – 24 jam diambil dengan oose lengkung, dimasukkan ke dalam 5 ml NaCl Fisiologis 0,9%, divortex sampai homogen (larutan bakteri).

- **Pengisian microbact**

Microbact yang sudah dipersiapkan kemudian ditarik sel penutupnya dan larutan bakteri sebanyak 4 tetes diteteskan pada setiap sumur microbact. Pada sumur lysine, ornitin,  $H_2S$  pada MB-12A dan sumur arginin pada MB-12B ditetesi dengan mineral oil sebanyak 1 – 2 tetes, setelah itu seal ditutup kembali dan microbact diinkubasi selama 12 – 18 jam pada suhu  $30^{\circ}C$  didalam inkubator

- **Pembacaan microbact**

Microbact diambil dari inkubator, kemudian ditarik seal penutupnya dan ditambahkan dengan reagent pada:



- Sumur nomor 8 dengan indol konvact, 2 tetes
- Sumur nomor 10 dengan VPI (larutan 40% KOH) dan Vp II (larutan 40% Alpha-Naphthol) masing-masing 1 tetes
- Sumur nomor 12 dengan TDA 1 tetes

- Evaluasi hasil

Dari sumur-sumur microbact dilihat apakah positif atau negatif dengan cara membandingkan dengan tabel warna kunci. Angka-angka oktal didapat dari penjumlahan reaksi positif saja, dari tiap-tiap kelompok (3 sumur didapatkan 1 angka oktal). Spesies bakteri dapat dilihat pada program komputer berdasarkan angka-angka oktal. Sebagai perbandingan dicocokkan sifat-sifatnya berdasarkan *Bergey's manual of determinative bacteriology*.

#### Uji Nitrat

Test ini dilakukan pada sumur 7/ ONPG, setelah pembacaan reaksi ONPG, kemudian sumur nomor 7 ini ditetesi dengan reagent: Nitrat A (asam sulfida) dan nitrat B (alpha-naphthylamine), masing-masing 1 tetes. Reaksi positif apabila berwarna merah dan reaksi negatif apabila tidak berubah warna.

#### Uji Katalase

Bakteri dioleskan pada obyek gelas (slide) dengan menggunakan jarum oose, kemudian ditetaskan larutan *hydrogen peroxide* ( $H_2O_2$ ) 30% pada daerah yang telah diolesi bakteri. Apabila setelah tetesan *hydrogen peroxide* timbul gelembung gas menunjukkan terjadi pelepasan oksigen (+).

### Uji Motilitas

Koloni dari kultur bakteri diambil dengan jarum oose lalu diletakkan pada obyek gelas yang sudah ditetesi dengan satu tetes NaCl fisiologis, setelah itu tutup dengan cover glass dan di atasnya ditetesi dengan satu tetes minyak emersi, dan dilihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali.

### Uji Indole

Suspensi bakteri diinokulasikan dengan cara tusukan pada medium SIM atau dicelupkan menggunakan jarum oose ke dalam larutan broth, diinkubasikan selama 1 – 2 hari pada suhu 27°C, kemudian ditambahkan reagen kovacs (P –Dymethyl Aminobenzaldehide 5 g, Amyl Alcohol 75 g, HCl pekat 25 ml) yang berwarna kuning cerah sampai coklat cerah sebanyak ± 0,4 ml. hasil uji setelah 20 menit menunjukkan reaksi (+) jika terbentuk warna merah muda sampai tua pada lapisan reagen.

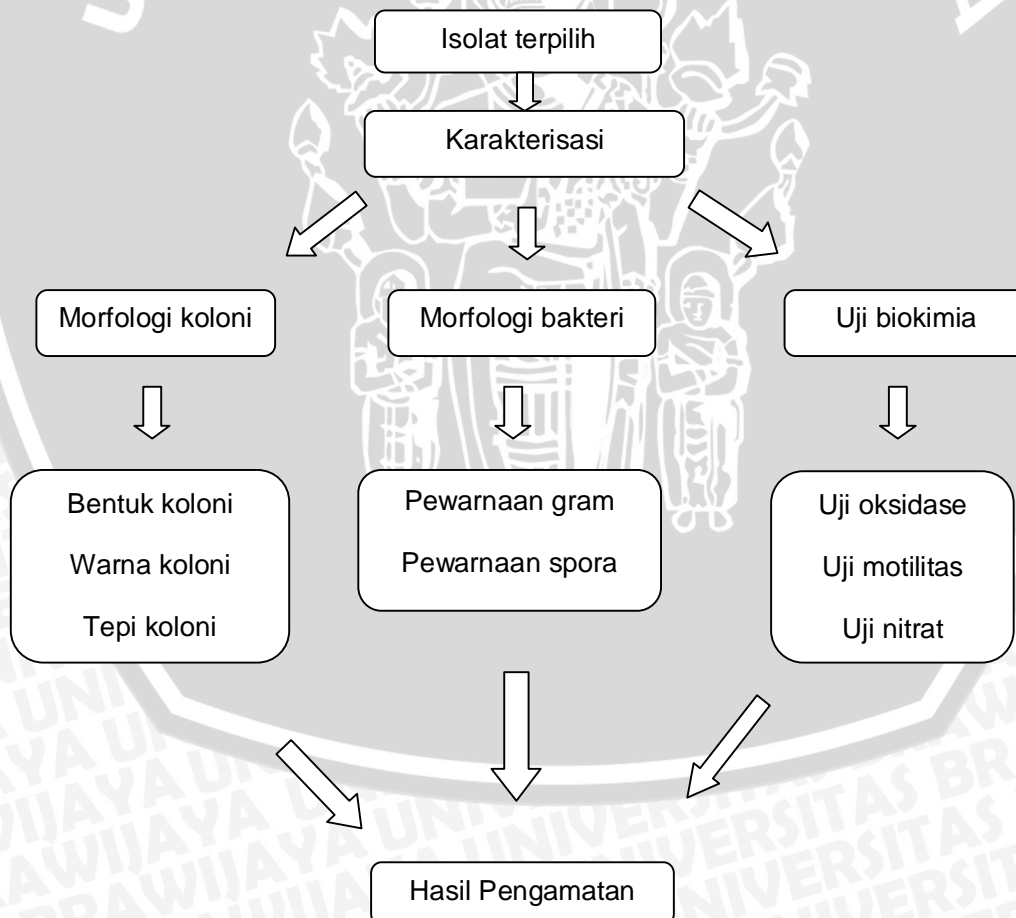
### Uji penggunaan gula

Media TSIA disiapkan. Suspense bakteri diinokulasikan secara tusukan pada media tegak (SIM) dan goresan pada media miring (TSIA), kemudian diinkubasikan selama 18 – 24 jam pada suhu 27°C. hasil uji Alk/As apabila hanya glukosa yang terfermentasi, As/As apabila glukosa dan laktosa atau sukrosa terfermentasi, As/Alk apabila laktosa atau sukrosa terfermentasi, alk/Alk apabila gula tidak terfermentasi, H<sub>2</sub>S apabila terbentuk warna kehitaman pada bekas goresan, terbentuk gas

apabila terjadi retakan pada media. Cara pembacaan K = basa (merah), A = asam (kuning), dibaca sebagai media tegak/miring.

