

Pengaruh Iradiasi Gamma terhadap Eliminasi Mikroorganisme dan Perubahan Kadar Protein pada Ikan Bandeng (*Chanos chanos*)

The Effect of Gamma Irradiation on Elimination of Microorganisms and Protein Content of Milkfish (*Chanos chanos*)

Alvin Christopher^{1*}, Efendi Oulan G. H. N. B.¹, Warsono E. K.¹, dan Harsojo²

¹ Fakultas Ilmu Hayati, Universitas Surya
Jl. M.H. Thamrin, Banten 15143, Indonesia

² Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, BATAN
Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, Jakarta 12440, Indonesia

* Email : alvinchristopher2@gmail.com

ABSTRAK

Pengaruh Iradiasi Gamma terhadap Eliminasi Mikroorganisme dan Kadar Protein pada Ikan Bandeng (*Chanos chanos*). Ikan bandeng merupakan salah satu sumber protein yang banyak dikonsumsi masyarakat Indonesia dan mudah ditemui di pasar-pasar di Indonesia. Kurangnya pemahaman akan pentingnya sanitasi menyebabkan ikan bandeng mudah terkontaminasi mikroorganisme. Teknik pengawetan makanan dengan iradiasi gamma dapat diaplikasikan untuk mengawetkan ikan bandeng karena mampu mengeliminasi mikroorganisme tanpa mengubah karakteristik dan kandungan nutrisi ikan bandeng. Ikan bandeng yang diperoleh dari dua pasar berbeda diiradiasi pada laju dosis 1,0 kGy dengan dosis 0; 1,5; dan 3,0 kGy serta disimpan selama 0, 7, 14, 21, dan 28 hari. Pengujian ALT dan total bakteri koliform menunjukkan bahwa iradiasi gamma terbukti ampuh menurunkan jumlah cemaran mikroorganisme pada ikan bandeng. *Escherichia coli* yang diisolasi dari kedua ikan bandeng memiliki nilai D_{10} yang berbeda. Akan tetapi, pada pengujian ketahanan *E. coli* terhadap antibiotik diketahui bahwa kedua isolat *E. coli* memiliki sensitivitas tinggi terhadap tetrasiklin dibandingkan sefoksitin dan amoksisilin. Hasil pengukuran kadar protein dengan metode Kjeldahl menunjukkan bahwa tidak ada perubahan yang besar pada kadar protein antara ikan bandeng sebelum dan sesudah iradiasi karena tidak ada pola kenaikan atau penurunan kadar protein seiring dengan peningkatan dosis iradiasi yang digunakan.

Kata kunci : *E. coli*, Eliminasi Mikroorganisme, Ikan Bandeng, Iradiasi Gamma, Pengawetan Makanan

ABSTRACT

The Effect of Gamma Irradiation on Elimination of Microorganisms and Protein Content of Milkfish (*Chanos chanos*). Milkfish is one of frequently consumed source of proteins in Indonesia and it can be easily found in Indonesian markets. Due to the lack of understanding about the importance of sanitation, milkfish is categorized as highly perishable food with high chance of microorganisms contamination. Gamma irradiation is known to have ability to inhibit viable microorganism without changing the characteristics and nutrients of food. Gamma irradiation is a technique for preserving food which is very applicable for preserving milkfish as well. In this research, milkfishes, which were obtained from two different local markets, were irradiated with 1,0 kGy dose rate at 0; 1.5; and 3,0 kGy and then stored for 0, 7, 14, 21, and 28 days. Total Plate Count (TPC) and total coliforms showed that gamma irradiation lowered the contaminants in milkfish. Two *E. coli* isolates from different milkfish had different D_{10} value. However, the isolates were most susceptible towards tetracycline and followed by cefoxitin and amoxicillin. Protein measurement using Kjeldahl method showed no considerable amount of change between non-irradiated and irradiated milkfish as it was not seen any pattern of increase or decrease when using higher dosage of irradiation.

Keywords : *E. coli*, Elimination of Microorganisms, Milkfish, Gamma Irradiation, Food Preservation

PENDAHULUAN

Ikan bandeng merupakan salah satu ikan budidaya yang banyak dikonsumsi di Indonesia. Banyak makanan khas Indonesia yang menggunakan ikan bandeng sebagai bahan dasarnya, seperti bandeng presto dari Jawa Tengah, asem-asem bandeng dari Jawa Timur, sate bandeng dari Banten, uilalia dari Sulawesi Tenggara dan masakan-masakan lainnya. Pada tahun 2014, produksi ikan bandeng di Indonesia mencapai 631.125 ton atau 14,74% dari total seluruh ikan budidaya yang diproduksi [1].

Ikan bandeng sangat mudah untuk ditemui di pasar-pasar di Indonesia, baik pasar tradisional maupun pasar modern. Banyak pedagang di pasar yang tidak mengerti pentingnya sanitasi untuk menjaga keamanan bahan pangan yang dijual. Ikan-ikan yang dijual di pasar hanya diletakkan pada lapak terbuka dan dibiarkan dalam waktu berjam-jam. Beberapa penjual meletakkan ikan di atas es batu yang belum terjamin kebersihannya. Banyaknya sampah yang menumpuk juga membuat kondisi pasar menjadi tidak higienis sehingga mendukung mikroorganisme untuk dapat berkembang biak pada ikan karena ikan mengandung nutrisi yang berlimpah [2].

