

**PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGIK SUSU SAPI MURNI
DARI KECAMATAN MUSUK KABUPATEN BOYOLALI**

SKRIPSI



Oleh:

**YULIAS SULISTYOWATI
K100050045**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2009**

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Susu murni merupakan cairan yang berasal dari ambing sapi sehat dan bersih yang diperoleh dengan cara pemerahan yang benar, yang kandungan alaminya tidak dikurangi atau ditambah sesuatu apapun dan belum mendapat perlakuan apapun (Anonim, 1997). Susu sebagian besar digunakan sebagai bahan makanan yang baik dan bernilai gizi tinggi. Bahan makanan ini mudah dicerna dan mengandung zat-zat makanan yang sangat diperlukan oleh manusia seperti protein, karbohidrat, lemak, mineral, dan air (Anonim, 1995).

Sumber susu untuk kebutuhan makanan yang paling umum di negara-negara seperti Australia, Inggris, Amerika, dan Indonesia adalah sapi. Walaupun ada negara lain yang menggunakan domba dan kambing sebagai produk penghasil susu. Namun selama berabad-abad sapi selalu dipilih untuk produksi susu yang tinggi, sehingga sekarang sapi perah adalah salah satu penghasil susu yang paling efisien (Buckle dkk., 1987).

Proses produksi di tingkat peternak merupakan langkah awal untuk menghasilkan susu. Setiap peternak sapi perah senantiasa mengupayakan agar susu yang diproduksi sapi perah yang dipelihara dapat dimanfaatkan seutuhnya tanpa ada yang mengalami kerusakan. Upaya yang dilakukan tidak hanya tertuju pada kebersihannya tetapi juga terhadap kualitas susu.

Boyolali, merupakan daerah centra produksi susu. Kecamatan Musuk Kabupaten Boyolali merupakan daerah penghasil susu yang terbanyak dibandingkan dengan Kecamatan yang lain. Sapi perah ini dapat menghasilkan produk susu sekitar 15 L/hari. Walaupun produk susu yang dihasilkan tinggi namun kesadaran akan kebersihan lingkungan masih sangat kurang diperhatikan. Hal ini akan menyebabkan adanya kontaminasi dari berbagai mikroorganismenya, sehingga akan mempengaruhi kualitas susu.

Keadaan lingkungan yang kurang bersih dapat mempermudah terjadinya pencemaran. Pencemaran dapat berasal dari berbagai sumber seperti kulit sapi, ambing, air, tanah, debu, manusia, peralatan, dan udara (Buckle dkk., 1987). Tingginya tingkat pencemaran pada saat proses pemerahan dimungkinkan karena adanya bakteri patogen yang cukup besar. Adanya bakteri ini dapat mengakibatkan kerusakan susu, menimbulkan penyakit (terutama penyakit saluran pencernaan) bahkan keracunan bagi manusia (Supardi dan Sukanto, 1999).

Bakteri yang sering terdapat dalam susu sapi murni meliputi *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Bacillus* serta *E. coli* (Vollk dan Wheeler, 1993). Menurut Benson (2002), jumlah bakteri dalam air susu dapat digunakan sebagai indikator terhadap kualitas susu. Selain itu, jenis bakteri seperti *E. coli*, *Enterobacteriaceae* serta *Streptobacillus* telah lama dirumuskan sebagai mikroorganismenya indikator mutu (Setyawan dan Yatri, 1987).

Penelitian Balia dkk., 2008 yang mengambil sampel dari susu segar di peternakan sapi perah rakyat di Lembang, Jawa Barat menunjukkan jumlah bakteri total pada susu segar adalah $3,70 \times 10^6$ CFU/ml. Hal ini menunjukkan

bahwa jumlah bakteri total pada susu segar melebihi batas maksimum cemaran mikroba SNI tahun 2000. Syarat cemaran total bakteri 1×10^6 CFU/ml dan coliform maksimal 20 koloni/ml.

