

KARYA TULIS ILMIAH

**IDENTIFIKASI BAKTERI *Clostridium sp* PADA SARDEN
KEMASAN KALENG BERBAGAI MERK
YANG DIPERDAGANGKAN**



**AGNEVOLASIA GISABELITA SIAHAAN
P07534017062**

**POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
2020**

KARYA TULIS ILMIAH

**IDENTIFIKASI BAKTERI *Clostridium sp* PADA SARDEN
KEMASAN KALENG BERBAGAI MERK
YANG DIPERDAGANGKAN**

Sebagai Syarat Menyelesaikan Pendidikan Program Studi
Diploma III



**AGNEVOLASIA GISABELITA SIAHAAN
P07534017062**

**POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
2020**

LEMBAR PERSETUJUAN

JUDUL : IDENTIFIKASI BAKTERI *Clostridium* sp PADA SARDEN
KEMASAN KALENG BERBAGAI MERK YANG
DIPERDAGANGKAN

NAMA : AGNEVOLASIA GISABELITA SIAHAAN

NIM : P07534017062

Telah Diterima dan Disetujui Untuk Diseminarkan Dihadapan Penguji

Medan, 8 Juni 2020

Menyetujui
Pembimbing


Terang Uli Jendalim Sembiring S.Si, M.Si
NIP. 195508221980031003

Mengetahui

Ketua Jurusan TLM
Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan


Endang Sofia S.Si, M.Si
NIP. 196010131986032001

LEMBAR PENGESAHAN

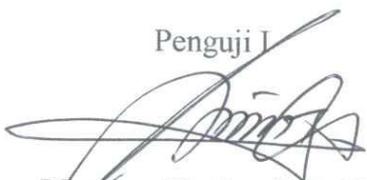
JUDUL : **IDENTIFIKASI BAKTERI *Clostridium sp* PADA SARDEN KEMASAN KALENG BERBAGAI MERK YANG DIPERDAGANGKAN**

NAMA : **AGNEVOLASIA GISABELITA SIAHAAN**

NIM : **P07534017062**

Karya Tulis Ilmiah ini Telah Diuji pada Sidang Ujian Akhir Program
Jurusan TLM Poltekkes Kemenkes Medan
Medan, 8 Juni 2020

Penguji I


Mardani Cinting S.Si, M.Kes
NIP. 196005121981141002

Penguji II


Suparni S.Si, M.Kes
NIP. 196608251986032001

Ketua Penguji


Terang Uli Jendralin Sembiring S.Si, M.Si
NIP. 195508221980031003

Ketua Jurusan TLM
Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan


Endang Sofia S.Si, M.Si
NIP. 196010131986032001

LEMBAR PERNYATAAN

IDENTIFIKASI BAKTERI *Clostridium sp* PADA SARDEN KEMASAN KALENG BERBAGAI MERK YANG DIPERDAGANGKAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam karya tulis ilmiah ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebut dalam daftar pustaka.

Medan, Juni 2020

**Agnevolasia Gisabelita Siahaan
P07534017062**

**POLYTECHNIC HEALTH KEMENKES MEDAN
DEPARTMENT OF MEDICAL LABORATORY TECHNOLOGY**

KTI, JUNE 2020

Agnevolasia Gisabelita Siahaan

**IDENTIFICATION OF CLOSTRIDIUM SP IN CANNED SARDINES OF
VARIOUS BRANDS THAT ARE TRADED**

ix +31 pages, 9 tables, 3 images, 3 attachments

ABSTRACT

Fish have high protein and water concentration so it is a good medium for cultivation spoilage bacteria, one kind of processing that can be used to inhibit the activity of microorganism is fish canning. Fish canning is a form of preserving or processing in modern that packed hermetic and then sterilized. Sterilized process in canning aim to kill or only just cause microbial injury. Microbes which sustain injury will be healthy again in the storage term that can cause food damage and cause disease. The bacteria that often found in canned sardines product is Clostridium botulinum, the most heat resistant bacteria and able to product very deadly toxins. This research intend to identify Clostridium sp in canned sardines of various brands that are traded. The method used is qualitative by cultivation on blood agar media.

Based on the result of research which is conduct on 8 brands or 40 specimens of canned sardines that are traded signify 22 specimens or 55.00% positive containing Clostridium botulinum bacteria and 18 specimens or 45.00% negative does not contain Clostridium sp bacteria. Recommended for traders to maintain the cleanliness of canned food product, store the product at the appropriate temperature and check the condition of the product be in the exist or not exist of disability.

Keywords : Clostridium sp, Canned Sardines, Botulism

Reading List : 19 (2009-2020)

**POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
KTI, JUNI 2020**

Identifikasi Bakteri *Clostridium sp* pada Sarden Kemasan Kaleng Berbagai Merk yang Diperdagangkan

ix + 31 halaman, 9 tabel, 3 gambar, 3 lampiran

ABSTRAK

Ikan mempunyai kandungan protein dan air yang cukup tinggi, sehingga merupakan media yang baik bagi perkembangan bakteri pembusuk. Salah satu pengolahan yang digunakan untuk menghambat metabolisme mikroorganisme adalah pengalengan ikan. Pengalengan ikan bentuk pengawetan atau pengolahan secara modern yang dikemas secara hermetis dan kemudian disterilkan. Proses sterilisasi dalam pengalengan bertujuan membunuh atau menyebabkan *injury* (luka) pada mikrobia. Mikrobia yang mengalami *injury* akan sehat kembali pada masa penyimpanan sehingga dapat menyebabkan kerusakan pangan dan menyebabkan penyakit. Bakteri yang sering terdapat di produk sarden kemasan kaleng adalah *Clostridium botulinum*, bakteri yang paling tahan panas dan mampu menghasilkan toksin yang sangat mematikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri *Clostridium sp* pada sarden kemasan kaleng berbagai merk yang diperdagangkan. Metode yang digunakan adalah metode kualitatif dengan penanaman pada media agar darah.

Hasil penelitian yang dilakukan terhadap 8 merk atau 40 spesimen sarden kemasan kaleng yang diperdagangkan menunjukkan sebanyak 22 spesimen atau 55.00% positif mengandung bakteri *Clostridium botulinum* dan 18 spesimen atau 45.00% negatif tidak mengandung bakteri *Clostridium sp*. Disarankan setiap pedagang untuk menjaga kebersihan produk makanan kaleng, menyimpan produk pada suhu yang sesuai dan memeriksa kondisi produk berupa ada tidaknya kecacatan.

Kata Kunci : *Clostridium sp*, Sarden Kemasan Kaleng, Botulisme

Daftar Pustaka : 19 (2009-2020)

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur saya panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, oleh karena anugerah-Nya yang melimpah, kemurahan dan kasih setia yang besar sehingga penulis bisa menyelesaikan penulisan Karya Tulis Ilmiah dengan judul **“Identifikasi Bakteri *Clostridium sp* pada Sarden Kemasan Kaleng Berbagai Merk yang Diperdagangkan”**.

Dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini penulis banyak mendapatkan bantuan, saran, bimbingan dan dukungan baik moril maupun materi dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Kepada Direktur Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan Ibu Dra. Ida Nurhayati M.Kes atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program studi D – III Teknologi Laboratorium Medis.
2. Kepada Ibu Endang Sofia S.Si, M.Si selaku ketua jurusan Teknologi Laboratorium Medis.
3. Kepada Bapak Terang Uli Jendalim Sembiring S.Si, M.Si selaku pembimbing yang telah banyak membantu dan membimbing serta mengarahkan penulis dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Kepada Bapak Mardan Ginting S.Si, M.Kes selaku penguji I yang telah memberi masukan dalam penyempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.
5. Kepada Ibu Suparni S.Si, M.Kes selaku penguji II yang telah memberi masukan dalam penyempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.
6. Teristimewa kepada kedua orangtua tercinta, Ibu saya (Yani Suryani), Ayah saya (Alm. Evolando P Siahaan) dan kedua adik saya yang selalu memberi dukungan baik materi, kasih sayang maupun doa dan yang selalu menjadi penyemangat bagi penulis untuk menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
7. Kepada seluruh Staff Pengajar dan Pegawai di Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan jurusan Teknologi Laboratorium Medis.
8. Kepada seluruh rekan – rekan seperjuangan mahasiswa/i Politeknik Kesehatan Medan jurusan Teknologi Laboratorium Medis yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu.

Dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah ini penulis menyadari masih banyak kekurangan yang perlu disempurnakan. Untuk itu kritik dan saran senantiasa diharapkan demi kesempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini. Akhir kata penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu dan semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat dan diterima dengan baik oleh pembaca.