Bakteri koliform dijadikan sebagai indikator untuk mengetahui adanya potensi kontaminasi patogen dalam makanan. Bakteri koliform memang sangat umum ditemukan pada ikan yang mengkontaminasi melalui lingkungan akuatik tempat ikan hidup [2]. Salah satu jenis bakteri koliform yang banyak diteliti dan dipelajari adalah *E. coli* karena sifatnya yang patogen. Bahkan *E. coli* dijadikan sebagai indikator untuk menguji kualitas air apakah layak atau tidak untuk dikonsumsi [3]. Selain *E. coli*, mikroorganisme yang sering ditemukan pada ikan adalah *Salmonella* spp. Makanan laut memang bukan merupakan habitat alami *Salmonella* spp., akan tetapi pada kenyataannya *Salmonella* spp., sering kali ditemukan pada makanan laut karena kontaminasi dari air yang tidak bersih. Bahkan, *Salmonella* spp. masih dapat bertahan hidup ketika makanan laut dalam keadaan beku [4]. *E. coli* dan *Salmonella* spp. Merupakan mikroorganisme yang penting untuk diuji untuk mengetahui kelayakan konsumsi dari komoditas perikanan.

Kerusakan ikan bandeng akibat kontaminasi mikroorganisme dapat diatasi dengan teknik iradiasi gamma. Teknik iradiasi gamma dapat

mengelminasi organisme perusak [5] dan ikan bandeng dapat disimpan dalam jangka waktu yang lebih panjang. Umur simpan yang lebih panjang akan menguntungkan penjual ikan bandeng maupun masyarakat yang mengkonsumsinya. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai pemanfaatan teknik iradiasi gamma terhadap pengawetan ikan bandeng dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh dosis iradiasi terhadap eliminasi mikroorganisme pada ikan bandeng dan lama penyimpanan dingin ikan bandeng iradiasi.

Pada penelitian ini juga akan dilakukan pengujian nilai D_{10} dan ketahanan terhadap antibiotik. Pengujian nilai D_{10} bertujuan untuk mengetahui dosis minimum yang dibutuhkan untuk menurunkan jumlah mikroorganisme sebanyak sepuluh kali lipat. Sedangkan, uji ketahanan antibiotik dilakukan untuk mengetahui ketahanan mikroorganisme terhadap antimikroba. Balai perikanan masih sering menggunakan antibiotik untuk mengatasi penyakit pada hewan yang diakibatkan mikroorganisme [6].

BAHAN DAN METODE

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah IRPASENA (iradiator kategori II) dengan material radionuklida berupa kobalt-60 (^{60}Co) yang memancarkan sinar gamma dalam laju 1 kGy/jam. Sedangkan, ikan bandeng yang menjadi sampel penelitian diperoleh dari dua lokasi pasar yang berbeda di daerah Tangerang, Banten. Ikan bandeng yang digunakan memiliki ukuran sekitar 30 sampai dengan 40 cm.

Iradiasi gamma dan penyimpanan beku

Ikan bandeng segar dipotong kecil-kecil lalu dimasukkan ke dalam kantong plastik *low-density polyethylene* (LDPE) dan ditutup dengan *sealer*. Setelah itu, ikan bandeng diiradiasi pada laju dosis 1,0 kGy dengan dosis 0; 1,5; dan 3 kGy. Sampel-sampel tersebut disimpan dengan suhu dingin selama 0, 7, 14, 21, dan 28 hari. Sampel dengan kombinasi dosis dan lama penyimpanan akan dilakukan analisis mikroorganisme dan kadar protein [7].

Analisis angka lempeng total (ALT) dan total bakteri koliform

Ikan bandeng dipotong kecil-kecil dan dibuat menjadi larutan suspensi dengan penambahan larutan pepton steril dengan tingkat pengenceran yang diinginkan. Kemudian suspensi diinokulasikan pada media *Nutrient Agar* dan *MacConkey*. Media berisi isolat tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk ALT dan 48 jam untuk total bakteri koliform [7].

Identifikasi *E. coli*

Koloni berwarna merah yang tumbuh pada media *MacConkey* diisolasikan kemudian digoreskan pada agar miring dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Koloni yang tumbuh pada agar miring diinokulasikan pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) dan dilakukan uji IMViC [8].

Identifikasi *salmonella* spp.

Ikan bandeng dipotong kecil-kecil dan ditambahkan *Tetrathionate Broth Base* untuk proses pengayaan *Salmonella* spp. Suspensi tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, larutan tersebut diambil sebanyak 1 ose lalu diinokulasikan pada media *Hektoen Enteric Agar* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam [7].

Analisis nilai D₁₀

Koloni *E. coli* dari stok kultur diambil sebanyak satu ose untuk dibuat suspensi dengan menggunakan akuades. Selanjutnya suspensi diiradiasi dengan dosis 0,1; 0,2; 0,3; dan 0,4 kGy. Setelah proses iradiasi, dilakukan pengenceran bertingkat sesuai dengan jumlah pengenceran yang telah ditentukan. Setelah diencerkan, suspensi diinokulasi pada media NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Jumlah koloni bakteri yang tumbuh kemudian dihitung dan dibuat menjadi grafik D₁₀ [9].

Analisis ketahanan antibiotik

Koloni *E. coli* dibuat suspensi dengan menggunakan akuades steril kemudian diinokulasikan pada media *Mueller Hinton*. Kemudian kertas cakram berisi antibiotik tetrasiklin, sefoksitin, dan amoksisilin diletakkan pada media berisi inokulat *E. coli* lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah proses inkubasi, akan terbentuk zona bening pada media. Diameter zona bening yang terbentuk kemudian diukur [10].