Beranjak dari penelitian tersebut, maka perlu dilakukan pemeriksaan mikrobiologik yang meliputi jumlah serta jenis bakteri dari susu sapi murni di Kecamatan Musuk Kabupaten Boyolali. Hal ini digunakan untuk mengetahui bahwa susu tidak mengalami kerusakan serta bebas dari kontaminasi bakteri sehingga diperoleh susu dengan kualitas baik dan aman dikonsumsi.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti merumuskan beberapa masalah:

1. Berapa jumlah bakteri total dalam air susu yang berasal dari peternak sapi perah di Kecamatan Musuk Kabupaten Boyolali?
2. Bakteri apa saja yang terdapat dalam air susu yang berasal dari peternak sapi perah di Kecamatan Musuk Kabupaten Boyolali?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui jumlah total bakteri yang terdapat pada susu murni peternakan sapi perah di Kecamatan Musuk Kabupaten Boyolali.
2. Mengidentifikasi bakteri yang terdapat pada susu murni peternakan sapi perah di Kecamatan Musuk Kabupaten Boyolali.

D. Tinjauan Pustaka

1. Susu

a. Pengertian Susu

Pengertian atau batasan umum mengenai istilah susu adalah cairan berwarna putih yang diperoleh dari pemerahan hewan menyusui yang dapat didiamkan atau digunakan sebagai bahan pangan yang sehat serta padanya tidak dikurangi komponen-komponennya atau ditambah bahan-bahan lain (Hadiwiyoto, 1994). Dipandang dari segi peternakan susu merupakan suatu sekresi kelenjar susu dari sapi yang sedang laktasi dan dilakukan pemerahan yang sempurna tanpa ditambah atau dikurangi oleh suatu komponen (Nurliyani dkk., 2008).

Menurut SNI tahun 1997 definisi susu dibagi menjadi dua. Susu murni adalah cairan yang berasal dari ambing sapi sehat dan bersih yang diperoleh dengan cara pemerahan yang benar, yang kandungan alaminya tidak dikurangi atau ditambah sesuatu apapun dan belum mendapat perlakuan apapun. Sedangkan susu segar adalah susu murni yang tidak mendapat perlakuan apapun kecuali proses pendinginan tanpa mempengaruhi kemurniannya.

Susu sapi di Indonesia telah banyak digunakan untuk memenuhi kebutuhan pangan. Walaupun ada pula susu yang dihasilkan oleh ternak lain misalnya kerbau, kambing, kuda, dan domba akan tetapi penggunaannya tidak sepopuler susu sapi. Susu sapi merupakan salah satu sumber protein hewani yang sangat baik untuk kesehatan. Untuk itu susu sapi yang baik harus memenuhi kriteria sebagai berikut yaitu kandungan jumlah bakteri yang cukup rendah, bebas dari spora dan mikroorganisme penyebab penyakit, mempunyai cita rasa yang baik,

bersih dan bebas dari debu atau kotoran yang lain, serta tidak dipalsukan dengan penambahan air atau cara pemalsuan lain (Anonim, 1995).

b. Komposisi Susu

Menurut Hadiwiyoto (1994) komposisi air susu secara umum:

1) Protein

Protein susu terdiri atas kasein, laktalbumin, dan laktoglobulin. Kasein merupakan protein yang terbanyak jumlahnya daripada laktalbumin dan laktoglobulin.

2) Lemak susu

Lemak merupakan komponen susu yang penting seperti halnya protein. Lemak dapat memberikan energi lebih besar dibandingkan dengan protein maupun karbohidrat. Satu gram lemak dapat memberikan ± 9 Kalori. Lemak susu terdapat sebagai globula atau emulsi.

3) Hidrat Arang

Dalam susu hidrat arang paling banyak terdapat dalam bentuk gula disakarida, yaitu laktosa. Gula susu mempunyai kemanisan seperenam kemanisan gula tebu (sukrosa).

4) Garam-garam mineral

Susu mengandung berbagai macam mineral, seperti garam kalsium, kalium, dan pospat.

5) Vitamin

Susu mengandung vitamin-vitamin yang larut dalam lemak, yaitu vitamin A, D, E serta sedikit vitamin K. Susu juga mengandung berbagai vitamin yang larut dalam air yaitu vitamin B kompleks.

6) Air

Komponen terbanyak susu adalah air, jumlahnya mencapai 64,89 %.

7) Enzim

Enzim adalah katalisator biologik yang dapat mempercepat reaksi kimiawi. Susu mengandung beberapa enzim, antara lain lipase, pesterase, peroksidase, katalase, dehidrogenase, dan laktase.

