

**PERHITUNGAN ALT, MPN DAN IDENTIFIKASI *Escherichia coli*,
Staphylococcus aureus, DAN *Salmonella sp.* PADA SUSU SEGAR
DI DAERAH SUKABUMI, KECAMATAN CEPOGO,
KABUPATEN BOYOLALI**



Diajukan oleh :

MUH Deni Kurniawan

20144063 A

**Kepada
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
Juli 2018**

**PERHITUNGAN ALT, MPN DAN IDENTIFIKASI *Escherichia coli*,
Staphylococcus aureus, DAN *Salmonella sp.* PADA SUSU SEGAR
DI DAERAH SUKABUMI, KECAMATAN CEPOGO,
KABUPATEN BOYOLALI**



Diajukan oleh :

MUH Deni Kurniawan

20144063 A

**Kepada
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
Juli 2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

PERHITUNGAN ALT, MPN DAN IDENTIFIKASI *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, DAN *Salmonella sp.* PADA SUSU SEGAR DI DAERAH SUKABUMI, KECAMATAN CEPOGO, KABUPATEN BOYOLALI

Oleh:
MUH. Deni Kurniawan
20144063A

Dipertahankan di hadapan Panitia Pengujian Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal: 3 Juli 2018



Prof. DR. R.A. Oetari, SU., MM., M. Sc., Apt

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Pembimbing Utama

Dr. Ana Indrayati, M. Si

Pembimbing Pendamping

Dr. Supriyadi, M. Si

Pengaji:

1. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt
2. Dra. Nony Puspawati, M. Si
3. Desi Purwaningsih S.Pd., M. Si
4. Dr. Ana Indrayati, M. Si

HALAMAN PERSEMBAHAN



Dengan menyebut nama Allah yang maha pengasih lagi maha penyayang
Dia telah menciptakan manusia dari segumpal darah
Dia mengajarkan manusia apa yang tidak diketahuinya (QS: Al-'Alaq 5)
Hai manusia, ingatlah akan nikmat Allah kepadamu. Adakah Pencipta selain Allah yang dapat memberikan rezeki kepadamu dari langit dan bumi?" (QS. Fathir: 3)
Maka nikmat Tuhanmu yang manakah yang kamu dustakan? (QS: Ar-Rahman 13)
Sesungguhnya tidaklah diciptakan jin dan manusia dibumi ini
selain untuk beribadah kepada Allah (Q.S adz-Dzaariyaat ayat 56)

Ya Allah,

Waktu yang sudah kujalani dengan jalan hidup yang sudah menjadi takdirku, sedih, bahagia,
dan bertemu orang-orang yang memberiku sejuta pengalaman, yang telah memberi
warna-warni kehidupanku. Kubersujud dihadapan Mu,
Engkau berikan aku kesempatan untuk bisa sampai
Di penghujung awal perjuanganku
Segala Puji bagi Mu ya Allah,

Alhamdulillahirobbil'alamin..

Sujud syukurku kusembahkan kepadamu Tuhan yang Maha Agung nan Maha Tinggi nan Maha Adil nan Maha Penyayang, atas takdirmu telah kau jadikan aku manusia yang senantiasa berpikir, berilmu, beriman dan bersabar dalam menjalani kehidupan ini. Semoga keberhasilan ini menjadi satu langkah awal bagiku untuk meraih cita-cita besarku. Berilah hambamu kesempatan kelak untuk menjadi orang yang sukses sehingga dapat bermanfaat dan selalu bisa memberi dan berbagi serta menolong orang lain.

Kupersembahkan sebuah karya kecil ini untuk Bapak dan mamaku tercinta, yang tiada pernah hentinya selama ini memberiku semangat, doa, dorongan, nasehat dan kasih sayang serta pengorbanan yang tak tergantikan hingga aku selalu kuat menjalani setiap rintangan yang ada didepanku,,, Pak,,, mak...terimalah bukti kecil ini sebagai kado keseriusanku untuk membala semua pengorbananmu..

Dalam hidupmu demi hidupku kalian ikhlas mengorbankan segala perasaan tanpa kenal lelah, dalam lapar berjuang separuh nyawa untuk memberikan yang terbaik untuk anakmu.. Maafkanlah anakmu ini yang masih saja menyusahkanmu.. yang belum bisa membala segalanya dan membuatmu bangga dan selalu bahagia.

Dalam silah di lima waktu mulai fajar terbit hingga terbenam.. seraya tanganku menadah”.. ya Allah ya Rahman ya Rahim...

Terimakasih telah kau tempatkan aku diantara kedua malaikatmu yang setiap waktu ikhlas menjagaku, mendidikku, membimbingku dengan baik, ya Allah berikanlah balasan setimpal syurga firdaus untuk mereka dan jauhkanlah mereka nanti dari panasnya sengat hawa api nerakamu.

Terima kasih juga tidak lupa aku ucapkan kepada semua dosen yang telah sabar mendidikku mulai dari aku tak paham apa-apa sehingga menjadi paham. Aku berharap kalian diberi kesehatan selalu dan jasa kalian semoga selama berkerja dihitung pahala dan apa yang berikan kepada kami semoga barokah dunia akhirat.

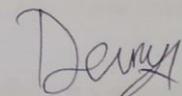
Terimakasih juga untuk sahabat tercinta terutama Ariska wigatiningtyas, teman sekontrakkan (Marwan, Udin, Sopan, Jemmy) dan Nyoman, Lisa, Hadrah serta teman-teman satu daerah dan teman S1 Farmasi angkatan 2014 yang tidak bisa disebutkan satu persatu, serta semua pihak yang telah membantu kelancaran proses skripsi ini

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 3 Juli 2018



MUH. Deni Kurniawan

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas berkat, rahmat, dan inayah-Nya. Sholawat dan salam semoga selalu tercurahkan kepada junjungan besar Nabi Muhammad SAW, keluarga, sahabat, dan orang-orang yang senantiasa istiqomah berada di jalan-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "**PERHITUNGAN ALT, MPN DAN IDENTIFIKASI *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, DAN *Salmonella sp.* PADA SUSU SEGAR DI DAERAH SUKABUMI, KECAMATAN CEPOGO, KABUPATEN BOYOLALI**". Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, baik secara moril maupun materiil. Penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. DR. R.A. Oetari, SU., MM., M. Sc., Apt. Selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Meta Kartika Untari, M.Si., Apt. selaku pembimbing akademik atas segala bimbingan dan pengarahannya
4. Dr. Ana Indrayati., M.Si. selaku Pembimbing Utama dan Dr. Supriyadi, M.Si. selaku Pembimbing Pendamping yang telah berkenan mengorbankan waktunya guna membimbing, memberi nasehat, dan mengarahkan penulis pada saat penelitian dan penyusunan skripsi.
5. Tim dosen penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan saran dan masukan demi kesempurnaan skripsi ini.
6. Seluruh Dosen, Asisten Dosen, Staf Perpustakaan, dan Staf Laboratorium Universitas Setia Budi.
7. Orang tuaku, serta seluruh keluarga besarku yang telah memberikan cinta, kasih sayang, doa, dukungan dan pengorbanan, serta semangat untuk segera menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis sangat menerima kritikan atau saran yang bersifat membangun. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapapun yang mempelajarinya.

Surakarta, 3 Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
PERNYATAAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
INTISARI	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Susu Segar	4
B. Bakteri Koliform	6
1. Ciri-ciri Koliform	6
2. Sifat-sifat Koliform	7
3. Penyakit yang Ditimbulkan Koliform	7
C. Angka Lempeng Total (ALT)	8
D. <i>Most Probable Number</i> (MPN)	9
E. <i>Staphylococcus aureus</i>	10

1. Sistematika <i>Staphylococcus aureus</i>	10
2. Morfologi, sifat dan identifikasi	11
3. Patogenesis <i>Staphylococcus aureus</i>	12
4. Pengobatan.....	12
F. <i>Escherichia coli</i>	13
1. Sistematika <i>Escherichia coli</i>	13
2. Morfologi dan identifikasi	13
3. Toksin <i>Escherichia coli</i>	14
G. <i>Salmonella sp</i>	15
1. Sistematika <i>Salmonella sp</i>	15
2. Morfologi dan sifat biakan.....	15
3. Epidemiologi <i>Salmonella sp</i>	15
H. Media.....	16
I. Sterilisasi	16
J. Kerangka Pikir Penelitian.....	17
K. Landasan Teori	17
L. Hipotesis.....	18
 BAB III METODE PENELITIAN.....	19
A. Populasi dan Sampel.....	19
B. Variabel Penelitian	19
1. Identifikasi variabel utama.....	19
2. Klasifikasi variabel utama	19
3. Definisi operasional variabel utama	20
C. Alat dan Bahan	20
D. Jalannya Penelitian	21
1. Penyiapan sampel	21
2. Sterilisasi.....	21
3. Uji angka lempeng total	21
4. Uji MPN.....	21
5. Identifikasi bakteri <i>Escherichia coli</i>	22
6. Identifikasi bakteri <i>Salmonella sp</i>	23
7. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	24

E. Analisis Hasil.....	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
A. Pengambilan Sampel	26
B. Pengujian ALT	27
C. Pengujian MPN	31
D. Identifikasi <i>Escherichia coli</i>	35
E. Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	40
F. Identifikasi bakteri <i>Salmonella sp.</i> pada susu sapi segar.....	42
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	45
A. Kesimpulan.....	45
B. Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN	51

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Bentuk mikroskopis <i>Staphylococcus aureus</i>	11
Gambar 2. Bentuk mikroskopis <i>Escherichia coli</i>	14
Gambar 3. Kerangka pikiran penelitian	17
Gambar 4. Hasil uji LB salah satu sampel susu sapi segar	31
Gambar 5. Hasil uji penegasan salah satu sampel susu segar	32
Gambar 6. Hasil <i>Escherichia coli</i> salah satu sampel susu pada EMBA	35
Gambar 7. Hasil uji biokimia bakteri <i>Escherichia coli</i> salah satu sampel susu segar	36
Gambar 8. Rantai reaksi uji indol	37
Gambar 9. Reaksi kimia uji Sitrat	38
Gambar 10. Reaksi kimia uji urease	38
Gambar 11. Hasil bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> pada VJA salah satu sampel...	40
Gambar 12. Hasil uji katalase dan koagulase bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dari salah satu sampel susu sapi segar.....	41

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kandungan vitamin dalam susu segar	4
Tabel 2. Kandungan beberapa mineral dalam susu segar	5
Tabel 3. Komposisi susu beberapa spesies mamalia.....	5
Tabel 4. Batas cemaran mikroba susu segar	6
Tabel 5. Hasil pengujian ALT sampel sapi segar	28
Tabel. 6 Hasil uji penduga pada sampel susu sapi segar.....	31
Tabel 7. Hasil uji penegasan sampel susu sapi segar	33
Tabel 8. Hasil identifikasi bakteri <i>Escherichia coli</i> pada kelima sampel	39
Tabel 9. Hasil pengamatan uji morfologi dan uji biokimia <i>Staphylococcus aureus</i> sampel susu sapi segar.....	42
Tabel 10. Hasil morfologi dan uji biokimia <i>Salmonella sp.</i>	43

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Batasan cemaran susu segar Standar Nasional Indonesia (SNI)	52
Lampiran 2. Alat	52
Lampiran 3. Bahan	55
Lampiran 4. Hasil pengujian angka lempeng total.....	57
Lampiran 5. Hasil perhitungan angka lempeng total	62
Lampiran 6. Hasil analisis data statistik semua sampel	64
Lampiran 7. Hasil uji penduga MPN	65
Lampiran 8. Hasil uji penegasan MPN	67
Lampiran 9. Tabel MPN 3 tabung.....	69
Lampiran 10. Identifikasi bakteri <i>Escherichia coli</i>	70
Lampiran 11. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	72
Lampiran 12. Identifikasi <i>Salmonella sp.</i>	75

INTISARI

KURNIAWAN, M, D, 2018, PERHITUNGAN ALT, MPN DAN IDENTIFIKASI *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, DAN *Salmonella sp.* PADA SUSU SEGAR DI DAERAH SUKABUMI, KECAMATAN CEPOGO, KABUPATEN BOYOLALI, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI.

Susu segar merupakan medium yang sangat baik untuk pertumbuhan bakteri. Keberadaan bakteri selain menyebabkan susu segar menjadi rusak juga dapat membahayakan kesehatan manusia. Penelitian bertujuan untuk mengetahui jumlah ALT dan jumlah koliform serta mengetahui keberadaan bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.* pada susu segar.

Penelitian ini menggunakan 5 sampel susu sapi dari peternak yang berbeda di daerah Sukabumi, kecamatan Cepogo, kabupaten Boyolali. Masing-masing sampel susu dilakukan pengujian mikrobiologi. Pengujian mikrobiologi yang dilakukan antara lain ALT, MPN, dan untuk mengetahui keberadaan bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.* pada susu menggunakan isolasi sampel pada media selektif dan uji biokimia.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semua sampel susu sapi segar tidak memenuhi syarat yang ditetapkan SNI 7388-2009. Jumlah ALT sampel A sampai dengan sampel E berturut-turut sebesar $1,9 \times 10^7$; $1,9 \times 10^7$; $1,8 \times 10^7$; $1,8 \times 10^7$; dan $1,7 \times 10^7$ CFU/ml. Jumlah koliform pada semua sampel >1100 MPN/ml. Semua sampel terdapat kontaminasi *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, sedangkan sampel yang terkontaminasi *Salmonella sp.* yaitu sampel A, B dan C.

Kata kunci: Susu sapi, ALT, MPN, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.*.

ABSTRACT

KURNIAWAN, M, D, 2018, CALCULATION OF TPC, MPN AND IDENTIFICATION *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, AND *Salmonella* sp. ON FRESH MILK IN THE SUKABUMI AREA, CEPOGO SUB-DISTRICT, BOYOLALI DISTRICT, UNDERGRADUATE THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Milk is an appropriate bacterial growth and development. The existance of bacteria in milk causes damage and endanger human health. The aimed of this study is to know the amount of ALT and coliform and to know the existence of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. on milk.

This research used 5 samples of fresh cow's milk from different breeders in Sukabumi area, Cepogo sub-district, Boyolali district. Each milk sample was tested for microbiology. Microbiological testing conducted are ALT, MPN, and to determine the existence of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. in milk using isolation of sample on selective media and biochemical tests.

The results of this study indicated that all samples of fresh cow's milk does not eligible with specified requirements of SNI 7388-2009. The number of ALT for sample A through sample E is $1,9 \times 10^7$; $1,9 \times 10^7$; $1,8 \times 10^7$; $1,8 \times 10^7$; and $1,7 \times 10^7$ CFU/ml. The number of coliforms in all samples is >1100 MPN/ml. All samples were contaminated *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, while the samples were contaminated with *Salmonella* sp. are samples A, B and C.

Keywords: Cow's milk, ALT, MPN, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Susu merupakan minuman bergizi tinggi yang dihasilkan oleh ternak perah menyusui, seperti sapi perah, kambing perah, atau bahkan kerbau perah. Susu sapi perah sudah sangat dikenal oleh masyarakat. Susu sapi adalah sumber pangan yang sangat sempurna dan tinggi kandungan gizinya dan dapat dikonsumsi oleh segala umur dan mudah didapatkan serta harganya yang murah, sehingga bagi masyarakat yang sangat memperhatikan kesehatan tubuh menjadikan susu sebagai menu harian yang wajib dikonsumsi (Sumoprastowo 2000).

Susu segar merupakan bahan makanan yang bergizi tinggi karena mengandung zat-zat makanan yang lengkap dan seimbang seperti protein, lemak, karbohidrat, mineral, dan vitamin yang sangat dibutuhkan oleh manusia. Nilai gizinya yang tinggi juga menyebabkan susu merupakan medium yang sangat baik bagi mikroorganisme untuk pertumbuhan dan perkembangannya, sehingga dalam waktu yang sangat singkat susu segar menjadi tidak layak dikonsumsi bila tidak ditangani secara benar (Mennane *et al.* 2007). Mikroorganisme yang berkembang dalam susu selain menyebabkan susu menjadi rusak juga dapat membahayakan kesehatan manusia sebagai konsumen akhir. Penanganan susu yang tidak benar juga dapat menyebabkan daya simpan susu menjadi singkat, harga jual murah yang pada akhirnya juga akan menurunkan pendapatan peternak sebagai produsen susu (Saleh 2004).