**Uji Voges-Proskauer (VP)**

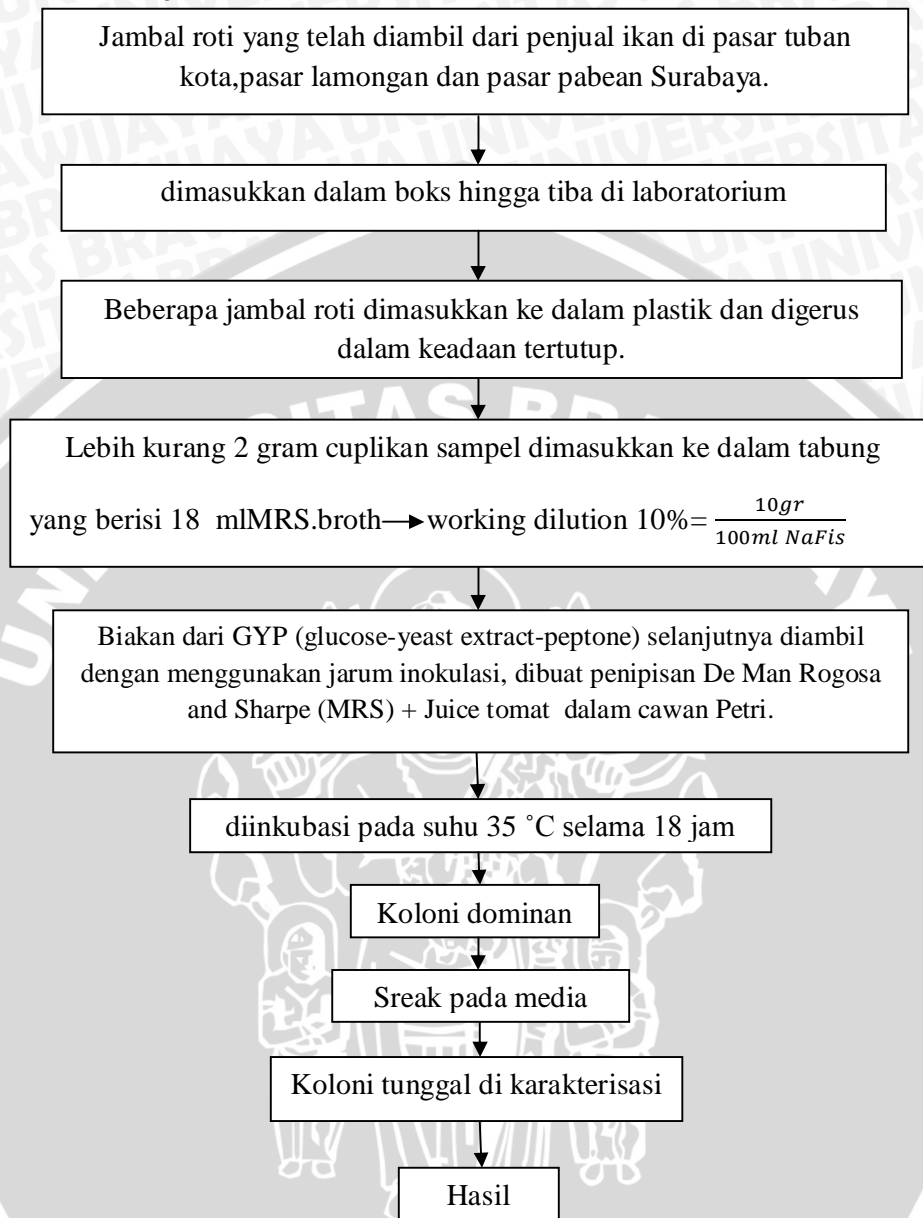
Suspense bakteri diinokulasikan dalam kaldu VP dan diinkubasikan pada suhu 35°C selama 24 – 48 jam. Tambahkan 10 tetes larutan 40% KOH dan 15 tetes larutan 40% Alpha-Naphthol dalam kaldu VP, Kocok tabung hingga kaldu berbuih dan diamkan selama 30 menit. Uji bersifat positif (+) bila pada tabung terlihat warna merah sedangkan uji bersifat (-) bila pada tabung tidak memperlihatkan warna setelah penambahan reagen.



Gambar 3. Diagram Alir karakterisasi bakteri *Bacillus sp.*



### 3.5. Skema kerja



Gambar 4. Proses awal identifikasi *Bacillus* sp.

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Jenis-Jenis Bakteri yang diidentifikasi

Hasil identifikasi bakteri yang berhasil diidentifikasi dari jambal roti kering di ketiga tempat : Surabaya, Lamongan, Tuban di peroleh 2 jenis bakteri yaitu *Bacillus laterosporus* dan *Bacillus Pumilus*. Jenis *Bacillus laterosporus* di dapatkan dari jambal roti kering di daerah lamongan dan tuban, sedangkan jenis *Bacillus pumilus* di dapatkan dari daerah Surabaya. Adapun hasil identifikasi kedua jenis bakteri tersebut dapat di lihat pada tabel 3 dan 4 sebagai berikut:

**Tabel 3.** Isolat morfologi, fisiologi dan uji kimiawi bakteri *Bacillus laterosporus* di daerah tuban dan daerah Lamongan yaitu :

