

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PADA SAYURAN BAYAM YANG DIPERJUALBELIKAN DI SEKITAR JALAN NURI BARU KOTA MAKASSAR

ANDI AULIYAH WARSYIDAH

ABSTRAK

The purpose of this research is to know the result of Isolation and Identification of bacteria on spinach vegetables sold around Nuri Baru Street of Makassar City and also to determine the bacteria contained in spinach vegetables, this type of research is descriptive research and describe as clear as possible and is observational laboratory. Sampling is done by purposive sampling technique. The population in this research is all spinach vegetables traders around Nuri Baru Street of Makassar City. The results showed that from 2 samples under study where the first sample with the code A found the bacteria *Enterobacter cloacae* and the second sample with the code B there is bacteria *Citrobacter diversus* on spinach vegetables traded in the vicinity of the New Nuri Makassar

Keywords: Isolation, identification, Bacteria, Spinach Vegetables.

PENDAHULUAN

Sampai saat ini aspek mutu dan keamanan pangan masih menjadi salah satu masalah utama dalam produksi dan pemasaran sayuran segar. Mutu sayuran yang tidak konsisten dengan tingkat kontaminan yang cukup tinggi, merugikan perdagangan komoditas di pasar regional maupun internasional. Tercatat Kasus penolakan produk pangan dari Indonesia mencapai 80% karena kotor atau tidak higienis yang menunjukkan bahwa, penanganan keamanan pangan di Indonesia belum optimal (Media Indonesia, 2015).

Minimnya penerapan teknologi produksi dan penanganan pascapanen sayuran dengan tingkat kontaminan yang tinggi, mengakibatkan mutu yang tidak konsisten. Jenis kontaminan yang menjadi perhatian utama saat ini adalah mikroba, logam berat, dan residu pestisida (Media Indonesia, 2015).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kontaminasi mikroba pada buah dan sayuran masih di atas ketentuan yang dipersyaratkan yaitu 10^6 - 10^7 sel/g sampel pada penanganan di tingkat petani dan pasar tradisional, sedangkan ketentuan yang dipersyaratkan adalah 10^3 sel/g sampel (Winarti C dan Miskiyah, 2010).

Namun menurut hasil penelitian yang paling gress dibahas dalam pertemuan ke 235 American Chemical Society yang dirilis sebulan yang lalu, hanya dengan mencuci saja - meski dengan disinfektan klorin - ternyata belum lah cukup. Penemuan ini menunjukkan penyakit - penyakit yang utamanya disebabkan oleh mikroba sesungguhnya tak bisa dienyahkan hanya dengan pencucian biasa. Bakteri ini bisa

menembus bagian dalam daun selada, bayam dan sayuran atau pun buah-buahan lainnya, dimana pembersihan bagian permukaannya saja tak bisa mengatasinya. Selanjutnya mikroba itu akan mengorganisasi dirinya sendiri dengan membentuk koloni yang disebut biofilm (lapisan tipis) yang melapisi buah/sayuran dan melindungi bakteri dari kerusakan.

Untuk melihat reaksi bakteri terhadap cara-cara penanganan seperti ini, Niemira dan rekan sejawatnya mencoba melakukan penelitian pada jenis sayuran yang berdaun rapat, seperti selada dan bayam. Peneliti lalu memotong daun selada dan bayam muda ke dalam potongan-potongan lalu merendamnya ke dalam air bercampur E.coli. Lalu bakteri ditekan ke dalamnya dengan proses vacum (kedap). Kemudian daun-daun tersebut dicuci dengan air selama tiga menit, dilanjutkan dengan pencucian selama tiga menit pula dengan pembersihan kimiawi atau irradiasi.