Susu segar yang telah dipanaskan masih bisa terkontaminasi karena adanya kontaminasi silang dari peralatan dan air pencuci. Bakteri koliform terutama *Escherichia coli* menjadi indikasi dari kontaminasi fekal pada air minum dan makanan, jika mengkontaminasi susu maupun jumlah bahan pangan yang relatif besar akan menimbulkan gangguan kesehatan pada manusia seperti keracunan bahkan infeksi pencernaan serius, karena beberapa koliform koliform bersifat patogen bagi tubuh, sedangkan untuk kelompok bakteri koliform yang tidak

patogen mungkin tidak berbahaya, tetapi apabila diminum pada saat daya tahan tubuh rendah, kemungkinan dapat juga menyebabkan infeksi sehingga Standar Nasional Indonesia (SNI) tahun 2009 telah menetapkan batas maksimum cemaran mikroba dalam susu segar untuk angka lempeng total bakteri pada susu segar 1×10^6 CFU per ml dan untuk total bakteri koliform pada susu segar 2×10^1 CFU per ml serta batas cemaran bakteri *Escherichia coli* < 3 /ml, dan *Staphylococcus aureus* 1×10^2 /ml serta negatif untuk *Salmonella sp.*, namun tidak semua susu memenuhi standar yang ditetapkan tersebut . Menurut hasil penelitian Balia dkk. (2008) dari peternakan sapi perah rakyat di Lembang, Jawa Barat menunjukkan bahwa jumlah bakteri total pada susu segar adalah $3,7 \times 10^6$ CFU/ml, dan menurut penelitian Djaafar dkk. (2006) tentang “Cemaran Mikroba pada Susu dan Produk Unggas” banyak dijumpai cemaran mikroba patogen pada susu. Mikroba yang sudah teridentifikasi dan sering mencemari susu antara lain *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp*, dan *Campylabacter sp.*

Berdasarkan latar belakang, untuk mencegah masalah dan dampak negatif pada kesehatan masyarakat, peneliti ingin mengetahui kualitas dan kelayakan susu sapi segar dari peternakan Sukabumi, kecamatan Cepogo yang dilihat berdasarkan SNI untuk batas maksimum jumlah cemaran Angka Lempeng Total (ALT), *Most Probable Number* (MPN), dan keberadaan bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* serta *Salmonella sp.* pada susu segar tanpa pasteurisasi maupun pemanasan.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka masalah penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut:

Pertama, berapa jumlah ALT dan koliform pada susu segar di daerah Sukabumi, kecamatan Cepogo, kabupaten Boyolali?

Kedua, apakah pada susu segar di daerah Sukabumi, kecamatan Cepogo terdapat bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella sp.* ?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah

Pertama, mengetahui jumlah ALT dan jumlah koliform pada susu segar di daerah Sukabumi, kecamatan Cepogo, kabupaten Boyolali.

Kedua, mengetahui keberadaan bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella sp.* pada susu segar di daerah Sukabumi, kecamatan Cepogo, kabupaten Boyolali.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan data dan informasi tentang ALT dan koliform serta keberadaan bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella sp.* dalam susu segar di daerah Sukabumi, kecamatan Cepogo dan juga diharapkan dapat bermanfaat bagi pemerah susu, penjual serta masyarakat dalam memberikan informasi mengenai salah satu parameter kualitas dan keamanan terkait susu segar langsung minum berdasarkan SNI.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Susu Segar

Susu segar merupakan bahan makanan yang bergizi tinggi karena mengandung zat-zat makanan yang lengkap dan seimbang seperti protein, lemak, karbohidrat, mineral, dan vitamin yang sangat dibutuhkan oleh manusia. Nilai gizinya yang tinggi juga menyebabkan susu merupakan medium yang sangat baik bagi mikroorganisme untuk pertumbuhan dan perkembangannya, sehingga dalam waktu yang sangat singkat susu menjadi tidak layak dikonsumsi bila tidak ditangani secara benar (Mennane *et al.* 2007). Susu segar dilihat dari segi peternakan adalah suatu hasil sekresi kelenjar susu sapi, kerbau, kuda, kambing, unta dan ternak mamalia lainnya yang sedang laktasi dan dilakukan pemerasan dengan sempurna, tidak termasuk kolostrum serta tidak ditambah atau dikurangi oleh suatu komponen apapun (Buckle *et al.* 2007).

Susu segar mengandung komponen yang sangat penting bagi tubuh yaitu lemak, protein susu, laktosa, mineral, dan vitamin. Susu merupakan sumber vitamin yang cukup baik bagi tubuh. Tabel 1. menunjukkan bahwa susu mengandung vitamin yang larut dalam air (vitamin B dan C) dan vitamin yang larut dalam lemak (vitamin A, D, dan E) (Buckle *et al.* 2007).

Tabel 1. Kandungan vitamin dalam susu segar (Buckle *et al.* 2007)

Vitamin	Kandungan per 100g susu
Vitamin A	160 IU (International Unit)
Vitamin C	2,0 mg
Vitamin D	0,5-4,4 IU
Vitamin E	0,08 mg
Vitamin B	
Riboflavin	0,17 mg
Asam pantotenat	0,35 – 0,45 mg
Asam folat	3-8 µg
Biotin	0,5 µg
Vitamin B12	0,5 µg

Susu segar mengandung zat-zat mineral yang sangat esensial dan penting untuk dikonsumsi manusia. Mineral dalam susu segar dibedakan menjadi makromineral dan mikromineral. Makromineral yang penting dalam susu segar adalah kalsium (Ca), fosfor (P), natrium (Na), klor (Cl), dan magnesium (Mg). Ca dan P berperan penting dalam pembentukan tulang dan gigi. Mikromineral yang penting adalah zat besi (Fe), iodium (I), seng (Zn), selenium (Se), tembaga (Cu), kobalt (Co), dan flour (F). Zat besi merupakan mikromineral yang merupakan komponen hemoglobin sel darah merah. Kandungan beberapa mineral dalam susu dapat dilihat pada Tabel 2 (Buckle *et al.* 2007).

Tabel 2. Kandungan beberapa mineral dalam susu segar (Buckle *et al.* 2007).

Unsur	%
Potassium	0,140
Kalsium	0,125
Klorin	0,103
Fosfor	0,096
Sodium	0,056
Magnesium	0,012
Sulfur	0,025

Susu segar mengandung semua bahan yang diperlukan untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup anak. Komponen dan karakteristik nutrien yang terdapat dalam susu memungkinkan nutrien susu mudah dicerna, dan diserap oleh tubuh anak. Komposisi susu beberapa spesies mamalia disajikan pada Tabel 3 (Chandan *et al.* 2006)

Tabel 3. Komposisi susu beberapa spesies mamalia (Chandan *et al.* 2006)

Spesies	Air	Lemak	Protein	Laktosa	Abu
Keledai	90,0	1,3	1,7	6,5	0,5
Kerbau	74,2	6,6	3,2	5,2	0,8
Unta	86,5	3,1	4,0	5,6	0,6
Sapi	86,6	4,6	3,4	4,9	0,5
Domba	79,4	8,6	6,7	4,3	1,0
Kambing	86,5	4,5	3,5	4,7	0,8
Manusia	87,7	3,6	1,8	6,8	0,1
Kuda	89,1	1,6	2,7	6,1	0,5

Nilai gizinya yang tinggi juga menyebabkan susu merupakan medium yang sangat disukai oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan dan perkembangannya sehingga dalam waktu yang sangat singkat susu menjadi tidak layak dikonsumsi bila tidak ditangani secara benar (Saleh 2004). Susu segar sangat mudah rusak, oleh sebab itu harus selekas mungkin dipanaskan dan dikonsumsi. Susu segar yang sudah berubah warna hendaknya tidak dikonsumsi lagi, mengkonsumsi susu segar lebih menguntungkan. Selain nilai gizinya tinggi, harganya lebih murah dibandingkan susu yang lain. Batas maksimum cemaran susu segar yang belum mengalami pemanasan atau pasteurisasi menurut Standar nasional Indonesia (2009) dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Batas cemaran mikroba susu segar (Standar nasional Indonesia 2009)

Kategori pangan	Jenis cemaran mikroba	Batas maksimum
Susu segar (susu yang tidak dipasteurisasi) untuk proses lebih lanjut (susu sapi, kuda, kambing, dan ternak lain)	ALT Koliform	1×10^6 koloni/ml 2×10^1 koloni/ml

B. Bakteri Koliform

Bakteri koliform merupakan bakteri yang memiliki habitat normal di usus manusia dan juga hewan berdarah panas. Kelompok bakteri koliform diantaranya *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, dan *Enterobacter*. Beberapa definisi juga menambahkan *Serratia*, *Salmonella* dan *Shigella* sebagai kelompok bakteri koliform. Bakteri koliform terutama *Escherichia coli* menjadi indikasi dari kontaminasi fekal pada air minum dan makanan. Kehadiran bakteri koliform dinilai untuk menentukan keamanan mikrobiologi dari pasokan air dan makanan mentah atau makanan yang diolah (Acton 2013).

1. Ciri-ciri Koliform

Ciri-ciri bakteri koliform antara lain termasuk bakteri Gram negatif, berbentuk batang, tidak membentuk spora, bersifat aerob atau anaerob fakultatif.

Bakteri koliform memfermentasi laktosa menjadi asam dan gas dalam waktu 48 jam pada suhu 35⁰C. Bakteri koliform yang berada di dalam makanan atau minuman menunjukkan kemungkinan adanya mikroba yang bersifat enteropatogenik atau toksigenik yang berbahaya bagi kesehatan (Batt 2014).

2. Sifat-sifat Koliform

Bakteri koliform dibagi menjadi 2 golongan yaitu koliform fekal yang berasal dari tinja manusia, dan koliform non fekal yang bukan berasal dari tinja manusia. Koliform fekal biasanya ditemukan di saluran usus dari kebanyakan hewan berdarah panas, dan memiliki karakteristik yang halus guna membantu membedakan dari koliform lainnya. Hampir semua koliform fekal mampu memfermentasi pada suhu yang lebih tinggi dari 44,5⁰C-45,5⁰C. Bakteri koliform mampu tumbuh baik pada beberapa jenis substrat dan dapat mempergunakan berbagai jenis karbohidrat dan komponen organik lain sebagai sumber energi (Knechtges 2011).

3. Penyakit yang Ditimbulkan Koliform

Penyebaran bakteri koliform dari manusia ke manusia yang lain dapat terjadi melalui jalur fekal oral yaitu dengan cara manusia memakan makanan atau minuman yang terkontaminasi feses manusia atau hewan melalui media air, tangan, ataupun lalat. Infeksi yang penting secara klinis biasanya disebabkan oleh *Escherichia coli*, tetapi tidak menutup kemungkinan bakteri koliform lain seperti *Salmonella sp.* dan *Shigella sp.* bersifat patogen apabila termakan (Batt 2014). *Escherichia coli* dapat menyebabkan infeksi ekstraintestinal maupun intraintestinal. Infeksi ekstraintestinal yang disebabkan oleh *Escherichia coli* seperti kolesistitis, apendisitis, peritonitis, ataupun infeksi pada luka. Sedangkan infeksi intraintestinal biasanya disebabkan oleh *Escherichia coli* patogen seperti *Escherichia coli* enteropatogenik dan *Escherichia coli* enterotoksigenik yang dapat menyebabkan diare (Arnia & Efrida 2013). Bakteri koliform lain seperti *Klebsiella* dan *Citrobacter* dapat menyebabkan infeksi yang bersifat oportunistik, atau saat daya tahan tubuh dari host sedang mengalami penurunan. *Klebsiella* dapat menyebabkan

infeksi nosokomial dan dapat menyerang saluran nafas serta saluran kemih, sedangkan *Citrobacter* dapat menginfeksi saluran cerna (Arnia & Efrida 2013).

C. Angka Lempeng Total (ALT)

Angka lempeng total yaitu perhitungan jumlah tidak berdasarkan kepada jenis, tetapi terhadap golongan atau kelompok besar mikroorganisme umum seperti bakteri, mikroalga, ataupun kelompok bakteri tertentu. ALT bakteri ditentukan berdasarkan penamaan bahan dalam jumlah dan pengenceran tertentu ke dalam media yang umum untuk bakteri (Suriawiria 2003). Cara untuk menghitung jumlah koloni pada angka lempeng total menggunakan standar yang disebut dengan *Standar Plate Count* (Fardiaz 1992) yaitu sebagai berikut:

1. Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30 dan 300.
2. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan satu kumpulan koloni yang besar di mana jumlah koloninya diragukan dapat dihitung sebagai satu koloni.
3. Satu deretan rantai koloni yang terlihat sebagai suatu garis tebal dihitung sebagai satu koloni.

Untuk melaporkan suatu hasil analisa mikrobiologi digunakan suatu standar yang disebut *Standar Plate Count* (SPC). Yang menjelaskan mengenai cara menghitung jumlah koloni suatu contoh. Data yang dilaporkan sebagai SPC harus mengikuti peraturan sebagai berikut:

1. Hasil yang dilaporkan hanya terdiri dari dua angka, yaitu angka pertama didepan koma dan angka kedua di belakang koma. Jika angka ketiga sama dengan atau lebih besar dari 5 harus dibulatkan satu angka lebih tinggi pada angka kedua.
2. Jika semua pengenceran yang dibuat untuk menghasilkan angka kurang dari 30 koloni pada cawan petri, hanya jumlah pengenceran terendah yang dihitung. Hasil dilaporkan kurang dari 30 dikalikan besar pengenceran, tetapi jumlah sebenarnya harus dicantumkan dalam tanda kurung.

3. Jika semua pengenceran menghasilkan lebih dari 300 koloni pada cawan petri, hanya jumlah pada pengenceran tertinggi yang dihitung, misalnya dengan cara menghitung jumlah pada bagian cawan petri, kemudian hasilnya dikalikan dengan besarnya pengenceran, tetapi jumlah yang sebenarnya harus dicantumkan dalam tanda kurung.
4. Jika cawan dari dua tingkat pengenceran menghasilkan jumlah koloni antara 30 dan 300 dan perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah lebih kecil atau sama dengan 2, tentukan rata-rata kedua nilai tersebut dengan memperhitungkan pengencerannya. Jika perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah lebih besar dari 2, yang dilaporkan hanya hasil yang terkecil.
5. Jika digunakan dua cawan petri atau duplo per pengenceran, data yang diambil harus dari kedua cawan tersebut, tidak boleh diambil salah satu (Fardiaz 1992).

Syarat koloni yang ditentukan untuk dihitung adalah sebagai berikut:

1. Satu koloni dihitung 1 koloni.
2. Dua koloni yang bertumpuk dihitung 1 koloni.
3. Beberapa koloni yang berhubungan dihitung 1 koloni.
4. Dua koloni yang berhimpitan dan masih dapat dibedakan dihitung 2 koloni.
5. Koloni yang besarnya kurang dari setengah luas cawan dihitung 1 koloni (Waluyo 2004).

D. *Most Probable Number (MPN)*

MPN adalah prosedur untuk mengestimasi kepadatan populasi suatu mikroorganisme yang layak berada dalam suatu sampel uji. Hal ini berdasarkan penerapan teori probabilitas munculnya jumlah positif dari pengenceran bertingkat yang telah ditanamkan sampel pada sejumlah tabung. Data yang didapat merupakan kisaran data kuantitatif jumlah mikroorganisme (MPN/ml) berdasarkan data kualitatif hasil pertumbuhan mikroorganisme pada seri tabung yang berisi medium ciri spesifik. Nilai MPN ini berdasarkan perkiraan unit uang tumbuh (*Growth Unit/GU*) ataupun unit bentuk koloni (*Colony Forming Unit/CFU*). Hasilnya reliabel

nilai semua tabung dengan dilusi terendah positif sedangkan semua tabung dengan dilusi tertinggi hasilnya negatif. Umumnya dilusi bertingkat yang digunakan adalah MPN seri 3 tabung (United States Department of Agriculture 2013).

Metode MPN terdiri dari tiga tahap, yaitu uji pendugaan, uji penegasan dan uji pelengkap. Uji penduga merupakan tahap awal untuk memperoleh kombinasi tabung positif. Media yang digunakan pada tahap ini untuk mendeteksi semua koliform adalah *Lactose Broth* (LB) ataupun *Lauryl Sulphate Tryptose Broth* (LSTB). Uji penegasan adalah tahap lanjut dari uji penduga untuk memastikan hasil positif dari uji penduga tersebut. Adapun media yang digunakan adalah *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB) untuk koliform. Uji pelengkap adalah tahap akhir dari rangkaian MPN dan umumnya hanya *Escherichia coli* saja yang sampai tahap ini, dimana hasil dari tabung positif BGLB ataupun EB akan diinokulasi pada media selektif untuk bakteri tersebut. Media untuk koliform adalah *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) atau endo agar (United States Department of Agriculture 2013).

Interpretasi hasil yang positif pada uji penduga dan uji penegasan diamati dari timbulnya gas didalam tabung durham yang berada di dalam tabung uji sampel. Kombinasi hasil positif dari uji penduga dan uji peneguhan ini akan dicocokkan dengan tabel MPN sehingga didapatkan jumlah bakteri dalam satuan MPN/ml atau MPN/g. Output metode MPN adalah perkiraan jumlah unit tumbuh (growth unit) atau unit pembentuk-koloni (*Colony Forming Unit*; CFU) dalam sampel. Namun, pada umumnya, nilai MPN juga diartikan sebagai perkiraan jumlah individu bakteri. Satuan yang digunakan, umumnya per 100 mL atau per gram. Semakin kecil nilai MPN, maka air tersebut makin tinggi kualitasnya, dan semakin layak minum. Metode MPN memiliki limit kepercayaan 95 persen sehingga pada setiap nilai MPN, terdapat jangkauan nilai MPN terendah dan nilai MPN tertinggi (United States Department of Agriculture 2013).