2. Mikrobiologi Susu

a. Bakteri

Bakteri merupakan kelompok mikroorganisme yang paling penting dan beraneka ragam, karena yang berhubungan dengan makanan dan manusia adalah bakteri. Bakteri terdapat secara luas di lingkungan alam yang berhubungan dengan hewan, tumbuh-tumbuhan, udara, air, dan tanah. Pada kenyataannya sangat sedikit sekali lingkungan yang bersih dari bakteri. Bakteri adalah mikroorganisme bersel tunggal yang tidak terlihat oleh mata, tetapi dengan bantuan mikroskop mikroorganisme tersebut akan tampak. Ukuran bakteri berkisar antara 0,5 μ m-10 μ m dan lebar 0,5 μ m-2,5 μ m tergantung jenisnya. Walaupun terdapat beribu jenis bakteri tapi hanya ada beberapa karakteristik bentuk sel yang yang ditemukan yaitu bentuk bulat, batang, spiral, koma (Buckle dkk., 1987).

Sel bakteri terdiri dari membran luar, sitoplasma dan beberapa bahan inti (tidak memiliki inti sel yang jelas). Sel dibungkus oleh dinding sel dan pada beberapa jenis bakteri, dinding ini dikelilingi oleh kapsula (lapisan lendir). Kapsula terdiri dari campuran polisakarida dan polipeptida (Gaman dan Sherrington, 1994).

Bakteri memperbanyak diri dengan suatu proses yang disebut pembelahan biner. Bahan inti memperbanyak diri dan membagi dua bagian yang terpisah dan kemudian sel membelah, menghasilkan dua buah sel anak dengan ukuran yang sama (Gaman dan Sherrington, 1994).

Beberapa bakteri bersifat "motil" artinya dapat melakukan pergerakan. Bakteri memiliki struktur yang menyerupai benang panjang yang disebut flagella yang tumbuh dalam membran sel. Flagella bergerak seperti cambuk dan membantu mendorong bakteri dalam cairan, misalnya air (Gaman dan Sherrington, 1994). Pertumbuhan bakteri sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan yaitu nutrien, temperatur, O₂, CO₂, cahaya, pH, dan filtrasi (Suendra, 1991).

Kelompok bakteri yang penting dalam mikrobiologi pangan termasuk susu meliputi *Enterobacteriaceae*, *Micrococcaceae*, *Pseudomonodaceae*, *Bacillaceae*, *Lactobacillaceae* dan *Sreptococcaceae*.

1. *Enterobacteriaceae*

Golongan bakteri *Enterobacteriaceae* penting bagi kesehatan masyarakat karena dapat menimbulkan wabah keracunan pangan dan penyakit infeksi yang

ditularkan melalui makanan yang cukup serius (Buckle dkk., 1987). Beberapa genus *Enterobacteriaceae* meliputi:

a). *E. coli*

E. coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek (kokobasil), berukuran 0,4-0,7 μ m, bersifat anaerob fakultatif dan mempunyai flagella peritrikal. Bakteri ini banyak ditemukan di dalam usus manusia sebagai flora normal. *E. coli* biasanya juga terdapat dalam alat pencernaan hewan (Karsinah dkk., 1994). Selain itu *E. coli* sering digunakan sebagai indikator pada uji sanitasi dalam air maupun susu. Jika bakteri *E. coli* terdapat dalam jumlah banyak menunjukkan bahan pangan maupun air telah mengalami pencemaran (Gaman dan Sherrington, 1994).

b). *Shigella*

Shigella merupakan Gram negatif, berbentuk batang, berukuran 0,5-0,7 μ m x 2-3 μ m dan tidak berflagel, tidak membentuk spora, bila ditumbuhkan pada media agar akan tampak koloni yang konveks, bulat, transparan dengan pinggir-pinggir halus (Karsinah dkk., 1994).

Shigella merupakan bakteri dengan habitat alamiah di usus besar manusia dan biasanya terdapat dalam saluran pencernaan hewan, selain itu *Shigella* juga dapat menyebabkan kontaminasi pada susu melalui udara, debu, alat pemerahan, maupun dari manusia (Buckle dkk., 1987). Disentri basiler atau *Shigellosis* adalah penyakit infeksi usus akut yang disebabkan oleh *Shigella*. Bakteri *Shigella* menembus masuk dalam sel epitel permukaan mukosa usus di daerah ileum terminal dan kolon. Di tempat ini bakteri bereproduksi sehingga akan terjadi

peradangan diikuti kematian sel epitel dan terkelupasnya epitel mukosa sehingga terjadi tukak usus (Vollk dan Wheeler, 1993).