JENIS TES	HASIL	TUMBUH DI	
BGP	POSITIF	Nutrient Broth	POSITIF
SPORA	POSITIF	SDA	NEGATIF
<b>FERMENT GULA-GULA</b>		TSI	K/A, H <sub>2</sub> S-
Glukosa	POSITIF	CITRAT	NEGATIF
Xylosa	NEGATIF	INDOL	NEGATIF
Mannitol	POSITIF	VP	NEGATIF
Laktosa	NEGATIF	NaCl 7%	POSITIF
Sukrosa	NEGATIF	Motilitas	POSITIF
Maltosa	NEGATIF	Starch hydrolysis	NEGATIF
Arabinosa	NEGATIF	Casein hydrolysis	POSITIF
<b>SUHU PERTUMBUHAN</b>		PENICILLIN	SENSITIV
20°C	POSITIF	BETA-HEMOLISA	POSITIF
37°C	POSITIF	Katalase	POSITIF
45°C	POSITIF	Oksidase	POSITIF
50°C	POSITIF	Reduksi Nitrat	NEGATIF
		Reduksi Methylene Blue	NEGATIF
		<b>DX. LAB.</b>	<b><i>B. laterosporus</i></b>

**Tabel 4.**Isolat morfologi,fisiologi dan uji kimiawi bakteri *Bacillus Pumilus* di daerah surabaya yaitu:

JENIS TES	HASIL	TUMBUH DI	
BGP	POSITIF	Nutrient Broth	POSITIF
SPORA	POSITIF	SDA	NEGATIF
<b>FERMENT GULA-GULA</b>			
Glukosa	POSITIF	TSI	A/A,H2S-
Xylosa	NEGATIF	CITRAT	NEGATIF
Mannitol	POSITIF	INDOL	NEGATIF
Laktosa	POSITIF	VP	POSITIF
Sukrosa	NEGATIF	NaCl 7%	POSITIF
Maltosa	POSITIF	Motilitas	POSITIF
		Starch hydrolysis	POSITIF
Arabinosa	POSITIF	Casein hydrolysis	POSITIF
<b>SUHU PERTUMBUHAN</b>			
		PENICILLIN	SENSITIV
20 <sup>o</sup> C	POSITIF	BETA-HEMOLISA	POSITIF
37 <sup>o</sup> C	POSITIF	Katalase	POSITIF
40 <sup>o</sup> C	POSITIF	Oksidase	POSITIF
45 <sup>o</sup> C	POSITIF	Reduksi Nitrat	NEGATIF
		Reduksi Methylene Blue	NEGATIF
		<b>DX. LAB.</b>	<b><i>B. pumilus</i></b>

#### 4.2 Pewarnaan Gram Koloni Bakteri Yang Di Identifikasi Dari jambal roti di Lamongan, Tuban dan Surabaya

Menurut (peleazar dan chan,2006).Pengamatan morfologi bakteri dilakukan dengan teknik pewarnaan gram yang ditentukan oleh komposisi dari dinding sel. Pewarnaan gram bertujuan untuk mengelompokkan bakteri menjadi dua, yaitu bakteri gram positif dan gram negatif berdasarkan reaksi atau sifat bakteri terhadap cat tersebut. Pewarnaan gram merupakan penentuan karakter melalui prinsip perbedaan struktur dinding sel bakteri gram positif dan bakteri gram negative, pewarnaan



sering dilakukan merupakan metode untuk mencirikan bakteri berdasarkan perbedaan struktur kimia permukaannya yaitu dengan memberikan reagen warna pada bakteri

Prinsip dasar pewarnaan gram ini adalah mewarnai bakteri dengan pewarnaan dasar , yaitu kristal violet; menguatkan pelek zat pewarna dengan garam iodine; melunturkan warna dasar dengan alkohol; pewarnaan kembali dengan pewarna pembanding (counter stain) yaitu safranin. Menurut Lay (1994), karakteristik bakteri gram positif sebagian besar dinding sel bakterinya terdiri dari peptidoglikan yang terdiri dari 30 lapisan. Permeabilitas dinding sel kurang dan kompleks kristal yodium tidak dapat keluar dan bakteri akan tetap berwarna ungu, sedangkan bakteri gram negatif mempunyai lapisan peptidoglikan yang tipis, hanya 1 – 2 lapisan dan susunan dinding selnya tidak kompak. Permeabilitas dinding sel lebih besar sehingga memungkinkan terlepasnya kompleks kristal yodium setelah dibilas dengan alkohol, bakteri akan berwarna merah oleh pewarna pembanding (safranin).

Mekanisme pewarnaan gram. Sifat gram terutama di tentukan oleh sifat-sifat fisik dan kimia dinding sel dan membran sitoplasmanya. Dinding sel dan membran sitoplasma bakteri-bakteri gram positif mempunyai afinitas yang besar terhadap komplek cat kristal violed dan iodium, sedang pada bakteri gram negatif afinitasnya sangat kecil. Perbedaan sifat fisik dan kimia dinding sel dan membran sitoplasma ini memegang peranan penting dalam menentukan sifat pewarnaan gram, tetapi sampai berapa jauh pengaruh tersebut belum diketahui dengan jelas. Pada waktu

pewarnaan, larutan kristal violet dan iodium menembus sel-sel bakteri gram positif maupun sel bakteri negatif. Pada sel bakteri gram positif zat ini membentuk suatu senyawa yang sukar larut, juga tidak larut dalam pelarut (alkohol). Hal ini tidak terjadi pada sel bakteri gram negatif, akibatnya warna dapat dilunturkan. Pada pemberian warna penutup (warna lawan) sel bakteri gram positif tidak diwarnai, sedangkan sel bakteri gram negatif di warnai, sehingga warnanya kontras terhadap cat utama (Jutono, 1980).

Di antara berbagai spesies *Bacillus*, hanya spesies *B.adius B. subtilis*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. firmus*, *B. pumilus*, *B. mycoides* dan *B. lentus* dilaporkan telah dideteksi dari lingkungan laut. Ada spesies dilaut, seperti *B. marinus*, *B. salexigens*, *B. dipsosauri* (Garabito MJ, et al,1997), dan spesies dari genus baru Halobacillus (*H. halophilus*, *H. litoralis*, dan *H. trueperi*) yang memerlukan ion NaCl untuk pertumbuhannya (Spring et al,1992). Upaya ini telah dilakukan untuk karakterisasi strain *Bacillus* dari laut menggunakan teknik fenotipik yang berbeda. Namun, teknik ini sering terjadi kesalahan pada penerapannya. Beberapa informasi yang tersedia mengenai penggunaan teknik genom didasarkan pada kultur dari organisme sebelum di identifikasi. Keterbatasan teknik ini mencakup ketidakmampuan dari sebagian besar media untuk mendukung pertumbuhan semua spesies pada ekosistemnya dan fakta bahwa beberapa strain laut biasanya sulit untuk dikultur (Ivanova et al., 1999).