Analisis kadar protein

Kadar protein pada sampel ikan bandeng dianalisis dengan menggunakan metode Kjeldahl. Sampel ikan bandeng didestruksi terlebih dahulu untuk melepaskan materi organik dari sampel.

Tabel 1. Jumlah mikroorganisme pada ikan bandeng

Lama penyimpanan (hari)	Dosis iradiasi (kGy)	Jumlah mikroorganisme (CFU/gram)		SNI (CFU/gram)
		Ikan bandeng Pasar I	Ikan bandeng Pasar II	
0	0	2,54×10 ⁴	1,55×10 ⁵	5×10 ⁵
	1,5	1,08×10 ³	2,35×10 ⁴	
	3	0	8,00×10 ²	
7	0	3,30×10 ⁴	5,70×10 ⁴	
	1,5	2,50×10 ²	4,73×10 ³	
	3	0	0	
14	0	2,18×10 ⁴	4,73×10 ⁴	
	1,5	3,70×10 ²	2,53×10 ³	
	3	2,35×10 ²	7,50×10 ¹	
21	0	1,40×10 ⁴	5,23×10 ⁴	
	1,5	2,25×10 ²	2,70×10 ³	
	3	5,00×10 ¹	5,00×10 ¹	
28	0	9,60×10 ⁴	1,70×10 ⁵	
	1,5	7,55×10 ³	1,30×10 ⁴	
	3	2,05×10 ³	2,35×10 ³	

Kemudian setelah terdestruksi, sampel didestilasi dan dilanjutkan dengan proses titrasi. [11].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah total mikroorganisme pada ikan bandeng

Berdasarkan SNI 2729:2013, jumlah cemaran mikroorganisme yang masih diperbolehkan pada ikan segar adalah 5×10^5 CFU/gram [12]. Ikan bandeng yang memiliki jumlah cemaran mikroorganisme di atas jumlah tersebut maka ikan bandeng tersebut sudah tidak layak untuk dikonsumsi.

Pada Tabel 1 dapat diamati bahwa jumlah cemaran mikroorganisme ikan bandeng dari pasar I mencapai $2,54 \times 10^4$ CFU/gram dan ikan bandeng dari pasar II mencapai $1,55 \times 10^5$ CFU/gram. Jumlah mikroorganisme pada ikan bandeng dari pasar II lebih tinggi dan jumlah ini hampir melewati batas maksimum yang ditetapkan SNI 2729:2013.

Pada ikan bandeng dari pasar I tanpa melakukan iradiasi, jumlah mikroorganisme mengalami peningkatan dan penurunan sejak hari ke-0 sampai dengan hari ke-28. Hasil ini sesuai dengan penelitian Dogruyol dan Mol terhadap jumlah mikroorganisme pada ikan makarel *fillet sous-vide* yang diiradiasi yang mengalami naikturun [13]. Setelah penyimpanan selama tujuh hari, jumlah mikroorganisme mengalami peningkatan. Peningkatan jumlah mikroorganisme ini disebabkan oleh ketersediaan nutrisi yang masih cukup untuk mikroorganisme berkembang biak. Mikroorganisme yang berkembang biak adalah bakteri yang memang mampu hidup pada suhu yang rendah (psikofilik) dan bakteri yang mampu beradaptasi pada suhu rendah. Beberapa jenis bakteri mesofilik mampu beradaptasi dan mempertahankan hidupnya dalam keadaan dingin, termasuk *E. coli* [14]. Jumlah mikroorganisme mulai memasuki tahap penurunan mulai hari ke-7 sampai dengan hari ke-21. Penurunan ini disebabkan oleh terjadinya kompetisi di antara mikroorganisme untuk mendapatkan nutrisi yang tersedia. Kemampuan setiap mikroorganisme dalam menggunakan nutrisinya berbeda-beda. Mikroorganisme yang mampu menggunakan nutrisi dengan lebih cepat cenderung dapat bertahan hidup. Mikroorganisme yang lambat dalam menggunakan nutrisi dari lingkungan sekitar akan kalah dalam kompetisi sehingga

terjadi penurunan jumlah mikroorganisme [15]. Pada penyimpanan hari ke-28, jumlah mikroorganisme meningkat drastis dibandingkan dengan hari ke-21. Hal ini dapat terjadi karena mikroorganisme yang bertahan hidup dapat berkembang biak pada keadaan sub-optimal dan memanfaatkan nutrisi yang tersedia.

Jumlah mikroorganisme ikan bandeng dengan dosis iradiasi 1,5 kGy mengalami penurunan pada penyimpanan hari ke-7. Penurunan ini terjadi karena terdapat mikroorganisme yang terinaktivasi setelah perlakuan iradiasi diberikan. Iradiasi gamma mengakibatkan rantai DNA mikroorganisme terputus sehingga mikroorganisme tidak dapat berkembang biak. Selain itu, adanya molekul air yang teriradiasi menghasilkan radikal bebas yang dapat memecah ikatan karbon yang juga dapat merusak DNA mikroorganisme [16]. Namun, pada hari ke-14 jumlah mikroorganisme kembali meningkat meskipun peningkatan yang terjadi hanya sedikit. Peningkatan ini dapat terjadi karena adanya mikroorganisme yang kembali aktif dan didukung oleh nutrisi yang masih berlimpah. Pada penyimpanan hari ke-21 jumlah mikroorganisme kembali sedikit menurun lalu meningkat lagi pada hari ke-28. Adanya peningkatan yang cukup banyak pada hari ke-28 terjadi karena terdapat mikroorganisme yang mengalami kerusakan subletal. Mikroorganisme tersebut mampu memperbaiki DNA yang mengalami kerusakan sehingga dapat kembali berkembang biak [17]. Kerusakan subletal menyebabkan kenaikan jumlah mikroorganisme baru terjadi pada hari ke-28. Jeda tersebut sangat dipengaruhi oleh sejauh mana tingkat kerusakan DNA yang terjadi dan kemampuan mikroorganisme dalam memperbaikinya [18].