Medan, Juni 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRACT	i
ABSTRAK	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.3.1. Tujuan Umum	3
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Ikan Sarden (<i>Sardinella lemuru</i>)	5
2.1.1. Klasifikasi Ikan Sarden (<i>Sardinella lemuru</i>)	5
2.1.2. Kandungan Gizi Ikan Sarden	6
2.2. Teknologi Pengemasan Ikan	6
2.2.1. Pengalengan	7
2.2.2. Proses Pengalengan	8
2.3. Kerusakan Makanan Kaleng	9
2.3.1. Tipe Kerusakan Mikrobiologis Makanan Kaleng	10
2.3.2. Kerusakan Mikrobiologi Makanan Kaleng Oleh Mikroba	11
2.4. Bakteri Anaerob	11
2.4.1. <i>Clostridium botulinum</i>	12
2.4.2. Klasifikasi Ilmiah	13
2.5. Patogenesis dan Gejala Penyakit	14
2.6. Pengobatan	15
2.7. Epidemiologi, Pencegahan dan Pengendalian Penyakit	15
2.8. Kultur Bakteri Anaerob dengan Desikator Sebagai Anaerob Jar	16
2.9. Kerangka Konsep	17
2.10. Defenisi Operasional	17
BAB 3 METODE PENELITIAN	18
3.1. Jenis dan Desain Penelitian	18
3.2. Lokasi dan Waktu Penelitian	18
3.3. Populasi dan Sampel Penelitian	18
3.4. Jenis dan Cara Pengumpulan Data	18
3.5. Metode Penelitian	18

3.6.	Prinsip Kerja	19
3.7.	Alat, Bahan dan Media	19
3.7.1.	Alat	19
3.7.2.	Bahan	19
3.7.3.	Reagensia	19
3.7.4.	Media	19
3.8.	Prosedur Kerja	19
3.8.1.	Pemeriksaan Luar Kaleng	20
3.8.2.	Penghalusan Sampel	20
3.8.3.	Inokulasi Sampel pada Media Nutrient Broth	20
3.8.4.	Penanaman pada Media Agar Darah	21
3.8.5.	Pewarnaan Gram	21
3.9.	Analisa Data	22
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN		23
4.1.	Hasil	23
4.2.	Pembahasan	25
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN		28
5.1.	Kesimpulan	28
5.2.	Saran	28
DAFTAR PUSTAKA		
LAMPIRAN		

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Proses Pengalengan Ikan Sarden	9
Tabel 2.2. Tipe Kerusakan Mikrobiologis Pada Makanan Kaleng	10
Tabel 4.1. Distribusi Subyek Berdasarkan Tipe Kerusakan Kaleng	23
Tabel 4.2. Distribusi Kaleng Berkarat Berdasarkan Merk	23
Tabel 4.3. Distribusi Kaleng Penyok Berdasarkan Merk	24
Tabel 4.4. Distribusi Kaleng Penyok dan Berkarat Berdasarkan Merk	24
Tabel 4.5. Distribusi Kaleng Dalam Kondisi Normal Berdasarkan Merk	24
Tabel 4.6. Distribusi Hasil Pewarnaan Gram	25
Tabel 4.7. Distribusi Bakteri <i>Clostridium botulinum</i> Berdasarkan Merk	26

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Ikan <i>Sardinella lemuru</i>	5
Gambar 2.2. Ikan Sarden Kaleng	8
Gambar 2.3. Pewarnaan Gram Bakteri <i>Clostridium botulinum</i>	13

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 : Lembar Hasil Penelitian
- Lampiran 2 : Proses Pembuatan Media
- Lampiran 3 : Jadwal Penelitian

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Ikan telah lama dimanfaatkan oleh manusia sebagai bahan pangan yang bernilai gizi tinggi. Oleh karena itu, kebutuhan pangan khususnya protein telah menyebabkan perikanan menjadi salah satu rangkaian kegiatan penting ekonomi masyarakat (Burhanuddin A, 2018).

Setiap tahunnya permintaan produk perikanan di pasar lokal maupun internasional semakin meningkat. Karena peningkatan minat masyarakat terhadap produk perikanan tersebut maka produsen banyak melakukan upaya agar ikan yang di produksi tetap memiliki kualitas yang baik dan terhindar dari mikroorganisme. Kandungan gizi yang tinggi akan memperbesar resiko kerusakan bahan. Kerusakan ini disebabkan oleh proses kimia maupun oleh aktivitas mikrobiologi (Supenah P, 2019).

Pada saat ini, perkembangan ilmu pengetahuan, teknologi, dan seni (ipteks) dalam pengolahan pangan sangat pesat, sehingga dapat dilakukan perhitungan secara rumit dan teliti untuk menghasilkan “sterilisasi komersial”. Agar memungkinkan produk tetap awet, tanpa harus merusak nilai gizi, cita rasa, dan tekstur dalam skala besar, maka proses sterilisasi harus memadai. Prinsip dasar proses termal diambil dari ilmu termobakteriologi dengan memanfaatkan kaidah perambatan dan penetrasi panas, serta sifat daya tahan panas mikroba, khususnya spora bakteri (Sahubawa L, 2014).

Prinsip pengolahan ikan pada dasarnya bertujuan melindungi ikan dari pembusukan dan kerusakan. Selain itu juga untuk memperpanjang daya awet dan mendiversifikasikan produk olahan hasil perikanan. Salah satu jenis pengolahan yang dapat digunakan untuk menghambat kegiatan zat-zat mikroorganisme adalah pengalengan ikan (Harliani M, 2015).

Pengalengan merupakan cara pengawetan bahan pangan dalam wadah yang tertutup rapat (hermetis) dan disterilkan dengan panas $> 100^{\circ}\text{C}$. Secara garis besar, proses pengalengan bahan-bahan pangan dilakukan melalui tahap-tahap sebagai berikut: persiapan bahan mentah, blansir, pengisian bahan ke dalam kemasan, pengisian larutan media, penghampaan udara (*exhausting*), proses sterilisasi, pendinginan dan penyimpanan (Sahubawa L, 2014).

Proses sterilisasi dalam pengalengan bertujuan untuk membunuh mikrobia pada produk pangan dan wadahnya. Destruksi panas dalam sterilisasi dapat memberi efek membunuh atau hanya menyebabkan *injury* (luka). Mikrobia yang mengalami *injury* dapat sehat kembali pada masa penyimpanan, sehingga dapat menyebabkan kerusakan pangan dan menyebabkan penyakit (Kristi D, 2017).

Teknik pengawetan makanan dengan pengalengan perlu mempertimbangkan beberapa faktor, antara lain resistensi mikroorganisme terhadap panas, laju penembusan panas ke dalam bahan makanan yang mempunyai konsistensi yang berbeda-beda dan ukuran wadah tempat makanan tersebut dikemas. Bakteri terpenting yang harus dimusnahkan dari makanan yang dikalengkan adalah *Clostridium botulinum*, yaitu bakteri anaerob yang mampu menghasilkan toksin yang sangat mematikan (Radji M, 2013).

Selama tahun 2015 BPOM mencatat 61 kejadian luar biasa (KLB) keracunan pangan yang berasal dari 34 provinsi di Indonesia. Dilaporkan jumlah orang yang terpapar sebanyak 8.263 orang, sedangkan kasus KLB keracunan pangan (case) yang dilaporkan sebanyak 2.251 orang sakit dan 3 orang meninggal dunia (Anwar M, 2017).

Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya dengan 30 spesimen pada 6 merk ikan sarden kemasan kaleng didapatkan 18 spesimen atau 60% positif mengandung bakteri anaerob *Clostridium botulinum* dan 12 spesimen atau 40% negatif tidak mengandung bakteri anaerob *Clostridium botulinum* (Supenah P, 2019).

Clostridium sp adalah bakteri gram positif berbentuk batang anaerobik atau mikroaerofilik yang menghasilkan endospora. *Clostridium botulinum* biasa terdapat pada makanan kaleng dengan PH > 4,6, bakteri ini menghasilkan toksin biologis yang kuat yang dikenal dapat menginfeksi manusia (Sari N, 2018).

Berdasarkan latar belakang diatas maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang **“Identifikasi Bakteri *Clostridium sp* Pada Sarden Kemasan Kaleng Berbagai Merk Yang Diperdagangkan”**.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas maka penulis ingin mengetahui Apakah Sarden Kemasan Kaleng Berbagai Merk yang Diperdagangkan Terkontaminasi Bakteri *Clostridium sp* atau Tidak?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui Ada Tidaknya Bakteri *Clostridium sp* pada Sarden Kemasan Kaleng Berbagai Merk yang Diperdagangkan.

1.3.2. Tujuan Khusus

Untuk mengidentifikasi Bakteri *Clostridium sp* pada Sarden Kemasan Kaleng Berbagai Merk yang Diperdagangkan.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Bagi Penulis

- (1) Sebagai bahan acuan bagi peneliti selanjutnya di Program Studi D-III Teknologi Laboratorium Medis di bidang Bakteriologi.

- (2) Untuk menambah pengetahuan pembaca dalam upaya kesehatan bahan makanan.