c). *Klebsiella*

Klebsiella merupakan kelompok bakteri Gram negatif, berbentuk batang, non motil, mempunyai kapsul, koloni besar sangat berlendir dan cenderung bersatu pada pergerakan yang lama, meragikan laktosa dan banyak karbohidrat, negatif terhadap tes merah metil (Jawetz dkk., 2001). Seperti halnya *E. coli*, *Klebsiella* merupakan bakteri yang sering digunakan dalam uji sanitasi air maupun susu (Nurliyani dkk., 2008).

d). *Pseudomonas*

Pseudomonas adalah bakteri Gram negatif yang tidak meragikan karbohidrat dan hidup aerob di tanah maupun air (Karsinah dkk., 1994). Bakteri bergerak dengan flagel polar, satu atau lebih, ukuran 0,8-1,2 μ m. Beberapa galur memproduksi pigmen larut air, tumbuh baik pada 37°C-42°C (Jawetz dkk., 2001).

Bakteri *Pseudomonas* biasanya terdapat dalam air susu mentah yang belum dipasteurisasi (Vollk dan Wheeler, 1993). Selain itu kontaminasi dapat berasal dari puting susu secara langsung oleh manusia dan dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai bahan pangan termasuk susu (Supardi dan Sukamto, 1999).

e). *Enterobacter*

Enterobacter merupakan bakteri aerob berbentuk batang pendek, bersifat Gram negatif membentuk rantai, mempunyai kapsul kecil, motil dengan flagel peritrik, pada media padat koloni bersifat kurang mukoid dan cenderung menyebar keseluruh permukaan, dapat membentuk asam dan gas (Jawetz dkk.,

2001). *Enterobacter* juga digunakan dalam uji sanitasi air maupun susu (Nurliyani dkk., 2008).

2. *Micrococcaceae*

Dua genus dari *Micrococcaceae* yang penting dalam bahan pangan adalah *Micrococcus* dan *Staphylococcus*. Kelompok *Staphylococcus* yang terpenting dalam makanan adalah *Staphylococcus aureus* (Buckle dkk., 1987).

Staphylococcus adalah bakteri berbentuk bulat, Gram positif dengan diameter 1µm, tidak motil, tidak membentuk spora dan tersusun dalam kelompok-kelompok tidak beraturan, mudah tumbuh pada berbagai media pembenihan. *Staphylococcus* merupakan bakteri kokus yang tumbuh bergerombol seperti buah anggur bersifat patogen (Jawetz dkk., 1986).

Di Kenal beberapa macam *Staphylococcus* diantaranya *S. epidermis* dan *S. aureus*. Pada pembenihan *S.aureus* berwarna putih hingga kuning emas, selain itu bakteri ini bersifat aerob, meragikan glukosa, meragikan manitol, koagulasi negatif dan pada media agar darah mengalami hemolisis (Jawetz dkk., 1986). Beberapa strain dapat menghasilkan racun protein yang sangat tahan panas, yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia. Keracunan makanan *Staphylococcal* merupakan nama kondisi yang disebabkan oleh enterotoksin yang diproduksi oleh beberapa strain *S. aureus* (Nurliyani dkk., 2008).

S. aureus biasanya berada di udara, debu, air, susu murni dan makanan. *S. aureus* juga dapat memasuki susu dari sapi yang menderita mastitis yang merupakan infeksi pada ambing dan dapat menyebabkan kerusakan susu (Buckle dkk., 1987).

b. Pencemaran Air Susu

Air susu bukan saja merupakan makanan yang baik bagi manusia tetapi juga baik pada banyak spesies bakteri, baik bakteri patogen maupun bakteri non patogen (Dwijoseputro, 1990). Jumlah bakteri dalam susu dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain faktor intrinsik (yang berasal dari hewannya sendiri) maupun faktor ekstrinsik (yang berasal dari luar tubuh hewan) (Hadiwiyoto, 1994).

Faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas susu :

1) Keadaan kandang sapi

Kandang sapi yang bersih akan menghasilkan susu yang baik, tetapi jika kandang sapi tidak bersih dan tidak sehat maka jumlah bakteri dalam susu dapat naik dengan cepat. Hal-hal yang perlu diperhatikan terhadap keadaan kandang adalah pencucian lantai kandang, bentuk lubang angin (ventilasi luar ruangan, penerangan, saluran pembuangan air).