Terbukti, pencucian dengan air biasa tidaklah efektif untuk mengurangi paparan bakteri patogen baik pada daun selada maupun bayam. Namun pencucian dengan bahan kimiawi seperti dengan sodium hipoklorit, tidak menunjukkan hasil yang sama. Pada daun bayam didapati bakteri E.coli berkurang tapi tidak terlalu signifikan, sedangkan pada daun selada hampir 90 persen efektif menghilangkan bakteri tersebut. Di sisi lain, kata Niemira, "Biofilm yang mengandung Salmonella pun didapati lebih mudah mati dengan irradiasi, meski yang mengandung E.coli cenderung sedikit lebih kebal." Yang jadi pernyataan kemudian, karena patogen tidak bisa berkembang biak di dalam ruang yang diproteksi dan peluang menginfeksi lebih kecil, maka resiko pada penggunaannya

menjadi lebih kecil. "tapi kalau bakteri patogen masih bisa berreproduksi di dalamnya, ini akan mengakibatkan resiko yang jauh lebih berbahaya.

Berdasarkan Data FDA Amerika Serikat, penyakit asal pangan yang disebabkan oleh kontaminasi mikroba menempati urutan pertama di atas racun alami, residu pestisida, dan bahan tambahan pangan (Media Indonesia, 2005).

Kontaminasi mikroba pada sayuran dapat berasal dari penyemprotan atau air irigasi yang tercemar limbah, tanah, dan kotoran hewan yang digunakan sebagai pupuk. Mikroba yang sering mencemari buah dan sayuran dan terdapat dalam air irigasi yang tercemar adalah *Salmonella* sp, *Escherichia coli*, dan *shigella* sp. Cemaran akan semakin tinggi pada bagian tanaman yang ada di dalam tanah atau dekat dengan tanah seperti bayam (T. Djaafar dkk, 2007).

Bayam biasa ditanam untuk dikonsumsi daunnya sebagai sayuran hijau. Pertumbuhannya secara normal amat cepat, sehingga dalam waktu kurang dari satu bulan bayam sudah bisa dipanen. Bayam telah lama dikenal dan dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia dan merupakan bahan sayuran daun yang bergizi tinggi dan digemari oleh semua lapisan masyarakat. Daun bayam dapat dibuat berbagai sayur mayur, bahkan disajikan sebagai hidangan mewah (elit). Bayam juga memiliki beberapa manfaat, di antaranya dapat memperbaiki daya kerja ginjal dan melancarkan pencernaan.

Beberapa negara berkembang telah mempromosikan bayam sebagai sumber protein nabati, karena berfungsi ganda bagi pemenuhan kebutuhan gizi, maupun pelayanan kesehatan masyarakat (Sunarjono, 2006).

Nilai nutrisi bayam sayur juga amat tinggi dengan kandungan protein, kalsium dan besi yang lebih tinggi dibandingkan dengan sayuran kubis dan selada. Beberapa alasan tersebut mendasari fakta bahwa konsumsi bayam di Indonesia mengalami peningkatan dari tahun ke tahun. Konsumsi bayam untuk bahan makanan pada tahun 2007 sebesar 151,00 ton, pada tahun 2008 sebesar 158,34 ton dan pada tahun 2009 sebesar 168,00 ton, dengan nilai impor sayuran tersebut sebesar 78,017 ton pada tahun 2007, 79,017 ton pada tahun 2008 dan 84,754 ton pada tahun 2009.

Berbeda halnya dengan akumulasi komoditas sayuran secara umum di Indonesia yang mengalami peningkatan, produksi bayam mengalami masalah penurunan produksi. Permintaan yang meningkat tidak diimbangi dengan peningkatan produksi komoditas bayam di Indonesia. luas lahan budidaya bayam yang

semakin berkurang terutama di Pulau Jawa, perubahan iklim yang tidak kondusif dan buruknya kualitas produk yang dihasilkan petani menjadi alasan terhambatnya produksi komoditas sayuran bayam (Sulaiman, 2005).