1.4.2. Manfaat Bagi Pembaca

- (1) Menambah wawasan dan ilmu pengetahuan bagi penulis dan juga pembaca khususnya konsumen agar lebih selektif dalam memilih makanan untuk dikonsumsi.
- (2) Memberikan informasi bagi masyarakat tentang bahaya mengkonsumsi makanan kaleng yang terkontaminasi serta dampaknya bagi kesehatan.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ikan Sarden (*Sardinella lemuru*)

Indonesia merupakan negara dengan kekayaan laut yang melimpah serta beraneka ragam. Ikan merupakan hasil laut di Indonesia yang memiliki potensi ekonomi yang cukup tinggi. Salah satu hasil perikanan Indonesia dengan potensi ekonomi yang tinggi adalah ikan sarden (Supenah P, 2019).

Ikan sarden merupakan ikan yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia dalam berbagai bentuk olahan. Jenis ikan sarden yang banyak terdapat di Indonesia adalah ikan lemuru. Karena nama lemuru kurang dikenal masyarakat, maka dipergunakanlah nama sarden yang juga nama genus dari ikan lemuru ini (Harliani M, 2015).

Ikan sarden jenis *Sardinella lemuru* dapat pula disebut juga dengan *Bali Sardinella* dengan wilayah tempat tinggal yaitu di perairan bagian selatan Jawa Timur, laut Selat Bali, Thailand, Australia bagian barat, Laut Jawa, Filipina, Hongkong, Taiwan, Jepang Selatan dan Samudra Hindia (Yovita G, 2017).



Gambar 2.1. Ikan *Sardinella lemuru*

2.1.1. Klasifikasi Ikan Sarden (*Sardinella lemuru*)

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata

Sub Filum : Vertebrata
Kelas : Pisces
Sub Kelas : Actinopterygii
Ordo : Cluspeiformes
Famili : Cluspeidae
Genus : *Sardinella*
Spesies : *Sardinella lemuru*
(Yovita G, 2017).

2.1.2. Kandungan Gizi Ikan Sarden

Ikan sarden mengandung protein 24.6 g/100g dan vitamin D 272 IU/100g. Protein bermanfaat bagi tubuh karena memiliki berbagai macam fungsi seperti pertumbuhan dan pemeliharaan jaringan, membentuk senyawa-senyawa esensial tubuh, mengatur keseimbangan air, mempertahankan kenetralan (asam-basa) tubuh, membentuk antibodi dan mentransfor zat gizi. Sedangkan vitamin D sangat diperlukan terutama pada masa kanak-kanak untuk membentuk pertumbuhan tulang yang kuat (Cakrawati D, 2012).

Dalam 100 gram ikan sarden terdapat beberapa kandungan antara lain yaitu mengandung bagian yang dapat dikonsumsi sebesar 80%. Selain itu, dalam 100 gram ikan sarden terdapat kandungan gizi yang dibutuhkan tubuh. Dalam 100 gram ikan mengandung energi sebesar 112 kkal serta protein, lemak, kalsium, fosfor, zat besi, vitamin A dan vitamin B1 (Yovita G, 2017).

2.2. Teknologi Pengemasan Ikan

Hasil perikanan merupakan komoditi yang cepat mengalami kemunduran mutu, atau mengalami pembusukan, karena ikan mempunyai kandungan protein (18-30%) dan air yang cukup tinggi (70-80%) sehingga merupakan media yang baik bagi perkembangan bakteri pembusuk. Kelemahan tersebut telah dirasakan sangat menghambat usaha pemasaran hasil ikan bahkan menimbulkan kerugian

yang besar, terutama pada saat produksi ikan melimpah. Oleh karena itu perlu dilakukan usaha untuk meningkatkan daya simpan dan kualitas produk perikanan melalui proses pengolahan dan pengawetan (Harliani M, 2015).

Pada saat ini, perkembangan ilmu pengetahuan, teknologi, dan seni (ipteks) dalam pengolahan pangan sangat pesat, sehingga dapat dilakukan perhitungan secara rumit dan teliti untuk menghasilkan “sterilisasi komersial”. Agar memungkinkan produk tetap awet, tanpa harus merusak nilai gizi, cita rasa, dan tekstur dalam skala besar, maka proses sterilisasi harus memadai. Prinsip dasar proses termal diambil dari ilmu termobakteriologi dengan memanfaatkan kaidah perambatan dan penetrasi panas, serta sifat daya tahan panas mikroba, khususnya spora bakteri (Sahubawa L, 2014).

Prinsip pengolahan ikan pada dasarnya bertujuan melindungi ikan dari pembusukan dan kerusakan. Selain itu juga untuk memperpanjang daya awet dan mendiversifikasikan produk olahan hasil perikanan. Salah satu jenis pengolahan yang dapat digunakan untuk menghambat kegiatan zat-zat mikroorganisme adalah pengalengan ikan (Harliani M, 2015).

2.2.1. Pengalengan

Prinsip pengolahan ikan pada dasarnya bertujuan melindungi ikan dari pembusukan dan kerusakan. Selain itu juga untuk memperpanjang daya awet dan mendiversifikasikan produk olahan hasil perikanan. Salah satu jenis pengolahan yang dapat digunakan untuk menghambat kegiatan zat-zat mikroorganisme adalah pengalengan ikan. Pengalengan merupakan salah satu bentuk pengolahan dan pengawetan ikan secara modern yang dikemas secara hermetis dan kemudian disterilkan. Bahan pangan dikemas secara hermetis dalam suatu wadah, baik kaleng, gelas atau alumunium. Pengemasan secara hermetis dapat diartikan bahwa penutupannya sangat rapat, sehingga tidak dapat ditembus oleh udara, air, kerusakan oksidasi maupun perubahan cita rasa (Harliani M, 2015).

Pengalengan pangan adalah proses pengolahan pangan dengan menggunakan kaleng. Proses sterilisasi dalam pengalengan bertujuan untuk

membunuh mikrobia pada produk pangan dan wadahnya. Destruksi panas dalam sterilisasi dapat memberi efek membunuh atau hanya menyebabkan *injury* (luka). Mikrobia yang mengalami *injury* dapat sehat kembali pada masa penyimpanan, sehingga dapat menyebabkan kerusakan pangan dan menyebabkan penyakit (Kristi D, 2017).

Teknik pengawetan makanan dengan pengalengan perlu mempertimbangkan beberapa faktor, antara lain resistensi mikroorganisme terhadap panas, laju penembusan panas ke dalam bahan makanan yang mempunyai konsistensi yang berbeda-beda dan ukuran wadah tempat makanan tersebut dikemas. Bakteri terpenting yang harus dimusnahkan dari makanan yang dikalengkan adalah *Clostridium botulinum*, yaitu bakteri anaerob yang mampu menghasilkan toksin yang sangat mematikan (Radji M, 2013).



Gambar 2.2. Ikan Sarden Kaleng

2.2.2. Proses Pengalengan

Proses pengalengan bahan-bahan pangan dilakukan melalui tahap-tahap sebagai berikut

Tabel 2.1. Proses Pengalengan Ikan Sarden

No	Tahap	Proses Pengerjaan
1.	Persiapan Bahan Mentah	Pemilihan bahan-bahan baku pengalengan, pencucian, pemotongan menjadi bagian-bagian tertentu dan persiapan bahan untuk pengolahan tahap lanjut.
2.	Blansir	Menghilangkan udara dalam jaringan buah atau sayur, mengurangi jumlah mikroba, memudahkan pengisian ke dalam kaleng dan menonaktifkan enzim.
3.	Pengisian Bahan Ke Dalam Kemasan	Pengisian bahan baku ke dalam kemasan harus berukuran seragam dengan tujuan untuk mempertahankan keseragaman rongga udara (<i>head space</i>), memperoleh produk yang konsisten dan menjaga berat bahan secara konstan.
4.	Penghampaan Udara	Pengeluaran udara dalam kemasan untuk mengurangi tekanan di dalam kaleng selama proses pemanasan.
5.	Proses Sterilisasi	Proses pengawetan dengan mematikan mikroba yang terdapat dalam kaleng sehingga dapat mencegah terjadinya pembusukan selama penyimpanan dan bahan pangan tersebut tidak membahayakan kesehatan konsumen. Proses sterilisasi yang dilakukan dalam pengalengan adalah sterilisasi komersial yang bertujuan untuk membunuh mikroba pembusuk/patogen dan sporanya.
6.	Pendinginan dan Penyimpanan	Simpanlah dalam suhu ruang untuk mengetahui daya simpan dan efektivitas sterilisasi. Pengamatan kaleng disimpan pada suhu 40-500°C, jika dalam 1 minggu kaleng mengembang maka proses sterilisasi tidak berjalan baik dan masih adanya aktivitas mikroorganisme.

(Sahubawa L, 2014)

2.3. Kerusakan Makanan Kaleng

Tujuan utama proses pemanasan atau termal pada pengalengan ikan adalah untuk membentuk kondisi pemanasan yang optimal sehingga menghasilkan bahan pangan kaleng yang “steril komersial”. Berbeda dengan sterilisasi total, dalam

sterilisasi komersial terdapat mikroba yang masih dapat hidup setelah perlakuan pemanasan (Sahubawa L, 2014).