2) Keadaan rumah pemerahan

Rumah pemerahan adalah rumah untuk melakukan pemerahan susu. Rumah ini umumnya terpisah dari kandang sapi.

3) Kesehatan sapi

Sapi perah yang sakit akan menghasilkan mutu susu tidak baik.

4) Kesehatan pemerah atau pekerja

Hal ini penting agar kontaminasi bakteri yang berasal dari pekerja yang sakit dapat dihindari dan dikurangi.

5) Pemberi makanan

Pemberian makanan pada sapi akan mempengaruhi cita rasa susu yang dihasilkan. Misalnya bawang merah yang diberikan 1-4 jam sebelum pemerahan akan menghasilkan susu yang berbau kuat atau merangsang.

6) Kebersihan hewan

Apabila sapi kotor, susu yang diperoleh juga akan mengandung jumlah bakteri yang lebih banyak dan akhirnya rendah mutunya.

7) Kebersihan alat pemerah

8) Penyaringan susu

Penyaringan dapat membantu mengurangi kotoran-kotoran atau debu.

9) Penyimpanan susu.

Penyimpanan susu pada suhu tinggi, menyebabkan jumlah bakteri yang ada pada susu akan lebih banyak daripada penyimpanan susu pada suhu rendah.

c. Bakteri Patogen dari Hewan yang sering ditularkan melalui Susu

Susu mudah rusak karena terkontaminasi oleh bakteri-bakteri pembusuk. Selain itu, susu juga dapat terkontaminasi oleh bakteri-bakteri patogen melalui beberapa cara sebagai berikut:

- 1). Susu yang berasal dari sapi perah yang menderita infeksi. Misalnya infeksi bakteri *Brucella*, *Mycobacterium*, dan *Coxiella burnetii*.
- 2). Puting sapi terkontaminasi secara langsung oleh manusia. Misalnya kontaminasi *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, dan *Corynebakter*.

- 3). Susu terkontaminasi oleh bakteri patogen yang tidak berasal dari sapi sendiri, kontaminasi terjadi setelah proses pemerahan. Misalnya kontaminasi oleh *Salmonella typhi*, *Corynebacter diptheriae* dan *Streptococcus pyogenes* (Supardi dan Sukamto, 1999).

d. Penanganan Air Susu

Kontaminasi susu perlu dicegah sedini mungkin dengan menjaga kebersihan dan kesehatan hewan perah. Agar susu yang diproduksi terjaga kebersihannya dan lebih tahan lama dari kerusakan, dapat dilakukan beberapa penanganan air susu, antara lain:

- 1) Pendinginan Susu

Pendinginan susu bertujuan untuk menahan agar mikroba perusak susu jangan berkembang, sehingga susu tidak mengalami kerusakan dalam waktu yang relatif singkat. Pendinginan susu biasanya menggunakan almari es atau alat pendingin khusus yang suhunya dibawah 10°C (Anonim, 1995).

- 2) Pemanasan Susu

Pemanasan susu ataupun pemasakan susu dimaksudkan untuk membunuh mikroba perusak susu dan membunuh kuman-kuman yang terdapat pada susu yang dapat membahayakan kesehatan manusia. Pemasakan susu dilakukan sampai mendidih kemudian disimpan pada tempat yang aman dan bersih.

- 3) Pasteurisasi Susu

Pasteurisasi susu adalah proses pembasmian bakteri patogen yang mungkin masih terdapat di dalam air susu.

Ada 2 cara pasteurisasi yaitu:

- a). Pasteurisasi temperatur rendah

Pemanasan susu dilakukan pada temperatur yang tidak begitu tinggi dengan waktu yang relatif lama (pada temperatur 72°C selama 30 menit).

- b). Pasteurisasi singkat

Pemanasan susu dilakukan pada temperatur tinggi dengan waktu yang relatif singkat (pada temperatur 80°C selama 30 detik saja) (Anonim, 1995).

3. Syarat Kualitas Susu

Berdasarkan jumlah bakteri dalam air susu, kualitas susu di negara-negara barat dan negara-negara maju (seperti Amerika, Australia, Inggris dan Indonesia) digolongkan menjadi 3 macam yaitu:

- a). Susu dengan kualitas baik atau kualitas A (No. 1), jumlah bakteri yang terdapat dalam susu segar tidak lebih dari 10.000/ml. Bakteri-bakteri *coliform* tidak lebih dari 10/ml.
- b). Susu Kualitas B (No. 2) jika jumlah bakteri antara 100.000-1.000.000/ml dan jumlah bakteri *coliform* tidak lebih dari 10/ml.
- c). Susu dengan kualitas C (No. 3), jelek jika jumlah bakterinya lebih dari 1.000.000/ml (Hadiwiyoto, 1994).

