

Evaluasi Keberadaan *Staphylococcus* pada Beberapa Titik Pengolahan Tuna (*Thunnus Albacores*) Saku Beku Kualitas Ekspor dari Sulawesi Utara

Frans Gruber Ijong¹, Siegfried Berhimpon² dan Oksfriani J. Sumampow²

¹Laboratorium Mikrobiologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unsrat, Manado

²Laboratorium Penanganan dan Pengolahan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unsrat, Manado

Abstrak: *Staphylococcus* merupakan salah satu bakteri yang perlu mendapat perhatian keberadaannya pada produk perikanan seperti tuna segar atau beku. Karena selain menjadi salah satu mikroba prasyarat mutu, juga karena sifatnya patogen bagi manusia. Penelitian ini ditujukan untuk mempelajari keberadaan *Staphylococcus* pada beberapa titik pengolahan tuna saku beku kualitas ekspor, serta mengidentifikasi dan mengkarakterisasi isolat *Staphylococcus* diisolasi dari sampel tersebut. Sampel uji diambil secara acak pada beberapa titik pengolahan tuna saku beku. Titik-titik tersebut merupakan tempat dicurigainya terjadi kontaminasi terutama oleh *Staphylococcus*. Analisa dilakukan terhadap TPC dengan metode pour plate method, Total *Staphylococcus* dilakukan dengan spreading method menggunakan L-glass pada media Manitol Salt Agar, uji fisiologi dan biokimia meliputi pewarnaan Gram, Katalase, dan fermentasi gula. Hasil analisa menunjukkan bahwa kandungan bakteri tertinggi terdapat pada daging yang diberi CO sebesar $2,57 \times 10^6$ cfu/gr dan terendah terdapat pada produk akhir sebesar $1,34 \times 10^4$ cfu/gr. Sedangkan hasil analisa total *Staphylococcus* menunjukkan kecenderungan menurunnya kandungan *Staphylococcus* pada setiap titik pengolahan. Kandungan terendah diperoleh pada produk akhir sebesar $3,70 \times 10^3$ cfu/gr dan tertinggi terdapat pada bahan baku sebesar $1,45 \times 10^4$ cfu/gr. Selain itu, dari hasil pengujian karakteristik fisiologi dan biokimia setiap galur uji, teridentifikasi 3 genus: *Staphylococcus*, *Streptococcus* dan *Micrococcus*.

Keywords: tuna saku beku, *staphylococcus*

Ikan tuna merupakan salah satu komoditi ekspor andalan Sulawesi Utara, di samping cakalang dan beberapa jenis ikan lainnya. Dewasa ini tuna diekspor baik dalam bentuk loin segar maupun beku, dimana negara tujuan Jepang, Hongkong, USA dan beberapa negara Eropa. Sebagai Produk ekspor maka produk tersebut harus memenuhi beberapa persyaratan mutu, diantaranya yaitu persyaratan mutu mikrobiologis.

Staphylococcus merupakan salah satu bakteri yang perlu diperhatikan keberadaannya pada produk perikanan baik segar maupun beku, karena sifatnya yang patogen sehingga dapat menyebabkan intoksikasi oleh enterotoksinya pada manusia. Kontaminasi bakteri ini pada produk perikanan seperti tuna segar dan beku biasanya terjadi selama proses penanganan, dimana sumber kontaminasi utama dapat berasal dari pekerja (Sumampow, 2003). Menurut Anonimous (2003^a), *Staphylococcus*

mengkontaminasi produk perikanan yang dibekukan seperti fillet dan *fish block* beku dapat berasal dari bahan mentahnya atau karena kondisi sanitasi yang tidak baik. Bahkan Ijong (1993) melaporkan bahwa *S. aureus* yang mengkontaminasi tuna yang disimpan pada suhu pembekuan (-25°C) selama 4 (empat) minggu menunjukkan tingkat kelangsungan hidup yang relatif tinggi dibanding bakteri Gram-negatif *E. coli* dan *Salmonella typhimurium*.