Pada ikan bandeng dari pasar I dengan dosis iradiasi 3 kGy, tidak diamati adanya pertumbuhan mikroorganisme sampai penyimpanan hari ke-7. Hal ini terjadi karena efek iradiasi dapat mengeliminasi mikroorganisme sehingga mikroorganisme tidak dapat bertahan hidup. Namun, tidak semua mikroorganisme mengalami kematian, terdapat mikroorganisme yang hanya mengalami kerusakan subletal. Mikroorganisme dengan kerusakan subletal mampu memperbaiki DNA yang rusak sehingga menjadi aktif kembali dibuktikan dengan adanya pertumbuhan mikroorganisme sejak penyimpanan hari ke-14. Peningkatan tertinggi terjadi pada hari ke-28 meskipun jumlah total mikroorganisme jauh lebih

rendah dibandingkan ikan bandeng tanpa perlakuan iradiasi maupun dengan diiradiasi 1,5 kGy. Dosis yang semakin besar menyebabkan semakin banyak mikroorganisme yang mengalami kerusakan sehingga tidak dapat bertahan hidup [19].

Pola yang berbeda terjadi pada jumlah mikroorganisme ikan bandeng dari pasar II. Selama penyimpanan 14 hari, jumlah mikroorganisme mengalami penurunan. Penurunan ini diduga disebabkan oleh banyaknya mikroorganisme yang tidak mampu bertahan hidup dalam keadaan dingin dan terjadinya kompetisi untuk mendapatkan nutrisi [15]. Mikroorganisme yang mampu bertahan hidup pada kondisi sub-optimal akan berkembang biak sehingga jumlah mikroorganisme kembali meningkat di mulai dari hari ke-14 dan bertambah semakin banyak sampai hari ke-28.

Jumlah mikroorganisme mengalami penurunan pada sampel ikan bandeng dengan perlakuan iradiasi 1,5 kGy pada penyimpanan hari ke-0. Perlakuan iradiasi terbukti dapat menurunkan jumlah mikroorganisme karena mengalami kerusakan DNA baik secara langsung maupun tidak langsung. Jumlah mikroorganisme kembali menurun pada penyimpanan hari ke-7 karena adanya penyimpanan dalam keadaan dingin. Proses pengawetan makanan dengan teknik iradiasi akan lebih efektif jika dikombinasikan dengan penyimpanan dingin [20].

Jumlah mikroorganisme pada hari ke-7 sampai hari ke-21 cenderung stabil dengan jumlah yang tidak berbeda signifikan. Namun, pada hari ke-28 jumlah mikroorganisme kembali meningkat drastis akibat adanya mikroorganisme yang hanya mengalami kerusakan subletal. Mikroorganisme tersebut mampu memperbaiki DNA yang telah rusak sehingga dapat kembali aktif dan berkembang biak meskipun jumlahnya tetap berada di bawah ikan bandeng tanpa perlakuan iradiasi.

Dosis iradiasi yang semakin tinggi membuat jumlah mikroorganisme semakin menurun [16]. Dosis 3 kGy menurunkan jumlah mikroorganisme yang cukup signifikan dibandingkan dengan ikan bandeng tanpa iradiasi maupun diiradiasi dengan 1,5 kGy. Pada hari ke-7 tidak terdapat pertumbuhan mikroorganisme karena adanya kombinasi teknik iradiasi dengan penyimpanan dingin. Pada hari ke-14 mulai terdapat pertumbuhan mikroorganisme meskipun jumlahnya sangat sedikit dan berlanjut sampai hari ke-21. Mikroorganisme yang mengalami kerusakan subletal telah kembali aktif dan mulai berkembang biak. Pada hari ke-28 jumlah mikroorganisme kembali meningkat karena semakin banyak mikroorganisme yang mampu untuk tumbuh kembali.

Perlakuan iradiasi gamma dengan dosis 1,5 maupun 3 kGy terbukti mampu menurunkan jumlah mikroorganisme pada ikan bandeng dari

Tabel 2. Jumlah bakteri koliform pada ikan bandeng

Lama penyimpanan (hari)	Dosis iradiasi (kGy)	Jumlah mikroorganisme (CFU/gram)	
		Ikan Bandeng Pasar I	Ikan Bandeng Pasar II
0	0	$8,43 \times 10^3$	$6,05 \times 10^3$
	1,5	$7,50 \times 10^1$	$8,90 \times 10^2$
	3	0	0
7	0	$1,15 \times 10^4$	$1,23 \times 10^4$
	1,5	0	$3,25 \times 10^2$
	3	0	0
14	0	$1,86 \times 10^4$	$2,23 \times 10^4$
	1,5	$2,20 \times 10^3$	$1,23 \times 10^3$
	3	$1,15 \times 10^3$	$7,50 \times 10^1$
21	0	$8,43 \times 10^3$	$1,70 \times 10^4$
	1,5	$2,30 \times 10^3$	$1,50 \times 10^3$
	3	$1,05 \times 10^3$	$5,00 \times 10^1$
28	0	$5,05 \times 10^4$	$9,95 \times 10^4$
	1,5	$5,40 \times 10^3$	$6,88 \times 10^4$
	3	$1,30 \times 10^3$	$2,25 \times 10^3$