E. *Staphylococcus aureus*

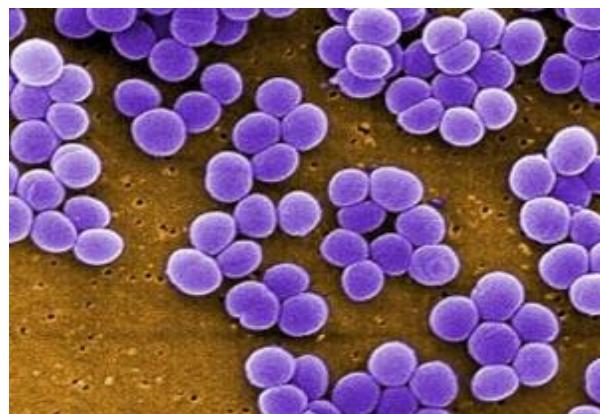
1. Sistematika *Staphylococcus aureus*

Menurut Soedarto (2015), sistematika ilmiah bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Pylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Bacillales
Family	: <i>Staphylococcaceae</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2. Morfologi, sifat dan identifikasi

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif berbentuk bulat, biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan seperti buah anggur yang dapat dilihat pada gambar 1. Bakteri ini terdapat pada kulit dan selaput mukosa manusia. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan sejumlah penyakit dari penyakit kulit ringan seperti infeksi kulit, *acne vulgaris*, *cellulitis folliculitis* sampai dengan penyakit berat seperti *pneumonia*, *meningitis*, *osteomyelitis endocarditis*, *toxic shock syndrome*, dan *septicemia*. *Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida dan protein yang berfungsi sebagai antigen dan merupakan substansi penting di dalam struktur dinding sel, tidak membentuk spora dan tidak membentuk flagel (Jawetz *et al.* 2011).



Gambar 1. Bentuk mikroskopis *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus tahan terhadap panas (tahan terhadap suhu 60°C selama 1 jam dan beberapa galur tahan terhadap suhu hingga 80°C selama 30 menit), tahan kering biasanya pada nanah yang kering akan tahan berminggu-

minggu hingga bulanan, dan tahan beberapa bahan kimia seperti garam yang sering terjadi pada makanan awetan (Iskamto 2009).

Cara untuk mengidentifikasi *Staphylococcus aureus* adalah dengan mengisolasi sampel pada medium selektif yang sesuai. Koloni yang tumbuh pada medium diamati dan dilanjutkan dengan berbagai uji, yaitu pewarnaan Gram, uji katalase, dan uji koagulase. Uji tersebut dapat membedakan *Staphylococcus aureus* dengan bakteri coccus yang lainnya (Iskamto 2009).

3. Patogenesis *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri penyebab infeksi. Bakteri ini masuk kedalam tubuh melalui folikel rambut, *sebaceous gland* (kelenjar keringat) atau luka-luka kecil. *Staphylococcus aureus* patogen mempunyai sifat dapat menghemolisa darah, menghasilkan koagulasi, membentuk pigmen berwarna kuning emas, dan dapat memecah manitol menjadi asam. Infeksi yang ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* dapat meluas kejaringan sekitarnya melalui darah dan limfe. Pernanahan yang bersifat menahun atau timbul radang yang disebut *osteomyelitis*. Perluasan lain juga dapat sampai ke paru-paru, selaput otak dan sebagainya (Suryono 2009).

Staphylococcus aureus dapat menyebabkan penyakit melalui kemampuannya berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan dan melalui pembentukan banyak zat ekstraseluler antara lain eksotosin dan koagulase. Infeksi kulit *Staphylococcus aureus* mungkin termasuk penyakit infeksi yang paling sering ditularkan secara langsung ke orang lain (Jawetz *et al.* 2011).

4. Pengobatan

Pengobatan infeksi *Staphylococcus aureus* pada pasien yang mengalami abses, terapi pilihan pertama menggunakan nafsilin, oksasilin atau golongan penisilin lainnya. Alternatif terapi kedua menggunakan sefalosporin generasi pertama, kedua, ketiga secara berurutan, dan terapi ketiga menggunakan klindamisin. Pasien bakterimia menggunakan terapi alternatif kedua dengan menggunakan vankomisin dan alternatif ketiga menggunakan makrolida (Goodman & Gilman 2007).

F. *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri flora normal pada saluran cerna, yang dapat menyebabkan infeksi atau diare sedang sampai berat pada saluran cerna manusia. Bakteri ini termasuk dalam famili Enterobacteriaceae yang dapat hidup dalam usus besar manusia dan hewan, dalam tanah dan dalam air (Brook *et al.* 2007). *Escherichia coli* dapat menyebabkan diare yaitu dengan mekanisme produksi enterotoksin yang secara tidak langsung menyebabkan kehilangan cairan dan dengan invasi yang sebenarnya lapisan epitelium dinding usus, yang menyebabkan peradangan dan kehilangan cairan (Brook *et al.* 2007).

1. Sistematika *Escherichia coli*

Menurut Brook *et al.* (2007) *Escherichia coli* diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi	: Protophyta
Sub Devisi	: Schizomycetea
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia coli</i>

2. Morfologi dan identifikasi

Escherichia coli adalah bakteri Gram negatif, berbentuk batang pendek, berderet seperti rantai, dapat memfermentasi glukosa dan laktosa membentuk asam dan gas. *Escherichia coli* dapat tumbuh baik pada media *Mac Conkey* dan dapat memecah laktosa dengan cepat, juga dapat tumbuh pada media agar. Bakteri dapat merombak karbohidrat dan asam lemak menjadi asam dan gas serta dapat menghasilkan gas karbondioksida dan hidrogen (Pelczar 1986). *Escherichia coli* berbentuk batang pendek, Gram negatif dengan ukuran $0,4 - 0,7 \mu\text{m} \times 1,4 \mu\text{m}$. Sebagian besar bersifat motil (bergerak) dan beberapa galur memiliki kapsul (Supardi 1999). mikroskopis bakteri *Escherichia coli* ditunjukan pada Gambar 2.



Gambar 2. Bentuk mikroskopis *Escherichia coli*

Escherichia coli banyak ditemukan di dalam usus halus manusia sebagai flora normal, tetapi bila kesehatan menurun, bakteri ini dapat bersifat patogen terutama akibat toksin yang dihasilkan. *Escherichia coli* umumnya tidak menyebabkan penyakit bila masih berada dalam usus, tetapi dapat menyebabkan penyakit pada saluran kencing, paru-paru, saluran empedu dan saluran otak (Brook *et al.* 2007). Sebagian besar penyakit yang disebabkan oleh *Escherichia coli* ditularkan melalui makanan yang tidak dimasak dan daging yang terkontaminasi. Penularan penyakit dapat terjadi melalui kontak langsung dan biasanya terjadi di tempat yang memiliki sanitasi dan lingkungan yang kurang bersih (Brook *et al.* 2007).

3. Toksin *Escherichia coli*

Galur *Escherichia coli* menghasilkan enterotoksin yang tidak tahan terhadap pemanasan yang dapat menyebabkan meningkatnya sekresi air dan klorida kedalam lumen usus dan diare ringan pada anak-anak. *Escherichia coli* menghasilkan enterotoksin yang disebut *Enterotoksigenik Escherichia coli* (ETEC) dan mempunyai kemampuan untuk memasuki epitel usus yang disebut dengan *Enteroinvasif Escherichia coli* (EIEC). Keadaan kurang baik seperti bayi prematur, usia tua, terserang penyakit dan setelah imunisasi menyebabkan bakteri *Escherichia coli* dapat mencapai saluran darah dan terjadi sepsis. *Escherichia coli* diekstraksi dalam jumlah yang besar di dalam feses, menyebabkan kontaminasi lingkungan termasuk tanah (Brook *et al.* 2007)

G. *Salmonella* sp.

Salmonella merupakan bakteri penyebab salmonellosis yang merupakan salah satu penyakit endemis dan menimbulkan kerugian yang serius terutama di Negara berkembang termasuk Indonesia. Bakteri *Salmonella* ditularkan melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi kotoran atau tinja dari seorang penderita tifoid. Bakteri masuk melalui mulut bersama makanan dan minuman, kemudian berlanjut ke saluran pencernaan. Jika bakteri yang masuk dengan jumlah yang banyak maka bakteri akan masuk ke dalam usus halus selanjutnya masuk ke dalam sistem peredaran darah sehingga menyebabkan bakterimia, demam tifoid, dan komplikasi organ lain (Srigede 2015).

1. Sistematika *Salmonella* sp.

Menurut Jawetz *et al.* (2011) *Salmonella* sp. diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	:	Bacteria
Filum	:	Proteobacteria
Ordo	:	Gamma Proteobacteria
Class	:	Enterobacteriales
Family	:	Enterobacteriaceae
Genus	:	Salmonella
Spesies	:	<i>Salmonella typhi</i>

2. Morfologi dan sifat biakan

Salmonella sp. merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang bergerak yang khas memfermentasikan glukosa dan manosa tanpa membentuk gas tetapi tidak memfermentasikan laktosa dan sukrosa. *Salmonella* sp. menghasilkan H2S (Jawetz *et al.* 2011). Isolat *Salmonella* sp. pada media Salmonella Shigella Agar (SSA) pada suhu 37°C maka koloni akan tampak cembung, transparan, bercak hitam dibagian pusat (Nugraha *et al.* 2012). Bakteri *Salmonella* akan mati pada suhu 60°C selama 15 – 20 menit melalui pasteurisasi, pendidihan dan khlorinasi (Departemen Kesehatan RI 2006).

3. Epidemiologi *Salmonella* sp.

Salmonella sp. merupakan flora normal dalam usus dimana infeksi terjadi akibat kontaminasi makanan dan minuman yang mengakibatkan bakteri masuk ke

dalam tubuh. Sebagian besar penderita tifoid merupakan agen pembawa (*carrier*) yang terletak pada kandung empedu, saluran empedu, dan sebagian pada usus atau saluran kemih (Jawetz *et al.* 2011). Indonesia, tifoid tidak dijumpai secara endemis namun sering dijumpai pada kota-kota besar. Kejadian kasus penyakit pada pria dan wanita tidak terdapat perbedaan namun angka kejadian tertinggi ditemukan pada usia remaja. Data yang ditemukan pada rumah sakit menunjukkan peningkatan jumlah penderita tiap tahunnya sekitar 500/100000 penduduk dimana angka kematian yaitu 0,6 - 5 %. Terjadinya kematian tersebut akibat terlambatnya penanganan, pengobatan dan tingginya biaya pengobatan (Departemen Kesehatan RI 2006).

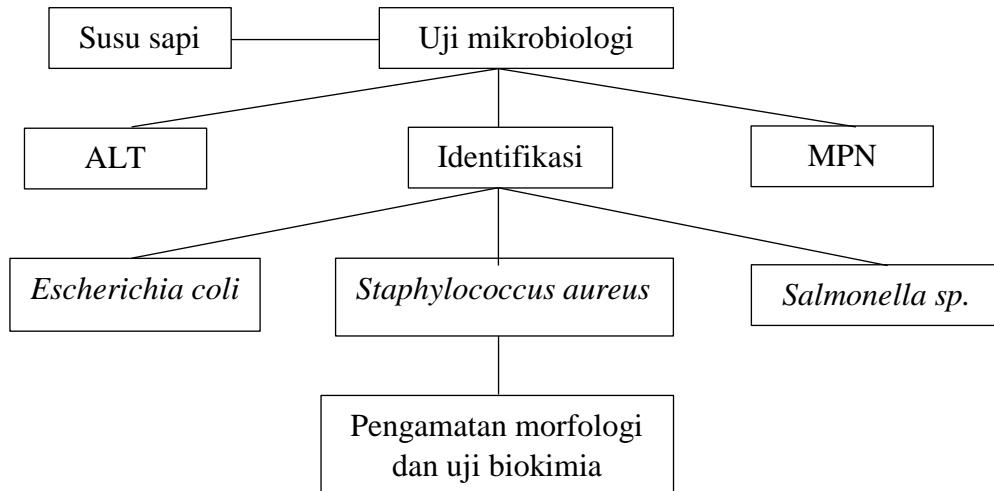
H. Media

Media adalah bahan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme. Keasaman (*pH*) medium sangat penting bagi pertumbuhan organisme karena kerja enzim yang dipengaruhi oleh *pH* (Hadioetomo 2005). Ada tiga jenis media antara lain media cair, media padat dan setengah padat. Media cair yang dapat digunakan untuk berbagai keperluan, seperti pembiakan organisme dan fermentasi. Media padat digunakan untuk mengamati bentuk atau morfologi koloni serta mengisolasi biakan murni, sedangkan media setengah padat biasanya digunakan untuk menguji ada tidaknya motilitas pergerakan mikroba maupun kemampuan fermentasi (Pratiwi 2008)

I. Sterilisasi

Sterilisasi adalah tindakan untuk membebaskan alat dan media dari mikroba. Alat dan bahan dapat dikatakan steril apabila terbebas dari mikroba. Cara sterilisasi yang umum dilakukan antara lain sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan, penggunaan sinar X, dan penggunaan sinar UV (Suriawiria 2005). Sterilisasi secara kimia dengan menggunakan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik dilakukan dengan penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi mengalami perubahan atau penguraian (Darmadi 2008).

J. Kerangka Pikir Penelitian



Gambar 3. Kerangka pikiran penelitian

K. Landasan Teori

Susu sapi adalah minuman menyehatkan yang paling digemari masyarakat. Susu sapi merupakan sumber pangan yang sangat sempurna bagi pertumbuhan dan perkembangan tubuh manusia. Susu sapi selain mudah didapat dan harganya yang murah, juga mengandung nutrisi yang sangat penting bagi tubuh. Kandungan nutrisi susu sapi meliputi protein, lemak, vitamin dan mineral sehingga bagi masyarakat yang sangat memperhatikan kesehatan tubuh menjadikan susu sebagai menu harian yang harus dikonsumsi (Sumoprastowo 2000).

Susu segar merupakan bahan organik, dimana susu sangat mudah sekali rusak. Kerusakan pada susu segar diantaranya disebabkan oleh bakteri, dan susu segar juga merupakan salah satu media yang baik untuk perkembangan bagi bakteri yang dapat menjadi sarana potensial bagi penyebaran bakteri patogen sepanjang penanganannya tidak memperhatikan kebersihan. Pencemaran pada susu segar terjadi sejak proses pemerasan, dapat berasal dari berbagai sumber seperti kulit sapi, air, tanah, debu, manusia, peralatan, dan udara. Cemaran bakteri pada susu segar dapat dijadikan indikator bahwa sapi tersebut terinfeksi penyakit. Tingginya tingkat pencemaran menyebabkan jumlah mikroorganisme dalam susu segar juga

meningkat, sehingga sangat membahayakan bila dikonsumsi oleh manusia karena dapat menyebabkan penyakit terutama penyakit yang berhubungan dengan saluran pencernaan. Pencemaran susu secara ekonomi juga akan merugikan produsen susu segar (Saleh 2004).

Menurut hasil penelitian Balia dkk. (2008) dari peternakan sapi perah rakyat di Lembang, Jawa Barat menunjukkan bahwa jumlah bakteri total pada susu segar adalah $3,7 \times 10^6$ CFU/ml, dan menurut penelitian Djaafar dkk. (2006) tentang “Cemaran Mikroba pada Susu dan Produk Unggas” banyak dijumpai cemaran mikroba patogen pada susu. Mikroba yang sudah teridentifikasi dan sering mencemari susu antara lain *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp*, dan *Campylabacter sp*, sedangkan Standar Nasional Indonesia (SNI) tahun 2009 telah menetapkan Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam susu segar tanpa pemanasan atau pasteurisasi, untuk batas total bakteri pada susu segar 1×10^6 CFU per ml dan untuk total bakteri koliform pada susu segar 2×10^1 CFU per ml, batas cemaran bakteri *Escherichia coli* < 3 /ml, dan *Staphylococcus aureus* 1×10^2 / ml serta negatif untuk *Salmonella sp*.

L. Hipotesis

Pertama, ALT dan MPN susu dapat melebihi batas cemaran bakteri di dalam susu sapi segar sesuai SNI.

Kedua, Bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella sp*. dapat mencemari susu sapi segar.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua obyek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu sapi segar.

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam melakukan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu sapi segar yang diperah pagi hari oleh beberapa peternak di daerah Sukabumi, kecamatan Cepogo.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama pada penelitian ini adalah jumlah angka lempeng total dan koliform didalam susu sapi segar.