Produksi bayam di Indonesia dari tahun 2009 hingga tahun 2012 mengalami penurunan. Produksi bayam di Indonesia tahun 2009, 2010, 2011 dan 2012 berturut-turut adalah 173,750 ton, 152,334 ton, 160,513 ton dan 155,070 ton. Ada penurunan sebesar 10,75% jika dibandingkan antara produksi tahun 2012 dengan produksi empat tahun yang lalu yaitu tahun 2009. Hal ini menunjukkan perlu adanya peningkatan produksi bayam agar dapat mencukupi kebutuhan masyarakat setiap tahunnya dengan salah satu upayanya yaitu menerapkan teknologi di bidang pertanian pada budidaya bayam. Seiring dengan perkembangan teknologi, sayuran telah dibudidayakan secara hidroponik.

Dalam perkembangannya, potensi lahan untuk tanaman sayuran di Sulawesi Selatan, khususnya di Kota Makassar untuk bayam sangat tersedia akan: lahan, air, cahaya, dan iklim yang memadai. Seiring dengan terbentuknya Provinsi Sulawesi Selatan, maka potensi perekonomian juga berkembang. Hal ini terlihat dari makin banyaknya rumah-rumah makan, sehingga bayam sering dijadikan lalapan atau pencuci mulut. Umumnya, bayam sangat memerlukan air dalam pertumbuhan dan perkembangannya, karena tanaman tidak dapat hidup tanpa air. Untuk itu, dibutuhkan perawatan yang baik agar dapat menghasilkan produksi yang banyak.

METODE DAN BAHAN

Metode yang digunakan pada penelitian ini merupakan observasi laboratorik yang mendeskripsikan hasil yang diperoleh dari penelitian dengan menguraikan se jelas mungkin. Dalam hal ini berupa isolasi dan identifikasi Bakteri pada sayur bayam yang diperjualbelikan di sekitar jalan Nuri Baru, Kota Makassar.

Subjek populasi dalam penelitian ini adalah semua sayur bayam yang dijual oleh 8 orang pedagang di Sekitar jalan Nuri Baru, Kota Makassar. Sampel dalam penelitian ini adalah sayur bayam yang diperjualbelikan di sekitar Jalan Nuri Baru Kota Makassar sebanyak 2 ikat, sampel diambil pada sore menjelang malam hari dengan menggunakan metode purposive sampling dengan kriteria bayam hijau, masih segar, dan terlihat bersih.

HASIL PENELITIAN

Dari penelitian yang telah dilakukan maka diperoleh hasil sebagai berikut.

Tabel 1.1 Hasil Isolasi dan Identifikasi Bakteri pada Sayuran Bayam yang diperjualbelikan di Sekitar Jalan Nuri Baru, Kota Makassar

Sampel Penelitian	Hasil medium SSA, EMBA, dan Meconkey	Keterangan
Bayam A		Bentuk Zigzag dan terjadi fermentasi
Bayam B		Bentuk Zigzag dan tidak terjadi fermentasi

Sumber : Data Primer, 2016.

Tabel 1.1 menunjukkan bahwa Isolasi dan identifikasi Bakteri pada sayuran bayam yang diperjualbelikan di Sekitar Jalan Nuri Baru, menunjukkan bahwa pada sampel bayam dengan kode A ditemukan bakteri pada media SSA, EMBA dan Meconkey, begitupun juga dengan sampel kode B.

Tabel 1.2 Hasil Uji TSIA pada Sayuran Bayam yang diperjualbelikan di Sekitar Jalan Nuri Baru, Kota Makassar

Sampel	Agar Miring	Dasar Agar	H ₂ S	Gas	Ket
Bayam (A)	Kuning	Kuning	(-)	(+)	Acid/Alkali
Bayam (B)	Kuning	Kuning	(+)	(+)	Acid/Alkali

Sumber : Data Primer, 2016

Tabel 1.2 menunjukkan bahwa hasil sampel bayam dengan kode A +/- (agar miring berwarna kuning dan dasar agar berwarna kuning) tanpa H₂S, dan hasil bayam dengan kode B yaitu +/+ (agar miring berwarna kuning dan dasar agar berwarna kuning) dengan H₂S