kedua pasar karena kerusakan DNA yang dialami mikroorganisme. Dosis iradiasi yang semakin tinggi dapat mengeliminasi mikroorganisme lebih banyak. Hal ini dibuktikan dengan jumlah mikroorganisme yang lebih sedikit pada ikan bandeng yang diiradiasi dengan dosis 3 kGy dibandingkan dengan 1,5 kGy. Namun, jumlah mikroorganisme pada ikan bandeng dengan perlakuan iradiasi dengan 1,5 maupun 3 kGy masih berada pada batas aman SNI. Kerusakan DNA mikroorganisme terjadi melalui dua mekanisme, yaitu mekanisme langsung dan tidak langsung. Pada mekanisme langsung, energi yang dihasilkan oleh proses iradiasi merusak susunan DNA secara langsung. Sedangkan, pada mekanisme tidak langsung kerusakan DNA terjadi karena adanya produk radiolitik yang dihasilkan akibat molekul air yang teriradiasi. Salah satu produk radiolitik yang terbentuk adalah *reactive oxygen species* (ROS) yang dapat berinteraksi dengan molekul kimiawi yang ada pada DNA [21].

Bakteri Gram negatif memiliki sensitivitas yang lebih tinggi terhadap perlakuan iradiasi pengion dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Bakteri Gram negatif memiliki kandungan lipid yang lebih tinggi sehingga memiliki kemungkinan terjadinya kerusakan oksidatif yang lebih besar [22]. ROS dapat bereaksi dengan lipid, termasuk lipoprotein yang sangat rentan terhadap kerusakan oksidatif [23]. Selain itu, ROS juga dapat berikatan dengan DNA sehingga terjadi kesalahan pembacaan kode oleh enzim DNA polimerase dan menghambat proses replikasi yang menyebabkan sel akhirnya mati [24].

Jumlah bakteri koliform pada ikan bandeng

Hasil pengujian jumlah bakteri koliform pada ikan bandeng dapat dilihat pada Tabel 2. Jumlah bakteri koliform pada ikan bandeng dari pasar I dan pasar II memiliki pola yang sama. Jumlah bakteri koliform pada ikan bandeng dari pasar I tanpa iradiasi mencapai $8,43 \times 10^3$ CFU/gram dan $6,05 \times 10^3$ CFU/gram pada ikan bandeng dari pasar II di hari ke-0. Jumlah bakteri koliform mengalami peningkatan pada penyimpanan hari ke-14. Peningkatan jumlah disebabkan oleh adanya jenis koliform yang memang mampu bertahan meskipun dalam keadaan dingin [14] dan ketersediaan nutrisi yang sangat berlimpah. Namun, pada penyimpanan selama 21 hari ternyata jumlah bakteri koliform menurun. Penurunan jumlah ini terjadi karena

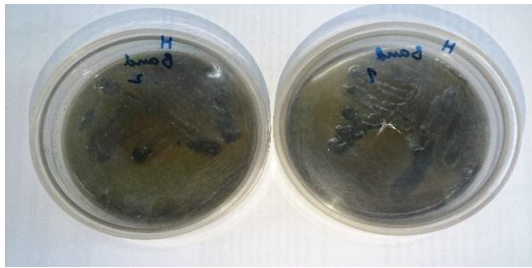
adanya bakteri koliform yang tidak dapat bertahan dalam kondisi sub-optimal yang terlalu lama dan terjadinya kompetisi dalam memperoleh makanan [15]. Bakteri koliform yang bertahan pada kondisi sub-optimal akan berkembang biak bahkan pada hari ke-28 jumlah bakteri koliform meningkat drastis.

Perlakuan iradiasi dengan dosis 1,5 kGy mampu menurunkan jumlah bakteri koliform sebesar 2 siklus log pada penyimpanan hari ke-0. Pertumbuhan bakteri koliform tidak ditemukan pada penyimpanan hari ke-7. Hal ini disebabkan karena adanya kombinasi perlakuan iradiasi dan penyimpanan dingin yang membuat bakteri koliform menjadi tidak aktif. Bakteri koliform termasuk bakteri Gram negatif yang bersifat lebih sensitif pada perlakuan iradiasi pengion [22]. Pada hari ke-14 kembali diamati adanya pertumbuhan bakteri koliform dan jumlahnya konstan sampai hari ke-21. Pertumbuhan bakteri koliform ini disebabkan karena adanya bakteri yang mampu untuk memperbaiki kerusakan DNA akibat perlakuan iradiasi [18]. Setelah kembali aktif, bakteri koliform mampu berkembang biak dan jumlahnya bertambah banyak meskipun jumlahnya jauh dibandingkan ikan bandeng tanpa perlakuan iradiasi pada penyimpanan selama 28 hari.

Dosis iradiasi 3 kGy memberikan dampak yang lebih besar terhadap penurunan jumlah bakteri koliform. Pada penyimpanan 0 sampai dengan 7 hari tidak ditemukan adanya bakteri koliform yang tumbuh. Dosis iradiasi yang lebih besar efektif dalam menginaktivasi mikroorganisme sehingga selama tujuh hari tidak ada bakteri koliform yang tumbuh. Pertumbuhan bakteri koliform baru dapat diamati pada hari ke-14 dan jumlahnya cenderung konstan sampai dengan hari ke-28. Bakteri koliform ini mulai kembali aktif setelah mampu memperbaiki kerusakan DNA akibat mengalami kerusakan subletal setelah diiradiasi [18].