Variabel utama kedua pada penelitian ini adalah ada tidaknya bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella sp* dan *Staphylococcus aureus* didalam sampel susu sapi segar.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama memuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung. Variabel yang diteliti terlebih dahulu dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkendali.

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah Susu sapi segar yang diperah pagi hari.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria peneliti. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah Angka Lempeng Total (ALT), *Most Probable Number* (MPN), bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, dan *Staphylococcus aureus* pada sampel susu sapi segar.

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah variabel yang dianggap berpengaruh terhadap variabel tergantung selain variabel bebas, sehingga perlu ditetapkan kualitasnya agar hasil yang diperoleh dapat diulang dalam penelitian lain secara tepat. Variabel terkendali yang digunakan pada penelitian ini adalah kondisi laboratorium yang digunakan termasuk alat-alat, kondisi peneliti, dan bahan media, waktu inkubasi, dan metode yang digunakan dalam penelitian.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, susu sapi segar adalah susu sapi yang diperah pada pagi hari dan belum mengalami pencampuran serta pemanasan atau pasteurisasi.

Kedua, angka lempeng total adalah metode yang digunakan peneliti untuk mengetahui jumlah bakteri dalam sampel susu sapi segar.

Ketiga, MPN adalah metode yang digunakan peneliti untuk memperkirakan jumlah koliform didalam sampel susu sapi segar.

Keempat, Bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, dan *Staphylococcus aureus* adalah bakteri yang umumnya mencemari susu segar sehingga susu tidak layak untuk dikonsumsi karena tidak memenuhi syarat standar SNI (2009).

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini inkubator, botol steril, box es, lemari es, rak tabung reaksi, spritus, tabung reaksi, spidol, pipet takar, mikropipet, mikro pipet tip, spreader, tabung durham.

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah kalium tellurit, *aquadest* steril, etanol 96%, spritus dan media yang digunakan *Nutrient Agar* (NA), *Salmonella Shigella Agar* (SSA), *Vogel Johnson Agar* (VJA), *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA), *Lactose Broth* (LB), *Brillian Green Lactose Broth* (BGLB). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu sapi segar yang baru diperah pagi hari belum mengalami pencampuran dan pemanasan atau pasteurisasi.

D. Jalannya Penelitian

1. Penyiapan sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah susu sapi segar yang diambil dari 5 peternak susu sapi perah di daerah Sukabumi, kecamatan Cepogo, kabupaten Boyololi. Sampel dimasukan ke dalam botol steril, kemudian dijaga dalam keadaan tertutup dan diberi tanda A sampai E serta dimasukan ke dalam kotak es agar selalu dalam keadaan segar.

2. Sterilisasi

Sterilisasi inkas dengan cara menggunakan formalin, alat-alat gelas dan media agar yang digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada tekanan 1,5 atm dan suhu 121°C selama 15 menit, sedangkan alat-alat seperti jarum Ose disterilkan dengan pemanasan api langsung (Brook *et al.* 2007).

3. Uji angka lempeng total

Sampel susu sapi yang telah disiapkan diambil sebanyak 1 ml secara steril dan diencerkan ke dalam tabung yang berisi 9 ml *aquadest*. Pengenceran sampel susu sapi segar dilakukan hingga pengenceran 10^{-8} . Semua sampel yang telah diencerkan diambil sebanyak 100 μL pada media NA lalu diratakan dengan *spreader*, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil tiap sampel dihitung berdasarkan aturan *Standard plate count* (SPC).

4. Uji MPN

4.1 Uji penduga. Uji penduga menggunakan 9 tabung yang berisi media LB, dengan jumlah yang berbeda 3 tabung berisi 10 ml, 3 tabung berisi 1 ml, dan 3 tabung berisi 0,1 ml. Sampel diambil 1 ml dari sampel susu segar lalu dimasukan kedalam 9 tabung LB yang dimasukkan tabung durham, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Sampel terjadi perubahan menjadi keruh dan timbul gas dalam tabung durham (hasilnya positif).

4.2 Uji konfirmasi. Tabung LB yang positif dikonfirmasi dengan cara diambil 1 Ose lalu dimasukan kedalam tabung yang berisi media BGLB yang dimasukan tabung durham. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati ada tidaknya

perubahan kekeruhan dan timbul gas dalam tabung Durham pada tabung berisi media BGLB. Hasil positif setiap sampel dicocokan pada tabel MPN 3 tabung.

5. Identifikasi bakteri *Escherichia coli*

5.1 Isolasi *Escherichia coli*. Sampel susu sapi segar diambil sebanyak 1 Ose dioleskan dengan metode *streak plate* pada media EMBA. Sampel dikatakan positif *Escherichia coli* apabila koloni berwarna hijau metalik.

5.2 Uji biokimia *Escherichia coli*. Koloni bakteri yang tumbuh pada EMBA berupa koloni hijau metalik dilakukan uji biokimia dengan menggunakan SIM, KIA, urea dan sitrat. Pengujian SIM (Sulfida Indol Motilitas) diawali dengan mengambil koloni bakteri kemudian ditusukan pada media SIM, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Identifikasi ini berfungsi untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas bakteri. Uji sulfida positif bila media berwarna hitam, uji indol positif bila terbentuk berwarna merah setelah ditambah dengan reagen *Erlich A* dan *B*, uji motilitas positif bila terjadi pertumbuhan bakteri pada seluruh media. Hal ini menunjukkan adanya pergerakan dari bakteri yang diinokulasikan, yang berarti bahwa bakteri ini memiliki flagella (Haryani *et al.* 2012).

Media KIA (*Kliger's Iron Agar*) merupakan media yang terbentuk padat, keadaan miring warna merah, dan berfungsi untuk uji fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa) serta sulfida. Koloni dari EMBA yang positif bakteri *Escherichia coli* digores dan ditusuk pada media KIA kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan pada lereng, dasar, ada tidaknya gas dan terbentuk warna hitam pada media. Pada bagian miring, jika bakteri dapat memfermentasikan laktosa menjadi asam, warna media berubah menjadi kuning (Haryani *et al.* 2012).

Uji Urease bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri mengubah urea menjadi amoniak. Uji urease dilakukan dengan cara koloni bakteri diambil kemudian ditusukan pada media urease kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media dari warna kuning menjadi merah muda.

Koloni bakteri inokulasi pada media dengan cara inokulasi goresan pada permukaan lereng sitrat kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Media sitrat merupakan media yang digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal. Bakteri yang memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon akan menghasilkan natrium karbonat yang bersifat alkali, sehingga dengan adanya indikator brom *thymol blue* menyebabkan warna biru pada media (Suyati 2010).

6. Identifikasi bakteri *Salmonella sp.*

6.1 Isolasi *Salmonella sp.* Sampel susu sapi segar diambil sebanyak 1 Ose diinokulasikan dengan metode *streak plate* pada media SSA. Sampel diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian sampel dilakukan pengamatan, dikatakan positif *Salmonella sp.* apabila koloni berwarna hitam atau putih keabu-abuan (transparan).

6.2 Uji biokimia *Salmonella sp.* Koloni yang tumbuh pada SSA berupa koloni berwarna hitam atau putih keabu-abuan (transparan) dilakukan uji biokimia yaitu KIA, SIM, urea, dan sitrat. Uji biokimia pada media KIA diawali dengan menginokulasi koloni bakteri yang tumbuh dari media SSA ke media KIA dengan cara tusukan dan goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk uji fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa), ada tidaknya gas dan sulfida. Jika bagian lereng berwarna merah maka ditulis K, bagian dasar berwarna kuning ditulis A, adanya gas ditandai dengan pecahnya atau terangkatnya media keatas ditulis G (+) dan jika terbentuk warna hitam pada medium maka ditulis S (+).

Uji pada media SIM koloni sampel dari SSA diinokulasi pada media dengan cara tusukan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas bakteri. Uji sulfida positif apabila menghasilkan warna hitam, uji indol positif bila terbentuk berwarna merah setelah ditambah dengan reagen *Erlich* A dan B, dan uji motilitas positif bila terjadi pertumbuhan bakteri pada seluruh media.

Uji Urease bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri mengubah urea menjadi amoniak. Uji urease dilakukan dengan cara koloni bakteri diambil

kemudian ditusukan pada media urease kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media dari warna kuning menjadi merah muda.

Uji pada media sitrat koloni bakteri sampel dari SSA diinokulasikan dengan cara goresan pada permukaan media sitrat, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal. Uji ini positif bila media berubah menjadi warna biru.

7. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*.

7.1 Isolasi *Staphylococcus aureus*. Sampel susu sapi segar diambil sebanyak 1 Ose dioleskan dengan metode *streak plate* pada media selektif dan differensial *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang telah ditetesi 3 tetes kalium telurit 1 % dalam cawan petri dan dinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian ditunjukkan yaitu warna koloni hitam dan warna medium disekitar koloni kuning, karena *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasi manitol menjadi suasana asam dan mereduksi telurit sehingga membentuk koloni warna hitam. Fenol red terbentuk maka medium di sekitar koloni berwarna kuning karena *Staphylococcus aureus* mereduksi manitol (Brook *et al.* 2007).

7.2 Uji biokimia *Staphylococcus aureus*. Koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada VJA dilakukan uji biokimia katalase dan koagulase. Uji katalase dibuat dengan cara mencampurkan 2-3 tetes hidrogen peroksida 3 % dengan 1 ose koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada VJA. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung udara atau buih. Uji koagulase dilakukan dengan cara mencampurkan plasma sitrat sebanyak 2-3 tetes dengan 1 Ose koloni bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil koagulase positif apabila terjadi penggumpalan plasma.

E. Analisis Hasil

Analisa statistik dalam penelitian uji angka lempeng total terlebih dahulu dilihat apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak menggunakan uji distribusi normal (Uji *Kolmogorov-Smirnov*), jika data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan metode uji non parametrik, sedangkan jika data terdistribusi

normal ($p > 0,05$) dilakukan uji parametrik (anova) dua jalan. Uji dilakukan dengan *Post Hoc test* untuk melihat ada tidaknya perbedaan pada masing-masing kelompok perlakuan. Untuk hasil uji koliform dengan MPN disesuaikan dengan tabel MPN 3 tabung

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel susu sapi segar langsung dari beberapa peternak di Tempat Pengumpulan Susu (TPS) 03 daerah Sukabumi, kecamatan Cepogo, setelah sapi diperah pada pagi hari (jam 04.00-06.30 WIB). Para pemerah di peternakan saat memerah susu hanya mencuci tangan dengan air saja tanpa menggunakan sabun. Bagian puting dan sekitar payudara sapi hanya dibersihkan dengan air dari selang maupun air di dalam ember. Susu yang diperah oleh para peternak ada yang ditampung dahulu dalam ember non steril kemudian dituang ke dalam *milkcan stainless* atau langsung dituang kedalam *milkcan stainless*. Hasil perahan susu peternak diambil oleh pengumpul dan langsung dibawa ke Koperasi Unit Desa (KUD).

Pemerasan susu sapi oleh peternak di daerah Sukabumi TPS 3 berbeda dengan menurut Suheri (2015) dimana sapi sebelum diperah harus dimandikan dahulu terutama bagian ambingnya, lalu dilap dengan air hangat (37°C) agar tidak tercemar oleh bakteri dan merangsang keluarnya susu dari kelenjar susu, kemudian ambing susu dioleskan dengan *vaseline* agar tidak lecet. Pemerasan dilakukan dengan cara menggunakan kelima jari tangan tanpa dipijat ataupun ditarik. Pemerasan harus dilakukan sampai susu yang keluar habis agar kelenjar-kelenjar susu dapat terangsang untuk memproduksi susu kembali. Proses untuk menghindari kemungkinan adanya mastitis, sebaiknya pada pemerasan pertama dan kedua air susu ditampung dalam cangkir yang ditutup dengan kain hitam, kemudian dilihat apakah susu bercampur dengan darah ataupun nanah. Sapi apabila benar terjangkit mastitis pemerasan harus segera dihentikan, setelah pemerasan, puting ambing sapi dibilas dengan air hangat yang bersih lalu dicelup dengan larutan *biocid*.

Sampel susu yang didapat dimasukan ke dalam botol steril, kemudian dimasukan ke dalam kotak es agar mutu sampel terjaga sampai di tempat penelitian di Laboratorium mikrobiologi FK UNS. Sampel selanjutnya dilakukan pengujian

ALT, uji MPN, identifikasi bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella sp* pada media selektif bakteri masing-masing.

B. Pengujian ALT

Angka lempeng total merupakan indikator umum yang menggambarkan derajat kontaminasi makanan maupun minuman. ALT didefinisikan sebagai jumlah *colony forming unit* (cfu) bakteri pada setiap gram atau setiap milliliter makanan/minuman. ALT bakteri ditentukan berdasarkan penamaan bahan dalam jumlah dan pengenceran tertentu ke dalam media yang umum untuk bakteri (Suriawiria 2003).

Pengujian ALT dilakukan dengan beberapa tahap yaitu pengenceran sampel, pencampuran dengan medium, inkubasi dan interpretasi hasil. Pengenceran yang digunakan oleh penguji pada uji mikrobiologis angka lempeng total terhadap sampel susu sapi segar adalah 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , dan 10^{-8} . Tujuan pengenceran yaitu untuk mengurangi kepadatan bakteri yang ditanam. Pengenceran merupakan proses yang dilakukan untuk menurunkan atau memperkecil konsentrasi larutan dengan menambah zat pelarut kedalam larutan sehingga volume larutan berubah (Purwaningrum 2015). Pengenceran dilakukan untuk mendapatkan koloni yang tumbuh secara terpisah, dan dapat dihitung dengan mudah, hal ini akan sangat membantu terutama untuk sampel dengan kontaminasi tinggi.

Tahap pencampuran dengan medium menggunakan metode *spread plate*. Medium padat yang digunakan untuk ALT adalah *Nutrient Agar* (NA). NA adalah suatu medium yang mengandung sumber nitrogen dalam jumlah yang cukup tetapi tidak mengandung sumber karbohidrat sehingga baik untuk pertumbuhan bakteri, sedangkan kapang khamir tidak tumbuh (Khairinnada 2002). Hasil Angka lempeng total dihitung menggunakan alat menghitung koloni yaitu *colony counter*. Perhitungan koloni yang tumbuh berdasarkan aturan *Standard plate count* (SPC). Hasil kemudian dihitung dengan rumus yang dapat dilihat pada lampiran. Untuk menentukan jumlah koloni dari sampel susu segar yang diuji. Hasil pengujian ALT dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil pengujian ALT sampel sapi segar

Nama sampel	Replikasi	Seri pengenceran		Cfu/mL
		10^{-5}	10^{-6}	
A	1	192	131	
	2	185	124	$1,9 \times 10^7$
	3	188	128	
B	1	189	127	
	2	195	135	$1,9 \times 10^7$
	3	191	130	
C	1	178	123	
	2	175	117	$1,8 \times 10^7$
	3	177	120	
D	1	181	133	
	2	179	128	$1,8 \times 10^7$
	3	176	122	
E	1	180	130	
	2	171	86	$1,7 \times 10^7$
	3	164	83	

Berdasarkan hasil pengamatan semua sampel pada pengujian ALT menunjukkan hasil melebihi standar batas cemaran 1×10^6 CFU/ml yang ditetapkan oleh SNI 7388-2009, artinya semua sampel menurut standar tidak memenuhi syarat untuk dikonsumsi langsung ataupun langsung diolah lebih lanjut. Semua hasil pengujian ALT yang didapat sampel dengan cemaran paling tinggi adalah sampel B yaitu sebesar $1,9 \times 10^7$ CFU/ml sedangkan sampel yang menunjukkan hasil ALT yang paling rendah adalah sampel E yaitu $1,7 \times 10^7$ CFU/ml. Berdasarkan tentang hasil terdahulu angka lempeng total pada 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, sedangkan hasil penelitian Isnaeny (2009) dipeternakan LHM Solo menunjukkan bahwa jumlah total bakteri tertinggi pada susu segar yaitu $6,1 \times 10^8$

CFU per ml, hal ini menunjukkan bahwa jumlah bakteri total pada susu segar dapat melebihi 1×10^6 CFU/ml batas maksimum cemaran yang ditetapkan SNI tahun 2009. Susu segar sebelum dikonsumsi maupun diolah sebaiknya harus dipasteurisasi terlebih dahulu pada suhu 65°C selama 30 menit atau 71°C selama 15 detik untuk membunuh atau menurunkan angka lempeng total pada susu segar (Abu dkk. 2000).