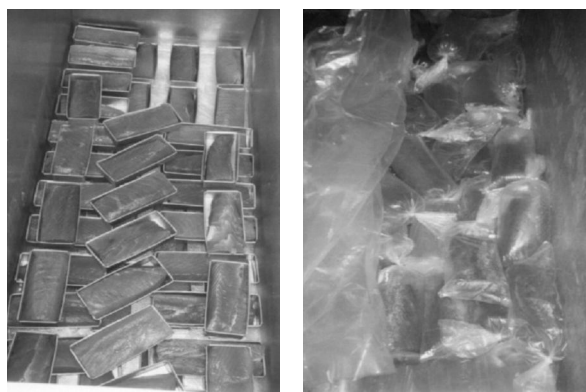
Dengan demikian keberadaan *Staphylococcus* pada produk tuna segar maupun beku perlu mendapat perhatian untuk menjamin kualitas mikrobiologis produk tersebut. Penelitian ini ditujukan untuk mengevaluasi keberadaan *Staphylococcus* pada produk tuna saku beku pada beberapa titik pengolahan mulai dari proses penanganan awal sampai produk siap ekspor, sehingga dapat diperoleh gambaran pada tahapan mana kontaminasi bakteri ini dapat terjadi atau mengalami reduksi dalam

jumlah sebagai akibat proses penanganan dan pengolahannya.

METODE PENELITIAN

Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan sebagai sampel uji dalam penelitian ini yaitu tuna (*Thunnus albacores*) loin kulit ekspor berbentuk fillet berukuran 30x15x10 cm, dengan berat berkisar antara 300-500 gr/blok. Produk yang berbentuk seperti sebuah balok kecil ini disebut *tuna saku* (Gambar 1).



Gambar 1. Tuna Saku: Daging Tuna dalam Cetakan Aluminium dan Daging Tuna Saku Dikemas dalam Plastik

Pengambilan sampel dilakukan pada 4 (empat) titik pengolahan yaitu: *tuna-segar*, *tuna-saku-yang-telah-diberi-CO*, *tuna-saku-dengan-CO-beku-tanpa-vakum* dan *tuna-saku-dengan-CO-beku-vakum*. Pengambilan sampel untuk masing-masing titik dilakukan sebanyak 3 (tiga) kali dengan 2 ulangan. Selama transportasi dari pabrik ke laboratorium, sampel dimasukkan dalam plastik steril dan ditempatkan dalam wadah telah diberi hancuran es dengan perbandingan daging ikan dan es.

Hitung Bakteri

Hitung total bakteri (TPC) dilakukan dengan metode tuang menggunakan media Nutrient Agar (NA, Difco, pH 7,2) menurut prosedur Ijong (2003) dan Total Staphylococcus dilakukan dengan metode sebar menggunakan L-glass pada media Manitol Slat Agar (MSA, Difco, pH 7,4). Semua cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24–48 jam (Cappuccinno dan Sherman, 1993).

Isolasi dan Identifikasi

Untuk tujuan mengisolasi *Staphylococcus*, maka koloni bebas yang tumbuh pada media MSA, secara aseptik ditumbuhkan pada NA, selanjutnya setelah diperoleh kultur murni, dipindahkan pada NA miring sebagai kultur sediaan untuk uji selanjutnya. Uji biokimia dilakukan menurut metode Cappuccinno dan Sherman, 1993, meliputi: Gram-pewarnaan, katalase, metil-red, VP, sitrat, gelatin dan fermentasi karbohidrat (glukosa, manitol, laktosa, sukrosa). Sedangkan uji haemolisis dilakukan dengan cara menggoreskan galur uji pada media Agar Darah (Agar Darah Base, pH 7,4, Difco, ditambah 5% sel darah merah manusia setelah autoclave) diikuti dengan inkubasi pada suhu 37°C. Identifikasi galur uji didasarkan pada karakteristik morfologi dan biokimianya menurut Bergey's Manual (Sneath, *et al.*, 1986).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisa terhadap TPC dan Total Staphylococcus sampel tuna saku yang diambil pada beberapa titik pengolahannya, seperti ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Total Bakteri Pada Sampel Tuna Saku