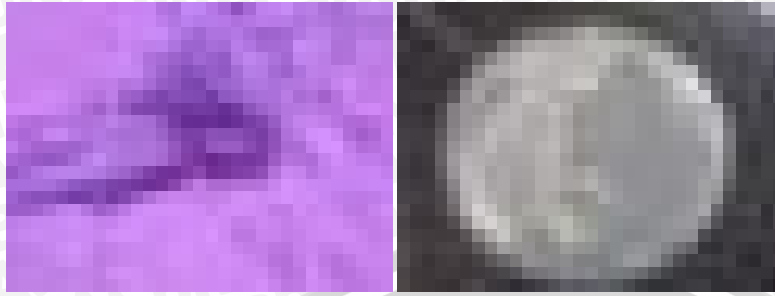
### 4.3 Identifikasi Isolat Bakteri Berdasarkan Uji Biokimia.

Dari isolasi dan identifikasi bakteri *Bacillus sp.* Yang berasal dari produk jambal roti kering, telah diperoleh 3 isolat yaitu 12b-1 bakteri *Bacillus laterosporus* di Tuban, 12b-2 *Bacillus pumilus* di Surabaya, 12b-3 *Bacillus laterosporus* di lamongan.

#### ✿ Isolat dengan kode 12b-1 dan Isolat dengan kode 12b-3

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi koloni bakteri dan uji biokimia pada isolat 12b-1 dan 12b-3 mempunyai ciri-ciri sebagai berikut: *Brevibacillus* spesies atau varian *laterosporus*, sebelumnya diklasifikasikan sebagai *Bacillus laterosporus*, adalah bakteri aerobik pembentuk spora yang menunjukkan patogenisitas terhadap serangga . Secara umum dengan *B. sphaericus* dan *B. thuringiensis* , *B. laterosporus* menghasilkan badan parasporal , yang dalam spesies ini mungkin berbentuk kano dan yang berfungsi untuk dudukan spora atau bahkan dapat muncul dalam berbagai bentuk. Namun, badan-badan parasporal tidak dianggap memiliki aktivitas entomocidal. Menunjukkan bahwa beberapa kristal yang dihasilkan selama sporulasi sangat beracun bagi *Aedes aegypti* dan *Anopheles stephensi* larva. Berdasarkan serangkaian uji tersebut dan setelah dibandingkan dengan ciri yang dijelaskan pada buku pedoman identifikasi *Bergey'S Manual Of Determinative Bacteriology* maka bakteri tersebut dapat diidentifikasi sebagai *Bacillus laterosporus* Hasil uji biokimia dengan *Microbact Identification Kits* dapat dilihat pada Lampiran 1 dan Isolat 12b-1 dan 12b-3 dapat dilihat pada Gambar 5 dan 6.





Gambar 5. Koloni dan Mikroskopis 12b-1 di Tuban *Bacillus laterosporus* pada pembesaran 1000x



Gambar 6. Koloni dan Mikroskopis *Bacillus laterosporus* 12b-3 di Lamongan pada pembesaran 1000x

Menurut Shida, O., dkk, 1996. *Brevibacillus laterosporus* comb. Nov. (28), sebelumnya diklasifikasikan sebagai *Bacillus laterosporus* (Laubach 1916), adalah spora bakteri aerobik yang dicirikan oleh kemampuannya dalam menghasilkan bakteri berbentuk kano lamellar parasporal berdekatan dengan spora. Beberapa strain menghasilkan kristal inklusi dari berbagai bentuk dan ukuran, yang dilepaskan secara terpisah dari spora selama pemecahan dari sporangium. *B. laterosporus* memiliki potensi untuk digunakan sebagai agen kontrol biologi dimana, jika dibandingkan dengan strain *Bacillus thuringiensis* dan *Bacillus sphaericus*, menunjukkan spektrum yang sangat luas dari aktivitas biologis.

Dalam konteks ini, toksisitas telah diujiterhadap kumbang *Lasiodermaserricone*, fitoparasit nematoda *Heteroderaglycines*, zooparasite nematoda *Trichostrongylus colubriformis*, dan bentuk dewasa dari moluska *Dreissenapolymorpha* (Singer, S. 1996). Selain itu, nilai 50% konsentrasi mematikan (LC50) yang didapat untuk organism uji Coleoptera *Leptinotarsaserricone* dan *Leptinotarsadecemlineata* sejumlah (kumbang kentang Colorado) yang sebanding dengan LC50 yang ditunjukkan oleh *Bacillus thuringiensis* serovar *Tenebrionis* (LC50 = 0.1  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )(Singer, S. 1981).

Senyawa metabolit sekunder banyak sekali jumlahnya. Menurut Springob dan Kutchan (2009), ada lebih dari 200000 struktur produk alamiah atau produk metabolit sekunder. Untuk memudahkan, perlu dibuat klasifikasi. Ada beberapa cara klasifikasi bisa dibuat, seperti berdasarkan sifat struktur, asal-usul biosintesis, atau lainnya. Berdasarkan sifat strukturnya, Hanson (2011) membagi MS ke dalam 6 golongan, yaitu 1) poliketida dan asam lemak, 2) terpenoid dan steroid, 3) fenilpropanoid, 4) alkaloid, 5) asam amino khusus dan peptida, dan 6) karbohidrat khusus.

Berasal dari mikroba yang digunakan sebagai insektisida. Mikroorganisme yang menyebabkan penyakit pada serangga tidak dapat menimbulkan gangguan terhadap hewan-hewan lainnya maupun tumbuhan. Jenis mikroba yang akan digunakan sebagai insektisida harus mempunyai sifat yang spesifik artinya harus menyerang serangga yang menjadi sasaran dan tidak pada jenis-jenis lainnya. Mikroba patogen yang telah sukses dan berpotensi sebagai insektisida