Tingginya jumlah ALT sampel dapat dipengaruhi oleh kebersihan kandang, kondisi pemerah, kondisi kesehatan dan kebersihan sapi tersebut. Menurut Kirk (2005), manajemen kebersihan kandang yang baik dapat menurunkan Total Plate Count dan sedimen susu, selain itu menurut Saksono dan Saksono (1986), mengemukakan bahwa bakteri dalam air susu akan meningkat jumlahnya disebabkan oleh kandang yang kurang bersih. Kandang harus dibuat memenuhi syarat, antara lain: drainase dan ventilasi baik, lantai tidak licin, ada penampungan kotoran dan ukuran kandang minimal $1,5 \times 2,5$ meter per ekor.

Jumlah bakteri dalam susu dapat naik dengan cepat jika kandang hewan tidak bersih dan tidak sehat. Kandang yang kotor dapat menyebabkan banyak kontaminan, baik bakteri maupun benda lainnya seperti debu, pasir, bulu dan sebagainya. Keadaan kandang harus bersih jika diinginkan perolehan susu segar yang baik. Kotoran hewan, bekas tanah, sisa pakan dan kotoran lainnya harus dibuang kemudian lantai kandang dicuci dengan air bersih yang mengalir sampai bersih. Konstruksi atau bangunan kandang juga harus diperhatikan. Sisa air cucian harus dapat mengalir dengan baik dengan membuat lantai kandang agak miring, aliran udara di dalam kandang atau keluar masuk ruangan kandang juga baik dan lancar dengan mengatur jumlah dan luas ventilasinya. Sarang serangga dan yang semacamnya, setiap kali harus dibersihkan (Hadiwiyoto 1994).

Sebelum memerah susu, pemerah tidak selalu mencuci tangan, pemerah hanya mencuci tangan dengan air bersih tanpa menggunakan sabun atau desinfektan. Saksono dan Saksono (1986), mengemukakan bahwa pada saat memerah susu, pemerah harus menjaga kebersihan pakaian dan tangan. Pemerah harus sehat dan tidak mempunyai luka serta mempunyai pengetahuan tentang higiene dan sanitasi untuk mencegah terjadinya kontaminasi selama pemerasan.

Berdasarkan Hadiwiyoto (1994), sapi yang tidak sehat dan tidak bersih pada waktu diperah akan menghasilkan susu yang mempunyai kandungan bakteri dalam jumlah banyak. Kesehatan dan kebersihan ambing harus diperhatikan benar. Setiap hari sapi perah perlu dimandikan sampai bebas dari kotoran hewan dan sisa pakan yang menempel pada tubuhnya. Merawat kesehatan dan kebersihan sapi perah sangat besar pengaruhnya terhadap jumlah bakteri dalam susu. Sapi yang tidak sehat dan tidak bersih pada waktu diperah akan menghasilkan susu yang mempunyai kandungan bakteri dalam jumlah banyak.

Kesehatan dan kebersihan ambing harus diperhatikan, biasanya ambing yang tidak sehat menyebabkan susu banyak mengandung bakteri *Micrococcus*, *Streptococcus*, dan *Corynebacterium*, sedangkan ambing yang kotor menyebabkan susu mengandung bakteri *Escherichia coli*, *enterococci*, bakteri tanah golongan Gram negatif, dan bakteri yang berspora. Hewan yang kotor juga sering sebagai penyebab diperoleh susu yang tercemar spora jamur. Jika sapi perah akan diperah menderita sakit, hendaknya diseihatkan (disembuhkan) terlebih dahulu sementara susunya jangan dikonsumsi. Setiap hari sapi perlu dimandikan sampai bebas dari kotoran hewan dan sisa-sisa pakan yang menempel pada tubuhnya. Keadaan tubuh sapi harus bersih setiap kali akan diperah susunya (Hadiwiyoto 1994)

Menurut Handayani dan Purwanti (2010), kebersihan peralatan yang dipakai khususnya ember penampung hasil perahan sangat mempengaruhi kebersihan dan kesehatan susu. Peralatan yang kotor akan mencemari susu sehingga mempercepat proses pembusukan dan susu menjadi asam atau rusak. Tempat untuk menampung susu harus benar-benar bersih dan higienis serta sebaiknya setelah susu diperah, tempat langsung ditutup agar tidak terkontaminasi kotoran maupun bakteri.

Data pengujian ALT yang diperoleh selanjutnya dianalisis secara statistik. Hasil analisis menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antar sampel ($p>0,05$). Hal ini dikarenakan sampel didapat dari daerah yang sama yaitu di daerah Sukabumi, kecamatan Cepogo, kabupaten Boyolali sehingga cara perlakuan dan pengambilan sampel kemungkinan sama, walaupun dari peternak yang berbeda.

C. Pengujian MPN

Pengujian mikrobiologis secara MPN berguna untuk memperkirakan jumlah unit tumbuh (*growth unit*) atau unit pembentuk-koloni (colony forming unit; cfu) dalam sampel. Nilai MPN juga diartikan sebagai perkiraan jumlah individu bakteri. Semakin kecil nilai MPN, maka sampel tersebut makin tinggi kualitasnya, dan semakin layak minum. Pengujian sampel dengan MPN pada tahap pertama dilakukan uji penduga. Uji penduga dilakukan dengan menggunakan media *Lactose Broth* (LB), hasil penelitian sampel yang positif mengandung koliform akan merubah warna media LB menjadi keruh dan terdapat gas dalam tabung durham, hal ini menunjukkan telah terjadi fermentasi laktosa pada suhu 37°C yang mengindikasikan adanya koliform dalam media LB sehingga menghasilkan asam dan gas. Hasil uji penduga pada LB dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Hasil uji LB salah satu sampel susu sapi segar

Berdasarkan hasil uji penduga dengan LB yang positif dicocokkan dengan tabel MPN 3 tabung. Hasil uji penduga semua sampel terlihat pada tabel 6.

Tabel. 6 Hasil uji penduga pada sampel susu sapi segar

Nama sampel	LB 10 mL	LB 1 mL	LB 0,1 mL	Interpretasi MPN
Sampel A	3	3	3	>1100 MPN / mL
Sampel B	3	3	3	>1100 MPN / mL
Sampel C	3	3	3	>1100 MPN / mL
Sampel D	3	3	3	>1100 MPN / mL
Sampel E	3	3	3	>1100 MPN / mL

Hasil uji penduga dari semua sampel susu sapi segar pada LB menunjukkan hasil tabung yang positif yang dibandingkan dengan kontrol positif maupun negatif. Sesuai dengan SNI 7388-2009 yang menetapkan batas maksimum koliform di dalam susu sapi segar adalah 2×10^1 MPN/ml. Berdasarkan uji penduga yang dilakukan semua sampel menunjukkan hasil jumlah koliform >1100 MPN/ml, hasil tersebut melebihi batas cemaran koliform pada susu segar yang ditetapkan oleh SNI.

Tahap selanjutnya semua sampel dilakukan uji penegasan karena kelima sampel menunjukkan hasil tabung yang positif pada uji penduga. Uji penegasan menggunakan media BGLB. Tabung yang dinyatakan positif adalah tabung yang menghasilkan gas pada tabung Durham dan keruh pada larutan. Uji penegas dilakukan untuk menegaskan keberadaan koliform karena pada uji penduga hasil yang positif tidak selalu disebabkan oleh adanya bakteri koliform. BGLB mengandung hijau brilian yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif tertentu selain koliform, juga mengandung eosin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan hanya dapat menumbuhkan bakteri Gram negatif (Alang 2015). Hasil dari uji penegasan pada BGLB dapat dilihat pada gambar. 5



Gambar 5. Hasil uji penegasan salah satu sampel susu segar

Hasil pada uji penegasan sampel susu segar ini juga menunjukkan hasil yang sama positifnya pada uji penduga sebelumnya. Dengan demikian, untuk menarik interpretasi MPN dari jumlah koliform pada tiap sampel dapat menggunakan tabel

MPN 3 tabung berdasarkan kombinasi tabung BGLB yang positif. Hasil uji penegasan dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil uji penegasan sampel susu sapi segar

Nama sampel	BGLB 10 mL	BGLB 1 mL	BGLB 0,1mL	Interpretasi MPN
Sampel A	3	3	3	>1100 MPN/mL
Sampel B	3	3	3	>1100 MPN/mL
Sampel C	3	3	3	>1100 MPN/mL
Sampel D	3	3	3	>1100 MPN/mL
Sampel E	3	3	3	>1100 MPN/mL

Hasil uji penegasan dengan media BGLB dari 9 tabung kelima sampel susu sapi segar menunjukkan hasil positif semua artinya jumlah koliform semua sampel >1100 MPN/ml. Jika dibandingkan dengan standar jumlah tersebut melebihi batas maksimum standar yang ditetapkan SNI 7388-2009 yaitu 2×10^1 MPN/ml, hal ini mengindikasikan bahwa semua sampel susu dikatakan tidak layak untuk dikonsumsi secara langsung. Sampel diduga masih kurang higienis sehingga terdapat cemaran bakteri koliform pada semua sampel yang diuji. Koliform merupakan bakteri heterogen, berbentuk batang dan termasuk Gram negatif. Bakteri ini digunakan sebagai indikator adanya polusi yang berasal dari kotoran manusia maupun hewan dan menunjukkan sanitasi yang tidak baik terhadap air dan makanan. Bakteri koliform dapat bersifat patogen dan tidak patogen bagi tubuh, bakteri koliform yang tidak patogen mungkin tidak berbahaya, tetapi jika host yang minum pada saat dalam keadaan daya tahan tubuh yang rendah, kemungkinan dapat menyebabkan infeksi pada host yang minum susu segar yang mengandung koliform melebihi batasan yang ditetapkan. Bakteri golongan ini memfermentasikan

glukosa, menghasilkan asam dan gas karena menghasilkan enzim format hidrogenliase yang memecahkan asam format menjadi CO_2 dan H_2O .

Koliform adalah salah satu dari banyak kelompok mikroorganisme yang biasanya ada dalam susu mentah, yaitu, 96% dari semua sampel susu tangki curah yang dikumpulkan selama penelitian tahun 2002 di AS adalah positif koliform (Van Kessel *et al.* 2004). California telah menetapkan satu-satunya batas peraturan untuk koliform dalam susu mentah yang ditujukan untuk produk susu Grade A di AS (tidak melebihi 750 CFU / mL; *California Department of Food and Agriculture* [CDFA], 2016). Tingkat koliform yang dilaporkan dalam susu mentah sangat bervariasi, dengan rata-rata jumlah koliform untuk sampel susu di AS mulai dari 31 cfu / mL (Boor *et al.* 1998) hingga 2.570 cfu / mL (Jayarao dan Wang 1999). Hasil serupa telah dilaporkan oleh yang lain (D'Amico dkk. 2008; Pantoja dkk. 2011; Jackson *et al.* 2012. Jenis koliform umum dalam susu mentah termasuk *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, dan *Klebsiella* (Jayarao dan Wang 1999), yang dapat berasal dari berbagai sumber di lingkungan peternakan sapi perah termasuk air, bahan tanaman, peralatan, kotoran, dan sumber kotoran (Kagkli *et al.* 2007).

Kadar koliform yang tinggi (misalnya,> 1.000 cfu / mL) dalam susu mentah dapat menunjukkan praktik tidak bersih di peternakan, pendinginan yang tidak memadai, atau adanya mastitis koliform (Jayarao dan Wang 1999; Hogan dan Smith 2003, Pantoja *et al.* 2011). Koliform khususnya bakteri *Escherichia coli* dapat menyebabkan masalah kesehatan yang serius. Beberapa serotipe dapat menyebabkan keracunan makanan dan intoksikasi alimentary, yang paling berbahaya diantara mereka adalah strain *Escherichia coli enterohemorrhagic*, terutama serotipe O157: H7. E. coli O157: H7 telah menjadi patogen perhatian utama dalam industri makanan dan susu, dan untuk umum, karena kemampuannya untuk menyebabkan penyakit berat, khususnya, kolitis haemorrhagic, sindrom uremik hemolitik dan *purpura thrombocytopenic trombotik* (Picozzi *et al.* 2005; Reuben *et al.* 2013). Sumber-sumber infeksi bakteri *Escherichia coli* strain *enterohemorrhagic* sebagian besar adalah produk daging, terutama steak dan hamburger yang kurang matang (Chinen *et al.* 2001), tetapi juga makanan lain

sebagai susu yang tidak dipasteurisasi dan produk susu yang diproduksi dari susu mentah, telah terlibat dalam banyak wabah (Maher *et al.* 2001).

D. Identifikasi *Escherichia coli*

Sampel susu yang diambil dari peternak di daerah Sukabumi, kecamatan Cepogo, diinokulasikan pada media selektif EMBA. EMBA adalah media selektif dan media diferensial. Media EMBA mengandung Eosin dan metilen biru, yang menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif, maka media ini dipilih untuk bakteri Gram negatif. EMBA juga mengandung karbohidrat laktosa, dengan adanya karbohidrat laktosa bakteri Gram negatif terdiferensiasi berdasarkan pada kemampuan mereka untuk memfermentasi laktosa. Warna media sebelum pemupukan bakteri berwarna merah keunguan. Perubahan warna hijau metalik pada media EMBA karena *Escherichia coli* dapat memfermentasi laktosa yang mengakibatkan peningkatan kadar asam dalam media. Kadar asam yang tinggi dapat mengendapkan methylen blue dalam media EMBA (Cheeptham 2012 dan Lindquist 2004). Hasil *Escherichia coli* pada media EMBA dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Hasil *Escherichia coli* salah satu sampel susu pada EMBA

Hasil pertumbuhan bakteri pada kelima sampel pada media EMBA menghasilkan koloni ungu dengan kemilauan hijau metalik sehingga menunjukkan hasil positif pada media yang diduga koloni dari bakteri *Escherichia coli*. Berdasarkan hasil positif pada media EMBA kemudian kelima sampel dilanjutkan uji biokimia untuk mengkonfirmasi yang mencemari susu sapi segar tersebut adalah

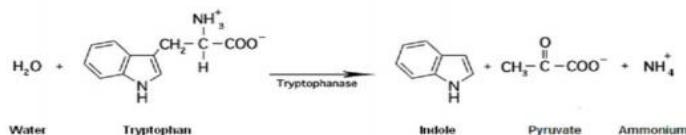
bakteri *Escherichia coli*. Uji biokimia yang dilakukan berupa uji KIA, SIM, Urea dan Sitrat. Hasil uji biokimia susu sapi segar dapat dilihat pada gambar. 7



Gambar 7. Hasil uji biokimia bakteri *Escherichia coli* salah satu sampel susu segar

Pengujian dengan medium Kliger's Iron agar untuk mengetahui terjadinya fermentasi laktosa, ada tidaknya gas, dan pembentukan sulfida. Berdasarkan pengujian bakteri sampel susu dengan media KIA, didapat hasil bakteri dari kelima sampel positif dapat memfermentasikan laktosa yang ditandai berubahnya media merah menjadi kuning. Sampel A yang menghasilkan gas ditandai terangkatnya media, sedangkan keempat sampel lain bakteri tidak menghasilkan gas. Bakteri dari kelima sampel semuanya tidak dapat menghasilkan sulfida karena tidak menghasilkan warna hitam pada media, yang disebabkan bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam amino dan methion yang akan menghasilkan H_2S yang bereaksi dengan Fe^{++} yang terdapat pada media.

Bakteri dari sampel susu yang tumbuh pada media EMBA juga dilakukan uji Sulfida Indol Motilitas (SIM). Uji sulfida berguna mengetahui kemampuan bakteri untuk menghasilkan sulfida. Hasil uji sulfida bakteri dari media EMBA yaitu negatif, artinya bakteri tidak dapat mereduksi tiosulfat sehingga tidak menghasilkan hidrogen sulfida sehingga tidak timbul warna hitam pada media SIM. Uji indol bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan indol dengan menggunakan enzim tryptophanase (Leboffe 2011). Bakteri yang memiliki enzim tryptophanase menghidrolisis tryptophan. menjadi indol, piruvat dan ammonia. Reaksi rantai uji indol dapat dilihat pada gambar 8.



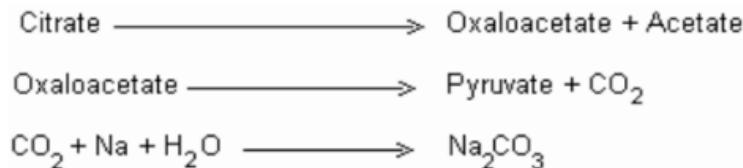
Gambar 8. Rantai reaksi uji indol (Hemraj 2013)

Triptofan adalah asam amino esensial, yang teroksidasi oleh beberapa bakteri yang mengakibatkan pembentukan indol, asam piruvat dan amonia. Uji indol dilakukan dengan inokulasi organisme uji ke dalam *tryptophan broth*, yang mengandung triptofan. Indol yang dihasilkan dideteksi dengan menambahkan reagen Kovac's ini yang menghasilkan cincin berwarna merah. Lapisan alkohol berkonsentrasi warna merah berbentuk cincin terdapat di bagian atas. Hasil indol positif dinyatakan dengan adanya cincin merah hal ini disebabkan karena indol bereaksi dengan aldehida (Hemraj 2013). Hasil uji indol bakteri pada kelima sampel susu adalah positif yang ditunjukkan adanya cincin merah pada bagian atas. Media uji motilitas digunakan untuk menentukan motilitas dari suatu mikroorganisme. Uji motilitas sering kali digunakan dalam membedakan dari Enterobacteriaceae (Shields dkk. 2013).

