

ISOLASI BAKTERI COCCUS GRAM POSITIF DI DALAM SUSU ULTRA HIGH TEMPERATURE (UHT) 6 DAN 3 BULAN MENJELANG KEDALUWARSA

Isolation of Gram-Positive Cocci Bacteria in Ultra High Temperature (UHT) Processed Milk at 6 and 3 Months Prior to Expiration

Dedy Sahputra^{1*}, T. Reza Ferasyi², Ismail², Razali², Sulasmi², dan Darmawi³

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

*Corresponding author: dedysahputra2010@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengisolasi bakteri Gram positif yang mencemari susu *ultra high temperature* (UHT) pada 6 dan 3 bulan menjelang kedaluwarsa. Sebanyak tiga produk susu digunakan sebagai sampel dalam penelitian. Sampel produk susu diambil dari supermarket yang ada di Kota Banda Aceh. Pemeriksaan bakteri dalam penelitian ini menggunakan metode pewarnaan Gram. Pemeriksaan dilakukan dengan memindahkan 1 ml sampel susu UHT ke dalam 18 tabung reaksi yang berisi media *nutrient broth* (NB), dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Selanjutnya, dilakukan penanaman dengan metode gores pada 18 cawan petri yang berisi media *manitol salt agar* (MSA) dan 18 cawan petri yang berisi media *trypticase soy sucrose bacitracin* (TYS20B). Setelah dua hari ditanam pada media selektif (MSA dan TYS20B) koloni bakteri yang tumbuh selanjutnya diamati morfologinya dan dilakukan pewarnaan Gram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat bakteri *coccus* Gram positif dalam produk susu UHT 6 dan 3 bulan menjelang kedaluwarsa, yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus mutan*. Dapat disimpulkan bahwa di dalam susu UHT, 6 dan 3 bulan menjelang kedaluwarsa terkontaminasi oleh bakteri *coccus* Gram positif.

Kata kunci: isolasi, *coccus*, Gram positif, susu, UHT

ABSTRACT

This research was aimed to isolate the Gram-positive bacteria that contaminated milk processed with ultra high temperature (UHT) at 6 and 3 months before the date expires. A number of 3 different UHT milk products at 6 and 3 months before expire date were used as sample. Milk samples were taken from several supermarket in Banda Aceh. The identification was conducted using Gram staining method. One ml milk sample was transferred into 18 tubes containing nutrient broth (NB) media and incubated at 37° C for 24 hrs. The sample was then culture on 18 petri discs containing manitol salt agar (MSA) and 18 petri discs containing trypticase soy sucrose bacitracin (TYS20B) using streak plate method. After 2 days, bacterial colonies that grow were identified by Gram staining. The results showed that in UHT processed milk at 6 and 3 prior to expiration contaminated with Gram positive cocci bacteria, which comprised of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutant*. As conclusion, UHT processed milk at 6 and 3 prior to expiration is contaminated by Gram positive cocci bacteria.

Key words: isolation, *coccus*, Gram-positive, milk, UHT

PENDAHULUAN

Susu merupakan salah satu bahan pangan asal hewan yang kaya zat gizi (Jay, 1996). Bahan pangan ini mengandung unsur-unsur kimia yang dibutuhkan oleh tubuh seperti kalsium, fosfor, vitamin A, vitamin B, dan riboflavin yang tinggi. Kandungan protein, glukosa, lipida, garam mineral, dan vitamin dalam susu dengan pH sekitar 6,80 menyebabkan mikroorganisme mudah tumbuh. Konsumen menyukai susu karena merupakan bahan pangan asal hewan yang mudah diolah dan mudah dicerna (Hadiwiyoto, 1982). Namun demikian, keamanan susu juga perlu dijaga dari kemungkinan cemaran oleh kuman-kuman berbahaya.

Terdapat berbagai cara untuk menghindari kontaminasi bakteri dalam susu. Salah satunya adalah dengan metode pengolahan menggunakan teknik *ultra high temperature* (UHT) (Saleh, 2004). Susu UHT adalah *long life product* yang dapat bertahan dalam jangka waktu panjang sekitar 6-10 bulan tanpa bahan pengawet (Astawan, 2002). Pengolahan susu UHT menggunakan pemanasan dengan suhu tinggi (>135-150° C) dan waktu yang pendek (2-5 detik). Proses

pemanasan tersebut diharapkan dapat menginaktivasi bakteri (Purwiyatno, 2011).