Jenis Sampel*	TPC (cfu/gr)	Total Stafilokokus (cfu/gr)
<i>Tuna-segar</i>	$4,9 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$
<i>Tuna-saku—CO</i> ,	$5,2 \times 10^6$	$4,5 \times 10^3$
<i>tuna-saku-CO-beku-tanpa-vakum</i>	$9,9 \times 10^5$	$1,6 \times 10^3$
<i>tuna-saku-CO-beku-vakum</i>	$1,4 \times 10^4$	$3,7 \times 10^3$

*n = 6

Hasil penelitian total jumlah bakteri (TPC) pada daging tuna selama proses pengolahan dan penyimpanan diperoleh hasil yang bervariasi. Nilai TPC terendah pada produk akhir yaitu $1,4 \times 10^4$ cfu/gr dan tertinggi ada pada daging yang di CO yaitu sebesar $5,2 \times 10^6$ cfu/gram. Tingginya jumlah bakteri yang ditemukan tinggi pada daging yang diberi CO, dapat disebabkan karena proses pengolahan yang tidak saniter, selain itu produk mengalami kontaminasi oleh bakteri yang bersifat anerobik fakultatif sehingga cenderung tahan terhadap perlakuan CO

yang diberikan. Secara keseluruhan TPC hanya mengalami penurunan dalam jumlah yang relatif sangat kecil. Berdasarkan persyaratan mutu yang dikeluarkan oleh Badan Standarisasi Nasional Indonesia (SNI01-2710-1992) jumlah bakteri maksimum untuk tuna beku adalah 5×10^5 (Anonimous, 1992). Ini berarti bahwa sampel daging tuna, kecuali pada daging CO masih layak untuk dikonsumsi.

Berbeda dengan TPC, Total Staphilokokus mengalami penurunan selama proses pengolahannya. Total *Staphylococcus* tertinggi diperoleh pada sampel bahan baku yaitu sebesar $1,45 \times 10^4$ cfu/gr dan terendah diperoleh pada sampel produk akhir yaitu sebesar $3,70 \times 10^3$ cfu/gr. Meskipun data menunjukkan bahwa terjadi penurunan jumlah total stafilokokus sampai pada produk akhir, namun keberadaannya pada produk tuna saku beku perlu diperhatikan secara serius, karena ternyata penggunaan CO yang dikombinasikan dengan pemvakuman serta pembekuan masih kurang efektif untuk mereduksi atau menekan pertumbuhan *Staphylococcus*. Menurut Ijong (1993) bahwa *S. aureus* yang dikontaminasikan pada daging tuna cenderung lebih tahan pada suhu pembekuan dibanding bakteri Gram-negatif. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa pada minggu pertama saja terjadi penurunan jumlah total *S. aureus*, selanjut jumlahnya cenderung stabil sampai penyimpanan minggu ke-4. Menurut Anonimous (2003^a) *Staphylococcus* ditemukan pada fillet ikan beku dan ditemukan juga pada udang beku tanpa kulit yang disimpan pada suhu di bawah -18°C selama 6 bulan setelah dikemas. Menurut Anonimous (2004), sesuai dengan aturan yang dikeluarkan oleh *International Commission of Microbiological Specification for Food (ICMF)* pada tahun 1986 kandungan *Staphylococcus aureus* yang diperbolehkan terdapat pada ikan segar dan ikan beku yaitu 10^4 per gram sampel.

Tabel 2 menjelaskan tentang karakteristik biokimia dari Gram-positif kokus yang diisolasi pada sampel tuna saku, mulai pada bahan baku segar sampai produk jadi yang siap diekspor. Dari 65 isolat uji, semuanya bersifat Gram-positif dengan bentuk sel kokus, non-motil, dan mampu tumbuh pada konsentrasi NaCl 10%. Secara keseluruhan isolat memberikan respon positif terhadap uji katalase, kecuali isolat A1-1 memberikan respon negatif dan berdasarkan pada penampakan sel pada mikroskop (kokus berantai) dan uji biokimia lainnya isolat ini

diidentifikasi sebagai *Streptococcus*. Isolat lainnya dapat diidentifikasi sebagai *Staphylococcus* sp., *S. aureus* (I1-3, M1-2, A1-10, N2-3, N2-4, I2-1, N2-1, I2-4, M1-8, A2-10, N1-1, M1-4), dan *Micrococcus* sp. untuk isolat A1-3. Berdasarkan uji biokimia yang dilakukan semakin mempertegas bahwa tingkat kontaminasi *Staphylococcus* pada produk tuna saku sangat dominan.