***Salmonella* spp. pada Ikan Bandeng**

Pada media *Hektoen Enteric Agar*, pertumbuhan *Salmonella* spp. ditunjukkan dengan adanya koloni berwarna hitam atau hijau kebiruan dengan warna hitam pada bagian tengah. Koloni berwarna hitam muncul akibat tereduksinya sulfur menjadi hidrogen sulfida oleh *Salmonella* spp [25].



Gambar 1. Hasil pengujian *Salmonella* spp.

Namun, pada pengujian yang dilakukan koloni yang tumbuh memiliki warna kuning kemerahan sehingga koloni tersebut tidak dapat diidentifikasi sebagai *Salmonella* spp.. Pada Gambar 1 dapat diamati koloni yang tumbuh memiliki warna kuning kemerahan. Warna kuning kemerahan diduga muncul akibat adanya bakteri koliform non-patogen yang mampu bertahan meskipun adanya garam empedu dan melakukan fermentasi terhadap karbohidrat. Hasil fermentasi menyebabkan pH menurun akibat adanya asam yang dihasilkan. Asam akan menyebabkan indikator bromtimol biru berubah warna menjadi kuning kemerahan. Garam empedu akan terendapkan dan menyebabkan media menjadi keruh [25]. Oleh karena itu, koloni yang tumbuh tidak dilanjutkan untuk analisis nilai D_{10} dan ketahanan antibiotik.

Analisis Nilai D_{10}

Hasil pengujian nilai D_{10} untuk masing-masing isolat *E. coli* berbeda. *E. coli* yang terdapat pada ikan bandeng pasar I memiliki nilai D_{10} sebesar 0,093 kGy. Hal ini menunjukkan bahwa untuk membunuh 90% jumlah *E. coli* tersebut memerlukan dosis iradiasi minimal 0,093 kGy. Hasil yang berbeda terdapat pada *E. coli* dari ikan bandeng yang dibeli di pasar II. Nilai D_{10} *E. coli* ikan bandeng dari pasar II lebih besar dibandingkan dengan *E. coli* ikan bandeng dari pasar I. Dosis minimal yang dibutuhkan untuk mengeliminasi 90% jumlah *E. coli* pada ikan bandeng dari pasar II adalah sebesar 0,433 kGy. Hasil pengujian nilai D_{10} *E. coli* ikan bandeng dapat dilihat pada Tabel 3 berikut ini.

Sampel	Mikroorganisme	Nilai D_{10} (kGy)
Ikan bandeng pasar I	<i>E. coli</i>	0,093

Ikan bandeng pasar II	<i>E. coli</i>	0,433
-----------------------	----------------	-------

Dosis yang digunakan pada pengujian Nilai D_{10} lebih kecil dibandingkan dengan dosis iradiasi yang digunakan pada ikan bandeng karena pada pengujian Nilai D_{10} sampel yang digunakan adalah isolat *E. coli* murni. Sedangkan, pada penelitian iradiasi ikan bandeng, *E. coli* berada dalam matriks makanan sehingga dosis yang digunakan perlu lebih tinggi untuk menembus matriks penyusun ikan bandeng.

Resistensi mikroorganisme terhadap radiasi pention dipengaruhi banyak faktor. Susunan struktur DNA sel mikroorganisme sangat berpengaruh terhadap efek iradiasi yang dihasilkan. Selain itu kandungan air dan suhu di sekitar sel mikroorganisme juga turut berpengaruh. Kandungan air yang tinggi menyebabkan mikroorganisme semakin sensitif terhadap iradiasi karena radikal bebas yang dihasilkan semakin banyak. Suhu memiliki hubungan yang erat dengan kandungan air, suhu yang rendah menyebabkan mikroorganisme lebih tahan terhadap iradiasi karena aktivitas air berkurang pada suhu dingin [5].

Analisis Ketahanan Antibiotik

Tabel 4. Hasil pengukuran diameter zona bening

Sampel	Mikroorganisme	Antibiotik	Zona bening (mm)
Ikan bandeng pasar I	<i>E. coli</i>	Sefoksitin	26
		Tetrasiklin	30
		Amoksisilin	16
Ikan bandeng pasar II	<i>E. coli</i>	Sefoksitin	14
		Tetrasiklin	24
		Amoksisilin	12

Pada Tabel 4, dapat diamati zona bening yang terbentuk pada kertas cakram berisi antibiotic yang diletakkan pada media berisi *E. coli*. Diameter zona bening yang terbentuk pada kertas cakram Tetrasiklin lebih besar jika dibandingkan dengan antibiotik lainnya, sedangkan Amoksisilin memiliki diameter yang paling kecil. Jika zona bening yang terbentuk pada kertas cakram Tetrasiklin lebih dari 19 mm berarti *E. coli* memiliki ketahanan yang rendah (*susceptible*) terhadap Tetrasiklin [10].

Hasil pengujian dengan menggunakan Sefoksitin menunjukkan adanya perbedaan diameter zona bening yang cukup jauh antara *E. coli* pada ikan bandeng dari pasar I dan pasar II. *E. coli* dari ikan bandeng pasar I memiliki ketahanan yang rendah terhadap Sefoksitin karena diameter zona bening yang terbentuk lebih dari 18 mm. Sebaliknya, *E. coli* dari ikan bandeng pasar II memiliki ketahanan yang baik terhadap Sefoksitin karena diameter zona bening yang terbentuk lebih kecil dari 14 mm [10].