Proses terjadinya kerusakan mikrobiologis pada bahan pangan secara umum yaitu mikroba masuk ke dalam bahan pangan baik melalui udara, debu, tangan atau media yang lain. Kondisi di dalam bahan pangan seperti kandungan air dan PH mendukung atau sesuai dengan kondisi dimana mikroorganisme tersebut berkembang. Selain itu, bahan pangan disimpan dalam kondisi yang memungkinkan atau bahkan mendukung pertumbuhan mikroba seperti disimpan dalam suhu ruang ($\pm 28^{\circ}\text{C}$) sehingga terjadi metabolisme mikroba seperti mengeluarkan toksin atau racun yang menyebabkan kerusakan makanan dan akan berbahaya jika dikonsumsi (Arini L, 2017).

2.3.1. Tipe Kerusakan Mikrobiologis Makanan Kaleng

Karena ketahanannya terhadap panas, bakteri pembentuk spora (*Clostridium* dan *Bacillus*) merupakan kelompok mikroorganisme yang paling penting di dalam industri pengalengan makanan. Ketiga tipe kerusakan mikrobiologis terpenting pada makanan yang dikalengkan secara komersial adalah sebagai berikut :

Tabel 2.2. Tipe Kerusakan Mikrobiologis Pada Makanan Kaleng

Kerusakan Asam-Datar	Kerusakan ini disebabkan karena pembentukan asam. Namun, kalengnya masih mempertahankan penampilan luarnya yang normal, kaleng tetap datar, karena itu digunakan istilah “asam-datar”. Organisme penyebabnya yang umum ialah <i>Bacillus</i> . Kerusakan terutama terjadi pada makanan yang kurang asam seperti kacang polong atau jagung. Bahan makanan yang asam seperti tomat dapat di rusak oleh pertumbuhan <i>Bacillus coagulans</i> , yang menghasilkan lebih banyak asam.
Kerusakan AT	Tipe kerusakan ini disebabkan oleh anaerob termofilik karena itu dinamakan “AT”. Bakteri AT ialah <i>Clostridium thermosaccharolyticum</i> . Bakteri ini memfermentasi gula, menghasilkan asam dan gas setelah beberapa waktu lamanya gas tersebut mengakibatkan kaleng membengkak dengan ujung-

	ujungnya menggelembung. Kerusakan macam ini paling banyak terjadi pada bahan makanan dengan kadar asam rendah seperti kacang polong, jagung, buncis, daging, ikan, unggas dan pada bahan makanan dengan kadar asam sedang seperti bayam, asparagus, bit dan labu.
Kerusakan Akibat Sulfida	Tipe kerusakan ini disebabkan oleh bakteri <i>Desulfotomaculumnigrificans</i> (dahulu disebut <i>Clostridium nigrificans</i>) dan <i>Clostridium botulinum</i> terutama pada bahan makanan dengan kadar asam rendah. Selama pertumbuhan dan metabolismenya, bakteri ini menghasilkan hydrogen sulfida. Bau gas ini segera tercium pada waktu membuka sekaleng makanan yang rusak. Bakteri tersebut merupakan termofil obligat karena itu bila bahan makanan yang diolah dengan panas tidak segera didinginkan, termofil ini akan tumbuh.

(Irianto K, 2013)

2.3.2. Kerusakan Mikrobiologi Makanan Kaleng Oleh Mikroba

Kerusakan mikrobiologi dapat mengakibatkan terjadinya pengembangan kaleng karena terbentuknya gas oleh mikroba, terutama gas CO² dan H₂. Penampakan kaleng yang kembung dapat dibedakan atas beberapa jenis sebagai berikut : (1). *Flipper* yaitu kaleng terlihat normal, tetapi bila salah satu tutupnya ditekan dengan jari, tutup yang lainnya akan menggelembung, (2). *Springer* yaitu salah satu tutup terlihat normal (tidak kembung), sedangkan tutup yang lainnya kembung. Jika bagian yang kembung ditekan, bagian ini akan masuk ke dalam, sedangkan tutup lainnya akan menjadi kembung, (3). *Soft Swell* yaitu kedua tutup kaleng kembung tetapi tidak keras dan masih dapat ditekan dengan ibu jari, (4). *Hard Swell* yaitu kedua tutup kaleng kembung dan keras sehingga tidak dapat ditekan dengan ibu jari (Irianto K, 2013).

2.4. Bakteri Anaerob

Bakteri anaerob yaitu bakteri yang tidak menggunakan oksigen untuk pertumbuhan dan metabolisme, tetapi memperoleh energinya dari reaksi

fermentasi. Definisi fungsional anaerob adalah bakteri memerlukan berkurangnya tekanan oksigen untuk pertumbuhan dan gagal tumbuh pada permukaan medium solid dalam CO² 10% udara sekitar. Spesies *Bacteroides* dan *Clostridium* merupakan contoh bakteri anaerob (Brooks G, 2017).

Bakteri anaerob tidak dapat tumbuh bila ada oksigen karena zat ini toksik bagi kehidupannya. Bahkan, bakteri ini pun akan mati pada konsentrasi oksigen serendah 0,5%, walaupun kebanyakan masih dapat bertahan pada konsentrasi oksigen 3-5%. Bakteri anaerob merupakan bagian yang secara numerik, dominan sebagai flora normal bakteri dan kini dikenal sebagai penyebab infeksi yang relatif umum pada hampir semua bagian tubuh (Muliawan S , 2009).

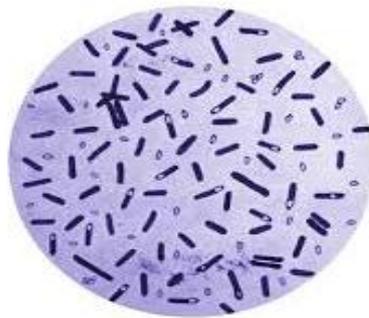
Bahan pangan yang diproses dengan sterilisasi komersial kebanyakan dikemas pada kondisi anaerobik karena spora mikroba anaerobik biasanya mempunyai ketahanan panas lebih rendah dibandingkan spora aerobik sehingga suhu dan waktu proses sterilisasi dapat lebih rendah. Selain itu pencegahan rekontaminasi mikroba anaerobik lebih mudah dan pada kondisi tersebut dapat dicegah terjadinya reaksi oksidasi yang timbul selama proses pemanasan. Bakteri yang paling tahan panas dan berbahaya bagi kesehatan manusia serta dapat ditemukan dalam bahan pangan kaleng dalam kondisi anaerobik adalah *Clostridium botulinum*. Bakteri tersebut termasuk bakteri pembentuk spora yang dapat menghasilkan racun botulinin yang mematikan (Sahubawa L, 2014).

Penyebab adanya kontaminasi bakteri *Clostridium botulinum* pada sarden kemasan kaleng disebabkan karena makanan diperoleh dari sumber yang tidak bersih, alat yang digunakan pada proses pengalengan tercemar, serta proses pengawetan yang kurang sempurna. Pada proses pengiriman produk terjadi keteledoran saat pemasokannya seperti produk kaleng dalam kondisi penyok dan juga kurangnya perhatian pihak pedagang terhadap produk yang sebaiknya sudah tidak di pasarkan tetapi masih saja dijual dalam kondisi berkarat (Supenah P, 2019).

2.4.1. *Clostridium botulinum*

Clostridium botulinum adalah basilus anaerobik gram positif yang menghasilkan spora tahan panas. Bakteri ini dapat tumbuh baik pada media biakan biasa. Pertumbuhan paling subur terjadi pada 25°C, tetapi juga tumbuh baik pada 20-35°C. Organisme ini, yang terdapat tunggal atau kadang-kadang berpasangan atau dalam rantai berukuran 0,5-0,8 x 3-8 um dengan sisi sejajar dan ujung membulat. Sporanya berbentuk bulat telur dan letaknya subterminal (dekat ujung) dan sedikit membengkak sehingga memberikan bentuk menggelembung pada sel. *Clostridium botulinum* dapat bergerak dengan *flagella penetricha* dan tidak membentuk kapsul (Irianto K, 2013).

Ada 7 tipe *Clostridium botulinum* yang dikenali karena perbedaan antigenik di antara taratoksin yang dihasilkannya. Yang menyebabkan penyakit pada manusia ialah tipe A, tipe B, tipe E dan tipe F. Tipe C dan tipe D menyebabkan penyakit pada burung dan mamalia yang bukan manusia. Tipe G belum diketahui apakah menyebabkan penyakit. Toksin-toksin tersebut “sangat khas tipe” (*type specific*) antitoksin hanya menetralkan toksinnya sendiri yang spesifik (Irianto K, 2013).



Gambar 2.3. Pewarnaan Gram Bakteri *Clostridium botulinum*

2.5. Patogenesis dan Gejala Penyakit

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Clostridium botulinum* disebut dengan botulisme, yaitu suatu gejala intoksikasi akibat mengkonsumsi makanan yang tercemar oleh toksin yang dihasilkan oleh bakteri *Clostridium botulinum*.