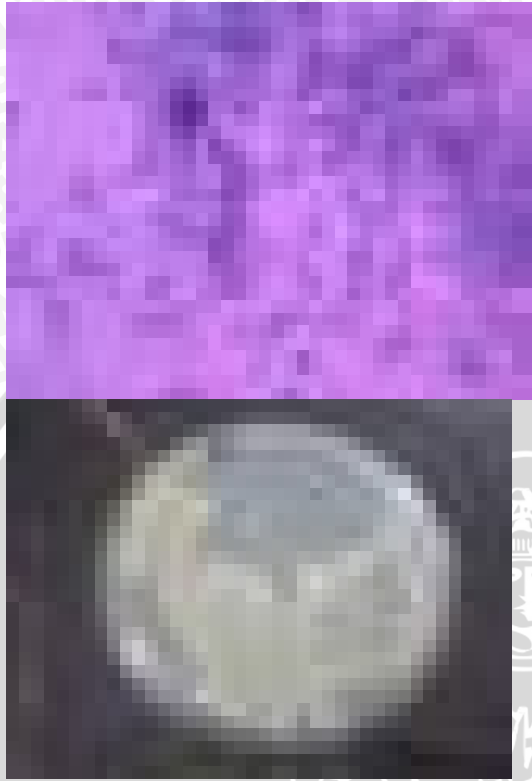
biologi salah satunya adalah *Bacillus thuringiensis*. Jenis insektisida biologi yang lainnya adalah yang berasal dari protozoa, *Nosema locustae*, yang telah dikembangkan untuk membasmi belalang dan jangkrik. Cacing yang pertama kali sebagai insektisida ialah *Neoplectana carpocapsae*. Insektisida ini digunakan untuk membunuh semua bentuk rayap. Nematoda Biologi (Bionematoda), berasal dari kata latin nematoda atau bahasa Yunani nema yang berarti benang, berfungsi untuk membunuh nematoda (semacam cacing yang hidup di akar).

#### ❁ Isolat dengan kode 12b-2

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi koloni bakteri dan uji biokimia pada isolat 12b-2 mempunyai ciri-ciri sebagai berikut: Struktur Jaringan selular dari b. *Pumilus* yang identik dengan spesies lain dari genus *Bacillus* termasuk b. *Subtilis*, b. *Megaterium*, dan b. *Cereus*. Bakteri ini tergolong bakteri Gram positif, berbentuk batang, bakteri membentuk spora yang ditemukan di tanah, air, dan berbagai habitat lain. Seperti kebanyakan bakteri gram-positif, asam teikoik dan asam lipoteikoik menutupi lapisan terluar lapisan peptidoglikan. Mereka (asam teikoik dan asam lipoteikoik) memainkan peran dalam pelekatan pada sel inang dan permukaan lainnya yang ditemukan pada lingkungan, seperti peran menjadi *surface actigen* utama. Asam ini tersusun dari fosfat polyglycosyl (yaitu, glycerol-p atau ribitol-p) dengan mono dan disakarida pada unit penyusunnya. (Potekhina, NV *et al.* 2011). Fosfat dalam rantai asam teichoic membuat permukaan sel secara keseluruhan bermuatan positif, memungkinkan untuk penyerapan efisien dari berbagai kation seperti  $Ca^{2+}$  dan  $Mg^{2+}$  ke dalam sel. Kemampuan bakteri ini yang membedakan ke



dalam endospore membuat *B. Pumilus* sangat tahan terhadap lingkungan oligotrophic, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, desinfeksi kimia, dan kondisi ekstrim lainnya.



Gambar 7. Koloni dan Mikroskopis di Surabaya *Bacillus pumilus* pada pembesaran 1000x

Siklus hidup *B. pumilus* mirip dengan basil yang lainnya, yaitu meliputi tiga tahap kehidupan : sporangium , sel vegetatif , spora. Bila kondisi tidak menguntungkan bagi pertumbuhan , *B. pumilus* akan menjalani sporulasi dan melepaskan spora ke lingkungan . Tahap sporangia dapat meliputi sporulasi lebih lanjut jika kondisi yang cocok . Dalam pembentukan sel vegetatif dari spora, spora biasanya akan menjalani perkecambahan ketika kondisinya mendukung. Beberapa uji biokimia yang digunakan dalam analisis profil indeks (API) telah digunakan dalam mengetahui klasifikasi dari bakteri *B. pumilus* yaitu uji amilase, lipase, dan protease-

positif. Ini memiliki berbagai mekanisme dari reduksinitrat, produksi gas dari glukosa, dan produksi asam dari berbagai sumber karbon yaitu arabinose, manitol, xilosa, glukosa, dan laktosa. Terutama, *B. pumilus* dapat menghasilkan acetylbutanediol (abd) dari acetoin, seperti yang terlihat oleh hasil positif untuk uji Voges-Proskauer. Abd merupakan bagian dari kelas diols yang penting dalam distribusi sintesis mikrobial dari berbagai polimer dan juga berpotensi digunakan sebagai alternatif untuk bahan baku bahan bakar fosil yang standar (Xiao, Z *et al.* 2009). Hasil uji setelah dibandingkan dengan ciri yang dijelaskan pada buku pedoman identifikasi *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology* maka bakteri tersebut dapat diidentifikasi sebagai *Bacillus pumilus*. Hasil uji biokimia dengan *Microbact Identification Kits* dapat dilihat pada Lampiran 1 dan Isolat 12b-2 dapat dilihat pada Gambar 7.

Bakteri yang dimanfaatkan sebagai fungisida mikrobiologi ini dapat dijumpai di tanah dalam berbagai habitat di seluruh dunia. Yang telah diproduksi secara komersial adalah *B. pumilus* isolat QST2808 karena efikasinya terhadap berbagai jamur patogen yang penting secara ekonomi. Bakteri ini digunakan untuk mengendalikan berbagai macam penyakit, termasuk embun tepung (*powdery mildew*), embun bulu (*downy mildew*), dan penyakit karat (*rust*) pada tanaman sereal, buah-buahan, sayuran dan anggur. Bakteri ini menghambat pertumbuhan jamur di permukaan daun, dan dapat mengaktifkan sistem kekebalan tanaman. *B. pumillus* memiliki kemampuan preventif dan kuratif. *B. pumillus* umumnya dapat digunakan sebagai campuran dengan

banyak jenis fungisida, insektisida, pupuk daun dan bahan perata. Jangan digunakan bersama bahan kimia yang bersifat pengoksidasi, asam, basa serta air yang mengandung klorin.



## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai Kandungan Bakteri *Bacillus sp* Pada Ikan Jambal Roti Kering DI JAWA TIMUR maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Sebanyak 3 isolat bakteri *bacillus* ditemukan pada jambal roti kering yang ada di jawatimur. Berdasarkan hasil pengamatan karakteristik morfologi bakteri dan uji biokimia dengan microbact yang dibandingkan dengan *Bergey's Manual Determinative of Bacteriology* spesies bakteri tersebut adalah di Tuban *Bacillus Laterosporus*, di Surabaya *Bacillus Pumilus* dan di Lamongan *Bacillus Laterosporus*.
2. Karakteristik bakteri *Bacillus* yang di temukan pada jambal roti kering dari 3 tempat yaitu Surabaya, lamongan dan tuban dapat tumbuh suhu 20°C-50°C untuk *Bacillus Laterosporus* dan *Bacillus Pumilus* dapat tumbuh pada suhu 20°C-45°C. di samping itu *Bacillus pumilus* dengan *Bacillus laterosporus* bila di lihat dari *Bergey's Manual Determinative of Bacteriology*, merupakan bakteri-bakteri yang berasal dari satu famili

### 5.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi bakteri yang ditemukan pada jambal roti di indonesia sebagai bahan referensi bagi penelitian- penelitian lebih lanjut.

## DAFTAR PUSTAKA

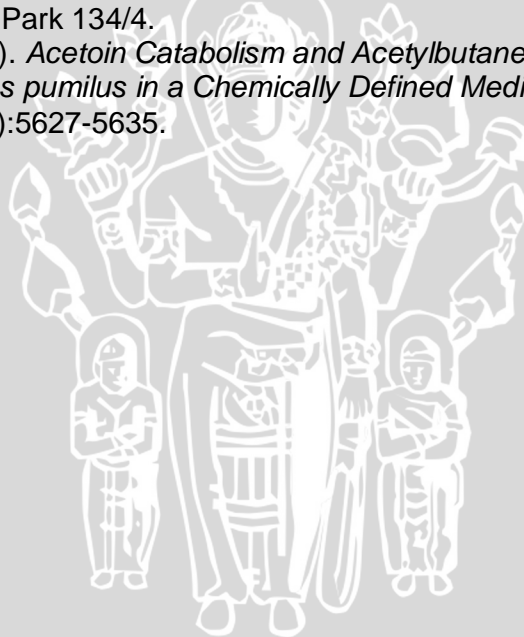
- Alongi D.M. 1994. *The role of bacteria in nutrient Recycling in tropical mangrove and other Coastal Benthic ecosystem*. Hydrobiology 285 : 19 – 32. A Sasekumar, N Marshall and D.J Macintosh (eds). Ecology and conservative of southeast Asian Marine and Fresh Water Environment and conservation of southeast Asian Marine and fresh Water Environment including Wetlands. Australian Institut of Marine Science. Townsville. Australia.
- Atlas RM, Bartha R.1998. Microbial Ecology Fundamentals and applications.Ed ke 4.California : Benjamin.
- Chandra, Budiman, Metodologi Penelitian Kesehatan, Palembang :Penerbit Buku Kedokteran, 2006.
- Conter M., Muscariello T., Zanardi E., Ghidini S., Vergara A.,Campanini G., Ianieri A., 2005, Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from An Italian Dry Fermented Sausage, Ann. Fac. Medic. Vet. di Parma Vol. 25, page. 167 -174.
- Darmanto, Y.S. 2001.*Pengetahuan Manajemen Mutu dan Teknis Penanganan Hasil Perikanan*. Makalah Pelatihan. Universitas Diponegoro. Semarang
- Dr Guntur Heri Putranto.2011.Lactobacillus sp dapat Mencegah Gigi Berlubang.(online)  
<http://www.biojanna.com/index.php/kajian/214-lactobacillus-sp-dapat-mencegah-gigi-berlubang.html>.(diakses tanggal 29 November 2012)
- Duc et al. 2004. Characterization of *bacillus* probiotic available for human use.*Appl environ microbiol* 70(4):2161-2171
- Dwijoseputro, D. 2005.*Dasar-dasar Mikrobiologi*.Djambatan. Malang.
- Erwan, M. 1992. *Pengaruh Konsentrasi Gula dan Garam Terhadap Mutu "Ikan Jambal Roti"*.Skripsi. Fakultas Perikanan. IPB. Bogor.
- Fadhil, Rahmat.2005, Pengeringan (bahan kuliah satuan operasi), Jurusan Teknik Pertanian, Darussalam Banda Aceh
- Hadiwiyoto, S. 1993. *Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan*. Jilid I. Liberty. Yogyakarta.
- Hyronimus, B., Le Marrec, C. and Urdaci, M,C. (1998). Coagulin, a bacteriocin-like inhibitory substance produced by *Bacillus coagulans*. *Journal of Applied Microbiology* 85: 42-50.
- Jack RW, Tagg JR, Ray B. 1995. Bacteriocin of Gram positive bacteria.*Microbiol Rev* 59:171-200.
- J.C. Oscariz and A.G. Pisabarro, Characterization and mechanism of action of cerein 7, a bacteriocin produced by *Bacillus cereus* BC7.*J. Appl. Microbiol.* 89 (2000) 361-369.
- Junianto. 2003. Teknik Penanganan Ikan. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Klaenhammer, T.R. 1998. Bacteriocin of lactic acid bacteria.*Biochemistry* 70: 337- 349.



- Klein, C., C. Kaletta and K.D. Entian, 1993. Biosynthesis of the Lantibiotic subtilin is regulated by histidine kinase/response regulator system. *Applied Environ. Microbiol.*, 59: 296-303.
- Kone K, Fung YC. 1992. Understanding Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. 2007. bacteriosin and their uses in foods. *MEGA 4 : Molecular evolutionary Dairy, Food and Enviromental genetics analysis (MEGA) software Sanitation 12:282-285.*
- Lagunes Gálvez, S., Loiseau, G., Paredes, J. L., Barel, M. & Guiraud, J.-P. (2007). Study on the microflora and biochemistry of cocoa fermentation in the Dominican Republic. *Int J Food Microbiol* 114, 124–130.
- Lay BW. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
- Michael J. Pelczar, dan E.C.S. Chan. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Ui-Press : Jakarta
- Paik, H.D., Bae, S.S., Park, S.H. & Pan, J.G. (1997) Identification and partial characterization of tochicin, a bacteriocin produced by *Bacillus thuringiensis* subsp. *tochigiensis*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 19, 294–298.
- Parvathi, Aet al. 2009. *Biochemical and molecular characterization of Bacillus pumilus isolated from coastal environment in Cochin, India*. *Braz J Microbiol.* 40:269-275.
- Potekhina, NV et al. 2011. *Phosphate-Containing Cell Wall Polymers of Bacilli*. *Biochemistry.* 76(7):745-754.
- Puspitasari, Y.F. 2009. *Cara Pemindangan dan Kadar Protein Ikan Tongkol (auxis hazard) Di Kabupaten Rembang*. Fakultas keguruan dan ilmu pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta
- Sahingil, D., Isleroglu, H., Yildirim, Z., Akcelik, M., Yildirim, M., 2009, Characterization of Lactococcin BZ Produced by *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis BZ* Isolated from Boza, *TUBITAK, Turk Journal Biol*, 35, 2011, P. 21-33.
- Saraswati, R. dan Sumarno.2008. Pemanfaatan Mikroba Penyubur Tanah sebagai Komponen Teknologi Pertanian. *Iptek Tanaman Pangan*. Hlm 41 - 58.
- Schillinger U. 1990. Bacteriocins of latic acid bacteria. *Biotechnol. Food Quality*. p. 55-74.
- Shida, O.,B. Takagi, K. Kadowaki, and K. Komagata. 1996. Proposal for two new genera, *Brevibacillus* gen. nov. and *Aneurinibacillus* gen. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 46:939-946.
- Singer, S. 1981. Potential of *Bacillus sphaericus* and related spore-forming bacteria for pest control, p. 283-292. *In* M. D. Burges (ed.), *microbial control of pests and plant diseases*. Academic Press, New York, N.Y.
- Singer, S. 1996. The utility of strains of morphological group II *Bacillus*. *Adv. Appl. Microbiol.* 42:219-261.