Berdasarkan hasil uji fisiologis dan biokimia pada Tabel 2, dipilih 12 isolat uji yang diidentifikasi sebagai *Staphylococcus aureus*, untuk dilakukan uji lebih lanjut, seperti dijelaskan pada Tabel 3.

Hasil uji menunjukkan bahwa secara keseluruhan isolat *S. aureus* yang diisolasi dari sampel tuna saku memberikan respon positif terhadap uji gelatin dan respon negatif terhadap uji urease, sedangkan uji haemolisis menampakan hasil positif dengan tipe beta-haemolisis, kecuali isolat I2-4 dan A2-10 menunjukkan reaksi positif. Menurut Cappuccinno dan Sherman (1993), bahwa pada umumnya *S. aureus* yang patogen memiliki tipe beta-haemolisis. Keberadaan isolat *S. aureus* yang bersifat patogen pada produk tuna saku, berkorelasi dengan buruknya tindakan sanitasi dan higiene selama penanganan dan pengolahan bahan baku, yang pada akhirnya dapat mengakibatkan penolakan terhadap produk yang diekspor oleh negara pengimpor, apabila jumlahnya melebihi standar yang ditetapkan. Menurut ICMSF bahwa jumlah *S. aureus* pada ikan segar dan beku tidak boleh lebih besar dari 10^5 per gram. Sedangkan untuk produk bermutu baik jumlah *S. aureus* harus lebih kecil dari 10^3 per gram (Anonimous, 2004). Adanya bakteri ini pada produk perikanan sangat mungkin terjadinya intoksikasi (Varnam dan Evans, 1991, Pajow, dkk., 1999 dan Lohoo, 2003).

KESIMPULAN

Staphylococcus merupakan genus bakteri yang dominan mengkontaminasi produk tuna saku, kontaminasinya dapat berasal dari pekerja dan peralatan yang digunakan. Kandungan bakteri tertinggi terdapat pada daging yang diberi CO sebesar $2,57 \times 10^6$ cfu/gr dan terendah terdapat pada produk akhir sebesar $1,34 \times 10^4$ cfu/gr. Sedangkan hasil analisa total *Staphylococcus* menunjukkan bahwa kandungan tertinggi terdapat pada bahan baku sebesar $1,45 \times 10^4$ cfu/gr dan terendah pada produk akhir sebesar

Tabel 2. Karakteristik Biokimia Bakteri Gram-positif Kokus yang Diisolasi dari Sampel Tuna Saku.