Penyebab paling sering adalah kontaminasi makanan dalam wadah kaleng, makanan yang disimpan dalam kondisi kedap udara atau makanan yang diasap dengan rempah-rempah dan dimakan tanpa dimasak lagi. Dalam makanan seperti ini, *Clostridium botulinum* akan tumbuh dalam suasana anaerob dan menghasilkan toksin (Radji M, 2013).

Clostridium botulinum masuk ke dalam tubuh antara lain adalah sebagai berikut : (1). Menelan makanan yang mengandung toksin *Clostridium botulinum*. Toksin botulinum dapat ditemukan dalam makanan yang belum ditangani dengan benar atau kaleng dan sering hadir dalam sayuran kaleng, daging dan produk makanan laut. Penyebab paling sering adalah makanan kaleng yang bersifat basa, dikemas kedap udara, diasap, diberi rempah-rempah yang dimakan tanpa dimasak lagi, (2). Botulisme pada bayi terjadi ketika bayi menelan *Clostridium botulinum* spora yang berkecambah dan memproduksi toksin dalam intestine, (3). *Clostridium botulinum* menginfeksi luka dan menghasilkan racun, toksin dapat dibawa ke seluruh tubuh melalui aliran darah, (4). Toksemia usus dewasa atau kolonisasi terjadi dengan cara yang sama dengan botulisme pada bayi, (5). Botulisme iatrogenik adalah kecelakaan overdosis racun yang telah disebabkan oleh inhalasi disengaja oleh pekerja laboratorium (Sarahfyana, 2013).

Gejala dimulai 18-24 jam sesudah ingesti makanan toksik, yaitu gangguan visual (inkoordinasi otot mata, penglihatan ganda), ketidakmampuan menelan dan kesulitan berbicara. Tanda-tanda paralisis bulbar bersifat progresif dan kematian terjadi akibat paralisis pernafasan atau henti jantung. Gejala gastrointestinal biasanya tidak menonjol. Tidak ada demam. Pasien tetap sadar penuh hingga sesaat sebelum kematian. Pasien yang sembuh tidak membentuk antitoksin di dalam darah (Brooks G, 2017).

2.6. Pengobatan

Penderita botulisme harus segera dibawa ke rumah sakit. Pengobatannya segera dilakukan meskipun belum diperoleh hasil pemeriksaan laboratorium untuk

memperkuat diagnosis. Untuk mengeluarkan toksin yang tidak diserap dilakukan perangsangan muntah, pengosongan lambung melalui *lavase* lambung dan pemberian obat pencahar untuk mempercepat pengeluaran isi usus. Pemberian antitoksin tidak dapat menghentikan kerusakan tetapi dapat memperlambat atau menghentikan kerusakan fisik dan mental yang lebih lanjut sehingga tubuh dapat mengadakan perbaikan selama beberapa bulan. Antitoksin diberikan sesegera mungkin setelah diagnosis ditegakkan. Pemberian ini pada umumnya efektif bila dilakukan dalam waktu 72 jam setelah terjadinya gejala. Antitoksin tidak dianjurkan untuk diberikan pada bayi karena efektivitasnya pada infant botulisme masih belum terbukti (Sarahfyana, 2013).

2.7. Epidemiologi, Pencegahan dan Pengendalian Penyakit

Karena spora *Clostridium botulinum* tersebar luas di tanah, spora tersebut sering mengontaminasi sayuran, buah-buahan dan materi lain. Jika makanan yang dikalengkan atau diawetkan, makanan tersebut harus dipanaskan dengan cukup untuk memastikan destruksi spora atau harus dididihkan selama 20 menit sebelum dikonsumsi. Pengaturan ketat pengalengan komersial sebagian besar telah mengatasi bahaya dari wabah yang meluas, tetapi makanan yang disiapkan secara komersial telah menyebabkan kematian. Makanan toksik mungkin rusak dan tengik dan kaleng dapat membengkak atau penampilannya mungkin tidak berbahaya (Brooks G, 2017).

Toksin yang masuk ke dalam tubuh manusia, baik melalui saluran pencernaan, udara maupun penyerapan melalui mata atau luka di kulit bisa menyebabkan penyakit yang serius. Karena itu, makanan yang mungkin sudah tercemar sebaiknya segera dibuang. Hindari kontak kulit dengan penderita dan selalu mencuci tangan segera setelah mengolah makanan (Sarahfyana, 2013).

Cara pengawasan kualitas yang ketat oleh industri pengolahan makanan telah banyak mengurangi terjadinya penyakit ini karena makanan yang diperdagangkan. Makanan yang mengandung toksin tidak selalu kelihatan atau

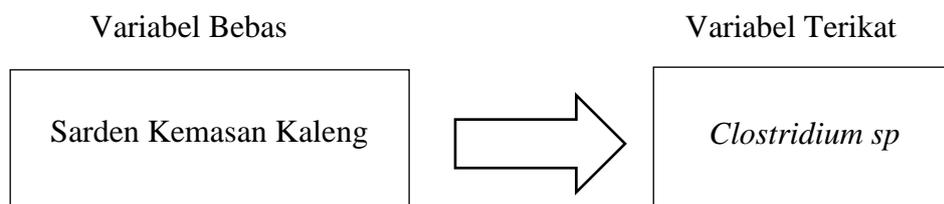
menimbulkan bau yang berbeda dari yang tidak tercemar. Pencegahan yang terbaik ialah dengan memasak cukup lama semua makanan yang diawetkan sebelum dihidangkan (Irianto K, 2013).

2.8. Kultur Bakteri Anaerob Dengan *Candle Jar*

Bakteri anaerob yang terdapat di dalam makanan, termasuk kebanyakan *Clostridium*, tidak bersifat anaerobik obligat sehingga persiapan medium untuk menumbuhkannya maupun cara inkubasinya tidak terlalu sulit. Inkubasi dapat dilakukan pada atmosfer normal dengan mencegah sebanyak mungkin kontak antara oksigen dengan sel bakteri (Irianto K, 2013).

Candle jar merupakan suatu instrumen yang digunakan untuk kultur bakteri anaerob. Prinsip kerjanya yaitu proses pembakaran, lilin yang diletakkan dalam jar akan mati bila suasana di dalam jar sudah terbebas dari oksigen. Proses pembakaran akan menghabiskan kadar oksigen menghasilkan karbon dioksida. Pada reaksinya digunakan *methylene blue* sebagai indikator yang akan berwarna putih jika keadaan telah benar-benar bersih dari oksigen (Rodgers A, 2020).

2.9. Kerangka Konsep



2.10. Defenisi Operasional

1. Sarden kemasan kaleng adalah sampel yang akan digunakan dan akan di analisa dalam penelitian ini.

2. *Clostridium sp* adalah bakteri yang diperiksa dari sampel sarden kemasan kaleng berbagai merk yang diperdagangkan.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *deskriptif univariat*, yaitu untuk mengidentifikasi *Clostridium sp* pada sarden kemasan kaleng berbagai merk yang diperdagangkan.

3.2. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Maret – Mei 2020 dengan menggunakan studi literatur, kepustakaan, jurnal, *proseding* dan *google scholar*.

3.3. Sampel Penelitian

Referensi Pertama : 6 Merk Sarden Kemasan Kaleng

Referensi Kedua : 2 Merk Sarden Kemasan Kaleng

3.4. Jenis dan Cara pengumpulan Data

Jenis data yang digunakan adalah data sekunder dengan melakukan studi data yang sudah tercatat dalam buku ataupun suatu laporan, hasil laboratorium dan hasil penelitian baik yang dipublikasi maupun yang belum dipublikasi.

3.5. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode kualitatif dengan penanaman bahan pada media Agar Darah.

3.6. Prinsip Kerja

Konsep pertumbuhan bakteri anaerob berorientasi pada toksisitas oksigen, adanya oksigen dalam udara atau perbenihan dapat menghambat pertumbuhan bakteri anaerob. *Candle jar* adalah sebuah stoples kaca untuk menampung cawan

petri dan lilin. Setelah menempatkan cawan petri, lilin dengan api menyala dan *methylene blue* sebagai indikator di dalamnya maka stoples ditutup kuat.

Proses pembakaran akan menghabiskan kadar oksigen menghasilkan karbon dioksida. Pada reaksinya digunakan *methylene blue* sebagai indikator yang akan berwarna putih jika keadaan telah benar-benar bersih dari oksigen. Lalu stoples diletakkan di dalam inkubator 30°C selama 2 – 3 hari.

Pewarnaan gram adalah suatu metode pemeriksaan mikroskopik yang bertujuan untuk membedakan mikroorganisme berdasarkan struktural dinding selnya.