- Standar Nasional Indonesia, 01-2721-1992. *Persyaratan Mutu Ikan Asin Kering*. Badan Standarisasi Nasional-BSN. Jakarta.
- Surono, I.S. & Nurani, D. 2001. Exploration of indigenous dadih lactic bacteria for probiotic and starter cultures. Domestic Research Collaboration Grant-URGE-IBRD World Bank Project 2000-2001. Research Report. January 2001.
- Suwandi, R., I. Setyaningsih dan B. Riyanto. 2006. Pengolahan dan Optimasi Produk Hidrokoloid Semibasah dari Rumput Laut. Departemen Teknologi Hasil Perikanan. Institut Pertanian Bogor Press. Bogor
- Tagg, J. R., Dajani, A. S. & Wannamaker, L. W. (1976). Bacteriocins of gram positive bacteria. *Bacteriol Rev* 40, 722–756.
- Todar, Kenneth. *Staphylococcus* (2005). Retrieved January 26, 2007 from <http://textbookofbacteriology.net/staph.html>
- Waluyo, L. 2007. *Mikrobiologi Umum*. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.
- Wongsa, P. and P. Werukhamkul. 2007. Product Development and Technical Service, Biosolution International. Thailand : Bangkadi Industrial Park 134/4.
- Xiao, Z et al. (2009). *Acetoin Catabolism and Acetylbutanediol Formation by Bacillus pumilus in a Chemically Defined Medium*. *PLoS ONE*. 4(5):5627-5635.



Lampiran

senin/1/IB/Tuban  
 Ikan asin Jambal Roti/Padatan  
 Mahasiswa  
 perikanan UB  
 14/11/2013  
 Identifikasi Bakteri  
 Hasil Identifikasi  
 Bakteri  
 KODE STRAIN

JENIS TES	HASIL
BGP	POSITIF
SPORA	POSITIF
<b>FERMENT GULA-GULA</b>	
Glukosa	POSITIF
Xylosa	NEGATIF
Mannitol	POSITIF
Laktosa	NEGATIF
Sukrosa	NEGATIF
Maltosa	NEGATIF
Arabinosa	NEGATIF
<b>SUHU PERTUMBUHAN</b>	
20°C	POSITIF
37°C	POSITIF
45°C	POSITIF
50°C	POSITIF
<b>TUMBUH DI</b>	
Nutrient Broth	POSITIF
SDA	NEGATIF
TSI	K/A,H2S-
CITRAT	NEGATIF
INDOL	NEGATIF
VP	NEGATIF
NaCl 7%	POSITIF
Motilitas	POSITIF
Starch hydrolysis	NEGATIF
Casein hydrolysis	POSITIF
PENICILLIN	SENSITIV
BETA-HEMOLISA	POSITIF
Katalase	POSITIF
Oksidase	POSITIF
Reduksi Nitrat	NEGATIF
Reduksi Methylene Blue	NEGATIF
<b>DX. LAB.</b>	<b><i>B. laterosporus</i></b>

selasa/2/IB/Surabaya  
 Ikan asin Jambal Roti/Padatan  
 Mahasiswa  
 perikanan UB  
 14/11/2013  
 Identifikasi Bakteri  
 Hasil Identifikasi  
 Bakteri  
 KODE STRAIN

JENIS TES	HASIL
BGP	POSITIF
SPORA	POSITIF
<b>FERMENT GULA-GULA</b>	
Glukosa	POSITIF
Xylosa	NEGATIF
Mannitol	POSITIF
Laktosa	NEGATIF
Sukrosa	POSITIF
Maltosa	POSITIF
Arabinosa	POSITIF
<b>SUHU PERTUMBUHAN</b>	
20°C	POSITIF
37°C	POSITIF
40°C	POSITIF
45°C	POSITIF
<b>TUMBUH DI</b>	
Nutrient Broth	POSITIF
SDA	NEGATIF
TSI	A/A,H2S-
CITRAT	NEGATIF
INDOL	NEGATIF
VP	POSITIF
NaCl 7%	POSITIF
Motilitas	POSITIF
Starch hydrolysis	POSITIF
Casein hydrolysis	POSITIF
PENICILLIN	SENSITIV
BETA-HEMOLISA	POSITIF
Katalase	POSITIF
Oksidase	POSITIF
Reduksi Nitrat	NEGATIF
Reduksi Methylene Blue	NEGATIF
<b>DX. LAB.</b>	<b><i>B. pumilus</i></b>

rabu/3/IB/Lamongan  
 Ikan asin Jambal Roti/Padatan  
 Mahasiswa perikanan UB  
 14/11/2013  
 Identifikasi Bakteri  
 Hasil Identifikasi Bakteri  
 KODE STRAIN