Menurut Eirry (2005), susu UHT dikemas secara higienis dengan menggunakan kemasan aseptik multilapis berteknologi canggih. Kemasan multilapis tersebut kedap udara sehingga diduga bakteri tak akan dapat masuk ke dalamnya. Selain itu, kemasan multilapis susu UHT juga kedap cahaya sehingga sinar ultraviolet tidak akan mampu menembusnya. Dengan terlindungnya dari sinar ultraviolet maka kesegaran susu UHT akan tetap terjaga. Namun demikian, Sofiany (2004) menyatakan bahwa bakteri masih bisa berkembang pada susu UHT, yakni pada saat pengisian susu tersebut ke dalam wadah.

Secara khusus, Izzati (2008) melaporkan bahwa dalam susu UHT yang mendekati masa kedaluwarsa (6 dan 3 bulan) akan terkontaminasi bakteri pada tingkat yang melebihi standar. Namun demikian, hingga saat ini belum ada penelitian tentang jenis bakteri yang mengontaminasi susu UHT menjelang kedaluwarsa, terutama terkait ancaman kontaminasi dari bakteri *coccus* Gram positif. Menurut Rowan *et al.* (2001), bakteri Gram positif pada susu dapat menyebabkan

ancaman gangguan kesehatan berupa keracunan atau diare pada konsumen. Berdasarkan hal tersebut maka dalam penelitian ini akan dilakukan isolasi bakteri Gram positif di dalam susu UHT 6 dan 3 bulan menjelang kedaluwarsa.

MATERI DAN METODE

Sampel yang akan digunakan pada penelitian ini adalah susu UHT dari tiga merek dagang yang ada di pasar dengan kondisi 3 dan 6 bulan menjelang kedaluwarsa. Susu diambil dari supermarket yang berada di kawasan Darussalam. Pengambilan sampel dilakukan secara *purposive sampling*. Susu yang diambil adalah dari tiga merek dagang berbeda.

Sampel dari masing-masing kotak diambil sebanyak 1 ml, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml *nutrient broth* (NB), lalu dihomogenkan dengan cara memutar tabung reaksi membentuk angka delapan. Setelah dihomogenkan, tabung reaksi dimasukkan ke dalam inkubator pada temperatur 37° C selama 24 jam (Rakhmah, 2012).

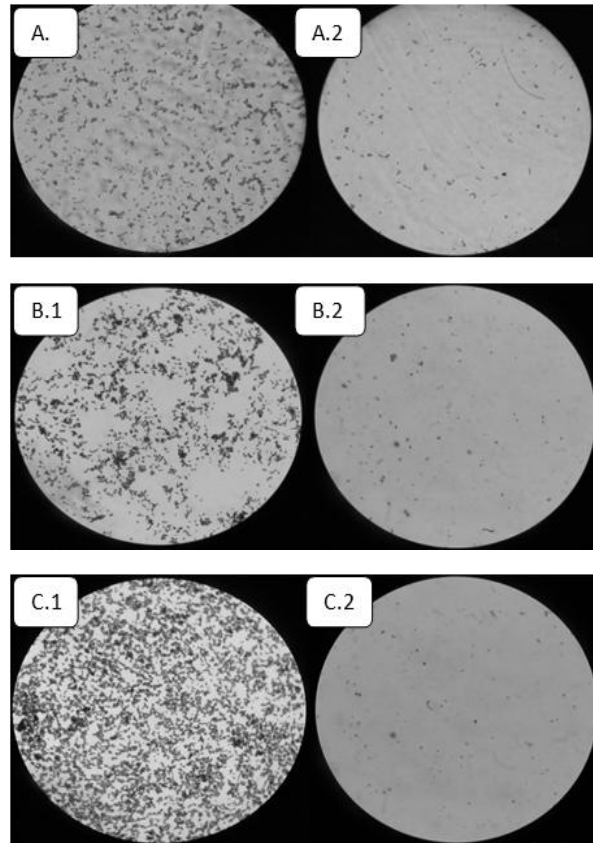
Setelah diinkubasikan dilakukan penanaman pada media pembiakan agar *trypticase soy sucrose bacitracin* (TYS20B) dan *manitol salt agar* (MSA) dengan teknik goresan dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Selanjutnya diamati morfologi dari koloni bakteri yang tumbuh, lalu dilakukan pewarnaan Gram.

Gelas obyek dibersihkan dengan alkohol 70% dan diberi akuades, secara aseptik diambil 1 ose biakan bakteri, diratakan pada kaca obyek dengan diameter kira-kira 1 cm, lalu difiksasi di atas nyala api. Selanjutnya ditetesi dengan larutan kristal violet dan didiamkan selama 1-2 menit, dibilas dengan air mengalir, ditetesi dengan larutan lugol dan diamkan selama 1 menit. Kemudian, ditetesi dengan larutan alkohol 96% dan didiamkan selama 10 detik, dibilas dengan air yang mengalir, ditetesi dengan larutan safranin, didiamkan selama 1 menit, lalu dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Selanjutnya, diamati pada mikroskop, dengan penambahan emersi oil dan dilakukan pemeriksaan menggunakan pembesaran 10×100. Bakteri Gram positif akan berwarna violet dan bakteri Gram negatif akan berwarna merah (Harley dan Presscot, 2002). Apabila koloni bakteri berwarna ungu maka dapat disimpulkan bahwa bakteri tersebut, termasuk ke dalam bakteri golongan Gram positif (Lay, 1994).