3.7. Alat, Bahan dan Media

3.7.1. Alat

Cawan Petri, Plastik Klip, Inkubator, Neraca Analitik, Candle Jar, Objek Glass, Ose Cincin, Jembatan Pewarnaan, Lampu Bunsen, Korek Api, Lilin, Sendok Steril, Alu Mortar.

3.7.2. Bahan

Imersi Oil, Kertas Saring, Alkohol 70%.

3.7.3. Reagensia

Gentian Violet 0,5%, Lugol 0,5%, Alkohol 96%, Fuchsin, Methylen Blue.

3.7.4. Media

Media Nutrient Broth, Media Agar Darah.

3.8. Prosedur Kerja

3.8.1. Pemeriksaan Luar Kaleng

1. Amati label
2. Lepas label
3. Beri tanda dengan spidol pada bagian kaleng yang rusak
4. Cuci dengan sabun dan dibilas
5. Buka kaleng, tutup dengan cawan petri
6. Kaleng rusak bersihkan dengan tisu dan basahi dengan alkohol 70%
7. Makanan cair langsung bisa di analisis

3.8.2. Penghalusan Sampel

1. Tangan dan meja tempat praktikum disterilkan dengan menggunakan alkohol
2. Sendok yang akan digunakan untuk mengambil sampel harus disterilkan menggunakan alkohol
3. Plastik klip ditimbang pada neraca analitik sampai menunjukkan angka nol
4. Sampel dimasukkan ke dalam plastik klip yang berada dalam neraca analitik, timbang sebanyak 5 gram
5. Haluskan dengan alu mortar

3.8.3. Inokulasi Sampel pada Media Nutrient Broth

1. Pipet sampel yang telah dihaluskan secara aseptis
2. Masukkan sampel sebanyak 1 ml pada tabung yang telah berisi media nutrient broth
3. Beri label
4. Masukkan tabung ke dalam *candle jar*
5. Pada bagian tengah *candle jar* letakkan cawan petri dan taruh lilin di atasnya
6. Kertas saring yang sudah dicelupi *methylene blue*, letakkan di atas cawan petri
7. Nyalakan lilin lalu tutup *candle jar* segera
8. Tunggu sampai api tersebut mati
9. Perhatikan perubahan warna pada kertas saring, warna kertas akan berubah dari warna biru menjadi putih bila kondisi di dalam *candle jar* sudah benar-benar bersih dari oksigen
10. Inkubasi pada inkubator 30°C selama 2-3 hari

3.8.4. Penanaman pada Media Agar Darah

1. Bakar ose cincin sampai merah membara
2. Dari media nutrient broth, ambil suspensi secara aseptis
3. Buat goresan zig-zag pada permukaan media agar darah

4. Beri label
5. Masukkan cawan petri ke dalam *candle jar*
6. Pada bagian atas cawan petri letakkan objek glass dan taruh lilin di atasnya
7. Kertas saring yang sudah dicelupi *methylene blue*, letakkan di atas objek glass
8. Nyalakan lilin lalu tutup *candle jar* segera
9. Tunggu sampai api tersebut mati
10. Perhatikan perubahan warna pada kertas saring, warna kertas akan berubah dari warna biru menjadi putih bila kondisi di dalam *candle jar* sudah benar-benar bersih dari oksigen
11. Inkubasi pada inkubator 30°C selama 2-3 hari

3.8.5. Pewarnaan Gram

1. Fiksasi objek glass sebanyak 3 kali lalu bakar ose hingga merah membara
2. Ambil biakan bakteri lalu goreskan hingga kering
3. Bakar ose kembali lalu taruh objek glass pada jembatan pewarnaan
4. Tetesi dengan gentian violet 0,5% dan biarkan 1 menit lalu bilas
5. Tetesi lagi dengan lugol 0,5% dan biarkan 1 menit lalu bilas
6. Lunturkan dengan alkohol 96%
7. Tetesi dengan fuchsin dan biarkan 30 detik lalu bilas
8. Keringkan objek glass dengan tissue
9. Baca di mikroskop perbesaran 100 X dengan imersi oil
10. Perhatikan morfologi bakteri yang nampak lalu identifikasi

3.9. Analisa Data

Data yang diperoleh akan dianalisa secara *deskriptif univariat*, dimana hasil penelitian akan disajikan berupa tabel dan dinarasikan yang kemudian dilakukan pembahasan serta akan diambil kesimpulan.

BAB 4
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan terhadap 8 merk atau 40 spesimen sarden kemasan kaleng, maka diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 4.1. Distribusi Subyek Berdasarkan Tipe Kerusakan Kaleng

Tipe Kerusakan Kaleng	Jumlah	Persentase (%)
Kaleng Berkarat	6	15.00%
Kaleng Penyok	8	20.00%
Kaleng Penyok & Berkarat	4	10.00%
Kaleng Dalam Kondisi Normal	22	55.00%

Berdasarkan tabel distribusi subyek berdasarkan tipe kerusakan kaleng, dari 40 spesimen sarden kemasan kaleng dijumpai sebanyak 6 spesimen atau 15.00% dengan kondisi kaleng berkarat, 8 spesimen atau 20.00% dengan kondisi kaleng penyok, 4 spesimen atau 10.00% dengan kondisi kaleng penyok dan berkarat dan 22 spesimen atau 55.00% dengan kondisi kaleng normal.

Tabel 4.2. Distribusi Kaleng Berkarat Berdasarkan Merk

Merk	Jumlah	Persentase (%)
A	3	50.00%
B	-	-
C	-	-
D	-	-
E	2	33.33%
F	1	16.67%
G	-	-
H	-	-

Berdasarkan tabel distribusi kaleng berkarat berdasarkan merk, spesimen dengan kondisi kaleng berkarat pada merk A sebanyak 3 spesimen atau 50.00%,

merk E sebanyak 2 spesimen atau 33.33% dan merk F sebanyak 1 spesimen atau 16.67%.

Tabel 4.3. Distribusi Kaleng Penyok Berdasarkan Merk

Merk	Jumlah	Persentase (%)
A	3	37.50%
B	-	-
C	-	-
D	5	62.50%
E	-	-
F	-	-
G	-	-
H	-	-

Berdasarkan tabel distribusi kaleng penyok berdasarkan merk, spesimen dengan kondisi kaleng penyok pada merk A sebanyak 3 spesimen atau 37.50%, dan merk D sebanyak 5 spesimen atau 62.50%.

Tabel 4.4. Distribusi Kaleng Penyok dan Berkarat Berdasarkan Merk

Merk	Jumlah	Persentase (%)
A	-	-
B	4	100%
C	-	-
D	-	-
E	-	-
F	-	-
G	-	-
H	-	-

Berdasarkan tabel distribusi kaleng penyok dan berkarat berdasarkan merk, spesimen pada merk B sebanyak 4 atau 100%.

Tabel 4.5. Distribusi Kaleng Dalam Kondisi Normal Berdasarkan Merk

Merk	Jumlah	Persentase (%)
A	2	9.09%
B	1	4.54%

C	2	9.09%
D	-	-
E	3	13.64%
F	4	18.18%
G	5	22.73%
H	5	22.73%

Berdasarkan tabel distribusi kaleng dalam kondisi normal berdasarkan merk, spesimen dengan kondisi kaleng normal pada merk A sebanyak 2 spesimen atau 9.09%, merk B sebanyak 1 spesimen atau 4.54%, merk C sebanyak 2 spesimen atau 9.09%, merk E sebanyak 3 spesimen atau 13.64%, merk F sebanyak 4 spesimen atau 18.18%, merk G sebanyak 5 spesimen atau 22.73% dan merk H sebanyak 5 spesimen atau 22.73%.

Tabel 4.6. Distribusi Hasil Pewarnaan Gram

Spesies Bakteri	Jumlah	Persentase (%)
<i>Clostridium botulinum</i>	22	55.00%
Negatif	18	45.00%

Berdasarkan tabel distribusi hasil pewarnaan gram, didapatkan 22 spesimen atau 55.00% positif mengandung bakteri *Clostridium botulinum* dan 18 spesimen atau 45.00% negatif tidak mengandung bakteri *Clostridium sp.*

Tabel 4.7. Distribusi Bakteri *Clostridium botulinum* Berdasarkan Merk

Merk	Jumlah	Persentase (%)
A	3	13.64%
B	4	18.18%
C	3	13.64%
D	5	22.73%
E	2	9.09%
F	1	4.54%
G	-	-
H	4	18.18%

Berdasarkan tabel distribusi bakteri *Clostridium botulinum* berdasarkan merk, dari 22 spesimen didapatkan sebanyak 3 spesimen atau 13.64% mengandung bakteri *Clostridium botulinum*, pada merk B sebanyak 4 spesimen atau 18.18%, merk C sebanyak 3 spesimen atau 13.64%, pada merk D sebanyak 5 spesimen atau 22.73%, merk E sebanyak 2 spesimen atau 9.09%, merk F sebanyak 1 spesimen atau 4.54% dan merk H sebanyak 4 spesimen atau 18.18%.