JENIS TES	HASIL
BGP	POSITIF
SPORA	POSITIF
<b>FERMENT GULA-GULA</b>	
Glukosa	POSITIF
Xylosa	NEGATIF
Mannitol	POSITIF
Laktosa	NEGATIF
Sukrosa	NEGATIF
Maltosa	NEGATIF
Arabinosa	NEGATIF
<b>SUHU PERTUMBUHAN</b>	
20 <sup>o</sup> C	POSITIF
37 <sup>o</sup> C	POSITIF
45 <sup>o</sup> C	POSITIF
50 <sup>o</sup> C	POSITIF
<b>TUMBUH DI</b>	
Nutrient Broth	POSITIF
SDA	NEGATIF
TSI	K/A,H2S-
CITRAT	NEGATIF
INDOL	NEGATIF
VP	NEGATIF
NaCl 7%	POSITIF
Motilitas	POSITIF
Starch hydrolysis	NEGATIF
Casein hydrolysis	POSITIF
PENICILLIN	SENSITIV
BETA-HEMOLISA	POSITIF
Katalase	POSITIF
Oksidase	POSITIF
Reduksi Nitrat	NEGATIF
Reduksi Methylene Blue	NEGATIF
<b>DX. LAB.</b>	<b><i>B. laterosporus</i></b>

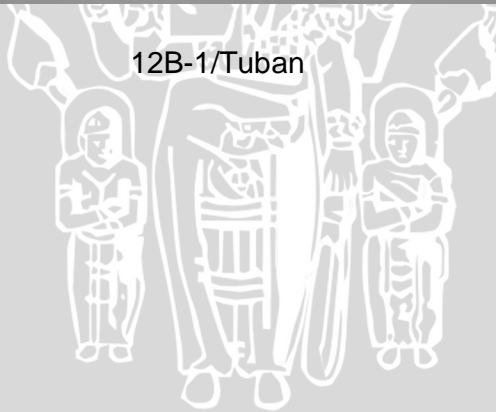




Pembacaan microbact dengan lembar oxoid

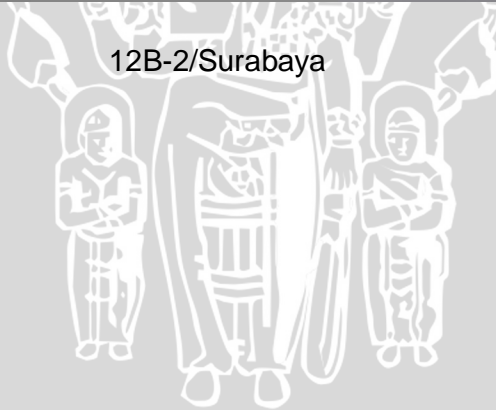


12B-1/Tuban

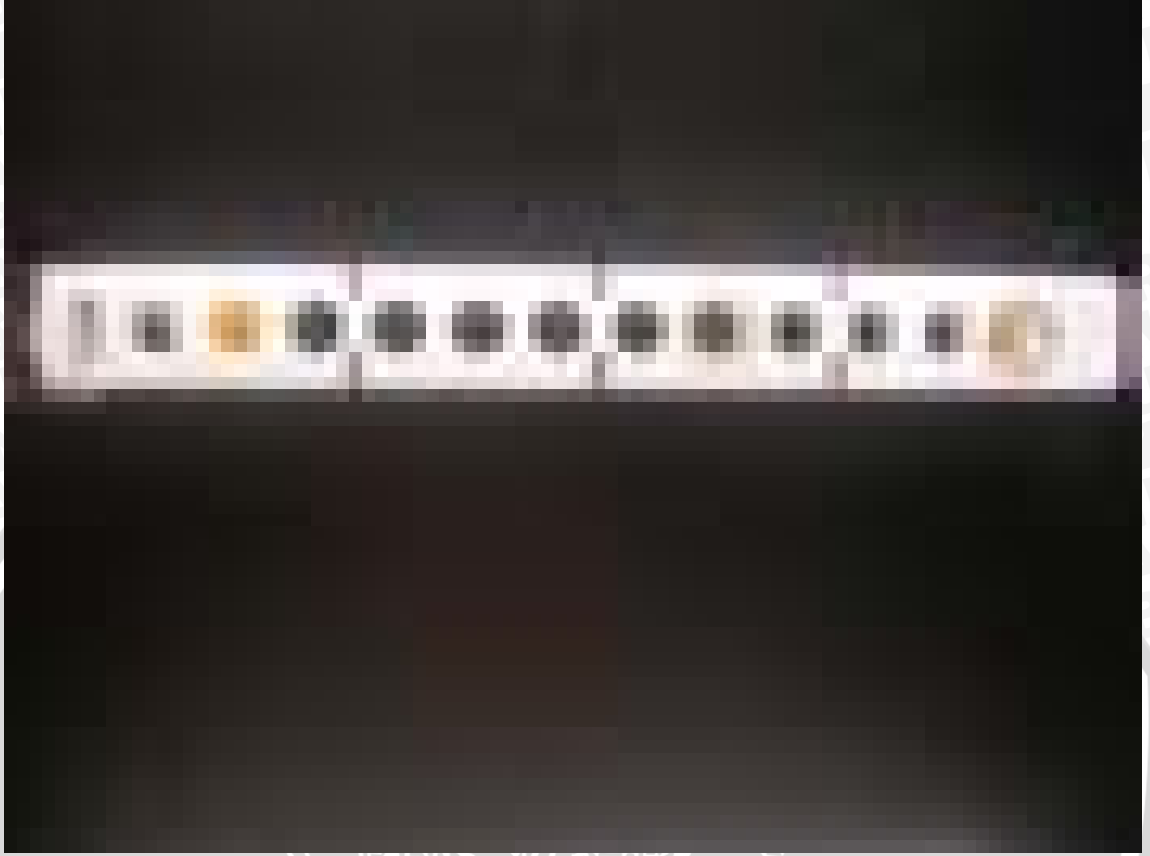




12B-2/Surabaya







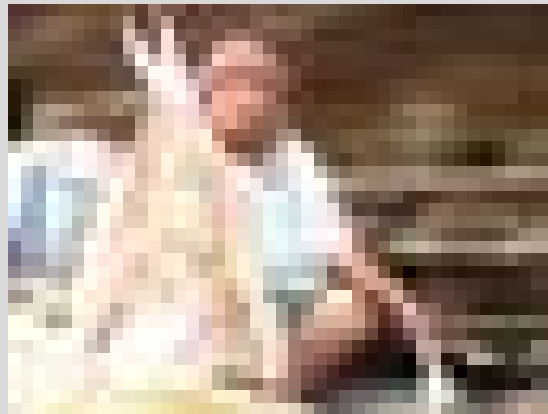
12B-3/Lamongan



Sampel jambal roti kering di Tuban



Sampel jambal roti kering di Surabaya



Sampel jambal roti kering di Paciran, lamongan