Hasil pengamatan uji motilitas bakteri dari kelima sampel adalah positif, hal ini ditunjukkan adanya pertumbuhan bakteri disekitar area penusukan. Pergerakan dari bakteri tersebut karena media semisolid (uji motilitas) dirancang dengan mengurangi konsentrasi agar pada media yaitu sekitar 0,4% pada media yang hanya cukup untuk mempertahankan bentuknya sementara memungkinkan pergerakan bakteri bergerak (Leboffe 2011)

Tes Sitrat bertujuan mendeteksi kemampuan suatu organisme untuk memanfaatkan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Bakteri diinokulasi pada medium yang mengandung natrium sitrat dan indikator pH bromothymol biru. Media juga mengandung garam amonium anorganik, yang digunakan sebagai satu-satunya sumber nitrogen. Pemanfaatan sitrat melibatkan enzim sitrat permease, yang memecah sitrat menjadi oksaloasetat dan asetat. Oksaloasetat lebih lanjut dipecah menjadi piruvat dan CO₂. Produksi Na₂CO₃ serta

NH₃ dari pemanfaatan natrium sitrat dan garam amonium masing-masing menghasilkan pH basa. Hal ini menyebabkan perubahan warna medium dari hijau menjadi biru (Hemraj 2013). Reaksi kimia uji sitrat dapat dilihat pada gambar 9.



Gambar 9. Reaksi kimia uji Sitrat

Uji sitrat dilakukan dengan inokulasi mikroorganisme ke dalam media sintetis organik, "Simons Citrate broth". Bromotimol biru digunakan sebagai indikator saat asam sitrat dimetabolisme, menghasilkan karbondioksida yang menggabungkan natrium dengan air untuk membentuk natrium karbonat yang merupakan produk alkalin yang menghasilkan perubahan warna dari hijau menjadi biru dan hal ini menunjukkan tes tersebut positif. Hasil pengamatan untuk uji sitrat bakteri dari kelima sampel adalah negatif yang ditunjukkan tidak adanya perubahan warna terhadap media uji sitrat. Hasil pengamatan dari uji urea yang telah dilakukan adalah negatif, hal ini ditunjukkan karena tidak ada perubahan warna pada media uji urea. Uji urease berguna untuk mengidentifikasi organisme yang mampu menghidrolisis urea menghasilkan amonia dan karbon dioksida terutama untuk mengetahui mikroorganisme tersebut mempunyai enzim urease atau tidak. Urease merupakan enzim yang menghidrolisis urea menjadi karbon dioksida dan amonia (NH₂) $2\text{CO} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CO}_2 + 2\text{NH}_3$ (Brink 2013). Reaksi kimia uji urease dapat dilihat pada gambar 10.



Gambar 10. reaksi kimia uji urease (Leboffe 2011)

Urea dihidrolisis menjadi amonia oleh bakteri positif urease akan menjadi merah muda. Perubahan warna dapat terjadi saat enzim urease memutus ikatan karbon dan nitrogen menjadi amonia. Amonia menyebabkan suasana medium menjadi alkali/basa sehingga indikator *phenol red* akan berubah menjadi merah muda pada media (Leboffe 2011). Hasil pengamatan untuk uji urease dari bakteri kelima sampel menunjukkan hasil negatif, hal ini dikarenakan bakteri tidak mempunyai enzim urease untuk menghasilkan perubahan warna dalam media sehingga warna tetap kuning. Hasil identifikasi bakteri *Escherichia coli* pada kelima sampel dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil ujiai bakteri *Escherichia coli* pada kelima sampel

Nama Sampel	Pengamatan morfologi	KIA	SIM	Urea	Sitrat
Sampel A	Koloni hijau metalik mengkilat	A/AS(-) G+	-++	-	-
Sampel B	Koloni hijau metalik mengkilat	A/AS(-) G(-)	-++	-	-
Sampel C	Koloni hijau metalik mengkilat	A/AS(-) G(-)	-++	-	-
Sampel D	Koloni hijau metalik mengkilat	A/AS(-) G(-)	-++	-	-
Sampel E	Koloni hijau metalik mengkilat	A/AS(-) G(-)	-++	-	-

Keterangan:

Standar *Escherichia coli* (Anonim 2018) = KIA = A/A G+/G (-) S(-), SIM= -++, Urea= -, Sitrat= -

SIM : Sulfida Indol Motilitas

A: Kuning

KIA : Kliger Iron Agar

S: Hitam

+ : Reaksi positif

G: Gas

- : Reaksi negatif

Berdasarkan tabel identifikasi bakteri melalui media selektif EMBA dan uji biokimia kelima sampel menunjukkan hasil bahwa kelima sampel positif mengandung bakteri *Escherichia coli* yang ditandai pada hasil koloni berwarna

hijau metalik mengkilat pada media EMBA dan pada hasil uji biokimia sesuai dengan sifat fisiologis bakteri *Escherichia coli*.

E. Identifikasi *Staphylococcus aureus*

Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* pada susu segar dilakukan dengan menginokulasikan sampel susu segar pada medium *Vogel Johnson Agar* yang sudah ditambahkan kalium telurit 3% selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif terdapat bakteri *Staphylococcus aureus* pada sampel susu segar, jika warna koloni hitam dan warna medium disekitar koloni berwarna kuning. Hal ini terjadi karena bakteri *Staphylococcus aureus* memfermentasikan manitol menjadi asam dan warna kuning di sekitar koloni disebabkan adanya indikator *phenol red*, sedangkan koloni warna hitam disebabkan karena bakteri *Staphylococcus aureus* dapat mereduksi kalium telurit menjadi metalik telurit. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* pada susu segar dapat dilihat pada gambar 11.



Gambar 11. Hasil bakteri *Staphylococcus aureus* pada VJA salah satu sampel

Semua sampel susu segar yang diuji pada media VJA menunjukkan hasil positif *Staphylococcus aureus*, karena terlihat koloni berwarna hitam dan media disekitar koloni berwarna kuning. Hasil sampel susu segar yang positif bakteri tersebut kemudian dipertegas dengan uji biokimia katalase dan koagulase. Uji katalase dan koagulase sampel susu menunjukkan hasil positif yang dapat dilihat pada gambar 12.



Gambar 12. Hasil uji katalase dan koagulase bakteri *Staphylococcus aureus* dari salah satu sampel susu sapi segar

Semua sampel menunjukkan hasil katalase yang positif, dimana terbentuk gelembung udara disekitar koloni. Hal ini karena penambahan H_2O_2 akan terurai menjadi H_2O dan O_2 , disebabkan *Staphylococcus aureus* mempunyai enzim katalase. Katalase adalah enzim yang berperan pada daya tahan bakteri terhadap proses fagositosis. Berdasarkan uji koagulase yang dilakukan pada semua sampel diperoleh hasil positif yaitu terjadi penggumpalan plasma yang dapat dilihat secara kasat mata. Enzim koagulase dapat menggumpalkan plasma oksalat atau plasma sitrat, karena adanya faktor koagulase reaktif dalam serum yang bereaksi dengan enzim tersebut. Esterase yang dihasilkan dapat meningkatkan aktivitas penggumpalan, sehingga terbentuk deposit fibrin pada permukaan sel bakteri yang dapat menghambat fagositosis (Warsa 1993). *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan penyakit melalui kemampuannya berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan dan melalui pembentukan banyak zat ekstraseluler antara lain eksotosin dan koagulase. Infeksi kulit *Staphylococcus aureus* mungkin termasuk penyakit infeksi yang paling sering ditularkan secara langsung ke orang lain (Jawetz *et al.* 2011). Cara untuk mengidentifikasi *Staphylococcus aureus* adalah dengan mengisolasi sampel pada medium selektif yang sesuai. Koloni yang tumbuh pada medium diamati dan dilanjutkan dengan berbagai uji, yaitu pewarnaan Gram, uji katalase, dan uji koagulase. Uji tersebut dapat membedakan *Staphylococcus aureus* dengan bakteri coccus yang lainnya (Iskamto 2009). Hasil pengamatan uji morfologi dan uji biokimia (katalase dan koagulase) dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil pengamatan uji morfologi dan uji biokimia *Staphylococcus aureus* sampel susu sapi segar

Nama Sampel	Pengamatan morfologi	Katalase	Koagulase
Sampel A	Koloni berwarna hitam dan media disekitar koloni menjadi kuning	+	+
Sampel B	Koloni berwarna hitam dan media disekitar koloni menjadi kuning	+	+
Sampel C	Koloni berwarna hitam dan media disekitar koloni menjadi kuning	+	+
Sampel D	Koloni berwarna hitam dan media disekitar koloni menjadi kuning	+	+
Sampel E	Koloni berwarna hitam dan media disekitar koloni menjadi kuning	+	+

Keterangan:

Standar *Staphylococcus aureus* (Anonim 2018) = uji katalase= +, uji koagulase= +

+ : Reaksi positif

- : Reaksi negatif

Berdasarkan tabel hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* pada susu sapi segar dengan isolasi pada media selektif VJA dan uji biokimia katalase dan koagulase. Semua sampel susu sapi segar yang diuji terbukti mengandung bakteri *Staphylococcus aureus*.

F. Identifikasi bakteri *Salmonella sp.* pada susu sapi segar

Identifikasi bakteri bertujuan untuk mengetahui golongan bakteri, yaitu melalui identifikasi secara morfologi dan biokimia. Hasil morfologi dan uji biokimia *Salmonella sp.* dari sampel susu sapi segar dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil morfologi dan uji biokimia *Salmonella sp.*

Nama Sampel	Pengamatan morfologi	Uji sitrat	KIA	SIM	Urea
Sampel A	Koloni tidak berwarna dengan inti berwarna hitam	+	A/AG+S+	++-	-
Sampel B	Koloni tidak berwarna dengan inti berwarna hitam	+	A/AG+S+	++-	-
Sampel C	Koloni tidak berwarna dengan inti berwarna hitam	+	A/AS+ G(-)	++-	-
Sampel D	-	-	-	-	-
Sampel E	-	-	-	-	-

Keterangan:

Standar *Salmonella sp.* (Anonim 2018) = KIA= K/AS+G+, SIM= ++-, Urea= -, Sitrat= +

SIM : Sulfida Indol Motilitas

A: Kuning

KIA : Kliger Iron Agar

K: Merah

+ : Reaksi positif

G: Gas

- : Reaksi negatif

S: Hitam

Hasil yang didapatkan pada identifikasi bakteri secara isolasi sampel susu sapi segar pada media selektif menunjukkan 3 sampel positif dan 2 sampel negatif mengandung *Salmonella sp.* Sampel A, B dan C menunjukkan hasil positif, dimana terdapat koloni berwarna hitam dan putih keabu-abuan, Hal ini terjadi karena media SSA mengandung laktosa dan bakteri *Salmonella sp.* tidak memecah laktosa sehingga terbentuk koloni hitam atau putih keabu-abuan. Identifikasi secara biokimia yang dilakukan terhadap bakteri terduga *Salmonella sp.* dari sampel A, B dan C menggunakan media SIM, KIA, urea dan sitrat. Uji biokimia dilakukan untuk menentukan jenis bakteri, bakteri memiliki sifat biokimia yang berbeda-beda sehingga tahapan uji ini dapat membantu identifikasi. Uji pada media SIM, hasil yang didapatkan adalah bakteri terduga *Salmonella sp.* dari sampel A, B dan C menghasilkan warna hitam pada media, hal ini terjadi karena media mengandung

thiosulfate yang digunakan *Salmonella sp.* sebagai sumber sulfur sehingga menghasilkan hidrogen sulfida (H_2S). Hidrogen sulfida akan bereaksi dengan ferri sitrat sehingga menghasilkan ferro sulfida yang menyebabkan warna hitam pada media. Pengujian indol memberikan hasil yang negatif hal ini sesuai dengan indikator dimana *Salmonella sp.* tidak menghasilkan enzim tryptophanase sehingga tidak dapat memecah asam amino tryptophan menjadi senyawa indol dan pada uji motilitas sampel A, B dan C menunjukkan hasil yang positif (Cappuccino dan Sherman 2005). Uji pada media KIA, didapatkan hasil dari ketiga sampel yaitu bagian atas lereng dan bawah berwarna kuning menandakan bahwa bakteri pada sampel memfermentasikan laktosa. Hasil ini tidak sesuai dengan sifat *Salmonella sp.* dimana bakteri ini memfermentasikan glukosa, tetapi tidak memfermentasikan laktosa. Hasil sulfida pada KIA terjadi pembentukan H_2S sehingga media berwarna hitam. Sampel A dan B menunjukkan hasil adanya gas yang ditandai terangkatnya media keatas. Pengujian urea menunjukkan hasil yang negatif, ketiga sampel bakteri tidak mampu menghidrolisis urea menjadi amonia sehingga tidak terjadi perubahan media menjadi merah muda. Uji pada sitrat menunjukkan hasil sampel A, B dan C adalah positif karena media berubah menjadi biru yang artinya bakteri mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbon.

Berdasarkan isolasi pada media selektif dan uji biokimia (KIA, SIM, urea dan sitrat) sampel A, B, C, D dan E terduga negatif tercemar *Salmonella sp.*, *Salmonella sp.* dikenal sebagai bakteri penyebab *Salmonellosis*. Bakteri ini hidup pada saluran pencernaan hewan dan manusia serta dapat menyebar melalui makanan, terutama daging, telur dan susu. Kasus *Salmonellosis* banyak dilaporkan di negara-negara maju, namun persentase jumlah yang dilaporkan masih kecil dibandingkan dengan wabah yang sebenarnya terjadi. Infeksi dan kontaminasi yang disebabkan oleh *Salmonella sp* ditemukan hampir di seluruh dunia. *Salmonella sp.* umumnya menyebabkan penyakit pada organ pencernaan. Kontaminasi *Salmonella sp.* pada produk makanan dan minuman juga dapat mengakibatkan demam tifoid dengan gejala demam tinggi, konstipasi, nyeri abdomen, pusing, kulit gatal dan timbul bercak-bercak berwarna kemerahan, bahkan kehilangan kesadaran (Srige 2015).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dari kelima sampel susu sapi segar yang diteliti dapat disimpulkan bahwa:

Pertama, Jumlah ALT susu sapi segar di daerah Sukabumi, kecamatan Cepgo, kabupaten Boyolali sebesar $1,7 \times 10^7$ sampai dengan $1,9 \times 10^7$ dan jumlah MPN > 1100 MPN/mL

Kedua, dari 5 sampel susu sapi segar yang diuji, didapatkan hasil bahwa kelima sampel positif tercemar bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, tetapi tidak tercemar bakteri *Salmonella sp.*

B. Saran

Saran dari penelitian ini adalah:

Pertama, perlu dilakukan penelitian menggunakan metode pour plate pada pengujian ALT untuk melihat ada tidaknya perbedaan hasil pengujian ALT dengan menggunakan metode *spread plate*.

Kedua, Susu sapi segar yang baru diperah sebelum dikonsumsi sebaiknya dipasteurisasi dahulu.