Tabel 1.3 Hasil Pewarnaan Gram pada Sayuran Bayam yang diperjualbelikan di Sekitar Jalan Nuri Baru, Kota Makassar

Sampel Penelitian	Hasil Pewarnaan Gram
Bayam (A)	Bentuk basil berwarna merah (Gram Negatif)
Bayam (B)	Bentuk basil berwarna merah (Gram Negatif)

Sumber : Data Primer 2016

Tabel 1.3 menunjukkan bahwa pada pewarnaan gram sayuran bayam, ditemukan bentuk basil dan berwarna merah dan bersifat gram negatif pada sampel A dan pada sampel B ditemukan bentuk basil dan berwarna merah dan bersifat gram negatif

Tabel 1.4 Hasil Uji Biokimia pada Sayuran Bayam yang diperjualbelikan di Sekitar Jalan Nuri Baru, Kota Makassar

Sampell	Hasil tes Uji Biokimia	Bakteri
Bayam (A)	Citrate (v) Urea agar (+) LIA (-) MR (+) VP (v) M (+) I (+) O (-) Glu (+) Mal (+) Suk (+) Mol (+)	Enterobacter cloacae
Bayam (B)	Urea agar (+) LIA (+) MR (+) VP (v) M (+) I (+) O (-) Glu (+) Mal (+) Suk (+) Mol (+)	Citobacter diversus

Sumber : Data Primer 2016

Tabel 1.4 menunjukkan bahwa Hasil Uji Biokimia pada sayuran Bayam yang di perjualbelikan dengan kode sampel A ditemukan pada Uji citrat hasilnya v, urea agar positif, Lia negatif, Mr positif, Vp volt, M positif, I positif, O negatif, Glu positif, Mal positif, Suk positif dan Mol positif dan terdapat bakteri *enterobacter cloacae* sedangkan sampel dengan kode B ditemukan Uji citrat hasilnya positif, urea agar positif, Lia positif, Mr positif, Vp volt, M positif, I positif, O negatif, Glu positif, Mal positif, Suk positif dan Mol positif dan terdapat bakteri *citrobakter diversu*.

PEMBAHASAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, membuktikan bahwa sampel bayam dengan sebnyak 2 gram yang dimasukkan kedalam botol pengencer berisi 18 ml laktosa broth. yang kemudian dihomogenkan dan di inkubasi selama 24 jam, menunjukkan adanya kekeruhan dan perubahan warna. Hal ini mengindikasikan adanya bakteri pada sampel bayam kemudian Isolasi dan diidentifikasi. Laktosa broth diambil menggunakan ose kemudian diinokulasikan pada media SSA, EMBA dan Meconkey lalu diinkubasi pada temperatur 37°C selama 24 jam. Setelah itu, amati bakteri yang tumbuh pada meconkey, media SSA dan EMBA koloni yang terbentuk pada media SSA, EMBA dan Meconkey berwarna kuning dan berbintik.

Setelah itu, dilanjutkan dengan Uji TSIA atau Triple Sugar Iron Agar dimana Uji TSIA ini merupakan deferensial medium untuk golongan *enterobacteriaceae* dan nonfermented basil gram negatif lainnya. Kemampuan bakteri memfermentasikan dekstrose dan laktosa serta kemampuan memproduksi hidrogen sulfide adalah merupakan dasar untuk mengetahui jenis bakteri tertentu dan pertumbuhannya dalam medium ini. Adapun sifat pertumbuhan bakteri pada TSIA adalah (1) lereng kuning, dasar kuning tanpa H₂S, (2) lereng kuning, dasar dengan H₂S, (3) lereng merah, dasar kuning dengan H₂S, (4) lereng merah, dasar kuning tanpa H₂S, (5) lereng merah, dasar merah (tidak ada perubahan warna).