Untuk penilaian air susu di Amerika Serikat ketentuannya sebagai berikut:

- a). Air susu (sebelum dipasteurisasi) dinyatakan baik sekali jika terdapat kurang dari 200.000 mikroorganisme/ml dengan perhitungan langsung menggunakan mikroskop atau dengan perhitungan koloni pada media agar.

b). Jika air susu sudah dipasteurisasi masih mengandung lebih dari 300.000 mikroorganisme/ml maka air susu dianggap kurang baik (Dwijoseputro, 1990).

Syarat kualitas air susu segar di Indonesia telah dibakukan dalam Standart Nasional Indonesia (SNI 01-3141-1997), dimana pemeriksaan cemaran mikroba dalam air susu segar meliputi uji pemeriksaan dengan angka lempeng total (batas maksimum mikroba $3,0 \times 10^6$ CFU/ml), *E. coli* (maksimum 10/ml), *Salmonella* (tidak ada), *Staphylococcus aureus* (maksimum 10^2 CFU/ml).

4. Pengujian Mutu Air Susu secara Biologik

Mutu air susu secara biologik diuji sebagai akibat dari kegiatan mikroba (bakteri, kapang, dan yeast) dan enzim-enzim dalam susu, perubahan-perubahan sifat susu dapat terjadi baik sifat fisika ataupun kimianya akibat dari kegiatan mikroba. Pengujian biologik dikerjakan untuk mengetahui kemungkinan atau akibat terjadi perubahan tersebut. Dalam hal ini pengujian biologik dapat berupa pengujian mikroskop dan pengujian bakteriologik (Hadiwiyoto, 1994).

a. Pengujian secara Bakteriologik

Pengujian secara bakteriologik secara umum ditujukan untuk mengetahui jumlah bakteri dalam susu segar. Untuk menentukan jumlah bakteri dapat digunakan beberapa cara, yaitu:

1) Jumlah bakteri secara keseluruhan (*total cell count*).

Pada cara ini dihitung semua bakteri baik yang hidup maupun yang mati.

a) Menghitung langsung secara mikroskopik.

Pada cara ini dihitung jumlah bakteri dalam satuan isi yang sangat kecil, untuk itu digunakan kaca objek khusus yang bergaris (*Petroff-Hauser*) berbentuk bujur sangkar. Cara ini hanya dapat digunakan untuk cairan yang mengandung bakteri dalam jumlah tinggi (Lay, 1994).

b) Menghitung berdasarkan kekeruhan

Dasar teknik ini adalah banyaknya cahaya yang diabsorpsi sebanding dengan banyaknya sel bakteri pada batas-batas tertentu. Pada umumnya untuk menghitung dengan cara ini digunakan turbidimetri (Lay, 1994).

2) Perhitungan Bakteri Hidup

Ada 3 cara perhitungan bakteri hidup, yaitu:

a) *Standart Plate Count*

Pengenceran dilakukan dengan menggunakan sejumlah botol pengencer yang diisi sampel dan aqua destilata steril. Agar cair didinginkan sampai suhu sekitar 44°C dan baru kemudian dituangkan ke cawan petri setelah agak membeku cawan dieramkan selama 24-48 jam (37°C).

b) *Plate Count*

Sampel dipipet lalu dimasukkan dalam cawan petri kosong steril, lalu dituang dalam media agar yang mencair, dengan suhu sekitar $\pm 45^{\circ}\text{C}$ lalu digoyangkan dengan hati-hati sehingga sampel dan media tercampur rata. Dibiarkan memadat.

c) Agar sebar

Sebanyak 0,1 ml sampel dimasukkan pada permukaan agar yang sudah memadat dalam cawan petri. Kemudian sampel diratakan di atas permukaan media tersebut dengan bantuan alat perata atau *spreader* (Lay, 1994).

b. Pengujian secara Mikroskopik

Pengujian secara mikroskopik ditujukan untuk mengetahui struktur dan bentuk-bentuk bakteri (Hadiwiyoto, 1994).