Ketiga, Pasteurisasi sapi segar dapat dilakukan dengan pemanasan pada suhu 65°C selama 30 menit atau suhu 71°C selama 15 detik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, Triyantini, Sunarlim R, Setiyanto H, dan Nurjanah. 2000. Pengaruh Suhu dan Waktu Pasteurisasi Terhadap Mutu Susu Selama Penyimpanan. Bogor: Badan Penelitian Ternak.
- Acton QA. 2013. *Advances in Gammaproteobacteria Research and Application* 2013th ed., Scholarly Edition. Available from: Google book
- Alang H. 2015. Deteksi Coliform Air PDAM di Beberapa Kecamatan Kota Makassar. [Skripsi]. Makassar: Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar
- Anonim. 2018a. Oxoid Microbiologi Products. *Thermo Fisher Scientific Inc.* http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0033&org=66&c=UK&lang=EN
- Arnia & Warganegara E. 2013. Identifikasi Kontaminasi Bakteri Coliform Pada Daging Sapi Segar Yang Dijual Di Pasar Sekitar Kota Bandar Lampung. *Medical Journal of Lampung University*, pp.43–50. Available from: Google Cendekia
- Balia RL, E Harlia, dan D Suryanto. 2008. Jumlah Bakteri Total dan Koliform pada Susu Segar Peternakan Sapi Perah Rakyat dan Susu Pasteurisasi Tanpa Kemasan di Pedagang Kaki Lima. Bandung: Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran
- Batt CA. 2014. *Encyclopedia of Food Microbiology* 2nd ed. C. of A. P. F. Microbiology, ed., Academic Press. Available from: Google book
- Boor K. J., Brown D. P., Murphy S. C., Kozlowski S. M., Bandler D. K. (1998). Microbiological and chemical quality of raw milk in New York State. *J. Dairy Sci.* 81 1743–1748. 10.3168/jds.S0022-0302(98)75742-[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75742-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75742-X)
- Brook GF, Janet SB, Stephen AM. 2007. Jawetz, Melnick, Adelberg *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 23. Alih bahasa Hartanto *et al.* Jakarta: EGC
- Brink B. 2013. Urease test protocol. American society for microbiology. <http://www.microbelibrary.org/library/laboratory-test/2871-urease-testprotocol>
- Buckle KA, Edwards RA, Fleet GH, dan Wotton M. 2007. Ilmu Pangan. Penerjemah Hari Purnomo dan Adiono. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- California Department of Food and Agriculture [CDFA]. 2016. California Milk Standards, Bacteriological Standards. Available at: https://www.cdfa.ca.gov/ahfss/Milk_and_Dairy_Food_Safety/Milk_Standards.html

- Cappuccino JG, Sherman N. 2005. Microbiology: A Laboratory Manual, New York: *The Benjamin Cummings Publishing Company, Inc*
- Chandan RC. 2006. Milk composition, physical, and processing characteristics. In: Chandan, R. C., C. H. White, A. Kilara, and Y. H. Hui eds. Manufacturing Yogurt and Fermented Milks. pp. 17-40. *Blackwell Publishing, USA*
- Cheeptham N. 2012. Eosin Methylene blue agar. Thompson Rivers University, Canada. <http://www.microbelibrary.org/library/laboratory-test/2871-eosinmethylene-blue>
- Chinen I, J.D. Tanaro, E. Milliwebsky, L.H. Lound, G. Chillemi, S. Ledri. 2001. Isolation and characterization of Escherichia coli O157:H7 from retail meats in Argentina. *J Food Prot.* 64 pp. 1346-1351
- D'Amico D. J., Groves E., Donnelly C. W. 2008. Low incidence of foodborne pathogens of concern in raw milk utilized for farmstead cheese production. *J. Food Prot.* 71 1580–1589. [PubMed]
- Darmadi. 2008. *Infeksi Nosokomial: Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta: Salemba Medika. hlm.80-81.
- Departemen Kesehatan RI. 2006. Keputusan Menteri Kesehatan RI No.364/Menkes/SK/V/2006 tentang Pedoman Pengendalian Demam Tifoid. Jakarta: Depkes RI
- Djaafar TF, Rahayu ES, dan Rahayu S. 2006. Cemaran mikroba pada susu dan produk unggas. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan Bogor
- Goodman dan Gilman. 2007. *Manual Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: EGC.
- Fardiaz S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Food and Drug Administration. 1998. Bacteriological Analytical Manual. 8th Edition
- Hadioetomo RS. 2005. *Mikrobiologi Terapan untuk Perawat*. Jakarta: EGC.
- Hadiwiyoto S. 1994. *Pengujian Mutu Susu dan Hasil Olahannya*. Yogyakarta: Liberty
- Handayani, S.K., dan M, Purwanti. 2010. Kesehatan Ambing dan Higiene Pemerahan di Peternakan Sapi Perah Desa Pasir Buncir Kecamatan Carigin. *Jurnal Penyuluhan Pertanian* Vol. 5 No. 1
- Haryani Y, Chainulfiffah, & Rustiana. 2012. Fermentasi Karbohidrat Oleh Isolat Salmonella Spp. dari Jajanan Pinggir Jalan. *Jurnal Indonesian Chemia Acta* 1 (3):23-26
- Hemraj V, Diksha S, Avneet G. 2013. A Review on Commonly Used Biochemical Test for Bacteria. *Innovare Journal of Life Science*. 1-7

- Hogan J dan Smith KL. 2003. Coliform mastitis. *Vet.Res.* 34 507519. 10.1051/vetres:2003022.
<https://www.vetres.org/articles/vetres/pdf/2003/05/V3503.pdf>
- Iskamto B. 2009. *Bakteriologi Kesehatan*. Surakarta: UNS Press.
- Isnaeny FY.2009. Total Bakteri Dan Bakteri Coliform Pada Susu Segar Dan Susu Pasteurisasi Hasil Peternakan Sapi Perah. Program Studi Pendidikan Biologi. [Skripsi] Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Jackson EE, Erten ES, Maddi N, Graham TE, Larkin JW, & Blodgett RJ. 2012. Detection and enumeration of four foodborne pathogens in raw commingled silo milk in the United States. *J. Food Prot.* 75 1382–1393. 10.4315/0362-028X.JFP-11-548
- Jawetz E, Melnick JL, dan Adelberg EA. 2011. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Edisi 25. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Jayarao BM, Wang L. 1999. A study on the prevalence of gram-negative bacteria in bulk tank milk. *J. Dairy Sci.* 82 2620–2624. 10.3168/jds.S0022-0302(99)75518-9
- Kagkli DM, Vancanneyt M, Vandamme P, Hill C, Cogan TM. 2007. Contamination of milk by enterococci and coliforms from bovine faeces. *J.Appl.Microbiol.* 103 1393-1405.10.1111/j.13652672.2007.03338.
- Khairinnada N. 2002. Penentuan Angka Lempeng Total dan Angka Kapang Khamir pada Laboratorium di PT. Air Mancur Palur-Solo. [Skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro
- Kirk JH. 2005. Milk Quality on The Dairy- Who is Responsible? Tulare: University of California Davis.
<http://www.vetmed.ucdavis.edu/vetext/INFDA/MilkQualr esponsib.pdf>
- Knechtges PL. 2011. *Food Safety Theory and Practice*, East Carolina University, Jones & Bartlett. Available from: Google book
- Leboffe MJ dan Pierre BE. 2011. A Photographic Atlas for the Microbiology Laboratory. Morton Publishing Company
- Lindquist J. 2004. Differential Media: Eosin Methylene Blue Agar (Levine's Formulation). Department of Bacteriology. U. W-Madison.
http://www.jlindquist.net/general_micro/dfemb.html
- Maher MM, K.N. Jordan, M.E. Upton, A. 2001. CoffeyGrowth and survival of E. coli O157:H7 during the manufacture and ripening of a smear ripened cheese produced from raw milk. *J Appl Microbiol.* 90, pp. 201-207
- Maturin L & James TP. 2001. Bacteriological Analytical Manual Chapter 3 Aerobic Plate Count. BAM: Aerobic Plate Count. FDA. U.S

- Mennane Z, Ouhssine MK and Elyachioui M. 2007. Hygienic quality of raw cow's milk feeding from domestic waste in two regions in Morocco. *Int. J. Agric. Biol.* 9: 46-47.
- Nugraha A, Ida BNGS, Ketut TPG. 2012. Deteksi bakteri *Salmonella* spp. dan pengujian kualitas telur ayam buras. *Indonesia Medicus Veterinus*. 1(3):320-329
- Pantoja JCF, Reinemann DJ, Ruegg PL. 2011. Factors associated with coliform count in unpasteurized bulk milk. *J. Dairy Sci.* 94 2680–2691. 10.3168/jds.2010-3721
- Pelczar MJ, Chan ECS, dan Pelczar Mf, Penerjemah: Hadioetomo RS et al. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*, Jilid I Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Picozzi C, Foschino R, Heuvelink A, Beumer R. Phenotypic and genotypic characterization of sorbitol negative or slow fermenting (Suspected O157) *Escherichia coli* isolated from milk samples in Lombardy region. *Lett Appl Microbiol*, 40 (6) (2005), pp. 491-496
- Pratiwi ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Airlangga
- Purwaningrum D. 2015. Teknik Pengujian dan Analisis Mikrobiologis pada Pengendalian Mutu Produk Jamu di PT. Air Mancur. [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Reuben CR, Okolocha EC, Bello H. 2013. Tanimu Occurrence and antibiogram of *Escherichia coli* O157:H7 in locally fermented milk (Nono) sold under market conditions in Nasarawa state, *Nigeria Int J Sci Res.* pp. 591-598
- Saksono L dan Saksono I. 1986. Pengantar Sanitasi Makanan, Bandung: Alumni Bandung
- Saleh E. 2004. *Teknologi Pengolahan Susu Dan Hasil Ikutan Ternak*, Program Studi Produksi Ternak Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, pp. 1-2
- Shield P dan Cathcart L. 2013. Motility test medium protocol. American Society for Microbiology.
<http://www.microbelibrary.org/library/laboratorytest/2871-motility-test-medium-protocol>
- Standar Nasional Indonesia [SNI]. 2009. SNI 7388-2009 tentang *Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam pangan*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Sagung Seto
- Srigede GL. 2015. Studi identifikasi bakteri (*Salmonella* sp.) pada jajanan cilok yang dijual di lingkungan SD kelurahan kekalik Kecamatan Sekarbela Kota Mataram. *Media Bina Ilmiah*. 9(7): 28-32

- Suheri G. 2015. Teknik Pemerahan dan Penanganan Susu Sapi Perah. http://balitnak.litbang.pertanian.go.id/index.php?option=com_phocadownload&view=category&id=71:3&download=1323:3&Itemid=1%20
- Supardi. 1999. *Mikrobiologi dalam pengolahan dan keamanan pangan*. Penerbit Alumni Bandung.
- Sumoprastowo. 2000. *Fermentasi Produk Susu*. Bandung: Alfabeta
- Suriawiria U. 2003. *Mikrobiologi Air dan Dasar-Dasar Pengolahan Buangan Secara Biologis*. PT Alumni. Bandung.
- Suriawiria. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Papas Sinar Sinanti.
- Suryono B. 2009. *Bakteriologi Umum dan Bakteriologi Klinik*. Kediri: Akademi Analis Kesehatan Bhakti Jaya
- Suyati. 2010. Identifikasi Dan Uji Antibiotik Bakteri Gram-Negatif Pada Sampel Urin Penderita Infeksi Saluran Kemih (Isk). [Skripsi]. Manokwari: Fak. MIPA. Universitas Negeri Papua.
- United States Department of Agriculture. 2013. *Most Probable Number Procedure and Tables*. USA. <http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/8872ec11-d6a3-4fcf-86df-4d87e57780f5/MLG-Appendix-2.pdf>
- Van Kessel JS, Karns JS, Gorski L, McCluskey BJ, Perdue ML. 2004. Prevalence of *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and fecal coliforms in bulk tank milk on US dairy farms. *J. Dairy Sci.* 87 2822–2830. 10.3168/jds.S0022-0302(04)73410-4
- Waluyo L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. UMM PRESS, Malang.
- Warsa UC.1993. *Kokus Positif Gram*. Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran, Edisi Revisi, Binarupa Aksara, Jakarta.
- Winarno FG. 2007. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Umum

\mathcal{L}

a

m

p

i°

r

a

n

Lampiran 1. Batasan cemaran susu segar Standar Nasional Indonesia (2009)

Kategori pangan	Jenis cemaran mikroba	Batas maksimum
Susu segar (susu yang tidak dipasteurisasi untuk proses lebih lanjut (susu sapi, kuda, kambing, dan ternak lain)	ALT Koliform	1×10^6 koloni/ml 2×10^1 koloni/ml