Selanjutnya dilakukan uji katalase untuk mengetahui kelompok bakteri *Streptococcus* atau kelompok bakteri *Staphylococcus*. Hasil uji katalase negatif, berarti biakan tersebut adalah bakteri *Streptococcus* dan apabila hasil uji katalase positif akan dilanjutkan dengan penanaman pada uji biokimia, meliputi (manitol dan glukosa). Apabila manitol positif dan glukosa negatif, berarti murni *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), bila manitol negatif dan glukosa positif, berarti murni *S. epidermidis*, bila hasil manitol dan glukosa negatif, berarti murni *Micrococcus*. Data penelitian dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa terlihat koloni bakteri *S. aureus* dan *Streptococcus mutan* pada media selektif dari ketiga produk susu UHT 6 dan 3 bulan menjelang kedaluwarsa seperti yang disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Gambaran pertumbuhan bakteri pada media *manitol salt agar* (MSA) dan *trypticase soy sucrose bacitracin* (TYS20B) diamati dengan mikroskop pembesaran 10×100 (A.1= Koloni *Staphylococcus aureus*, A.2= Koloni *Streptococcus mutan* pada produk susu UHT A; B.1= Koloni *Staphylococcus aureus*; B.2= Koloni *Streptococcus mutan* pada produk susu UHT B; C.1= Koloni *Staphylococcus aureus*; C.2= Koloni *Streptococcus mutan* pada produk susu UHT C)

Jenis bakteri yang tumbuh pada susu UHT menjelang 3 dan 6 bulan kedaluwarsa adalah *S. aureus* dan *Streptococcus mutan*. Berdasarkan Gambar 1 pada media MSA terlihat adanya bakteri dengan ciri-ciri morfologi berbentuk bulat, berwarna kuning keemasan, bagian tepi tidak bergerigi (berbentuk bulat penuh), dan kecil mengilat. Dari ciri-ciri tersebut bahwa bakteri yang tumbuh di media MSA merupakan bakteri *S. aureus* (Jawetz *et al.*, 1995). Menurut Syahrurachman (1994), *S. aureus* dapat tumbuh dengan baik pada suhu 37° C. Pertumbuhan terbaik dan khas dari bakteri *S. aureus* adalah pada suasana aerob, kuman ini bersifat aerob fakultatif, dan dapat tumbuh dalam udara yang hanya mengandung hidrogen. pH optimum untuk pertumbuhan ialah 7,4. Pada media TYS20B terlihat adanya bakteri dengan ciri-ciri bulat tetapi bergerigi di bagian tepi koloni, tidak begitu mengilat bagian

permukaan, berwarna kuning pucat, dan permukaan koloni cekung (Samaranayake, 2002; Regina, 2007; Manton, 2010). *Streptococcus mutan* merupakan bakteri Gram positif, bersifat non motil (tidak bergerak), berdiameter 1-2 μm , dan termasuk ke dalam bakteri anaerob fakultatif. Secara mikroskopis, bakteri ini terlihat berbentuk bulat telur, tersusun seperti rantai, dan tidak membentuk spora.

Kedua jenis bakteri di atas dapat merusak kandungan susu UHT dan dalam jangka panjang dapat menyebabkan keracunan bagi yang mengonsumsinya. *Staphylococcus aureus* mengontaminasi bahan makanan yang telah mengalami proses pemanasan karena *S. aureus* merupakan bakteri yang tergolong sebagai bakteri *bad competitor*. Pada kondisi menguntungkan, *S. aureus* dalam makanan mampu memperbanyak diri sampai populasi yang cukup tinggi, tanpa terjadinya perubahan warna, bau dan rasa (Wibowo, 2011) sehingga pada susu UHT yang belum kedaluwarsa meskipun terdapat bakteri tersebut tidak mudah dikenali secara organoleptik.

Pertumbuhan *S. aureus* dengan jumlah sel hidup antara 104-106 per ml susu akan mensekresikan eksoprotein yang bersifat toksik, yang lazimnya dikenal sebagai enterotoksin (Lund *et al.*, 2000). Susu yang mengandung enterotoksin apabila dikonsumsi akan menyebabkan intoksikasi pangan pada konsumen. Derajat keparahan setiap individu berbeda tergantung dari jenis dan banyaknya toksin, serta daya tahan tubuh (Dinges *et al.*, 2000).