Pengujian ketahanan kedua isolat *E. coli* terhadap Amoksisilin juga terdapat sedikit perbedaan. Ketahanan *E. coli* dari ikan bandeng pasar I berada pada tingkat menengah (*intermediate*) karena diameter zona bening yang terbentuk berada pada rentang 14-17 mm. Sedangkan, *E. coli* dari ikan bandeng pasar II memiliki ketahanan yang baik terhadap Amoksisilin karena zona bening yang terbentuk lebih kecil dari 13 mm [10].

Secara keseluruhan, Tetrasiiklin memiliki kemampuan antibiotik yang paling ampuh terhadap *E. coli* ikan bandeng dilihat dari diameter zona bening yang terbentuk. Kemudian efektivitas antibiotik yang paling baik diikuti oleh Sefoksitin dan Amoksisilin. Hasil pengujian ketahanan terhadap antibiotik juga sejalan dengan pengujian nilai D_{10} . *E. coli* dari ikan bandeng pasar I memiliki ketahanan yang lebih rendah terhadap antibiotik dilihat dari diameter zona bening yang terbentuk. Hal yang sama juga ditemukan pada pengujian nilai D_{10} karena *E. coli* dari ikan bandeng pasar I membutuhkan dosis iradiasi lebih rendah untuk menurunkan jumlahnya sebesar sepuluh kali lipat dibandingkan *E. coli* dari ikan bandeng pasar II.

Analisis Kadar Protein Ikan Bandeng

Kadar protein tidak mengalami perubahan yang signifikan akibat iradiasi gamma. Pada Tabel 5 dapat diamati bahwa tidak terdapat pola peningkatan ataupun penurunan yang sama terhadap kadar protein pada ikan bandeng dari kedua pasar dan dosis yang digunakan. Jika iradiasi berpengaruh terhadap perubahan kadar protein maka seharusnya akan muncul pola perubahan yang sama pada sampel.

Perubahan protein akibat iradiasi hanya terjadi pada strukturnya saja. Mekanisme perubahan struktur protein sebagai efek dari iradiasi gamma terbagi menjadi dua, yaitu mekanisme langsung dan mekanisme tidak

langsung. Pada mekanisme langsung, struktur protein mengalami perubahan akibat paparan iradiasi gamma yang mengenai molekul protein. Sedangkan pada mekanisme tidak langsung, iradiasi gamma memecah molekul air sehingga terjadi proses radiolisis air. Radiolisis air menyebabkan molekul air terdekomposisi menjadi lebih sederhana dan menghasilkan radikal bebas [26]. Radikal bebas dapat memutus ikatan hidrogen molekul protein dan menyusun ulang kembali secara acak.

Perbedaan kadar protein yang ada dapat disebabkan karena bagian ikan yang berbeda dapat memiliki komposisi kimia yang berbeda. Selain itu, usia penangkapan ikan bandeng yang tidak sama juga menjadi penyebab perbedaan kadar protein pada pengujian. Komposisi kimia ikan bandeng yang berbeda-beda disebabkan beberapa faktor, yaitu habitat, cuaca, makanan yang dikonsumsi, dan pergerakan ikan [27].

Tabel 5. Kadar protein pada ikan bandeng

Dosis (kGy)	Kadar Protein (%)	
	Ikan Bandeng Pasar I	Ikan Bandeng Pasar II
0	26,52	29,62
1,5	29,78	27,06
3	26,59	29,42