Isolat	NaCl 10%	Kat	MR	VP	Cit	Fermentasi Karbohidrat			
						Glu	Man	Lak	Suk
A ₁ -1	+	-	+	-	-	-	A	A	A
A ₁ -2	+	+	-	+	+	AG	AG	AG	AG
A ₁ -3	+	+	+	+	-	A	-	A	A
A ₁ -4	+	+	-	-	-	A	A	A	A
A ₁ -5	+	+	-	-	-	A	A	A	A
A ₁ -6	+	+	+	-	-	A	A	-	A
A ₁ -7	+	+	-	+	-	A	A	-	A
A ₁ -8	+	+	-	-	-	A	A	-	A
A ₁ -9	+	+	-	-	-	A	A	-	A
A ₁ -10	+	+	-	-	-	A	A	-	A
M ₁ -1	+	+	+	-	+	A	A	A	AG
M ₁ -2	+	+	-	+	-	A	A	A	A
M ₁ -3	+	+	+	-	-	A	A	A	A
M ₁ -4	+	+	-	-	-	A	A	A	A
M ₁ -5	+	+	+	-	-	A	A	A	A
M ₁ -6	+	+	+	+	-	A	A	A	A
M ₁ -7	+	+	+	-	-	A	A	A	A
M ₁ -8	+	+	+	-	-	A	A	-	A
M ₁ -9	+	+	-	-	-	A	A	A	A
M ₁ -10	+	+	+	+	-	AG	AG	A	AG
I ₁ -1	+	+	+	-	-	A	A	A	A
I ₁ -2	+	+	+	-	+	A	A	-	A
I ₁ -3	+	+	+	-	-	A	A	A	A
I ₁ -4	+	+	+	-	-	A	A	A	AG
I ₁ -7	+	+	+	-	+	A	A	A	A
I ₁ -8	+	+	+	-	-	A	A	A	AG
I ₁ -9	+	+	+	+	+	A	A	A	A
I ₁ -10	+	+	+	-	-	A	A	-	A
N ₁ -1	+	+	+	-	+	A	A	-	A
N ₁ -2	+	+	-	+	+	A	A	A	A
N ₁ -3	+	+	-	-	-	A	A	A	A
N ₁ -4	+	+	-	-	-	A	A	-	A
N ₁ -5	+	+	-	-	-	A	A	A	A
N ₁ -6	+	+	+	-	+	A	A	A	A
N ₁ -7	+	+	-	-	-	A	A	A	A
N ₁ -8	+	+	-	+	-	A	A	A	A

Lanjutan Tabel 2

Isolat	NaCl 10%	Kat	MR	VP	Cit	Fermentasi Karbohidrat			
						Glu	Man	Lak	Suk
N ₁ -9	+	+	+	+	-	A	A	-	A
N ₁ -10	+	+	+	-	-	A	A	A	A
A ₂ -1	+	+	+	-	-	A	A	A	A
A ₂ -2	+	+	+	-	-	A	A	A	A
A ₂ -3	+	+	-	-	+	A	A	A	A
A ₂ -4	+	+	+	-	+	A	A	A	A
A ₂ -5	+	+	+	-	+	A	A	A	A
A ₂ -6	+	+	-	-	-	A	A	A	A
A ₂ -7	+	+	-	-	-	A	A	A	A
A ₂ -8	+	+	+	-	-	A	A	A	A
A ₂ -9	+	+	+	-	-	A	A	A	A
A ₂ -10	+	+	-	+	-	A	A	A	A
M ₂ -1	+	+	-	+	-	AG	AG	AG	AG
M ₂ -2	+	+	-	-	-	A	A	A	A
M ₂ -3	+	+	-	-	-	A	A	AG	AG
M ₂ -4	+	+	+	-	-	A	A	A	A
M ₂ -5	+	+	-	-	+	A	A	AG	AG
I ₂ -1	+	+	-	-	+	A	A	A	A
I ₂ -2	+	+	-	-	-	A	A	A	AG
I ₂ -3	+	+	+	-	+	A	A	A	A
I ₂ -4	+	+	+	+	+	A	A	A	A
I ₂ -5	+	+	+	+	+	A	A	A	A
N ₂ -1	+	+	-	+	+	AG	AG	AG	AG
N ₂ -2	+	+	+	+	+	AG	AG	AG	AG
N ₂ -3	+	+	-	+	-	AG	AG	A	AG
N ₂ -4	+	+	-	+	-	AG	AG	AG	AG
N ₂ -5	+	+	-	+	+	AG	AG	AG	AG
N ₂ -6	+	+	-	+	+	AG	AG	AG	AG
N ₂ -7	+	+	-	+	+	AG	AG	AG	AG

Keterangan:

Kat (Katalase), MR (Methyl Red), VP (Voges Proskauer), Cit (Sitrat), Glu (Glukosa), Man (Manitol), Lak (Laktosa), Suk (Sukarosa), + (reaksi positif), - (reaksi negatif), A (Asam), G (Gas).