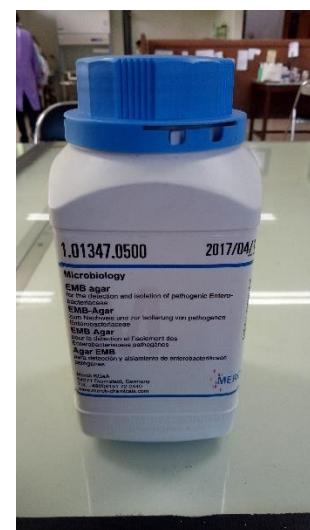
Lampiran 2. Alat

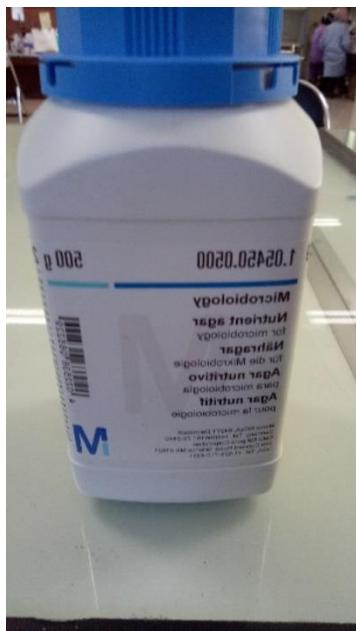






Lampiran 3. Bahan





Lampiran 4. Hasil pengujian angka lempeng total

1. Hasil angka lempeng total sampel A

Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III



2. Hasil angka lempeng total sampel B

Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III

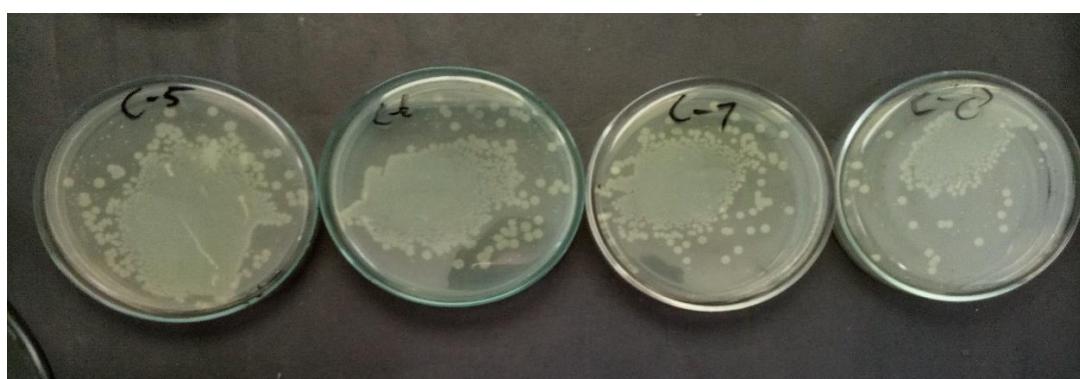


3. Hasil angka lempeng total sampel C

Replikasi I



Replikasi II

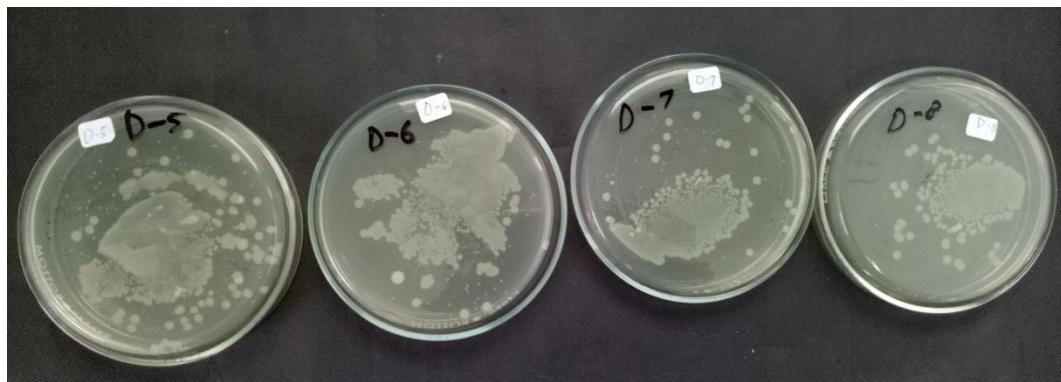


Replikasi III

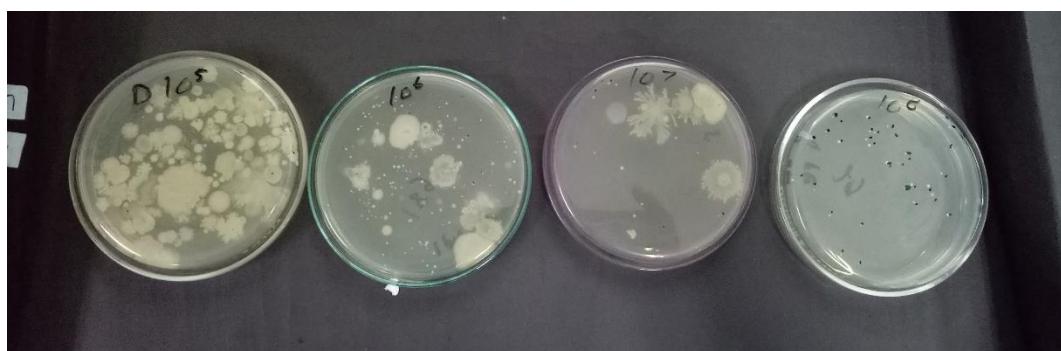


4. Hasil angka lempeng total sampel D

Replikasi I



Replikasi II

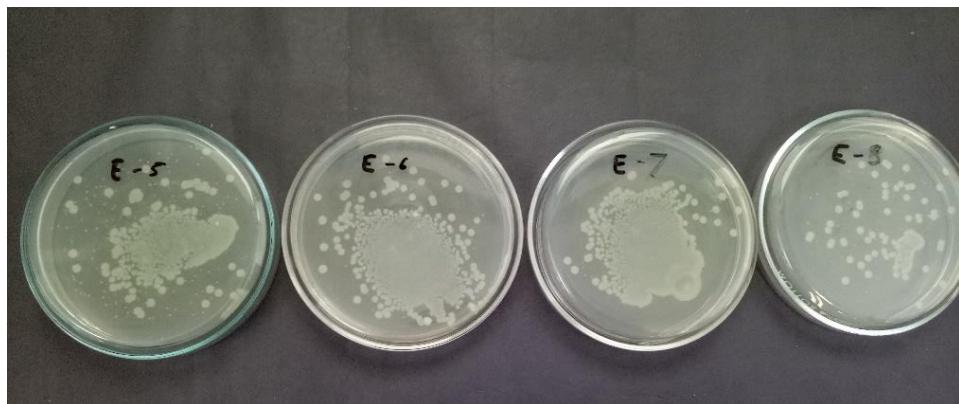


Replikasi III



5. Hasil angka lempeng total sampel E

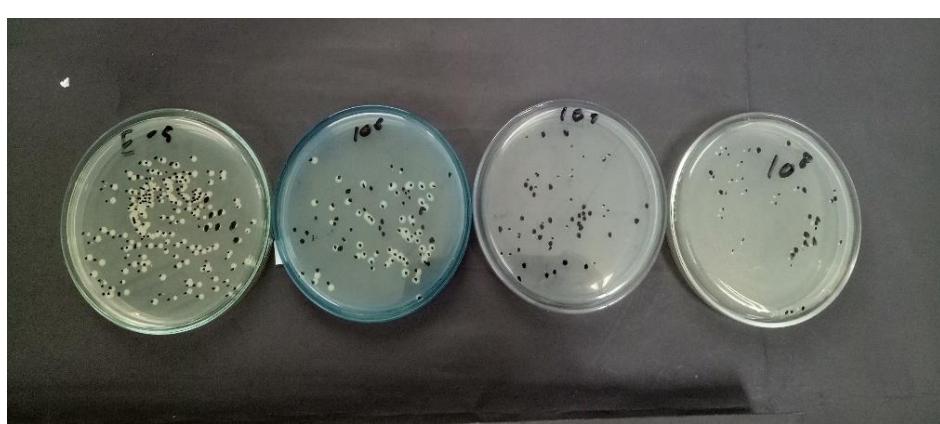
Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III



Lampiran 5. Hasil perhitungan angka lempeng total (Fardiaz 1992)

Sampel A

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah koloni/mL} &= \frac{(131+124+128) \times 1/10^{-6}}{(192+185+188) \times 1/10^{-5}} \\
 &= \frac{383 \times 10^6}{565 \times 10^5} \\
 &= 6,77 (> 2 \text{ maka dipilih pengenceran terendah}) \\
 \text{Jumlah koloni/mL} &= \frac{192+185+188}{3} \times \frac{1}{10^{-5}} \\
 &= 188,33 \times 10^5 \\
 &= 1,9 \times 10^7
 \end{aligned}$$

Sampel B

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah koloni/mL} &= \frac{(127+135+130) \times 1/10^{-6}}{(189+195+191) \times 1/10^{-5}} \\
 &= \frac{392 \times 10^6}{575 \times 10^5} \\
 &= 6,82 (> 2 \text{ maka dipilih pengenceran terendah}) \\
 \text{Jumlah koloni/mL} &= \frac{189+195+191}{3} \times \frac{1}{10^{-5}} \\
 &= 191,67 \times 10^5 \\
 &= 1,9 \times 10^7
 \end{aligned}$$

Sampel C

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah koloni/mL} &= \frac{(123+117+120) \times 1/10^{-6}}{(178+175+177) \times 1/10^{-5}} \\
 &= \frac{360 \times 10^6}{530 \times 10^5} \\
 &= 6,79 (> 2 \text{ maka dipilih pengenceran terendah}) \\
 \text{Jumlah koloni/mL} &= \frac{178+175+177}{3} \times \frac{1}{10^{-5}} \\
 &= 176,67 \times 10^5 \\
 &= 1,8 \times 10^7
 \end{aligned}$$

Sampel D

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah koloni/mL} &= \frac{(133+128+122) \times 1/10^{-6}}{(181+179+176) \times 1/10^{-5}} \\
 &= \frac{383 \times 10^6}{536 \times 10^5} \\
 &= 7,15 (> 2 \text{ maka dipilih pengenceran terendah})
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah koloni/mL} &= \frac{181+179+176}{3} \times \frac{1}{10^{-5}} \\
 &= 178,67 \times 10^5 \\
 &= 1,8 \times 10^7
 \end{aligned}$$

Sampel E

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah koloni/mL} &= \frac{(130+86+83) \times 1/10^{-6}}{(180+171+164) \times 1/10^{-5}} \\
 &= \frac{299 \times 10^6}{515 \times 10^5} \\
 &= 5,8 (> 2 \text{ maka dipilih pengenceran terendah})
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah koloni/mL} &= \frac{180+171+164}{3} \times \frac{1}{10^{-5}} \\
 &= 171,67 \times 10^5 \\
 &= 1,7 \times 10^7
 \end{aligned}$$

Lampiran 6. Hasil analisis data statistik semua sampel

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		ALT
N		60
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	107.88
	Std. Deviation	51.236
Most Extreme Differences	Absolute	.144
	Positive	.144
	Negative	-.124
Kolmogorov-Smirnov Z		1.114
Asymp. Sig. (2-tailed)		.167

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: ALT

F	df1	df2	Sig.
5.366	19	40	.000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Kelompok + Pengenceran + Kelompok * Pengenceran

KRUSKAL-WALLIS

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
ALT	Sampel A	12	34.38
	Sampel B	12	36.00
	Sampel C	12	28.83
	Sampel D	12	27.88
	Sampel E	12	25.42
	Total	60	

Test Statistics^{a,b}

	ALT
Chi-Square	3.179
Df	4
Asymp. Sig.	.528

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Kelompok

Lampiran 7. Hasil uji penduga MPN

1. Sampel A



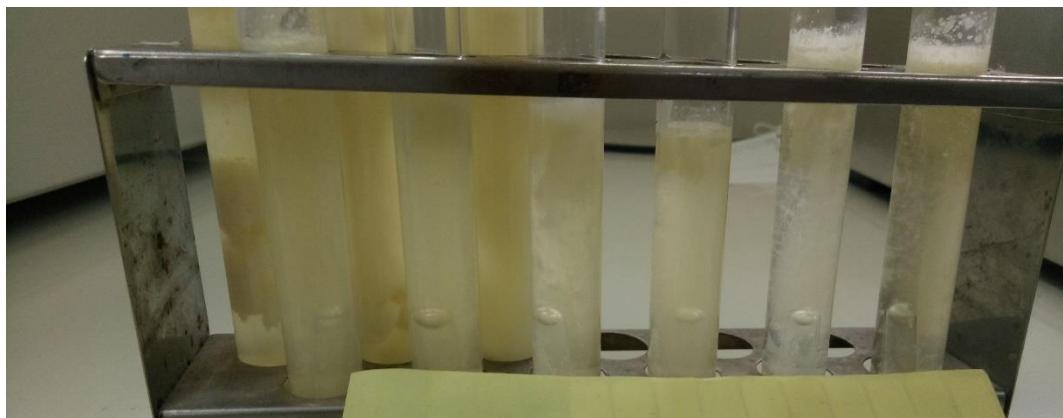
2. Sampel B



3. Sampel C



4. Sampel D

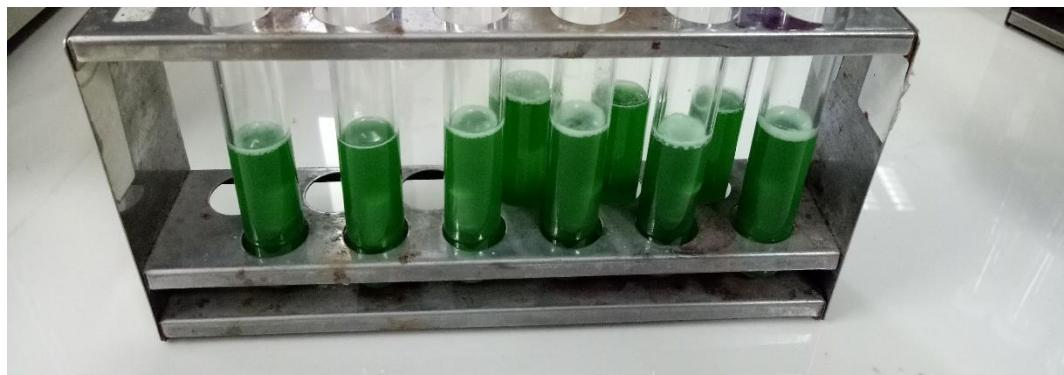


5. Sampel E

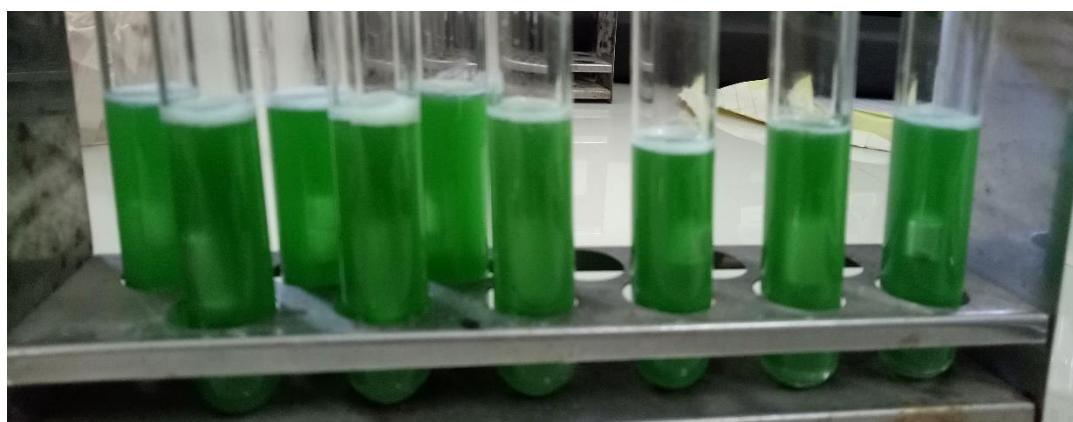


Lampiran 8. Hasil uji penegasan MPN

1. Sampel A



2. Sampel B



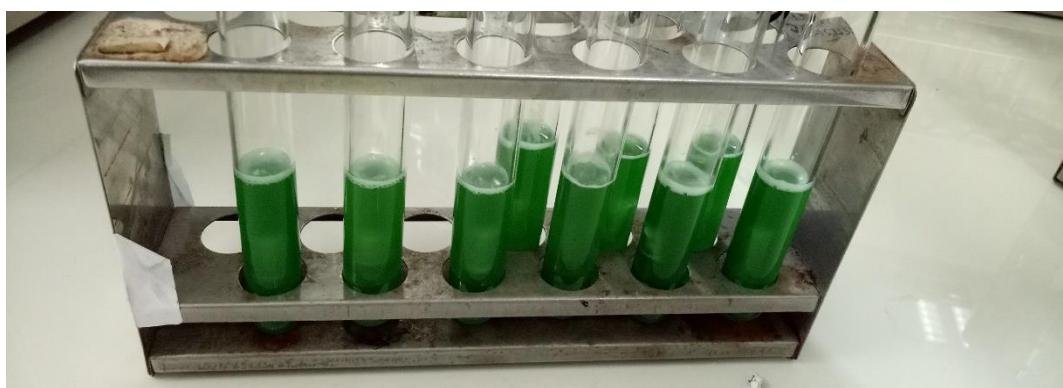
3. Sampel C



4. Sampel D



5. Sampel E



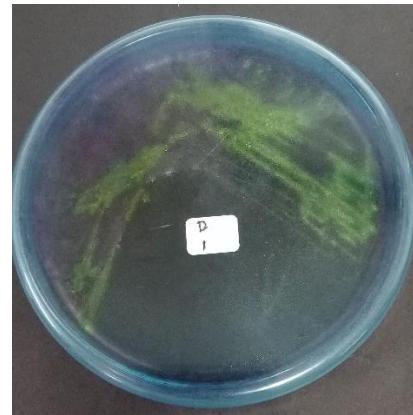
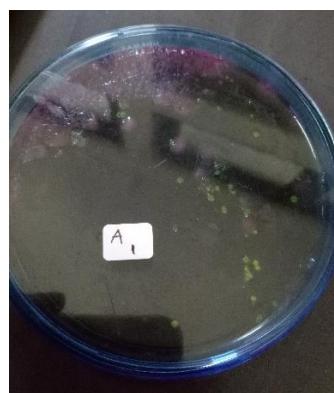
Lampiran 9. Tabel MPN 3 tabung

Positive tubes	MPN/g ou ml	Confidence limits (95%)		Positive tubes	MPN/g ou ml	Confidence limits (95%)	
		Low	High			Low	High
0-0-0	<3,0	—	9,5	2-2-0	21	4,5	42
0-0-1	3,0	0,15	9,6	2-2-1	28	8,7	94
0-1-0	3,0	0,15	11	2-2-2	35	8,7	94
0-1-1	6,1	1,2	18	2-3-0	29	8,7	94
0-2-0	6,2	1,2	18	2-3-1	36	8,7	94
0-3-0	9,4	3,6	38	3-0-0	23	4,6	94
1-0-0	3,6	0,17	18	3-0-1	38	8,7	110
1-0-1	7,2	1,3	18	3-0-2	64	17	180
1-0-2	11	3,6	38	3-1-0	43	9	180
1-1-0	7,4	1,3	20	3-1-1	75	17	200
1-1-1	11	3,6	38	3-1-2	120	37	420
1-2-0	11	3,6	42	3-1-3	160	40	420
1-2-1	15	4,5	42	3-2-0	93	18	420
1-3-0	16	4,5	42	3-2-1	150	37	420
2-0-0	9,2	1,4	38	3-2-2	210	40	430
2-0-1	14	3,6	42	3-2-3	290	90	1,000
2-0-2	20	4,5	42	3-3-0	240	42	1,000
2-1-0	15	3,7	42	3-3-1	460	90	2,000
2-1-1	20	4,5	42	3-3-2	1,100	180	4,100
2-1-2	27	8,7	94	3-3-3	>1,100	420	—

Source: *Bacteriological Analytical Manual* (Blodgett, 2010).

Lampiran 10. Identifikasi bakteri *Escherichia coli*

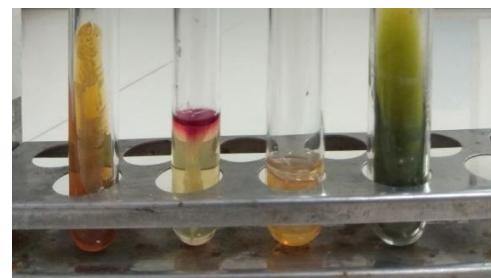
1. Pengamatan morfologi bakteri *Escherichia coli* pada EMBA



2. Uji biokimia *Escherichia coli*



Sampel A



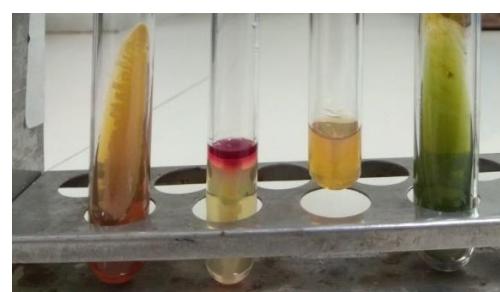
Sampel B



Sampel C



Sampel D



Sampel E

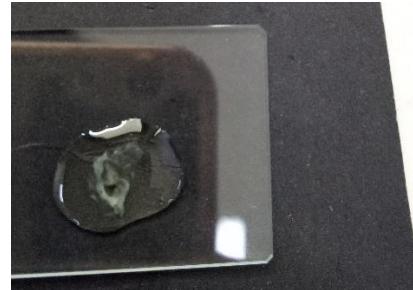
Lampiran 11. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

1. Pengamatan morfologi bakteri *Staphylococcus aureus* pada VJA



2. Uji biokimia *Staphylococcus aureus*

- Uji katalase dan koagulase sampel A



- Uji katalase dan koagulase sampel B



- Uji katalase dan koagulase sampel C



- Uji katalase dan koagulase sampel D



- Uji katalase dan koagulase sampel E



Lampiran 12. Identifikasi *Salmonella* sp.

1. Pengamatan morfologi pada *Salmonella shigella* agar



2. Uji biokimia *Salmonella sp.*



Sampel A



Sampel B



Sampel C