5. Media

Media adalah kumpulan zat-zat organik yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri dengan syarat-syarat tertentu, oleh karena itu media pembiakan harus mengandung cukup nutrisi untuk pertumbuhan bakteri (Tambayong, 2000). Selain suhu dan pH harus sesuai (Tambayong, 2000), juga perlu diperhatikan mengenai tekanan osmose dan sterilitas (Anonim, 2007).

Berdasarkan fungsi dan aplikasinya media dapat dibagi menjadi :

a) Media selektif

Media ini digunakan untuk menekan pertumbuhan bakteri yang tidak diinginkan, misalnya media Mc conkey. Media ini mengandung agar nutrisi ditambah dengan garam empedu, berwarna merah muda dan transparan. Media ini digunakan untuk isolasi kuman-kuman perut. Pada media ini dibedakan atas kemampuan bakteri dalam menfermentasikan laktosa.

b) Media diferensial

Media ini dipakai untuk menumbuhkan bakteri tertentu dan dapat membedakan berbagai jenis bakteri, misalnya media agar darah. Media ini terdiri dari agar nutrien yang ditambahkan darah. Permukaannya tampak bergranul, digunakan untuk membedakan bakteri hemolitik dan non hemolitik (bakteri *Streptococcus* dan *Staphylococcus*).

c) Media perhitungan

Media ini dipakai untuk menghitung jumlah bakteri yang terdapat dalam suatu bahan, misalnya media PCA (*Plate Count Agar*) dan PDA (*Plate Dextrosa Agar*) (Suendra, dkk., 1991)

6. Sterilisasi

Bahan atau peralatan yang dipergunakan dalam bidang mikrobiologi harus dalam keadaan steril. Steril artinya tidak didapatkan mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya, baik yang mengganggu atau merusak media maupun mengganggu kehidupan dan proses yang sedang dikerjakan. Setiap proses baik fisik, kimia, dan mekanik yang membunuh semua bentuk hidup terutama mikroorganisme disebut dengan sterilisasi (Waluyo, 2004).

Cara sterilisasi yang umum digunakan yaitu

a. Pemanasan, tujuannya adalah merusak atau membunuh mikroba.

Pemanasan di bagi 2 yaitu :

- 1) Pemanasan kering, yaitu dengan cara membakar atau menggunakan udara panas (oven). Pemanasan kering biasanya dengan menggunakan suhu 70-80°C selama 1-2 jam.
 - 2) Pemanasan basah, dapat dikerjakan dengan merebus uap air panas, uap air panas dengan tekanan, dan pasteurisasi. Pemanasan basah biasanya menggunakan suhu 121°C selama 15-20 menit.
- b. Filtrasi, tujuannya untuk membebaskan media, serum, enzim, toksin kuman, dan ekstrak sel yang tidak tahan pemanasan dari mikroba.
 - c. Radiasi, jenis radiasi yang sering digunakan untuk sterilisasi misalnya sinar UV, sinar gamma, sinar X dan sinar katoda.
 - d. Sterilisasi kimia (Anonim, 2007).

7. Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri untuk memisahkan biakan atau bakteri campuran dengan menggunakan media kultur sehingga diperoleh isolat atau biakan murni.

Metode atau cara isolasi dapat dilakukan dengan berbagai cara antara lain.

a. Cara goresan (*streak plate method*).

Cara ini dilakukan dengan menggoreskan bahan yang mengandung bakteri pada permukaan medium agar sesuai dalam cawan petri. Setelah diinkubasi maka pada bekas goresan akan tumbuh koloni-koloni terpisah.

b. Cara Taburan (*pour plate method*).

Cara ini dilakukan dengan menginokulasikan medium agar yang sedang mencair pada temperatur 50°C dengan suspensi bahan yang mengandung bakteri

dan menuangkannya ke dalam cawan petri steril. Setelah diinkubasi akan terlihat koloni-koloni di permukaan agar (Darwis dan Sukara, 1990).

8. Identifikasi Bakteri

Untuk mengetahui jenis bakteri dilakukan dengan cara kultur bakteri, morfologi bakteri, pengecatan Gram dan penanaman pada media identifikasi yaitu:

a. Kultur Bakteri

Kultur adalah pertumbuhan dari mikroorganisme. Mikroorganisme akan tumbuh di dalam media yang terdiri dari zat-zat yang merangsang pertumbuhan mikroorganisme yang diduga sebagai penyebab atau menghambat mikroorganisme yang tidak diinginkan (Gibson, 1994).