KESIMPULAN

Berdasarkan pengujian mikroorganisme dengan metode angka lempeng total (ALT) diketahui bahwa perlakuan iradiasi dosis 1,5 dan 3 kGy ampuh menurunkan jumlah total mikroorganisme pada ikan bandeng. Hasil yang sama juga diperoleh pada pengujian jumlah total bakteri koliform. Semakin besar dosis iradiasi yang digunakan maka semakin besar penurunan jumlah bakteri koliform yang ada pada ikan bandeng. Kandungan protein ikan bandeng yang diiradiasi tidak berbeda signifikan dengan ikan bandeng yang tidak diiradiasi karena iradiasi hanya mengubah struktur protein dan tidak merubah kadarnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada PAIR BATAN yang telah membantu penelitian ini melalui fasilitas dan kepada Drs. Harsojo selaku pembimbing lapangan selama penelitian serta seluruh staf yang membantu kelancaran dalam penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Anonim. Laporan Kinerja Direktorat Jenderal Penguatan Daya Saing Produk Kelautan dan Perikanan (Ditjen PDSPKP) Triwulan I Tahun 2016. Direktorat Jenderal Penguatan Daya Saing Produk Kelautan dan Perikanan. Jakarta, 2016.
- [2] Al Sanjee, S., Karim, M.E., *Microbiological Quality Assessment of Frozen Fish and fish Processing Materials from Bangladesh, International Journal of Food Science*, pp. 1-6, 2016.
- [3] Tenaillon, O., Barrick, J.E., Ribeck, N., Deatherage, D., Blanchard, J., Dasgupta, A., WU, G.C., Wielgoss, S., Cruveiller, S., Medigue, C., Schneider, D., Lenski, R.E., *Tempo and Mode of Genome Evolution in a 50,000-Generation Experiment, Nature*, pp. 536, 165-170, 2016.
- [4] Kumar, R., Datta, T.K., Lalitha, K.V., *Salmonella Grows Vigorously on Seafood and Expresses its Virulence and Stress Genes at Different Temperature Exposure, BMC Microbiology*, pp. 1-10, 2015.
- [5] Aquino, K.A.S., "Sterilization by Gamma Irradiation", Dalam: F. Adrovic (Ed.), *Gamma Radiation* (171-206), ISBN, pp. 978-953, 51-0316-5, 2012.
- [6] Tamminen, M, Karkman, A., Lohmus, A., Muziasari, W.I., Takasu, H., Wada, S., Suzuki, S., And Virta, M., *Tetracycline Resistance Genes Persist at Aquaculture Farms in the Absence of Selection Pressure, Environ Sci. Technol*, pp. 45, 386-391, 2011.
- [7] Nugroho, A.N. Aplikasi Iradiasi Gamma dan Penyimpanan Suhu Dingin Sebagai Upaya untuk Peningkatan Keamanan Pangan pada Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*)., Skripsi, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Malang, 2016.
- [8] Nugraha, S.A. Pengaruh Iradiasi Gamma Terhadap Sensitivitas *Escherichia Coli* Hasil Isolasi Daging Ayam Dari Pasar Tradisional dan Pasar Modern. Skripsi, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Malang, 2016.
- [9] Harsojo, Irawati, Z. Kontaminasi Awal dan Dekontaminasi Bakteri Patogen pada Jeroan Sapi Dengan Iradiasi Gama. *J. Iptek Nuklir Ganendra*, pp. 14, 95-101. 2011.
- [10] Jorgensen, J.H., Turnidge, J.D., "Susceptibility Test Methods: Dilution And Disk Diffusion Methods", Dalam *J. Jorgensen, M. Pfaller, K. Carroll, G. Funke, M. Landry, S. Richter, D. Warnock, Manual Of Clinical Microbiology Washington, DC., ASM Press*, pp. 1253-1273, 2015.
- [11] Anonim. SNI 01-2354.4-2006 Cara Uji Kimia-Bagian 4: Penentuan Kadar Protein Dengan Metode Total Nitrogen pada Produk Perikanan. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta, 2006.
- [12] Anonim. SNI 2729:2013 Ikan Segar. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta, 2013.
- [13] Dogruyol, H., Mol, S., *Effect of Irradiation on Shelflife and Microbial Quality of Cold-Stored Sous-Vide Mackerel Fillets, Journal of Food Processing and Preservation*, pp. 1-8, 2015.
- [14] Barria, C., Malecki, M., Arraiano, C.M., Bacterial adaptation to cold, *Microbiology*, pp. 159, 2437-2443, 2013.

- [15] Hibbing, M., Fuqua, C., Parsek, M., Peterson, S., *Bacterial Competition: Surviving and Thriving in the Microbial Jungle*, *Nat Rev Microbiol*, pp. 8, 15-25, 2010.
- [16] Adams, M., Moss, M., *Food microbiology* (3rd ed.). Cambridge: RSC Publishing, 2008.
- [17] Wesche, A.M., Gurtler, J.B., Marks, B.P., RYSER, E.T., Stress, Sublethal injury, Resuscitation, and Virulence of Bacterial Foodborne Pathogens, *Journal of Food Protection*, pp. 72, 1121-1138, 2008.
- [18] Wu, V.C.H., *A Review of Microbial Injury and Recovery Methods in Food*, *Food Microbiology*, pp. 25, 735-744, 2008.
- [19] Rahimi, E., Faqhihi, R., Baradaran-Ghahfaokhi, M., Alavaian-Ghavanini, A., Baradaran-Ghahfaokhi, H., Siavashpour, Z., Farshadi, A., Rafie, F., *Effects of Gamma Irradiation on Microbial Load and Quality Characteristics of Veal*, *Advanced Biomedical Research*, pp. 2, 1-11, 2013.
- [20] Arshad, K., Sudha, K., Hatha, A., Aneesh, P., Helna, A., Anilkumar, G., *Effect By Gamma Irradiation and Low-Temperature Storage on Bacteriological Profile of Edible Estuarine Crab Scylla Serrata*, *Journal of Food Processing and Preservation*, pp. 39, 2473-2484, 2015.
- [21] Alizadeh, E., Sanz, A.G., Garcia, G., Sanche, L., *Radiation Damage to DNA the Indirect Effect of Low Energy Electrons*, *J. Phys Chem Lett*, pp. 4, 820-825, 2013.
- [22] Atique, F.B., Ahmed, K.T., Asaduzzaman, S.M., Hasan, K.N., *Effects of Gamma Irradiation on Bacterial Microflora Associated With Human Amniotic Membrane*, *Biomed Research International*, pp. 1-6, 2013.
- [23] Zakaria, K.M., *Effect of Gamma Ray on Reactive Oxygen Species at Experimental Animals*, *OMICS J Radiol*, pp. 6, 283-287, 2017.
- [24] Imlay, J.A., *Diagnosing Oxidative Stress in Bacteria Not as Easy as You Might Think* *Curr Opin Microbiol*, pp. 24, 124-131, 2015.
- [25] Hudzicki, J., Hektoen Enteric Agar Protocol, 2010.
- [26] Caer, S.L., Water radiolysis: influence of oxide surfaces on H₂ production under ionizing radiation, *Water*, pp. 3, 235-253, 2011.
- [27] Hardy, R., Lee, C., *Aquaculture Feed and Seafood Quality*, *Bull Fish Res Agen*, pp. 31, 43-50, 2010.