4.2. Pembahasan

Setelah dilakukan analisa data diperoleh 22 spesimen atau 55.00% positif mengandung bakteri *Clostridium botulinum* dan 18 spesimen atau 45.00% negatif tidak mengandung bakteri *Clostridium sp.* Bakteri *Clostridium botulinum* banyak ditemukan pada kemasan sarden yang penyok seperti spesimen dengan nomor sampel C2, C3, C5, D1, D2, D3, D4, D5. Selain itu sarden kemasan kaleng yang berkarat juga terdapat bakteri *Clostridium botulinum* seperti spesimen dengan nomor sampel A2, A4, A5, E2, E3, F3 sedangkan sarden kemasan kaleng penyok dan berkarat juga positif terdapat bakteri *Clostridium botulinum* seperti spesimen dengan nomor sampel B1, B2, B4, B5.

Sarden kemasan kaleng dengan kondisi kaleng yang normal belum tentu menjamin tidak adanya pertumbuhan mikroba, hal ini dibuktikan dengan ditemukannya bakteri *Clostridium botulinum* pada spesimen dengan nomor sampel H1, H2, H3, H5.

Penyebab adanya kontaminasi bakteri *Clostridium botulinum* disebabkan karena makanan diperoleh dari sumber yang tidak bersih, alat yang digunakan pada proses pengalengan tercemar dan proses pengalengan yang kurang sempurna. Pada proses pengiriman terjadi keteledoran dalam pemasokan seperti kaleng dalam kondisi penyok dan kurangnya perhatian pihak penjual yang seharusnya tidak memasarkan produk dengan kondisi cacat namun masih dijual dalam kondisi penyok dan berkarat.

Bakteri *Clostridium botulinum* banyak ditemukan pada sarden dengan kondisi kaleng yang penyok, kaleng penyok akan mengakibatkan lubang-lubang

kecil sumber masuknya mikroba pembusuk. Pada sarden dengan kondisi kaleng berkarat juga terdapat bakteri *Clostridium botulinum*, sambungan kaleng yang semakin lama semakin berkarat akan mengikis bagian kaleng dan bakteri akan mudah masuk dan mencemari sarden kemasan kaleng (Supenah P, 2019).

Bakteri *Clostridium botulinum* yang terdapat pada kaleng dengan kondisi normal bisa dipengaruhi karena tempat penyimpanan makanan kaleng. Suhu penyimpanan yang kurang tepat akan menjadi faktor penyebab bakteri yang luka (*injury*) untuk sembuh dan bertumbuh. Penyimpanan produk kaleng yang terpapar sinar matahari secara langsung dan terus menerus akan menjadi lingkungan tumbuh yang baik untuk bakteri dan nutrisi pada produk tersebut akan menjadi nutrisi bagi pertumbuhan bakteri.

Toksin *Clostridium botulinum* merupakan substansi paling toksik. Beberapa strain *Clostridium botulinum* pembentuk toksin menghasilkan bakteriofage yang dapat menginfeksi strain nontoksigenik dan mengubahnya menjadi toksigenik. Racun botulinum sangat mirip dalam struktur dan fungsi terhadap toksin tetanus tetapi berbeda secara efek klinis karena mereka menargetkan sel-sel yang berbeda dalam sistem syaraf. Botulinum neurotoksin dominan mempengaruhi sistem syaraf perifer mencerminkan preferensi toksin untuk stimulasi motor neuron pada sambungan neuromuskuler. Gejala dimulai 18 – 24 jam setelah makan makanan yang beracun dengan gangguan penglihatan (inkoordinasi otot-otot mata dan penglihatan ganda), ketidakmampuan menelan, kesulitan bicara, tanda-tanda paralisis bulbar berjalan progresif dan kematian terjadi karena paralisis pernafasan atau henti jantung. Gejala gastrointestinal biasanya tidak menonjol, tidak ada demam dan penderita yang sembuh tidak membentuk antitoksin dalam darah (Zulfyana A, 2017).

Spora sangat tahan terhadap pemanasan dan dapat tetap hidup selama beberapa jam pada proses perebusan, tetapi toksinnya dapat hancur dengan pemanasan. Karena itu memasak makanan pada suhu 80°C selama 30 menit bisa mencegah *foodborne* botulism. Tetapi makanan yang tidak dimasak dengan sempurna bisa menyebabkan botulisme jika disimpan setelah dimasak karena bakteri dapat menghasilkan toksin pada suhu di bawah 3°C. Penting untuk

memanaskan makanan kaleng sebelum disajikan. Makanan kaleng yang sudah rusak bisa mematikan dan harus dibuang. Bila kalengnya penyok atau bocor harus segera dibuang, hindari kontak kulit dengan penderita dan selalu mencuci tangan segera setelah mengolah makanan (Sarahfyana, 2013).

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan terhadap 8 merk atau 40 spesimen sarden kemasan kaleng yang diperdagangkan menunjukkan sebanyak 22 spesimen atau 55.00% positif mengandung bakteri *Clostridium botulinum* dan 18 spesimen atau 45.00% negatif tidak mengandung bakteri *Clostridium sp.*

5.2. Saran

1. Produsen atau pedagang diharapkan untuk menjaga kebersihan produk makanan kaleng, menyimpan produk pada suhu yang sesuai dan memeriksa kondisi produk berupa ada tidaknya kecacatan.
2. Konsumen diharapkan tidak membeli makanan kaleng yang dicurigai sudah menunjukkan tanda-tanda kerusakan seperti kaleng kembung, berkarat, penyok dan bocor.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar M. 2017. Pemeriksaan ALT (Angka Lempeng Total) Pada Makanan Di Warung Acil Kota Baru, Kelurahan Dadi Mulya, Samarinda Tahun 2017. *Publication Manuscript*, 1-11.
- Arini L. 2017. Faktor-Faktor Penyebab dan Karakteristik Makanan Kadaluaarsa Yang Berdampak Buruk Pada Keehatan Masyarakat. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan 2(1)*, 15-24.
- Brooks G. 2017. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Burhanuddin A. 2018. *Pengantar Ilmu Kelautan dan Perikanan*. Yogyakarta: Deepublish Publisher.
- Cakrawati D. 2012. *Bahan Pangan, Gizi, dan Kesehatan*. Bandung: Alfabeta.
- Harliani M. 2015. *Uji Mikrobiologis Ikan Sarden*. Malang: Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.
- Irianto K. 2013. *Mikrobiologi Medis*. Bandung: Alfabeta.
- Kristi D. 2017. Deteksi Bakteri Enteropatogenik Pada Produk Kemasan kaleng Yang Diperoleh Dari warung Tradisional dan Pasar Swalayan. *Prosiding Seminar Nasional dan Call For Papers*, 603-614.
- Muliawan S . 2009. *Bakteri Anaerob Yang Erat Kaitannya Dengan Problem di Klinik*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Radji M. 2013. *Buku Ajar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Rodgers A. 2020. Anaerobic Bacteria. *General Microbiology Laboratory*.
- Sahubawa L. 2014. *Teknologi Pengawetan dan Pengolahan Hasil Perikanan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sarahfyana. 2013. Clostridium botulinum. 1-6.
- Sari N. 2018. *Bakteri Clostridium sp (Morfologi dan Patogenitas Bakteri Anerob Penyebab Infeksi Pada Manusia)*. Banjarbaru: Akademi Analis Kesehatan Borneo Lestari.
- Sera A. 2018. *Kerusakan Mikrobiologis Pada Makanan*. Palangkaraya: Poltekkes Kemenkes Palangkaraya.
- Supenah P. 2019. Identifikasi Bakteri Clostridium botulinum Pada Sarden Kemasan Kaleng Berbagai Merk Yang Dijual Di Swalayan X. *Syntax Literate 4 (4)*, 146-150.

Yovita G. 2017. *Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) Plan Pada Proses Produksi Ikan Sarden Dalam Kaleng di CV. Pasific Harvest* . Semarang: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Soegijapranata.

Zulfyana A. 2017. Clostridium botulinum. *Academia*.