Tabel 3. Karakteristik Biokimia Isolat *S. Aureus* Diisolasi dari Sampel Tuna Saku

Isolat	Glu	Man	Lak	Suk	Mal	Fruk	Gel	Ure	Hae
I1-3	A	A	A	A	A	A	+	-	+
M1-2	A	A	A	A	A	A	+	-	+
A1-10	A	A	-	A	A	A	+	-	+
N2-3	AG	AG	A	AG	AG	AG	+	-	+
N2-4	AG	AG	AG	AG	AG	AG	+	-	+
I2-1	A	A	A	A	A	A	+	-	+
N2-1	AG	AG	AG	AG	A	A	+	-	+
I2-4	A	A	A	A	A	A	+	-	-
N1-8	A	A	A	A	A	A	+	-	++
A2-10	A	A	A	A	A	-	+	-	-
N1-1	A	A	-	A	A	A	+	-	++
M1-4	A	A	A	A	A	A	+	-	+

Keterangan:

Mal (maltosa), Fruk (fruktosa), Gel (gelatin), Ure (urease), Hae (haemolisis).

3,70 x 10³ cfu/gr. Walaupun ada kecenderungan penurunan kandungan *Staphylococcus* pada setiap titik pengolahan, namun tindakan pemberian CO diikuti dengan pengvakuman dan pembekuan belum secara efektif memusnahkan *S. aureus* pada produk akhir. Isolat *S. aureus* yang diisolasi dari sampel tuna saku secara kualitatif potensial sebagai patogen bagi manusia karena memberikan respon beta-haemolisis. Berdasarkan karakteristik fisiologi dan biokimia setiap galur uji, teridentifikasi 3 genus: *Staphylococcus*, *Streptococcus* dan *Micrococcus*.

DAFTAR RUJUKAN

- Anonimous. 1992b. *Standar Nasional Indonesia. SNI 01-2710-1992*. Jakarta: Dewan Standardisasi Nasional.
- Anonimous. 2003c. *Staphylococcus Outbreak's*. <http://www.mindfully.org/Food/2003/Irradiated-Beef-School-USDA30may03.htm> May 15th 2004. 7.20 pm
- Anonimous. 2004a. *FDA dan EPA Safety Levels in Regulations Guidance. US. Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition*. <http://vm.cfsan.fda.gov/~comm/haccp4x5.html>. May 15th 2004. 7.00 pm.
- Anonimous. 2004b. *Staphylococcus aureus*. FDA Center for Food Safety and Applied Nutrition. <http://www.nzfsa.govt.nz/science-technology/data-sheets/staphylococcusaureus.pdf> June 10th 2004. 5.30 pm
- Anonimous. 2004h. International Commission of Microbiological Specification for Food (ICMSF). *Recommended Microbial Limits for S. aureus in Fish*. <http://www.seafood.ucdavis.edu/HACCP/compendium/chapt19.htm> June 5th 2004. 8.00 pm.
- Cappucino, J.G., dan Sherman, N. 1993. *Microbiology a Laboratory Manual*. Third Edition. The Benjamin/Cummings Publishing Company. New York. USA
- Ijong, F.G. 1993. *Survival of Some Pathogenic Bacteria Inoculated Onto Tuna (Thunnus albacores) Meat in Low Temperatures and Their Attachment on Tuna Meat*. Master Thesis. Japan: Faculty of Applied Biological Science. Hiroshima University.
- Lohoo, H.J. 2003. *Distribusi dan Komposisi Bakteri Pembentuk Histamin pada Ikan Cakalang (Katsuwonus pelamis L.) segar selama Penyimpanan dalam Air Laut Dingin*. Tesis. Manado: Program Pascasarjana. UNSRAT.
- Pajow, H.S., Berhimpon, S., Ijong, F.G. 1999. Perubahan Histamin Pada Proses Pengalengan Ikan Tuna (Thunnus albacores). *Jurnal Fakultas Perikanan UNSRAT*. Vol. I, No. 1. Manado.
- Sumampouw, O.J. 2003. *Standardisasi Mutu Mikrobiologi pada Pengolahan Tuna di PT. Tomini Bay Pineleng*. Laporan Magang. Manado: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UNSRAT.
- Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E., and Holt, J.G. 1986. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 2. USA: Williams and Wilkins, Baltimore.
- Varnam, A.H., and Evans, M.G. 1991. *Foodborne Pathogens. An Illustrated Text*. USA: Mosby, Year Book, Toronto.