Bahan yang diduga berisi mikroorganisme, digoreskan di atas permukaan media kemudian cawan diinkubasi pada temperatur yang sesuai. Setelah itu diamati pertumbuhan bakteri dan morfologi koloni (Gibson, 1994).

b. Morfologi Kelompok

Untuk mengamati mikroorganisme dapat dilakukan individual maupun secara kelompok dalam bentuk koloni. Bentuk koloni berbeda-beda untuk tiap spesies dan bentuk itu merupakan ciri khas bagi suatu spesies tertentu. Besar kecilnya koloni, mengkilat tidaknya, halus dan kasarnya permukaan, dan warna dari koloni merupakan sifat yang diperlukan untuk identifikasi suatu spesies (Waluyo, 2004).

Kebanyakan bakteri memiliki warna keputih-putihan, kelabu, kekuning-kuningan atau hampir bening tetapi pada beberapa spesies mempunyai pigmen warna yang lebih tegas. Adanya warna pada mikroorganisme disebabkan karena adanya beberapa faktor lingkungan seperti temperatur, pH, dan oksigen (Waluyo, 2004).

c. Pengecatan Gram.

Pengecatan Gram digunakan untuk membedakan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Gram positif berwarna ungu disebabkan kompleks zat warna kristal violet-yodium tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat (alkohol, aseton). Sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah karena kompleks tersebut larut sewaktu pemberian larutan pemucat dan kemudian mengambil zat warna kedua yang berwarna merah. Perbedaan hasil dalam pewarnaan ini disebabkan perbedaan struktur dinding sel kedua kelompok bakteri tersebut (Lay, 1994).

d. Penanaman pada Media Identifikasi

1) KIA (*Kliger Iron Agar*)

Media ini bentuknya miring, digunakan untuk mempelajari reaksi bakteri terhadap komponen penyusun media, juga digunakan untuk melihat produksi asam dan gas atau perubahan warna dari merah menjadi kuning baik pada daerah yang miring (*slant*) ataupun pada tusukan. Media KIA juga digunakan untuk mengetahui reaksi bakteri terhadap gula-gula dan kemampuan membentuk H₂S yang akan diikat sebagai ferri sulfida yang akan terlihat berwarna hitam.

2) SSS (*Semi Solid Sucrose*)

Dalam media ini dapat dipelajari motility (pergerakan bakteri), reaksi bakteri terhadap *sucrose* yang ditandai dengan perubahan warna merah menjadi kuning. Disamping itu jika *sucrose* diganti dengan gula yang lain maka dapat diketahui sifat bakteri terhadap gula tersebut.

3) LIA (*Lysine Iron Agar*)

Dalam media ini dapat dilihat kelakuan bakteri terhadap *lysine* dan kemampuan membentuk H₂S. Kemampuan bakteri dalam membentuk H₂S yang akan diikat sebagai ferri sulfida yang akan terlihat berwarna hitam.

4) MIO (*Motility Indol Ornithine*)

Dalam media ini dipelajari pergerakan bakteri, kemampuan menghasilkan indol reaksi pemecahan ornithine yang ditandai dengan suasana basa atau alkali pada media (Anonim, 2007).

5) BPAB (*Baird Parker Agar Base*)

Staphylococcus aureus dapat diidentifikasi dengan menggunakan media BPAB (*Baird Parker Agar Base*). Pada media BPAB *Staphylococcus aureus* akan berwarna hitam keabuan dikelilingi dengan zona jernih (Bridson, 1998).

e. Uji Koagulase

Staphylococcus aureus mempunyai dua macam koagulase, yaitu :

1) Koagulase terikat atau faktor penjendalan yang terikat pada dinding sel bakteri. Bila suspensi bakteri dicampur dengan plasma maka enzim tersebut dapat menggumpalkan fibrin yang ada di dalam plasma membentuk deposit pada permukaan selnya. Kemampuan ini diduga untuk menghindarkan sel dari

serangan sel fagosit hospes. Koagulase ini dapat dideteksi dengan *slide test*. Tes ini dilakukan untuk uji cepat atau *screening*.

2) Koagukase bebas adalah enzim ekstraseluler yang juga dapat menjendalkan fibrin. Koagulase ini dapat dideteksi dengan uji tabung yang memberikan hasil lebih baik daripada *slide test* (Anonim, 2007).