LAMPIRAN 1

LEMBAR HASIL PENELITIAN

Hasil Pemeriksaan Bagian Luar Kaleng

No	Merk	Hasil Pemeriksaan Bagian Luar Kaleng
1	A1	Kaleng Normal
2	A2	Kaleng Berkarat
3	A3	Kaleng Normal
4	A4	Kaleng Berkarat
5	A5	Kaleng Berkarat
6	B1	Kaleng Penyok dan Berkarat
7	B2	Kaleng Penyok dan Berkarat
8	B3	Kaleng Normal
9	B4	Kaleng Penyok dan Berkarat
10	B5	Kaleng Penyok dan Berkarat
11	C1	Kaleng Normal
12	C2	Kaleng Penyok
13	C3	Kaleng Penyok
14	C4	Kaleng Normal
15	C5	Kaleng Penyok
16	D1	Kaleng Penyok
17	D2	Kaleng Penyok
18	D3	Kaleng Penyok
19	D4	Kaleng Penyok
20	D5	Kaleng Penyok
21	E1	Kaleng Normal
22	E2	Kaleng Berkarat
23	E3	Kaleng Berkarat
24	E4	Kaleng Normal

No	Merk	Hasil Pemeriksaan Bagian Luar Kaleng
25	E5	Kaleng Normal
26	F1	Kaleng Normal
27	F2	Kaleng Normal
28	F3	Kaleng Berkarat
29	F4	Kaleng Normal
30	F5	Kaleng Normal
31	G1	Kaleng Normal
32	G2	Kaleng Normal
33	G3	Kaleng Normal
34	G4	Kaleng Normal
35	G5	Kaleng Normal
36	H1	Kaleng Normal
37	H2	Kaleng Normal
38	H3	Kaleng Normal
39	H4	Kaleng Normal
40	H5	Kaleng Normal

Hasil Identifikasi Bakteri *Clostridium botulinum* pada Sarden Kemasan Kaleng Berbagai Merk

No	Merk	Hasil Pewarnaan Gram
1	A1	Negatif
2	A2	<i>Clostridium botulinum</i>
3	A3	Negatif
4	A4	<i>Clostridium botulinum</i>
5	A5	<i>Clostridium botulinum</i>
6	B1	<i>Clostridium botulinum</i>
7	B2	<i>Clostridium botulinum</i>

No	Merk	Hasil Pewarnaan Gram
8	B3	Negatif
9	B4	<i>Clostridium botulinum</i>
10	B5	<i>Clostridium botulinum</i>
11	C1	Negatif
12	C2	<i>Clostridium botulinum</i>
13	C3	<i>Clostridium botulinum</i>
14	C4	Negatif
15	C5	<i>Clostridium botulinum</i>
16	D1	<i>Clostridium botulinum</i>
17	D2	<i>Clostridium botulinum</i>
18	D3	<i>Clostridium botulinum</i>
19	D4	<i>Clostridium botulinum</i>
20	D5	<i>Clostridium botulinum</i>
21	E1	Negatif
22	E2	<i>Clostridium botulinum</i>
23	E3	<i>Clostridium botulinum</i>
24	E4	Negatif
25	E5	Negatif
26	F1	Negatif
27	F2	Negatif
28	F3	<i>Clostridium botulinum</i>
29	F4	Negatif
30	F5	Negatif
31	G1	Negatif
32	G2	Negatif
33	G3	Negatif
34	G4	Negatif
35	G5	Negatif
36	H1	<i>Clostridium botulinum</i>

No	Merk	Hasil Pewarnaan Gram
37	H2	<i>Clostridium botulinum</i>
38	H3	<i>Clostridium botulinum</i>
39	H4	Negatif
40	H5	<i>Clostridium botulinum</i>

LAMPIRAN 2

PEMBUATAN MEDIA

NUTRIENT BROTH		
Komposisi	PH	Prosedur Pembuatan
-Lab Lemco Powder - Yeast Extract - Peptone - Sodium Chloride	6.5	1. Larutkan 6.5 gr Nutrient Broth dalam 500 ml aquadest 2. Didihkan menggunakan hot plate 3. Homogenkan menggunakan magnetic stirrer 4. Sterilisasi dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit
AGAR DARAH		
Komposisi	PH	Prosedur Pembuatan
- Beef Extract - Tryptose - Sodium Chloride - Agar	6.8	1. Timbang 20 gram media dan masukkan ke dalam labu erlenmeyer dan dimasukkan aquadest 500 ml yang murni perlahan-lahan, aduk dengan baik sampai homogen. Panaskan sampai mendidih. 2. Kemudian sterilkan ke dalam autoclave selama 15 menit pada temperatur 121°C pada tekanan 0,5 atm. Tunggu dingin sehingga temperatur 45-50°C. 3. Kemudian tambahkan 5% darah defibrinasi sebanyak 25 ml secara aseptis sambil mengaduk dan mencegah terjadinya gelembung-gelembung udara, lalu dibagi-bagikan ke dalam petridish ± 15-20 ml. 4. Biarkan di meja datar, setelah dingin media dibalikkan.

CARA MEMBUAT DARAH DEFIBRINASI STERIL

Alat	Prosedur Kerja
<ul style="list-style-type: none">- Gunting- Spuit 10 CC- Erlenmeyer 250 CC<li style="padding-left: 20px;">Tambah Glass Mutiara Steril- Kapas Alkohol- Corong Gelas Steril- Kain Halus Steril.	<ol style="list-style-type: none">1. Kambing yang diambil darahnya harus diikat dahulu semua kakinya supaya waktu pengambilan darah gerakannya dapat dibatasi.2. Kemudian bulu disekitar vena jugularis dicukur atau digunduli dengan gunting.3. Lalu desinfeksi dengan kapas alkohol pada sekitar lokasi pengambilan darah.4. Supaya vena menonjol, dengan ibu jari tangan kiri ditekan di bagian ujung leher kambing.5. Ambil darahnya dengan spuit sebanyak yang diperlukan.6. Setelah darah diambil, jarum spuit dibuka dan dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer steril yang telah berisi glass nutiara.7. Goyangkan sampai fibrin dari darah mengikat glass mutiara yang ada di dalam labu erlenmeyer.8. Darah disaring dengan corong gelas memakai kain halus steril atau kapas steril.9. Hasil saringan inilah yang disebut dengan darah bebas fibrin (darah defibrinisasi).

LAMPIRAN 3**JADWAL PENELITIAN**

NO	JADWAL	BULAN					
		M A R E T	A P R I L	M E I	J U N I	J U L I	
1	Penelusuran Pustaka						
2	Pengajuan Judul KTI						
3	Konsultasi Judul						
4	Konsultasi dengan Pembimbing						
5	Penulisan Proposal						
6	Ujian Proposal						
7	Pelaksanaan Penelitian						
8	Penulisan Laporan KTI						
9	Ujian KTI						
10	Perbaikan KTI						
11	Yudisium						
12	Wisuda						

BUKTI PERBAIKAN
KARYA TULIS ILMIAH (KTI)

Nama : Agnevolasia Gisabelita Siahaan
NIM : P07534017062
Dosen Pembimbing : Terang Uli Jendalim Sembiring S.Si, M.Si
Judul KTI : Identifikasi Bakteri *Clostridium sp* pada Sarden Kemasan Kaleng Berbagai Merk yang Diperdagangkan

No	Penguji	Perihal	Tanda Tangan
1.	PENGUJI I Mardan Ginting S.Si, M.Kes	1. Menambahkan persentase hasil pada bab 4 2. Memperbaiki format tabel	
2.	PENGUJI II Suparni S.Si, M.Kes	1. Penulisan	
3.	KETUA PENGUJI Terang Uli Jendalim Sembiring S.Si, M.Si	1. Penulisan 2. Perbaikan dari Penguji 1 dan Penguji 2	

Medan, Juni 2020

Dosen Pembimbing

Terang Uli J Sembiring S.Si, M.Si
NIP. 195508221980031003

**LEMBAR KONSUL KARYA TULIS ILMIAH (KTI)
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN**

Nama : Agnevolasia Gisabelita Siahaan

NIM : P07534017062

Dosen Pembimbing : Terang Uli Jendalim Sembiring S.Si, M.Si

Judul KTI : Identifikasi Bakteri *Clostridium sp* pada Sarden Kemasan Kaleng Berbagai Merk yang Diperdagangkan

No	Hari/Tanggal	Masalah	Masukan	TTD Dosen Pembimbing
1.	Jumat 24/04/2020	BAB 4 Penulisan hasil dan pembahasan	Dibuat dalam bentuk tabel	
2.	Selasa 05/05/2020	Revisi BAB 4	Tabel dibuat per poin dan pembahasan	
3.	Kamis 14/05/2020	BAB 5 Penulisan Kesimpulan dan Saran	Dalam bentuk poin dan persentase	
4.	Jumat 22/05/2020	Revisi BAB 5	Penulisan kesimpulan yang lebih singkat	
5.	Selasa 26/05/20220	Penulisan Abstrak	Abstrak maksimal 200 kata	
6.	Jumat 29/05/2020	Pembuatan Lampiran	Melampirkan lembar hasil penelitian	

Medan, Juni 2020

Dosen Pembimbing

Terang Uli J Sembiring S.Si, M.Si

NIP. 195508221980031003

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama : Agnevolasia Gisabelita Siahaan
Tempat/Tanggal Lahir : Bogor, 21 Agustus 1999
Agama : Kristen Protestan
Alamat : Jermal VII Ujung Kelurahan Denai, Kecamatan
Medan Denai, Sumatera Utara
Email : agnesgisabelita@gmail.com

Riwayat Pendidikan

1. SD Mardi Yuana 3 Kota Bogor (2005 – 2011)
2. SMPN 2 Sukaraja Kabupaten Bogor (2011 – 2014)
3. SMK Teknomedika Plus (2014 – 2017)
4. Sejak tahun 2017 melanjutkan pendidikan di Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan jurusan Teknologi Laboratorium Medis