Beberapa hasil kajian, menyebut bahwa bakteri *Streptococcus mutan* dapat menggunakan fruktosa dalam suatu metabolisme glikolisis untuk memperoleh energi (Kidd *et al.*, 1992; Kawai dan Urano, 2001; Samaranayake, 2002). Hasil akhir dari glikolisis di bawah kondisi anaerob adalah asam laktat. Asam laktat ini menciptakan kadar keasaman yang menurunkan pH sampai batas tertentu sehingga memungkinkan adanya bakteri *Streptococcus mutan* pada susu UHT pada masa 3 dan 6 bulan menjelang kedaluwarsa. Pederson (1971) mengemukakan bahwa tinggi rendahnya angka keasaman susu antara lain disebabkan oleh banyak sedikitnya asam laktat yang merupakan hasil penguraian laktosa oleh bakteri dan aktivitas enzim yang terdapat dalam susu. Menurut Sirait (1984) menurunnya pH susu disebabkan karena laktosa digunakan sebagai sumber energi dan karbon oleh bakteri untuk menghasilkan asam laktat sehingga kadar asam meningkat dan menyebabkan keasaman (pH) menurun.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pada susu UHT menjelang 3 dan 6 bulan kedaluwarsa ditemukan adanya kontaminasi bakteri coccus Gram positif yaitu bakteri *S. aureus* dan *Streptococcus mutan*.

DAFTAR PUSTAKA

- Astawan, M. 2000. Upaya Penyelamatan Gizi pada Susu. http://www.waspada.co.id/serba_serbi/kesehatan/artikel.php.
- Dinges, M.M., P.M. Orwin, and P.M. Schlievert. 2000. Exotoxin of *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol. Rev.* 13:16-34.
- Eirry, S. 2005. *Macam-Macam Olahan Susu*. Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta.
- Hadiwiyoto, S. 1982. *Teknik Uji Mutu Susu dan Hasil Olahannya (Teori dan Praktek)*. Liberty, Yogyakarta.
- Harley, M. and B. Presscot. 2002. *Laboratory Exercise in Microbiology*. McGraw-Hill Publisher, USA.
- Izzati. 2008. Peningkatan Jumlah Bakteri pada Susu Ultra High Temperature (UHT) Menjelang Masa Kedaluwarsa. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan, Unsyiah. Banda Aceh.
- Jay, M.J. 1996. *Modern Food Microbiology*. 5th ed. International Thomson Publishing, Chapman & Hall Book, Dept. BC.
- Kawai, K. and M. Urano. 2001. Adherence of plaque component to different restorative materials. *J. Op. Dent.* 26:396-400.
- Kidd, A., M. Joyston, and S. Bechal. 1992. *Dasar-Dasar Karies Penyakit dan Penanggulangannya*. (Diterjemahkan Sumawinata, N.). EGC, Jakarta.
- Lay, B.W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Lund, M.B., C.B.T. Parker, and G.W. Gould. 2000. *The Microbiological Safety and Quality of Food*. Gaithersburg, Maryland.
- Manton, J.W. 2010. *Streptococcus mutans and You; Home Sweet Home in your Mouth*. Microbiology Fall, USA.
- Pederson, C.S. 1971. *Microbiology of Food Fermentation*. The AVI, Connecticut.
- Purwiyatno, H. 2011. Sterilisasi UHT dan Pengemasan Aseptik. <http://seafast.ipb.ac.id/publication/journal/Sterilisasi-UHT-dan-Pengemasan-Aseptik.pdf>.
- Regina, R.A. 2007. The effect of mouthwash containing cetylpyridinium chloride on salivary level of *Streptococcus mutans*. *J. PDGI*. 57(1):19-24.
- Rowan, N.J., G. Caldow, C.G. Gemmell, and L.S. Hunter. 2001. Putative virulence factor expression by clinical and food isolates of *Bacillus* spp. after growth in reconstituted infant milk formulae. *Appl. Environ. Microbiol.* 67(9):3873-3881.
- Saleh, E. 2004. *Teknologi Pengolahan Susu dan Hasil Ikutan Ternak*. USU Digital Library, Medan.
- Samaranayake, L.P. 2002. *Essential Microbiology For Detistry*. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Sofiany. 2004. Proses UHT. <http://www.waspada.co.id/Kesehatan/artikel.php>.
- Syahrurachman, A. 1994. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi. Penerbit Bina Rupa Aksara, Jakarta.
- Wibowo, A. 2011. Insidensi *Staphylococcus aureus* enterotoksin pada susu pasteurisasi yang dijual di wilayah Bogor. *J. Tek. Pert.* 7(1):18-22.