Selanjutnya dilakukan pewarnaan gram, diambil koloni pada media SSA dengan ose kemudian ratakan pada kaca objek fiksasi preparat dengan melewati di atas api sebanyak 8-10 kali dan dinginkan preparat suhu ruangan. Untuk pewarnaan gram yang pertama dilakukan adalah preparat ditetesi larutan gentin violet lalu didiamkan selama 3 menit, kemudian dibilas dengan air mengalir. Setelah itu teteskan lugol di diamkan selama 1 menit, kemudian dibilas dengan air yang mengalir lalu teteskan alkohol 96% dan dibilas dengan air yang mengalir. Teteskan safranin diamkan selama 40-50 detik, kemudian bilas dengan air yang mengalir. Setelah itu, keringkan dengan tisu, lalu teteskan minyak immersi sebanyak 1 tetes dan lihat di mikroskop dengan pembesaran 100x. Hasil yang didapatkan berupa bakteri dengan sifat gram negatif yang ditandai dengan merah dan bentuk batang. Terakhir dilakukan Uji Biokimia dengan uji dilakukan yang pertama uji citrat (+) dan berwarna biru bersifat positif. Pada uji urea menunjukkan hasil yang negatif dan tetap berwarna ungu. Pada uji LIA tetap ungu. Hal tersebut menunjukkan bahwa hasil dari uji tersebut negatif.

Pada uji metil red menghasilkan negatif dan tetap berwarna kuning. Jika uji tersebut positif, maka akan terjadi perubahan warna kuning keemasan menjadi warna kuning muda. Hal ini menandakan bahwa bakteri membentuk asam dari fermentasi metil red.

Komposisi dari medium metil red adalah media kaldu yang mengandung pepton, buffer, dan glukosa. Dari kandungan inilah bakteri mengurai metil red untuk proses metabolismenya. Hal tersebut dapat dilihat pada tabel hasil pengamatan medium MR untuk jenis bakteri . Pada uji Voges-Proskauer hasilnya negatif dan ditunjukkan warnanya tetap kuning. Hal ini dikarenakan oleh bakteri membentuk basa dari fermentasi Voges-Proskauer. Komposisi dari

medium Voges-Proskauer adalah media kaldu yang mengandung pepton, buffer, dan glukosa.

Dari kandungan inilah mengapa bakteri tidak dapat mengurai Voges-Proskauer untuk proses metabolismenya. Hal tersebut dapat dilihat pada tabel hasil pengamatan medium Voges-Proskauer untuk jenis bakteri. Pada uji reduksi nitrat diperoleh hasil yang positif karena terdapat gumpalan warna merah. Uji reduksi nitrat ditandai dengan terbentuknya warna merah

KESIMPULAN DAN SARAN

Adapun kesimpulan dalam penelitian ini adalah sayuran bayam yang diperjualbelikan di sekitar Jalan Nuri Baru Kota Makassar terkontaminasi bakteri *Enterobakter cloacae* dan *Citrobacter diversus* berdasarkan hasil uji Isolasi dan Identifikasi dengan menggunakan media SSA, EMBA dan Meconkey. Pada media SSA, EMBA dan Meconkey, dari 2 sampel yang diuji yaitu bayam dengan kode A dan B ditemukan koloni berbentuk titik merah yang merupakan koloni *Enterobakter cloacae* dan *Citrobacter diversus*. Pada Uji TSIA dari 2 sampel yang diuji didapatkan nomor sampel kode A dan kode B yang mencerminkan positif *Enterbakter cloacae* dan *Citrobacter diversus*. Pada hasil pewarnaan gram dari 2 sampel yang diperiksa ditemukan bakteri gram negatif yang memiliki warna merah dan berbentuk basil. Pada Uji Biokimia dari 2 sampel bayam dengan kode A dan kode B mengindikasikan adanya bakteri *Enterbakter cloacae* dan *Citrobacter diversus*.

Dari penelitian ini, penulis menyarankan kepada peneliti selanjutnya untuk menggunakan media agar yang lebih spesifik pada bakteri serta dilakukan Uji Biokimia IMVIC dan fermentasi karbohidrat yang lengkap dan populasi jangkauan yang lebih luas. Sedangkan, untuk masyarakat, diharapkan dalam mengkonsumsi sayuran, khususnya bayam, agar mengutamakan kebersihan dan pengolahan sebelum dikonsumsi agar tidak berdampak buruk bagi kesehatan.

DAFTAR RUJUKAN

- Ajlouni Said, dkk. 2006. Ultrasonication and Fresh Produce (Cos Lettuce) Preservation. *Journal of Food Science vol 71 Nr.2*. Published on Web Institute of Food Technologists. JFS Food Microbiology and Safety.
- Alam, M.S, dkk. 2013. *Isolasi Bakteri Selulolitik Termofilik Kompos Pertanian Desa Bayat, Klaten, Jawa Tengah*. Chem Info. No.1(1) :190-195.

- BSN (Badan Standarisasi Nasional). 2009b. SIN 7388: *Batas Cemaran Mikroba dalam Pangan*. BSN, Jakarta.
- B POM (Badan Pengawasan Obat dan Makanan). 2004. *Status Regulasi Cemaran dalam Produk Pangan*. Buletin Keamanan Pangan. Nomor 6 Hal 4-5.
- Candra, Joddi Iryadi. 2010. Isolasi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat dari Produk Bekasamikan Bandeng (*Chanos chanos*). *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor : Bogor.
- Hasanah, Uswatun. 2015. *Mikrobiologi*. Unimed Press : Medan.
- Hawley, L.B., 2003. *Intisari Mikrobiologi dan Penyakit Infeksi*. Cetakan 1, Hipokrates, Jakarta.
- Johannes E., 2008. *Isolasi, Karakterisasi dan Uji Bioaktivitas Metabolit Sekunder dari Hydroid Aglaophenia Cupressina Lamoureaux sebagai Bahan Dasar Antimikroba*. Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Kusnadi, dkk. 2011. *Common Textbook Mikrobiologi*. JICA UPI : Bandung
- Madigam MT, dkk. 2008. *Biology of Microorganisms* 12th edition . San Francisco : Pearson.
- Media Indonesia. 2005. 39 *Produk Makanan Indonesia ditolak di AS*. Media Indonesia 12 Mei 2005:4.
- Munarso, S.J, dkk. 2005. Identifikasi Kontaminan dan Perbaikan Mutu sayuran. *Laporan Akhir*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Bogor.
- Mycek, M.J. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar, Cetakan 1*. Widya Media, Jakarta.
- Pleazar, michael. 2008. *Dasar – Dasar Mikrobiologi*. Widya Media, Jakarta.
- Rachmaniar, R., 2003. Antikanker Swinholide A dari spons Theonella Swinhoei. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. Vol. 2 No. 4, 122.
- Sulaiman dan Nisa. 2005. Bahaya Biologis pada Bahan Pangan. ([http://www.small,scrab,com/makanan dan gizi/652](http://www.small,scrab,com/makanan%20dan%20gizi/652)), (*Online*), diakses pada tanggal 5 Mei 2016.
- Sunarjono. 2006. *Mikrobiologi Pangan I*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Sutedjo, Mul Mulyani. 1996. *Mikrobiologi Tanah*. Rineka Cipta : Jakarta
- T. Djaafar dan Siti Raahayu. 2007. Cemaran Mikroba pada Produk Pertanian, Penyakit yang di Timbulkan dan Pencegahannya. *Jurnal Litbang Pertanian* 26 (3).
- Wati, Dwi Setiana, Rukmanasari Dwi Prasetyani. 2013. *Pembuatan Biogas dari Limbah Cair Industri Bioetanol melalui Proses Anaerob (Fermentasi)*. Universitas Diponegoro : Semarang.
- Winarti C. dan Miskiyah. 2010. Status Kontaminan pada Sayuran dan Upaya Pengendaliannya di Indonesia. *Jurnal Pengembangan Inovasi Pertanian* 3(3).